



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**DEFINICIÓN DE UNIDADES TAXONÓMICAS EN EL
COMPLEJO DE TRUCHAS DEL NOROESTE DE MÉXICO,
MEDIANTE EL ANÁLISIS DE MARCADORES
MICROSATÉLITES**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Ecología de Zonas Áridas)

Presenta

Anna Belia De Los Santos Camarillo

La Paz, Baja California Sur, Agosto de 2008

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12:00 horas del día 15 del Mes de Agosto del 2008, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Definición de unidades taxonómicas en el complejo de truchas del noroeste de México, mediante el análisis de marcadores microsatélites"

Presentada por el alumno:

Anna Belia De Los Santos Camarillo

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN ECOLOGÍA DE ZONAS ÁRIDAS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA DE LEÓN
DIRECTOR DE TESIS

DRA. IRENE BARRIGA SOSA
CO-TUTOR

DR. RICHARD L. MAYDEN
CO-TUTOR

DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITE TUTORIAL Y REVISOR

Dr. Francisco Javier García de León
Director de Tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste de México, S. C., La Paz,
B.C.S.

Dra. Irene de los Angeles Barriga Sosa
Co-Tutor
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Distrito Federal.

Dr. Richard L. Mayden
Co-Tutor
Saint Louis University, St. Louis, MO, EUA.

MIEMBROS DEL JURADO DE LA DEFENSA DE TESIS

Dr. Francisco Javier García de León
Dra. Irene de los Angeles Barriga Sosa
Dr. Pedro Cruz Hernández
Dr. Eduardo Francisco Balart Páez (Suplente)

RESUMEN

En los ríos de alta montaña de la Sierra Madre Occidental (SMO) habita una diversidad de salmónidos ampliamente desconocida para la ciencia, a todo el complejo se les denomina truchas mexicanas y pertenecen al género *Oncorhynchus*. En México sólo existen dos especies formalmente descritas, una denominada *O. mykiss nelsoni* que se distribuye en la Sierra de San Pedro Mártir en Baja California y la otra llamada *O. chrysogaster* típica de las cuencas Fuerte, Sinaloa y Culiacán de la SMO. Para la mayoría de las especies sin describir existe escasa información que permita la delimitación de las mismas, una situación preocupante ya que este complejo de especies se encuentra bajo una inminente amenaza de extinción debido a la degradación del hábitat, el cambio climático global y la introducción de especies exóticas, en particular el cultivo de truchas arcoíris (*O. mykiss*) que se practica sin control en el área de distribución de las truchas nativas.

En este trabajo se analizó la diversidad genética de las truchas nativas del Noroeste de México mediante 11 marcadores microsátélites con el objetivo de determinar unidades taxonómicas que coadyuven a la delimitación de las especies, así mismo se evaluó el nivel de impacto e introgresión genética de las truchas exóticas que se emplea en el cultivo. Los parámetros de diversidad genética en el complejo de truchas nativas arrojaron 24 alelos promedio por locus. Los valores de riqueza alélica oscilaron entre 1.707 y 4.8. La heterocigocidad observada se encontró en un rango de 0.085-0.7234. Se observó un total de 70 alelos exclusivos en las distintas poblaciones de truchas distribuidas en las diferentes cuencas.

Empleando distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edward y árboles filogenéticos mediante el método del vecino más cercano, se detectó los siguientes grupos genéticamente homogéneos: Guzmán/Yaqui-Bavispe, Yaqui-Sirupa/Mayo, Conchos, San Lorenzo/Piactla, Acaponeta/Baluart/Presidio, un grupo en el arroyo La Sidra de la cuenca del San Lorenzo y un grupo en el Arroyo Aparique de la cuenca del Fuerte. Así mismo todos estos grupos fueron distintos genéticamente de las truchas formalmente descritas (*O. mykiss nelsoni* y *O. chrysogaster*) así como de las truchas arcoíris exóticas que se cultivan en la zona. Dicha agrupación fue corroborada por diversos análisis; de asignación mediante un método bayesiano, estimación de flujo genético y un análisis de varianza molecular (AMOVA). Este último, reveló que la mayoría de la varianza se encuentra entre los grupos (63.94%) mientras que un 31.76% de la varianza se encontró al interior de las poblaciones, quedando solo un 4.40% de la varianza entre poblaciones dentro de los grupos. Los resultados de los diferentes análisis soportan la existencia de 7 unidades taxonómicas correspondiendo cada una a los grupos arriba mencionados y de acuerdo al criterio unificado del concepto de especie de De Queiroz (2007) corresponderían a especies distintas.

Por otro lado los análisis de asignación y la estimación del flujo genético demostraron que al contrario a lo que se esperaba, solo las cuencas del Presido y Acaponeta muestran niveles importantes de introgresión genética del genoma de las truchas arcoíris exóticas, sin embargo estos resultados deben ser tomados con cautela ya que se requiere de análisis mas finos considerando un muestreo adecuado para poder precisar con mayor exactitud la magnitud del impacto.

Palabras Clave: truchas mexicanas, *Oncorhynchus*, microsatélites, trucha dorada mexicana, trucha nelsoni, introgresión.

ABSTRACT

In the mountain creeks and rivers of the northern part of the Sierra Madre Occidental (SMO) in Mexico, there is a high diversity of native salmonids, all commonly recognized as Mexican trout, members of the genus *Oncorhynchus*. In Mexico there are just two species formally described one of them called *O. mykiss nelsoni* which inhabits the Sierra San Pedro Martir in Baja California, the second one recognized as *O. chrysogaster* from the rives Fuerte, Culiacan and Sinaloa in the SMO, but most of the species remain undescribed and with low information that allows their delimitation. Also this species complex is under an impending threat of extinction due to habitat degradation, global climate change, and the introduction of exotic species mainly the rainbow trout (*O. mykiss*) which are cultivated in almost all the rivers where the natives inhabit without a good control.

In this paper the genetic diversity of the native trout from northwestern Mexico was analyzed using 11 microsatellite *loci* with the aim to determine taxonomic units that contribute to the species delimitation as well as assess the impact and genetic introgression due to exotic rainbow trout. The genetic biodiversity parameters show 24 average alleles per locus, allelic richness values between 1.707 and 4.8, the observed heterozygosity was in a range from 0.085 to 0.7234, also a total of 70 exclusive alleles were distributed in the different basins.

The construction of a phylogenetic neighbor-joining tree was made based on Cavalli-Sforza and Edward's genetic distances which indicated the formation of the following genetically homogeneous groups: Guzmán/Yaqui-Bavispe, Yaqui-Sirupa/Mayo, Conchos, San Lorenzo/Piactla, Acaponeta/Baluarte/Presidio, one group in the Sidra stream from San Lorenzo basin and one more group in the Aparique stream belonging to the Fuerte basin, also these groups were genetically different to the formally described trout (*O. mykiss nelsoni* and *O. chrysogaster*) just as the exotic rainbow trout. This grouping was corroborated by the assignment analysis using the Bayesian method, the gene flow estimation, and the analysis of molecular variance (AMOVA) which revealed the highest variance between group (63.94%), a 31.76% corresponding to population between groups and the last 4.40% of variance between populations inside of groups. The results of the different analyses support the existence of 7 taxonomic units corresponding to each group mentioned and should be different species in accord to De Queiroz (2007).

In other hand, the assignment analysis and the genetic flow estimation proved that contrary to what we thought only Presidio and Acaponeta basins showed introgression by the exotic rainbow trout genome, but these results have to be taken with caution because finer analyses need to be done with the appropriate sampling method to specify the magnitude of the impact.

Keywords: Mexican trout, *Oncorhynchus*, Mexican golden trout, nelsoni trout, introgression, microsatellites

DEDICATORIA

Este trabajo esta dedicado a la persona a quien le debo lo que soy, que me ha brindado su apoyo en todo momento, me ha guiado con su ejemplo y me ha demostrado que todo lo propuesto se puede lograr si se aplica el esfuerzo adecuado.

A TI MAMA

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste por permitirme realizar mis estudios de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la becas con número de registro 201320 que me permitieron realizar mis estudios de maestría, la beca mixta que me permitió realizar la estancia de investigación en Saint Louis University, así como también por el financiamiento otorgado para la realización de esta tesis a través del proyecto SAGARPA-CONACYT-2005-12147 "Desarrollo de un programa de selección y mejoramiento genético de truchas arcoíris y truchas mexicanas a través de la instrumentación de un Centro de Referencia "

A la National Science Fundation por el apoyo económico proporcionado mediante el proyecto denominado "Biodiversity of Native Mexican Trout (Genus *Oncorhynchus* spp.) and The Impending Treat of Their Demise by The Exotic Rainbow Trout *O. mykiss gairdneri* (Teleostei: Salmonidae)".

A los miembros del comité revisor y jurado de esta tesis los Doctores Francisco Javier García de León, Richard Mayden, Irene Barriga Sosa y Pedro Cruz, por todo su tiempo, sus sabios consejos y por guiarme durante el proceso de esta tesis y de mis estudios de maestría.

De manera particular quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Francisco Javier García de León por todos sus consejos, por guiarme en mi formación profesional desde mis estudios de licenciatura, por todo el apoyo que me ha otorgado, por la confianza que deposito en mí, por toda su ayuda cuando recién llegue a la Paz y sobre todo por su amistad, GRACIAS PACO.

A la Dr. Irene Barriga Sosa por brindarme su confianza y permitirme formar parte de su proyecto de investigación, proyecto del cual surgió el financiamiento para esta tesis, así mismo quiero agradecer por su paciencia y su amistad.

Al Dr. Richard Mayden por darme la oportunidad de realizar los análisis genéticos de este trabajo en su laboratorio en Saint Louis University, por todo su apoyo y ayuda durante mi estancia.

A Susana Schonhuth, Justin Baker y sobre todo a Casey Dillman por toda su ayuda y asesoría durante la realización de los análisis genéticos de esta tesis, gracias a Kevin Conway y Aurora Lugo por brindarme su casa cuando mas lo necesita, a Leah Schneider por permitirme vivir con ella, por enseñarme ingles, ser mi guía de turistas y por todos los momentos divertidos que pasamos juntas igualmente gracias a sus padres por su confianza, y lo mas importante gracias a todos por su sincera amistad.

A Agnese Mancini, mi hermanita en la Paz, por todo su apoyo, la gran amistad que me brindo, por todos los piojitos y masajitos, y sus consejos. Eres la mejor compañera de casa del mundísimo.

A mis compañeros de generación Luzali, Pedro, Laura, Ricardo, Rigoberto, Erika, Mara, Jorge, Mario muchas gracias por todos los momentos divertidos que pasamos juntos, y por ser mis amigos, Perla gracias por tu amistad y por toda la invaluable ayuda que recibí de ti. Fernando y Alex muchas gracias por todos los programas computacionales que me facilitaron y por toda su ayuda en cuestiones de computadoras.

Finalmente mi más sincero agradecimiento a Enrique Morales por todo su apoyo, su compañía y por llegar a llenar mi vida de amor.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	ANTECEDENTES	3
2.1	Amenazas para el complejo de truchas mexicanas	6
2.2	Cultivo de trucha arcoíris	7
3	JUSTIFICACIÓN	10
4	OBJETIVOS	11
4.1	Objetivo General	11
4.2	Objetivos Particulares	11
5	HIPÓTESIS	12
6	METODOLOGIA	13
6.1	Descripción del área de estudio	13
6.2	Trabajo de campo	14
6.3	Trabajo de laboratorio	16
6.3.1	Extracción de ADN total	17
6.3.2	Estandarización de los microsatélites y genotipificación de los organismos	18
6.4	Análisis de Datos	21
6.4.1	Descripción de la variabilidad genética	21
6.4.2	Identificación de poblaciones	22
6.4.3	Identificación de unidades taxonómicas y determinación del impacto de las truchas arcoíris exóticas	24
6.4.3.1	Análisis factorial de correspondencia	24
6.4.3.2	Método de reconstrucción filogenética	25
6.4.3.3	Análisis de grupos y asignamiento de individuos	27
6.4.3.4	Análisis de genética de poblaciones	29
7	RESULTADOS	32
7.1	Descripción de la variabilidad genética	32
7.2	Descripción de la diversidad genética de los organismos analizados agrupados <i>a priori</i> como una primera aproximación a identificar poblaciones	38
7.3	Identificación de unidades taxonómicas	40
7.3.1	Análisis factorial de correspondencia (AFC)	40
7.3.2	Método de reconstrucción filogenética	42
7.3.3	Análisis de grupos y asignación de individuos	48
7.3.4	Métodos de genética de poblaciones	52
7.3.1	Análisis de varianza molecular (AMOVA)	55
7.4	Impacto de la trucha arcoíris exótica	56
8	DISCUSIONES	58
9	CONCLUSIONES	74
10	LITERATURA CITADA	76
11	ANEXOS	88

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Áreas en donde se colectaron truchas mexicanas no descritas, truchas de las especies *O. mykiss nelsoni* (Santo Domingo) y *O. chrysogaster* (Fuerte y Culiacán) y además individuos provenientes de granjas trutícolas que se encuentran en el área de estudio. Cada punto representa una localidad colectada.....14
- Figura 2.** Análisis factorial de correspondencia (AFC) realizado con las frecuencias alélicas de 11 *loci* microsatélites en las poblaciones de truchas mexicanas del Noroeste de México y truchas arcoíris introducidas y de California, Estados Unidos.41
- Figura 3.** Cladograma reconstruido mediante el método de vecino más cercano (NJ) no enraizado, basado en distancias D_{CE} (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) por pares de poblaciones usando 11 *loci* microsatélites. En el tratamiento de los datos se empleó cada localidad muestreada como se muestra en la Tabla I del anexo del complejo de truchas mexicas y truchas arcoíris exóticas. El soporte de las ramas se realizó mediante Bootstrapping con 1000 permutaciones.....44
- Figura 4.** Cladograma reconstruido a partir del algoritmo del vecino más cercano (NJ) enraizado, basado en distancias DCE (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) usando 11 *loci* microsatélites. Las localidades descritas en la Tabla I se agruparon por cuencas para describir las relaciones filogenéticos del complejo de truchas mexicas. Se empleó bootstrapping con 1000 permutaciones para soportar los clados.....48
- Figura 5.** Poblaciones obtenidos a partir del programa STRUCTURE ver. 2.2 (Pritchard *et al.*, 2000). El genoma de cada individuo esta representado como una línea vertical muy delgada coloreada en segmentos dependiendo a la población a la que fue asignada.....51

LISTA DE FIGURAS DEL ANEXO

- Figura 1.** Ejemplo de un electroferograma correspondiente a los *loci* microsatélites Oneu11 en negro y Omy325 en verde. Los picos de color rojo corresponden al marcador en talla. Las electroforesis se llevaron acabo en un secuenciador automático marca Beckman Coulter modelo CEQ 8000 Genetic Analysis System.105
- Figura 2.** Ejemplo de un electroferograma multiplex correspondiente a los *loci* microsatélites Oneu8 en negro, Omy27 en azul y Omy207 en verde. Los picos de color rojo corresponden al marcador en talla. Las electroforesis se llevaron acabo en un secuenciador automático marca Beckman Coulter modelo CEQ 8000 Genetic Analysis System.....106

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Iniciadores y programas de amplificación que fueron utilizados para cada uno de los <i>loci</i> microsatélites. M. O'Connell, Marine Gene Probe Laboratory, Dalhousie University (tomado de Nielsen y Sage, 2001) ^a ; Scribner <i>et al.</i> , 1996 ^b ; Banks <i>et al.</i> , 1999 ^c ; McConnell <i>et al.</i> , 1995 ^d ; Angers <i>et al.</i> , 1995 ^e ; Morris <i>et al.</i> , 1996 ^f	20
Tabla II. Valores de riqueza alélica y diversidad genética calculados en el programa FSTAT (Goudet, 2001) y los valores de heterocigocidad esperada no sesgada (<i>Hens</i>) y heterocigocidad observada (<i>Hobs</i>) en la cuencas del complejo de truchas mexicanas, estos últimos calculados en el programa Genepop (Rousset, 2007).....	33
Tabla III. Valores de variabilidad genética multilocus en base a 11 <i>loci</i> microsatélites y obtenidos mediante los programas Genetix (Belkhir <i>et al.</i> , 1998) y Genpop (Rousset, 2007). $P \leq 0.01$ después de la prueba secuencial de Bonferroni (Rice, 1989).	40
Tabla IV. Proporción de individuos bien agrupados en las cuencas hidrológicas donde se distribuye el complejo de truchas mexicanas y truchas arcoíris exóticas mediante el cálculo de las distancias D_{AS} (Chakraborty y Jin, (1993) y la construcción de árboles del vecino más cercano (NJ).....	45
Tabla V. Valores reales de F_{ST} en la diagonal superior y migrantes eficaces (<i>Nm</i>) en la parte inferior obtenidos a partir del paquete Genetix versión 4.01 (Belkhir <i>et al.</i> 1998), para cada par de poblaciones en el complejo de truchas mexicanas agrupadas por cuencas y subcuencas conforme a los análisis bayesianos y de reconstrucción filogenética. Los valores altamente significativos después de la prueba secuencial de Bonferroni (Rice, 1986) se muestran en negrilla ($P \leq 0.0003$).....	54
Tabla VI. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de 11 <i>loci</i> microsatélites en el complejo de truchas mexicanas, para la definición de la estructura genética de los grupos y poblaciones ver texto.	56

LISTA DE TABLAS DEL ANEXO

Tabla I. Localidades muestreadas en el estudio de identificación de unidades taxonómicas en el complejo de truchas mexicanas en el Noroeste de México.	88
Tabla II. Frecuencias alélicas del locus microsátélites Omy2, datos de sitios de colecta organizados por cuencas en el complejo de truchas mexicanas en el Noroeste de México. La letra “N” corresponde al número de individuos de cada muestra.	90
Tabla III. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Omy27 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra. Ojo ver Tabla 2 para cambiar la leyenda conforme ahí lo indico.	92
Tabla IV. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Omy77 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	93
Tabla V. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Omy207 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	94
Tabla VI. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Onem8 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	95
Tabla VII. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Omy325 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	96
Tabla VIII. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Onem11 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	97
Tabla IX. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Ots1 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	98
Tabla X. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Sfo8 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	99
Tabla XI. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Ssa14 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	100
Tabla XII. Frecuencias alélicas de locus microsátélites Ssa289 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.	101
Tabla XIII. Estructura alélica de 11 <i>loci</i> microsátélites amplificados en el complejo de truchas mexicanas así como en truchas arcoíris. Datos de sitios de colecta de la Tabla I de anexo agrupados por cuencas. Tamaño de los alelos dado en pares de bases. .	102

1 INTRODUCCIÓN

El noreste de la Sierra Madre Occidental de México (SMO) es una montaña escarpada con grandes pendientes que abarca una porción de los estados de Sonora, Chihuahua, Durango y Sinaloa, y drena por múltiples ríos de la vertiente del Pacífico hacia el Oeste y el Casas Grandes, Conchos y Nazas hacia el este. El área total es topográfica, climatológica y biológicamente diversa, la región es además geológicamente compleja, que combinado con algunas otras variables provee una gran diversidad de ambos hábitats: acuático y terrestre que conduce a endemismos bióticos y diversidad (Brown, 1994). El total de la diversidad de la región ha contribuido a que esta zona sea considerada por “Conservation International” como uno de los seis nuevos puntos importantes de alta prioridad (Mittermeier *et al.*, 2004). La combinación de un increíble paisaje accidentado con prolongadas pendientes y actividades ilegales que se realizan en el área han ocasionado la falta de desarrollo en infraestructura de caminos en la región y por lo tanto la carencia de accesos, lo cual ha limitado los estudios de la biodiversidad en la zona, provocando que la flora y fauna de la SMO sea pobremente conocida, especialmente en altitudes por encima de los 1500 metros donde habitan las especies de trucha mexicana pertenecientes al género *Oncorhynchus* (Suckley, 1981), y muchas otras formas de vida bien adaptadas a las zonas acuáticas de esta región. Desafortunadamente estos sistemas acuáticos pobremente conocidos se encuentran bajo la inminente amenaza de extinción (Hendrickson *et al.*, 2002).

Algunos de los factores que amenazan a sistemas acuáticos de la SMO son: 1) la introducción incontrolada de especies exóticas e invasivas incluyendo a la Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) el hongo parásito, (*Batrachochytridium dendrobatidis*); 2) el surgimiento de enfermedades como la necrosis pancreática (IPN), que afecta principalmente a los salmónidos; 3) el uso que se le da al área permitiendo la degradación del hábitat a través de la deforestación y construcción de caminos; 4) el incremento de la población humana; 5) la pesca desmedida y 6) el cambio climático global, el cual no solo modifica los hábitats para hacerlos mas susceptibles a especies invasoras sino que también provoca la disminución de lluvias y por ende la disminución de las aguas de los ríos (Hendrickson *et al.*, 2006). Todas estas actividades y sus interacciones sinérgicas provocaran la perdida o reducción de la biodiversidad nativa de esta región única.

2 ANTECEDENTES

El género *Oncorhynchus* pertenece a la familia Salmonidae incluye hasta hoy 10 especies y aproximadamente 28 subespecies distribuidas a nivel mundial, 9 de estas especies son nativas de aguas de Norte América (Behnke y Tomelleri, 2002). Las especies pertenecientes a éste género fueron inicialmente clasificadas en base a su morfología y características de su historia de vida como miembros del genero *Salmo*, el cual representa un linaje perteneciente a las cuencas que desembocan en el Atlántico. La reciente reclasificación de las truchas del Pacifico dentro del género *Oncorhynchus* fue basado en nuevos caracteres morfológicos y asociado con análisis moleculares (Smith y Stearley, 1989).

Hasta hoy en nuestro país existen dos especies de truchas formalmente descritas: la trucha arcoíris costera (*Oncorhynchus mykiss Nelson*), descrita por Evermann (1908), la cual se distribuye en la pendiente occidental de la Sierra de San Pedro Mártir, en los sistemas hidrológicos denominados San Rafael y Santo Domingo en Baja California (Ruiz Campos et al. 2003), y una segunda especie denominada trucha dorada mexicana (*Oncorhynchus chrysogaster*) descrita por Needham y Gard en 1959 la cual se distribuye en la pendiente occidental de la SMO, en tres cuencas que desembocan al golfo de California: Culiacán, Sinaloa y Fuerte. Needham y Gard originalmente agruparon a las truchas doradas mexicanas dentro de la serie de truchas arcoíris pero posteriormente reconocieron que las características de estas truchas divergían mucho de las arcoíris, por lo que en 1964 la describen como nueva especie.

Hacia el norte y sur del rango de distribución de la trucha dorada mexicana se distribuyen poblaciones de truchas hasta ahora no descritas formalmente, y también pertenecientes al género *Oncorhynchus*. Hacia el norte ocupan las cuencas Guzmán, Yaqui y Mayo las cuales vierten hacia el Golfo de California y en el río Conchos, que a diferencia de las anteriores vierte sus aguas hacia el río Grande y posteriormente hacia el Golfo de México. Hacia el sur se distribuyen en las cuencas San Lorenzo, Acaponeta, Presidio y Baluarte, cuencas que vierten las aguas hacia el Pacífico.

En base a características morfológicas Behnke (1992) sugiere que el Golfo de California sirvió como refugio para los salmónidos del Pacífico durante las glaciaciones del Pleistoceno y propone que a partir de este refugio surgieron las truchas que se distribuyen tanto en la parte Noroeste de México, así como las truchas gila y apache de Arizona y Nuevo México. Además propone que las introducciones hacia los distintos ríos se dieron a intervalos de tiempo diferentes. Mientras muchos estudios históricos y recientes de la variación tanto genética y no genética han sido conducidos al interior y entre las especies de truchas del Oeste de los Estados Unidos y Canadá, existen muy pocos análisis comparativos a una escala geográfica y taxonómica que provean información genealógica significativa con respecto a la biodiversidad de las especies de truchas mexicanas. La mayoría de los estudios referentes a la sistemática e historia evolutiva de las truchas del oeste de Norte América no han sido hechos dentro de una perspectiva filogenética comparativa y se han enfocado al análisis de una simple especie, subespecie o poblaciones dentro de una especie, además pocos de estos estudios han incluido poblaciones nativas de México. De hecho solo algunos estudios importantes han empleado datos morfológicos y

moleculares y métodos filogenéticos que proveen información referente a la historia evolutiva de las truchas Mexicanas (Hendrickson *et al.*, 2002).

Behnke (1992) y Utter y Allendorf (1994) argumentan que las especies de truchas mexicanas son parte de un largo linaje politépico de “truchas arcoíris” presuntamente monofilético y estrechamente relacionado a la especie *O. clarki* (cutthroat trout o trucha de garganta cortada). Además Behnke (1992) sugiere que tanto las truchas mexicanas como las truchas Gila y Apache derivaron de un linaje ancestral común, pero mucha de esta información es difícil soportarla ya que a muchos de los estudios les faltan argumentos filogenéticos y datos que corroboren la monofilia del grupo (Stearley y Smith, 1993).

Más recientemente Nielsen y sus colaboradores (Nielsen, 1997; Nielsen *et al.*, 1998; Nielsen, 1999; Nielsen, 1999) realizaron investigaciones con marcadores microsatélites y secuencias de la región control del ADN mitocondrial en donde incluyeron truchas mexicanas de Baja California y de las cuencas Yaqui, Mayo, Guzmán, y en un estudio posterior incluyeron también el Fuerte y Culiacán (Nielsen y Sage, 2001). Entre los resultados más importantes se destaca que las poblaciones de truchas mexicanas poseen un acervo genético único y diferente a las de las truchas de Estados Unidos, sin embargo estos análisis no incluyeron las truchas de distribución más sureña.

Posteriormente se realizaron nuevos análisis de secuencias de la región control del ADN mitocondrial que incluyeron muestras de la mayoría de las zonas de distribución natural del complejo *Oncorhynchus mykiss* y además las truchas mexicanas. A pesar de que la variación encontrada en la región control fue limitada, se observó que la trucha dorada

mexicana (*O. chrysogaster*) estuvo siempre dentro de un clado bien soportado que incluyó muestras de las truchas mexicanas no descritas. Además, las truchas *O. apache* y *O. gila* también se incluyeron dentro de este clado, sin embargo las relaciones entre todas las formas dentro de este clado que además incluye truchas arcoíris no fue resuelto claramente y muestra aún gran controversia en las relaciones filogenéticas de este complejo grupo (Hendrickson *et al.*, 2006).

2.1 Amenazas para el complejo de truchas mexicanas

El complejo de truchas mexicanas, tanto las ya descritas como aquellas por describirse se encuentran bajo una inminente amenaza de extinción debido a la degradación de hábitat ocasionado por la deforestación y la construcción de caminos, así como por la introducción de nuevas enfermedades infecciosas a través de los cultivos de especies exóticas, el crecimiento de la población humana y los usos y prácticas de la región sin técnicas de manejo sustentable como la deforestación excesiva. Por otro lado, está bien documentado que en Europa, Norte América y otras regiones, el cambio climático global está provocando un cambio en los rangos de distribución de los organismos de muchos taxa moviéndolos en dirección a los polos y en el caso de organismos de montaña, moviéndolos hacia zonas de mayores elevaciones (Parmesan, 2006). En el caso de las truchas nativas de México, éstas habitan las altitudes más extremas en las cimas de las montañas, restringidas a las cabeceras de los ríos, lo que las hace severamente susceptibles al cambio climático.

2.2 Cultivo de trucha arcoíris

La trucha arcoíris ha sido cultivada en Norte América desde 1872, y por más de 130 años ha sido ampliamente introducida alrededor del mundo (Fuller *et al.*, 1999) con considerable impacto en la fauna local. La primera granja trutícola en México fue fundada en la ciudad de México en 1888 con 25,000 huevos de truchas provenientes del río McCloud, el cual pertenece a la cuenca Sacramento en el estado de California. Desde entonces el cultivo de truchas arcoíris se ha convertido en un significativo negocio en México, extendiéndose a diversas partes del país incluyendo la SMO en los rangos de distribución de las truchas nativas, donde varias piscifactorías se han implementado muy cerca de los ríos, muchas de ellas sin condiciones adecuadas de seguridad que impidan el escape de las truchas exóticas. La introducción de truchas arcoíris en los sistemas acuáticos de la SMO podría tener resultados muy parecidos a lo sucedido con las truchas de la especie *O. clarki* en Estados Unidos donde las poblaciones nativas puras, quedaron confinadas a las cabeceras de los ríos, donde son más susceptibles tanto a los efectos demográficos debido a una talla de población pequeña como a amenazas externas como el cambio climático.

Abundante literatura claramente demuestra que la hibridización entre *Oncorhynchus* spp. es el mayor obstáculo para manejos efectivos de stocks nativos de este género en Norte América (Hitt *et al.*, 2003). Además el riesgo de introgresión es muy probable debido al comportamiento y los atributos de historia de vida de los salmónidos.

Esto podría ser el más desastroso impacto en las poblaciones nativas al introducir individuos con genes no adaptado a las condiciones del hábitat, que al mezclarse con las poblaciones nativas podrían eliminar genes adaptados a las condiciones de la región y por ende producir la reducción del valor selectivo (fitness) de las poblaciones introgradadas (McGinnity *et al.*, 2003). El fenómeno de introgresión implica la introducción de genes extraños a un genoma nativo, y dado que las truchas arcoíris son las que se emplean para la introducción, estas representan una de las mas severas amenazas hacia las truchas de garganta cortada (Weigel *et al.*, 2003), gila apache (Rinne, 1990) y las truchas doradas de California (Cordes *et al.*, 2006), y podrían representar también, la mayor amenaza para las poblaciones de truchas nativas mexicanas (Hendrickson *et al.*, 2002).

Los principios taxonómicos que en la actualidad se aplican para la identificación y clasificación de los organismos son los que hacen referencia al sistema jerarquizado y se le denomina jerarquía taxonómica. A los diferentes niveles de la jerarquía taxonómica se les conoce como categorías taxonómicas (o rangos taxonómicos) y los grupos de organismos en sí constituyen las unidades taxonómicas o taxones (Judd *et al.*, 2002). En este trabajo se considera como unidad taxonómica a todo grupo genéticamente homogéneo y distinto de otro que no tiene definición de estatus o taxon preciso, puede ser especie, subespecie o población. No obstante, se discutirá la pertinencia de usar uno de los conceptos de especie actualmente en uso.

Con este trabajo se pretende analizar mediante 11 marcadores microsatélites las poblaciones de truchas de la SMO incluyendo poblaciones sureñas hasta ahora no

estudiadas, con el objetivo de inferir sus asociaciones genéticas, posteriormente definir unidades taxonómicas y con esto coadyuvar a la determinación del número especies en el complejo de truchas mexicanas.

Además se pretende evaluar el nivel de impacto e introgresión genética causado por el cultivo de especies exóticas, principalmente la trucha arcoíris *O. mykiss*, en el área de distribución de las truchas nativas mediante la comparación de la diversidad alélica de los microsatélites encontrada en las poblaciones nativas y en 4 granjas trutícolas que se muestrearon en el área de distribución de las nativas.

3 JUSTIFICACIÓN

Dado que desde el Pleistoceno existe un complejo de truchas en el Noroeste de México aún no descritas y presuntamente aisladas en las diferentes cuencas, los marcadores microsatélites debido a sus tasas de mutación, y los algoritmos matemáticos de análisis multilocus, serán capaces de identificar tales especies.

A la fecha existen algunos estudios realizados en el complejo de truchas mexicanas, pero ninguno de ellos muestra una respuesta clara de la taxonomía y de las relaciones filogenéticas entre ellas, tampoco incluyen las poblaciones (probables especies) que se distribuyen en las cuencas más sureñas de la región Noroeste de México.

Por lo tanto el uso de 11 *loci* microsatélites, y además el aumento en la cobertura de cuencas y de individuos muestreados, puede proveer una perspectiva más clara sobre las relaciones entre estos organismos.

Aunado a esto, la destrucción de hábitat, la aparición de nuevas enfermedades, la amenaza del cambio climático global y sobre todo la introducción de especies de truchas exótica ponen en riesgo a las truchas nativas que se distribuyen en el Noroeste de México, por lo que es urgente realizar estudios que conlleven a la rápida asignación de género y especies, para de esta forma ser capaces de iniciar estrategias de protección mediante programas de conservación para las truchas mexicanas, las cuales en estudios preliminares han demostrado poseer un acervo genético único.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

- ❑ Definir unidades taxonómicas en el complejo de truchas del Noreste de México.

4.2 Objetivos Particulares

- ❑ Coadyuvar en la determinación del número de especies presentes en el noroeste de México (*Oncorhynchus* spp.)
- ❑ Describir la diversidad genética observada en este complejo de truchas mediante el uso de 11 *loci* microsatélites.
- ❑ Estimar los niveles de impacto genético de las poblaciones exóticas cultivadas.

5 HIPÓTESIS

H1: El complejo de truchas mexicanas esta constituido por al menos 5 unidades taxonómicas que se distribuyen en las cuencas de la SMO en el Noroeste de México que a la fecha no han sido identificadas.

H2: Existe una disminución de la diversidad genética de las truchas mexicanas debido a la introgresión e hibridización con truchas arcoíris exóticas las cuales son cultivadas dentro del rango de distribución de las nativas.

6 METODOLOGIA

6.1 Descripción del área de estudio

El área de estudio de este trabajo corresponde a las dos regiones hidrológicas más importantes del Noroeste de México: la región de Baja California y la región del Pacífico Norte (Tamayo y West, 1964) y otra que se relaciona con el Golfo de México.

En la región de Baja California se encuentra la cuenca de Santo Domingo, la cual tiene su vertiente por la pendiente oeste de la Sierra de San Pedro Mártir hacia el Océano Pacífico.

La región del Pacífico Norte abarca los estados de Chihuahua, Durango, Sinaloa y Nayarit, dentro de los cuales se analizaron las siguientes cuencas: Guzmán la cual es una cuenca endorreica; Yaqui, Mayo, Fuerte, Culiacán, San Lorenzo, Piaxtla, Presidio, Baluarte y Acaponeta, todas tienen su pendiente hacia el oeste de la Sierra Madre Occidental y vierten sus aguas hacia el Golfo de California.

La cuenca del río Conchos que a diferencia de las anteriores vierte sus aguas hacia el río Grande y posteriormente hacia el Golfo de México.

Toda la zona noroeste se caracteriza por presentar una orografía muy abrupta con la presencia de grandes pendientes. Las colectas se realizaron en las partes altas de la Sierra entre los 1500 y 2400 metros sobre el nivel del mar (msnm), y la vegetación consiste principalmente en bosques de pino y encino.

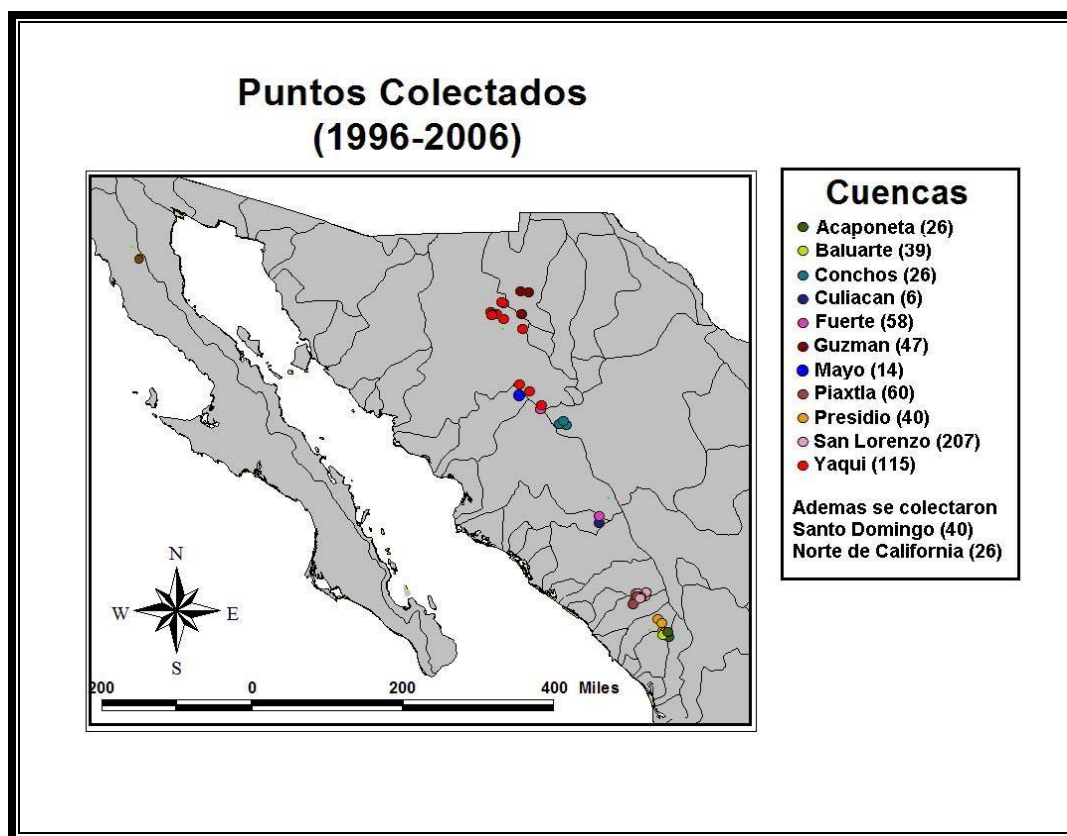


Figura 1. Áreas en donde se colectaron truchas mexicanas no descritas, truchas de las especies *O. mykiss nelsoni* (Santo Domingo) y *O. chrysogaster* (Fuerte y Culiacán) y además individuos provenientes de granjas trutícolas que se encuentran en el área de estudio. Cada punto representa una localidad colectada.

6.2 Trabajo de campo

De 1996 al 2006 con la participación de los miembros del grupo binacional denominado “Truchas Mexicanas” (http://www.utexas.edu/tmm/tnhc/fish/research/truchas_mexicanas) se realizaron 6 colectas en 49 localidades distintas en las cuencas arriba mencionadas, en la Tabla 1 del anexo 1 se muestran las localidades y su ubicación geográfica, para una representación gráfica ver Figura 1.

En la cuenca Guzmán se colectó en dos localidades: en el arroyo La Playa y en el arroyo Escalariado. En la cuenca del Yaqui se colectó en sus dos subcuencas: Bavispe, la cual está localizada al norte de la cuenca y la subcuenca Sirupa la cual está al sur. Dentro de la subcuenca del Bavispe se colectaron en los siguientes arroyos: Segundo de Mayo, El Arco, La Presita, Cuarteles, Las Guacamayas. En la subcuenca Sirupa se colectó en tres localidades: en los arroyos Tutuaca, Banderella y El Salto.

En la cuenca del río Mayo se colectó solo en una localidad denominada arroyo Candameña. En la cuenca del río Conchos se colectó en dos arroyos: Ureyña y Rituchi.

En la cuenca del Piaxtla se colectó en tres arroyos: Granizo, San Antonio y Cruz; mientras que en el San Lorenzo se colectó en cinco arroyos distintos: Las Veredas, Las Truchas, El Ojito, Cuevecillas y La Sidra, en este último se colectó en dos puntos separados por una gran cascada denominados para este trabajo como La Sidra Arriba de la cascada y la Sidra debajo de la cascada.

En la cuenca del Presidio se colectó en tres arroyos: Nogales, La Rosilla y Quebrada de Vega. En la cuenca del Baluarte se colectó solo en el arroyo Santa Bárbara y en la cuenca del Acaponeta se colectó en los arroyos Tanquecitos, y Cebollas.

En las cuencas del Fuerte y Culiacán, área de distribución de la especie *O. chrysogaster*, se colectó en tres localidades: La Onza y Aparique en el Fuerte y Agua Blanca en Culiacán.

Dentro del rango de distribución de la subespecie *O. m. nelsoni*, se colectó en el río Santo Domingo, este ubicado en el estado de Baja California.

En total se colectaron 713 individuos en las 12 cuencas hidrológicas del Noroeste de México y además, también se colectó en el río Middle Fork tributario de la cuenca del río Sacramento ubicada en el estado de California en Estados Unidos de América.

El arte de pesca que se utilizó fue principalmente la electropesca (Smith-Root modelo 15D) con ayuda de pequeñas redes y redes de cuchara. Una vez colectados los individuos se procedió a tomar una muestra de aleta pectoral o musculo para la obtención de ADN total. Los tejidos se preservaron en alcohol al 70% en tubos de 2 ml etiquetados con sus datos correspondientes.

Del total de los organismos colectados a lo largo de estos 10 años, 149 fueron genotipificados, analizados y publicados por Nielsen y Sage (2001); 127 fueron analizados por Anna George, en el Centro de Ciencias Biológicas de Alaska y aún no han sido publicados y en el presente trabajo se genotipificaron 437 organismos, haciendo un total de 713 organismos los cuales serán analizados conjuntamente.

6.3 Trabajo de laboratorio

El trabajo de laboratorio consistió en tres etapas: extracción de ADN total, estandarización de los microsatélites y genotipificación de los individuos.

6.3.1 Extracción de ADN total

Generalmente cualquier procedimiento empleado para la obtención de ADN implica cuatro pasos: lisis, desproteización, precipitación de ADN y su resuspensión. Esta técnica se basa en la lisis de membranas celulares y la separación posterior de las proteínas asociadas al ADN mediante la extracción con solventes orgánicos y precipitando por último el ADN del medio acuoso con alcohol absoluto.

Para este trabajo la extracción de ADN total se realizó siguiendo el método de extracción orgánica con proteinasa K descrita en Hillis *et al.* (1996) con algunas modificaciones (Anexo 10.1). Para verificar la calidad y concentración del ADN obtenido se visualizó mediante una electroforesis en geles de agarosa al 1% (buffer TAE 1X, 10 mg/L de bromuro de etidio) la cual se corrió bajo las siguientes condiciones: 100V y 75 mA durante 45 minutos. Una vez realizada la electroforesis los geles fueron visualizados y documentados en un fotodocumentador modelo ChemiDoc Gel Documentation Systems, marca Bio-Rad, modelo 2000TM.

Las extracciones de ADN se llevaron a cabo en el laboratorio de Biología Integrativa del Instituto Tecnológico de Cd. Victoria Tamaulipas y en el laboratorio de Genética de la Conservación del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste ambos a cargo del Dr. Francisco J. García de León.

6.3.2 Estandarización de los microsatélites y genotipificación de los organismos

Se utilizaron 11 *loci* microsatélites previamente seleccionados en base a su alto polimorfismo: Omy2, Omy27, Omy77, Omy207 y Omy235 aislados de la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*; Oneu8 y Oneu11 aislados de *O. nerka* (Walbaum, 1792), Ots1 obtenido de *O. tshawytscha* (Walbaum, 1792), Ssa14, Ssa85 y Ssa289 aislados de la especie *Salmon salar* (Linnaeus, 1758), Sfo8 aislado de *Salvenilus fontinalis* (Mitchill, 1814). En la tabla 1 se describen con mayor detalle las características de cada par de oligonucleotidos usados para amplificar los microsatélites.

La estandarización y posterior amplificación de los microsatélites se llevó a cabo en un termociclador marca Eppendorf modelos Mastercycler de 96 plazas, las condiciones de amplificación fueron 2X de Biomix el cual incluye Buffer, la Taq polimerasa y los Dideoxinucleotidos, y 0.2 μ M de los oligonucleótidos de inicio correspondientes, los programas de amplificación utilizados se describen en la Tabla I.

Para visualizar los fragmentos amplificados se realizaron electroforesis capilares utilizando un secuenciador automático de 8 capilares y 96 plazas marca Beckman Coulter modelo CEQ 8000 Genetic Analysis System, por lo cual cada uno de los oligonucleótidos de inicio fue marcado con 3 fluorocromos distintos y las condiciones de la electroforesis fueron las especificadas por el proveedor. Para determinar las tallas alélicas de los microsatélites se utilizó el software Fragment Analysis ver 6.0.75 (figura 1 y 2 del anexo).

La estandarización y genotipificación de los organismos se llevo a cabo en el Departamento de Biología de la Universidad de Saint Louis, en el Laboratorio a cargo del Dr. Richard Mayden, en Saint Louis, Missouri.

Tabla I. Iniciadores y programas de amplificación que fueron utilizados para cada uno de los *loci* microsatélites. M. O'Connell, Marine Gene Probe Laboratory, Dalhousie University (tomado de Nielsen y Sage, 2001)^a; Scribner *et al.*, 1996^b; Banks *et al.*, 1999^c; McConnell *et al.*, 1995^d; Angers *et al.*, 1995^e; Morris *et al.*, 1996^f.

Locus	Oligonucleótidos (5'-3')	Programa de Amplificación
Omy2^a	CTG CTG ATT CTC CCT GTT GC TCT ATA CTT CCA GAC AAT GGC	35 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 54°C – 15 seg. 72°C – 30 seg.
Multiplex		
Omy27^a,	TTT ATG TCA TGT CAG CCA CCA GTG	35 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 52°C – 15 seg. 72°C – 30 seg. 72°C – 1.5 min.
Omy207^a,	TTT ATG GCT GGC AAC TAA TGT	
	ACC CTA GTC ATT CAG TCA GG	
Oneu8^b	GAT CAC TGT GAT AGA CAT CG AAC ATT CTG GGA TGA CAG GGG TA CTG TTC TGC TCC AGT GAA GTG GA	
Multiplex		
Oneu11^b,	GTT TGG ATG ACT CAG ATG GGA CT	35 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 54°C – 15 seg. 72°C – 30 seg. 72°C – 1.5 min.
Omy325^a	TCT ATC TTT CCT GTC AAC TTC CA TGT GAG ACT GTC AGA TTT TGC CGG AGT CCG TAT CCT TCC C	
Ost1^c	GGA AAG AGC AGA TGT TGT T TGA AGC AGC AGA TAA AGC A	35 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 52°C – 15 seg. 72°C – 30 seg.
Ssa14^d	CCT TTT GAC AGA TTT AGG ATT TC CAA ACC AAA CAT ACC TAA AGC C	35 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 52°C – 15 seg. 72°C – 30 seg.
Ssa289^d	CTT TAC AAA TAG ACA GAC T TCA TAC AGT CAC TAT CAT C	35 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 50°C – 15 seg. 72°C – 30 seg.
Sfo8^e	CAA CGA GCA CAG AAC AGG CTT CCC CTG GAG AGG AAA	40 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 53°C – 15 seg. 72°C – 30 seg.
Omy77^f	CGT TCT CTA CTG AGT CAT GGG TCT TTA AGG CTT CAC TGC A	35 veces: { 94°C – 2min. 94°C – 15 seg. 54°C – 15 seg. 72°C – 30 seg.

6.4 Análisis de Datos

6.4.1 Descripción de la variabilidad genética

Para hacer la descripción de la variabilidad genética de los individuos provenientes de las cuencas muestreadas se estimaron los siguientes parámetros: frecuencias alélicas, número promedio de alelos por locus, así como la heterocigocidad esperada no sesgada (*Hens*) y la heterocigocidad observada (*Ho*). Estas estimaciones se calcularon en el paquete estadístico Genetix versión 4.01 (Belkhir *et al.*, 1998).

Se realizó el cálculo de la diversidad genética (Nei, 1987) mediante la fórmula:

$$H_{sk} = \frac{n_k}{n_k - 1} \left(1 - \sum p_{ik}^2 - H_{ok} / 2n_k \right)$$

Donde n_k es el tamaño de la muestra k , p_{ik} la frecuencia del alelo A_i en la muestra k y H_{ok} la proporción de heterocigocidad observada in la muestra k .

Además se calculo la riqueza alélica, esta última es una medida que nos indica el número de alelos, independientemente del tamaño de la población, lo que nos permite hacer comparaciones entre poblaciones con diferente tamaño de muestra, utilizando la siguiente fórmula:

$$R_s = \sum_{i=1}^{n_s} \left[1 - \frac{\binom{2N - N_i}{2n}}{\binom{2N}{2n}} \right]$$

Donde N_i es el número de alelos del tipo i entre los $2N$ genes. El término en la parte inferior de la sumatoria corresponde a la probabilidad de muestrear el alelo i al menos una vez en la muestra de tamaño $2n$.

Tanto los valores de diversidad genética como riqueza alélica fueron calculados usando el paquete FSTAT (Goudet, 2001).

6.4.2 Identificación de poblaciones

Debido a los pocos estudios genéticos que se han realizado en el complejo de truchas mexicanas, y aunado al hecho de que su morfología muestra una gran diversidad de morfos a lo largo del rango de distribución, el reconocimiento de especies o poblaciones ha sido difícil de determinar. Por otro lado, los estimadores de genética de poblaciones como el número de alelos promedio por locus, la heterocigocidad (*Hens* y *Hobs*) y la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) mediante el uso del estimado F_{IS} han demostrado ser útiles como pruebas indirectas para identificar poblaciones homogéneas.

Dentro de la genética de EHW se utiliza como hipótesis nula para determinar poblaciones genéticamente homogéneas a partir de las frecuencias alélicas y genotípicas de individuos diploides que se reproducen sexualmente al azar. En particular el estimador F_{IS} puede ser usado como una prueba de desviación a la panmixia (reproducción al azar) y por lo tanto al equilibrio de EHW en ausencia de cambio y bajo el balance entre la deriva genética y la mutación. Las hipótesis que se formulan con esta prueba son las siguientes:

La hipótesis nula (H_0) precisa la existencia de panmixia: $F_{IS} = 0$

La hipótesis alterna (H_a) propone la ausencia de panmixia: $F_{IS} \neq 0$

La interpretación de la hipótesis nula es que al interior de la población sus regímenes de reproducción son aleatorios y por lo tanto la población se encuentra en EHW. En la hipótesis alterna la interpretación es que al interior de la población los individuos no se reproducen de forma aleatoria y por lo tanto no se encuentran en equilibrio.

Este estimador varia entre -1 a +1, cuando F_{IS} tiene un valor negativo la interpretación es que hay un exceso de heterocigotos en la población, cuando F_{IS} es positivo la interpretación es que hay un déficit de heterocigotos en la población. El estimador F_{IS} fue calculado según Weir y Cockerham (1984) y de la significación estadística del estimador se evaluó en un sistema de 1000 permutaciones dentro del paquete Genepop web versión 4.0 (Rousset, 2007). Se realizaron correcciones de significancia estadística usando la prueba secuencial de Bonferroni (Rice, 1989).

Las pruebas anteriores fueron realizadas por cuencas, y solo en el caso particular del arroyo Aparique ubicado en la cuenca del Fuerte, éste se trato de manera individual ya que en un análisis preliminar mostró diferencias genéticas significativas con respecto a la otra localidad colectada en esta misma cuenta (datos no mostrados debido al tamaño de la información). Posteriormente se realizaron las mismas pruebas, pero agrupando a todas las poblaciones de las truchas no descritas como un solo grupo y éste grupo fue comparado con las especies descritas y analizadas en este estudio ver Tabla I del anexo.

6.4.3 Identificación de unidades taxonómicas y determinación del impacto de las truchas arcoíris exóticas

6.4.3.1 Análisis factorial de correspondencia

El Análisis Factorial de Correspondencia (AFC) es un análisis canónico multivariado adaptado para describir la asociación entre dos variables cualitativas. Este análisis se emplea como un estudio exploratorio para estimar la agrupación de unidades taxonómicas. El análisis consiste en una tabla de contingencia donde se cruzan las modalidades de dos variables. Al describir la asociación entre individuos y las modalidades de más de dos variables se habla de un análisis de correspondencia múltiple. Las variables cualitativas en el análisis son representadas por las frecuencias alélicas de las poblaciones. El AFC localiza, de acuerdo a su juego de características genéticas, a cada individuo en un hiperespacio de tantas dimensiones como modalidades. Este análisis permite expresar la tendencia de un elemento dado, ya sea un individuo o un alelo, que totaliza la inercia explicada por un factor y la que se representa en una nube de puntos. El AFC fue realizado en el paquete estadístico Genetix versión 4.01 (Belkhir *et al.*, 1998).

6.4.3.2 Método de reconstrucción filogenética.

Estimación de distancias genéticas

Para el presente trabajo se seleccionaron dos estimadores de distancias genéticas; la primera de ella es la distancia de la cuerda o recta en un espacio cartesiano D_{CE} propuesta por Cavalli-Sforza y Edward (1967). D_{CE} es una distancia geométrica que calcula las distancias de la cuerda de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$D_c = (2/\pi r) \sum_j^r \sqrt{2 \left(1 - \sum_i^{m_j} \sqrt{x_{ij} y_{ij}} \right)}$$

En donde, si se representa a dos poblaciones en la superficie de un hiperespacio multidimensional usando las frecuencias alélicas del locus j th, entonces D_{CE} del tal locus estará representado por la distancia de la cuerda entre las dos poblaciones, y el ángulo (θ_j) de las dos poblaciones está dado por la fórmula:

$$\theta_j = \sum_i^{m_j} \sqrt{x_{ij} y_{ij}}$$

Esta distancia no hace ningún supuesto respecto a una talla de población constante o tasas de mutación entre los *loci*. La magnitud de esta distancia no es proporcional al tiempo evolutivo, pero es generalmente usada para estimar con mayor probabilidad la correcta topología de los árboles entre especies o poblaciones estrechamente relacionadas sin asumir ningún modelo mutacional (Nei y Takezaki, 1996).

Con el objetivo de evaluar las relaciones genéticas a nivel individual, la segunda distancia que se seleccionó fue la denominada proporción de alelos compartidos D_{AS} (Chakraborty y Jin, 1993). Esta distancia es la estimación de la distancia genética más simple y su aplicación ha sido muy útil para la identificación de los límites de una población así como para asignar de manera particular individuos a su población de origen. La formula es la siguiente:

$$D_{AS} = (1 - P_S)$$

Donde P_S es la suma de los alelos compartidos en todos los *loci*/(2X número de *loci* comparados).

Para el cálculo de ambas distancias se utilizó el programa MICROSAT (Minch, 2001), en el caso de la primera distancia se calcularon 1000 replicas.

Construcción de cladogramas

Posteriormente y basado en las distancias calculadas se construyeron los cladogramas utilizando para esto el método del vecino más cercano (NJ) (Saitou y Nei, 1987) disponible en el programa PHYLIP 3.66 (Felsenstein, 2005).

Para estimar la confianza de la topología de los árboles obtenidos, basados en las distancias D_{CE} , se realizó un bootstrap sobre 1000 permutaciones y se compiló usando el programa CONSENSE disponible en PHYLIP.

En el caso de las distancias D_{AS} por pares de individuos, a partir de los agrupamientos obtenidos se calculó el porcentaje de individuos bien clasificados como pertenecientes a las distintas cuencas hidrológicas, para lo cual se analizó cada uno de los cladogramas externos obtenidos esperando que estuvieran formados por individuos pertenecientes a la misma cuenca, se contabilizó el número de individuos que cumplían con esta condición y a partir de esto, se estimó el porcentaje en base al total de los organismos muestreados en la cuenca en cuestión.

6.4.3.3 Análisis de grupos y asignamiento de individuos

Para comprobar los agrupamientos obtenidos de los cladogramas realizados, inferir flujo genético y determinar el impacto genético de las truchas exóticas, se realizó un análisis de grupos y asignamiento de individuos, usando el programa STRUCTURE ver. 2.2 (Pritchard *et al.*, 2000).

Este paquete implementa un modelo con probabilidad bayesiana que asume que cada grupo (para el caso de esta tesis, unidades taxonómicas) es modelado por un juego característico de frecuencias alélicas, donde X denota el genotipo de los individuos muestreados, Z son las poblaciones (desconocidas) de origen de los individuos, y P denota las frecuencias alélicas (desconocidas) en todas las poblaciones. Nótese que X , Z , P , representan vectores multidimensionales. El principal supuesto de este modelo es que las poblaciones se encuentran en EHW, bajo este supuesto cada alelo en cada locus y en cada

genotipo es un evento independiente de la distribución de frecuencias apropiada y este especifica completamente la distribución de probabilidad $\Pr(X | Z, P)$ dada en la siguiente ecuación:

$$\Pr(x_l^{(i,a)} = j | Z, P) = p_z^{(l)j}$$

Donde: $x_l^{(i,a)}$ es el genotipo del i th individuo en el l th locus, donde $i = 1, 2, \dots, N$; $l = 1, 2, \dots, L$; y $p_z^{(l)j}$ es la frecuencia del alelo j en el locus l en la población de origen del individuo i .

Debido a la imposibilidad de calcular exactamente esta distribución, se utiliza el método de Monte Carlo vía cadena de Markov para obtener una muestra aproximada de $(Z^{(1)}, P^{(1)})$, $(Z^{(2)}, P^{(2)})$, ..., $(Z^{(M)}, P^{(M)})$, a partir de $\Pr(Z, P | x)$ y posteriormente inferir Z y P .

Las aplicaciones de este método incluyen demostrar la presencia de estructura en las poblaciones, identificar distintas poblaciones, asignar individuos a las poblaciones e identificar migrantes así como mezcla de individuos sin asumir un proceso de mutación particular.

El modelo que se utilizó en este programa fue el de mezcla de poblaciones con 10,000 replicas durante el periodo de pre-simulación, posteriormente los valores de probabilidad fueron calculados después de 100,000 replicación subsecuentes. Se inicio con un valor de $K=1$ hasta 20, primeramente sin tomar en cuenta el grupo de donde provienen los individuos. Posteriormente se realizó la misma simulación descrita pero en este caso

considerando el grupo o población de origen. Esto se realizó para corroborar los resultados, además todas las simulaciones se repitieron 5 veces para asegurar la constancia del modelo.

Los datos obtenidos del programa STRUCTURE fueron graficados utilizando el programa DISTRUCT ver. 1.1 (Rosenberg, 2004), el cual muestra cada individuo como una línea formando parte de un segmento, este segmento está dividido entre K colores, que representan la probabilidad o coeficiente de que cada individuo pertenezca al grupo que fue asignado.

6.4.3.4 Análisis de genética de poblaciones

Estimación de F_{st}

Otra manera de realizar estudios de diferenciación genética es empleando los índices de fijación de Wright, estos pueden hacerse mediante la siguiente relación $F = 1 - (H_o/H_a)$, donde H_o es la heterocigocidad observada y H_a es la heterocigocidad calculada al equilibrio. Este índice ha sido desarrollado para describir las propiedades de las poblaciones naturales subdivididas (Wright, 1951) proponiéndose tres parámetros según una jerarquía en términos de individuos (i), subdivisiones (s) y población total (T):

En este caso solo F_{ST} (Weir y Cockerham, 1984) fue calculado para estimar las divergencias genéticas entre las posibles unidades taxonómicas corroborando los grupos obtenidos mediante los métodos previos.

Los valores de F_{ST} varían de 0 a 1, donde el valor 0 significa que no existe diferenciación entre las poblaciones consideradas y el valor +1 que la diferenciación es máxima. La significancia estadística de estos estimadores también fue probada mediante métodos de permutación de alelos en los *loci* usando el programa Genetix versión 4.01 (Belkhir *et al.*, 1998). Se realizaron correcciones de la significancia estadística usando la prueba secuencial de Bonferroni (Rice, 1989).

Estimación de flujo genético.

También se estimó el flujo genético (Nm) entre los individuos colectados en las distintas cuencas y subcuencas hidrológicas mediante la fórmula: $Nm = (1 - F_{ST}) / 4 * F_{ST}$ (Wright, 1969). Este análisis fue calculado en el paquete estadístico Genetix versión 4.01 (Belkhir *et al.*, 1998).

Análisis de varianza molecular (AMOVA)

En genética de poblaciones se puede investigar la estructura genética de las poblaciones usando como marco teórico el concepto de análisis de varianza, como fue inicialmente propuesto por Cockerham (1969; 1973). Al definir a las poblaciones, en este caso las posibles unidades taxonómicas, se define también una estructura genética particular que se desea probar. El análisis jerárquico separa la varianza total en sus componentes debido a diferencias intra-individual, diferencias inter-individual y/o

diferencias intra-población (Excoffier *et al.*, 1992). Este análisis fue realizado usando el estimador R_{ST} (suma de cuadrados de la diferencia del número de repeticiones) el cual a diferencia del F_{ST} considera el número de veces que se repite el microsatélite. Este análisis se realizó dentro del programa computacional Arlequín ver. 3.0 (Excoffier *et al.*, 2005).

7 RESULTADOS

Se conjunto una base de datos consiste de 713 individuos pertenecientes a 49 localidades en 12 cuencas hidrológicas del Noroeste de México y 1 cuenca del estado de California en Estados Unidos de América, los cuales fueron genotipificados con 11 *loci* microsatélites.

7.1 Descripción de la variabilidad genética

Riqueza alélica

En la Tabla II se muestran los resultados de riqueza alélica, diversidad genética y los valores de heterocigocidad.

Los valores de riqueza alélica se encontraron en un rango de 1.707 a 4.800, presentando los menores valores en el arroyo Aparique (1.707) seguido del Conchos (1.718) y del Guzmán (1.804); los mayores valores los presentaron el Presidio (4.243) seguido de la Acuacultura (4.800). En lo que respecta a lo valores de diversidad genética, se observó la misma tendencia, los menores valores fueron de Fuerte-Aparique (0.219) seguido del Guzmán (0.252) y del Conchos (0.263); los mayores valores los presentaron el Presidio (0.707) seguido de la Acuacultura (0.780).

Los valores más elevados de heterocigocidad observada los presentaron los organismos provenientes de la Acuacultura (0.7234) mientras que los valores mas

pequeños los presentaron los individuos del Conchos (0.0855) y del arroyo Aparique de la cuenca del Fuerte. En lo que respecta a los valores de heterocigocidad esperada no sesgada, los valores mas altos los presentaron nuevamente Acuacultura (0.7562) y Presidio (0.7169), y por el contrario los valores mas bajos los presento nuevamente la población del arroyo Aparique (0.1982).

Tabla II. Valores de riqueza alélica y diversidad genética calculados en el programa FSTAT (Goudet, 2001) y los valores de heterocigocidad esperada no sesgada (*Hens*) y heterocigocidad observada (*Hobs*) en la cuencas del complejo de truchas mexicanas, estos últimos calculados en el programa Genepop (Rousset, 2007).

CUENCA	Riqueza Alélica	Diversidad Genética	Hens	Hobs
Guzman	1.804	0.252	0.2304	0.1996
Yaqui	3.389	0.547	0.5675	0.393
Mayo	2.560	0.409	0.398	0.2956
Conchos	1.718	0.263	0.2624	0.0855
San Lorenzo	3.969	0.605	0.5807	0.4496
Piaxtla	2.371	0.418	0.396	0.2746
Presidio	4.263	0.707	0.7169	0.5663
Baluarte	3.953	0.532	0.5483	0.4795
Acaponeta	3.675	0.664	0.6787	0.5976
Santo Domingo <i>O. mykiss nelsoni</i>	2.431	0.412	0.4186	0.3326
California <i>O. mykiss</i>	3.891	0.689	0.6878	0.6508
Acuacultura <i>O. mykiss</i>	4.800	0.750	0.7582	0.7234
Fuerte-Culiacán <i>O. chrysogaster</i>	2.806	0.466	0.6173	0.5433
Fuerte-Aparique	1.707	0.219	0.1982	0.1208

En la Tabla XIII del anexo se muestran los rangos de talla alélicas y el número de alelos encontrados en las diferentes cuencas hidrológicas así como de los individuos provenientes de la acuicultura. Es importante remarcar que los individuos de la cuenca de San Lorenzo así como los de Acuicultura presentaron el mayor número de alelos en la mayoría de los *loci*, por el contrario los individuos colectados en el arroyo de la cuenca del Fuerte resultaron ser los menos diversos.

Frecuencias alélicas

En las Tablas de la II a la XII del anexo se muestran los resultados del cálculo de frecuencias alélicas, las cuales fueron estimadas de la siguiente manera: en el caso de las truchas no descritas, las frecuencias fueron calculadas por cuencas con excepción del arroyo Aparique, el cual pertenece al Fuerte por presentar diferencias genéticas marcadas (análisis previo no mostrado). Las truchas descritas (*O. chrysogarter*, *O. mykiss* y *O. mykiss nelsoni*) fueron agrupadas por especies, así mismo las truchas colectadas en las distintas estaciones de acuicultura fueron agrupadas en un mismo grupo sin importar el origen geográfico de las estaciones de acuicultura. A continuación se describen los resultados más relevantes de este descriptor de la diversidad genética.

El locus Omy2 resultó ser el más diverso, con un total de 49 alelos. Los individuos pertenecientes a la especie *O. chrysogaster* colectados en las cuencas Fuerte y Culiacán presentaron 5 alelos exclusivos y los de menor talla (87, 89, 93, 99, 101 valores dados en pares de bases (pb). Los individuos de la cuenca San Lorenzo presentaron 2 alelos exclusivos para este locus aunque de baja frecuencia (111, 1.12% y 205, 0.28%). La

población proveniente de California presentó 5 alelos exclusivos (113, 163, 165, 167 y 171) así como 2 alelos más que comparte solo con los individuos provenientes de la acuicultura (161, 169); el alelo 147 fue exclusivo de las poblaciones de la cuenca Santo Domingo (*O. mykiss nelsoni*) con una frecuencia del 50%. En la cuenca Acaponeta se encontraron 2 alelos exclusivos (203, 207), finalmente los individuos colectados en distintas estaciones de acuicultura presentaron 6 alelos exclusivos de baja frecuencia (221, 223, 224, 225, 226, 228).

Para el locus Omy27 se encontraron 8 alelos de los cuales el alelo 115 se encuentra exclusivamente en las poblaciones de las cuencas de Yaqui y Mayo. En el locus Omy77 se encontraron 24 alelos, de los cuales el alelo 107 se encuentra únicamente en los individuos provenientes del estado de California y en los individuos provenientes del arroyo Aparique el cual se encuentra en la parte Norte de la cuenca del Fuerte con frecuencias alélicas distintas al resto de los individuos pertenecientes a la especie *O. chrysogarter*, que también se distribuyen en esta cuenca, por este motivo el arroyo Aparique fue analizado de manera independiente. El alelo 113 se encuentra solo en las poblaciones de Acuicultura y en la cuenca de Santo Domingo aunque en ambos casos en baja frecuencia. El alelo 117 se encontró casi exclusivamente en las cuencas Guzmán y Yaqui y en muy poca frecuencia en las muestras de la cuenca de California. Todos los individuos provenientes de la cuenca de Conchos presentaron el alelo 123 que comparten con las poblaciones del Yaqui y de Acuicultura pero en estas últimas, en una frecuencia menor al 1%. El alelo 133 se presentó exclusivamente en las muestras de Acuicultura con una frecuencia de 7.6%. El alelo 135 es exclusivo de las poblaciones provenientes del Mayo y del Fuerte (6.7% y 5.4%

respectivamente). Por último el alelo 137 se presentó en los individuos de California (23%), y de la especie *O. chrysogaster* (30%), además estos últimos presentaron de manera exclusiva el alelo 139 (65%).

En el locus Omy207 se encontraron 31 alelos de los cuales el alelo 99 se observó solo en California (2%). El alelo 103 fue exclusivo de la cuenca del Guzmán aunque en muy baja frecuencia. El alelo 111 fue exclusivo de las cuencas norteñas Guzmán, Yaqui y Mayo (23%, 27% y 53% respectivamente). El alelo 129 se presentó solo en las poblaciones de California (27%) y de Acuacultura (3%) aunque en esta última en muy baja frecuencia. El alelo 143 y el 147 fueron exclusivos de Santo Domingo (15% y 81% respectivamente). Los alelos 171, 179, 183, 189 se presentaron exclusivamente en los individuos de la especie *O. chrysogaster*.

En el locus Omy325 se presentaron 27 alelos, de los cuales el alelo 101 se encontró solo en las poblaciones del Yaqui (12%) y en el Conchos (37%). El alelo 107 se presentó en 93% en los individuos del Mayo en el Yaqui (5%) y en el Guzmán (1%). El alelo 129 se encontró en la población de California con una frecuencia de 14% y en la población de San Lorenzo aunque con una frecuencia del 1.7%. Además San Lorenzo compartió con Piaxtla el alelo 133 (13% y 56%). Finalmente los alelos 208 y 212 se encontraron exclusivamente en la población denominada Aparique (8% y 70%).

Para el locus Oneu8 se observaron 15 alelos siendo el 160 exclusivo de los individuos de California (2%). El alelo 165 se presentó solo en las cuencas del Guzmán (99%), Yaqui (38%) y Mayo (70%). Además el Yaqui contó casi exclusivamente con el

alelo 167 (27%) compartiéndolo solo con San Lorenzo (3%). El alelo 171 se encontró solamente en Mayo (10%), Santo Domingo (10%) y Acuacultura (5%). Los alelos 175 y 183 se encontraron solo en California (17% y 10%).

El locus Oneu11 fue el menos polimórfico ya que solo presento 5 alelos de los cuales solo el alelo 153 fue exclusivo de Santo Domingo (29%).

En el locus Ots1 se presentaron 24 alelos, de los cuales 4 se presentaron solamente en las cuencas norteñas Guzmán, Yaqui, Mayo y Conchos como de describe a continuación. El alelo 223 se encontró en Yaqui (24%) y Mayo (20%), el alelos 225 fue exclusivo del Yaqui (5%), el alelo 227 se presento en el Guzmán y Conchos en ambos con frecuencia del 100%, en el Yaqui 70% y en el Mayo 74%.

En el locus Sfo8 se observaron 29 alelos de los cuales nuevamente 3 alelos se presentaron en las cuencas norteñas: el alelos 225 se encontró en el Guzmán (54%), Yaqui (92%), Mayo (83%) y Conchos (100%), el alelo 231 se observó en las cuencas Guzmán con 46% y Yaqui con 5%. Los alelos 193 y el 235 solo se observaron en las poblaciones de California con frecuencia del 75% y 10% respectivamente. El alelo 257 solo se observó en las cuencas San Lorenzo (20%) y Piaxtla (11%). El alelo 259 fue exclusivo del Santo Domingo con frecuencia de (48%). Por ultimo el alelo 263 se observo solo en el Piaxtla (15%).

El locus Ssa14 fue el segundo mas polimórfico con 41 alelos de los cuales los alelos 112, 122, 128 se observaron solo en la población proveniente de California (37.5%, 6.2%,

6.2%). El alelo 132 se presentó en las cuencas Guzmán (15%) y Yaqui (7%). El alelo 154 se presentó casi exclusivamente en el arroyo Aparique (68%) compartiéndolo solo con California (6%) y las muestras de la especie *O. chrysogaster* (7%). El alelo 166 es exclusivo de California (19%), los 168 y 170 fueron casi exclusivos del Conchos, ambos con frecuencia 18%, estos mismos alelos fueron observados en *O. chrysogaster* aunque en muy baja frecuencia (2% y 4%); así mismo los individuos de *O. chrysogaster* mostraron de forma exclusiva los alelos 172, 178, 180 y 192, todos en muy baja frecuencia. El alelo 208 fue exclusivo del Yaqui (4%) y Mayo (38%). El alelo 210 se observó solo en las poblaciones del Conchos (11%) así como los alelos 220 (11%) y 294 (8%).

Por último el locus Ssa289 presentó 11 alelos de los cuales los alelos 104 y 108 se observaron solo en las cuencas Yaqui (11%, 81%), Mayo (30% y 60%) y Conchos (95% y 5%). Y el alelo 126 solo se observó en los individuos de California (16%) y Acuacultura (1%).

7.2 Descripción de la diversidad genética de los organismos analizados agrupados *a priori* como una primera aproximación a identificar poblaciones

Con la finalidad de tener una primera aproximación a la identificación de las poblaciones de truchas se comparó las especies descritas (*O. chrysogaster*, *O. mykiss* y *O. mykiss nelsoni*) colectadas en este trabajo con las poblaciones de truchas no descritas según la Tabla I de los anexos. Los estimadores que se utilizaron para esta comparación fueron el

número promedio de alelos por locus, la heterocigocidad esperada no sesgada (*Hens*), heterocigocidad observada (*Hobs*) y equilibrio de Hardy-Weinberg a partir del estimador F_{IS}

En la Tabla III se muestran los resultados de las anteriores comparaciones. El mayor número de alelos por locus se encontró en el grupo denominado truchas no descritas en donde se presentaron 20 alelos por locus y el número más bajo lo presentaron las truchas de la subespecie *O. mykiss nelsoni* con solo 3.4 alelos por locus. El resto presentaron alrededor de 6 alelos por locus. De la misma manera las truchas no descritas mostraron el mayor valor de *Hens* (0.7894) y nuevamente *O. mykiss nelsoni* presentó el valor más bajo (3.4), esto debido a la diferencia en el número promedio de alelos por locus. Con respecto a los valores de *Hobs* contrario a lo anterior las truchas mexicanas mostraron valores muy por debajo de lo esperado (0.3904), el mayor valor lo presentaron las truchas de la especie *O. mykiss*. Por otro lado, los resultados de la prueba EHW multilocus mostraron que las truchas *O. mykiss nelsoni* así como las truchas no descritas se encontraron en desequilibrio de HW, mientras que las truchas arcoíris (*O. mykiss*) y las truchas doradas mexicanas (*O. chrysogaster*) se encontraron en equilibrio.

Tabla III. Valores de variabilidad genética multilocus en base a 11 *loci* microsatélites y obtenidos mediante los programas Genetix (Belkhir *et al.*, 1998) y Genpop (Rousset, 2007). $P \leq 0.01$ después de la prueba secuencial de Bonferroni (Rice, 1989).

Especie	Alelos prom. por Locus	<i>Hens.</i>	<i>Hobs</i>	F_{IS}
<i>O. mykiss</i> (n=26) Río Middle Fork, California	6.7	0.6878	0.6508	0.0542 (P=0.040)
<i>O. mykiss nelsoni</i> (n=40) Río Santo Domingo	3.4	0.4186	0.3326	0.2007 (P=0.000)
Truchas no descritas (n=516)	20	0.7894	0.3904	0.5069 (P=0.000)
<i>O. chrysogaster</i> (n=64) Fuerte y Culiacán	6.08	0.6173	0.5433	0.3878 (P=0.030)

7.3 Identificación de unidades taxonómicas

7.3.1 Análisis factorial de correspondencia (AFC)

El AFC es un análisis exploratorio que solo permite visualizar la diferenciación genética de las poblaciones. Se realizó un AFC con los datos de frecuencias alélicas de los 11 *loci* microsatélites ordenando los sitios de colecta descritos en la Tabla I por cuenca hidrológica, se incluyó a los individuos provenientes de la acuicultura como un grupo más. En la Figura 2 se muestra un gráfico de tres dimensiones del AFC. El porcentaje de varianza total explicada por este análisis fue de 41.26%, los factores 1, 2 y 3 con un porcentaje de 18.12%, 12.52% y 10.62% respectivamente. Aunque el porcentaje de inercia es bajo, se puede no obstante observar una tendencia en la formación de grupos, en la parte

derecha de la figura se agrupan los individuos que pertenecen a las cuencas Guzmán, Yaqui, Mayo y Conchos. En la parte izquierda se observan tres grupos, el primero formado por los individuos *O. mykiss nelsoni* colectados en la cuenca de Santo Domingo, también se demarca un grupo mayor formado por individuos de las cuencas San Lorenzo, Piaxtla, Presidío, Baluarte, Acaponeta, además en este mismo grupo se encontraron los individuos provenientes de las distintas acuaculturas, así como los individuos colectados en el Río Middle Fork en California, identificados como *O. mykiss*. El ultimo grupo esta formado por las truchas doradas mexicanas (*O. chrysogaster*) colectadas en las cuencas Fuerte y Culiacán

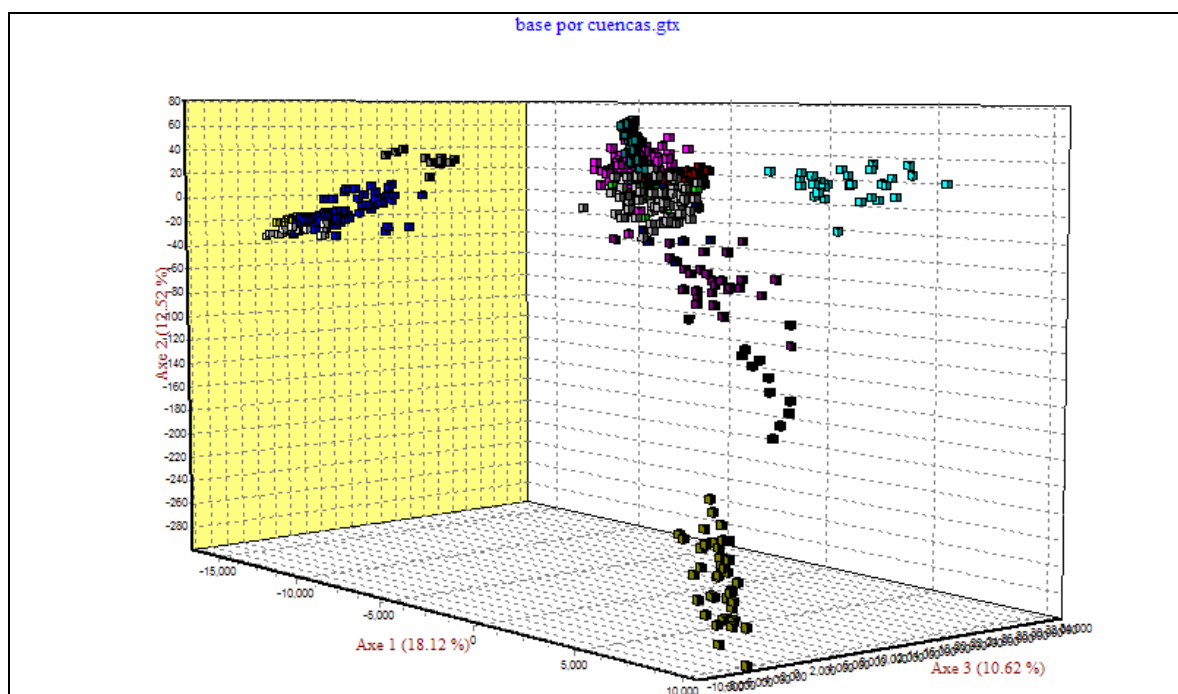


Figura 2. Análisis factorial de correspondencia (AFC) realizado con las frecuencias alélicas de 11 *loci* microsatélites en las poblaciones de truchas mexicanas del Noroeste de México y truchas arcoíris introducidas y de California, Estados Unidos.

Es evidente que este método exploratorio no es lo suficientemente poderoso para distinguir diferencias genéticas entre las potenciales unidades taxonómicas, así y a pesar de haber notado una aparente agrupación (Cuencas Norteñas a la izquierda, Cuencas Sureñas a la derecha junto con Acuacultura y la agrupación de las especies descritas), no se puede asegurar la homogeneidad de los grupos formados.

7.3.2 Método de reconstrucción filogenética

Se construyó un árbol filogenético con la finalidad de identificar unidades taxonómicas, la Figura 3 muestra un árbol reconstruido mediante el algoritmo del vecino mas cercano (NJ) no enraizado y basado en distancias D_{CE} (Distancia de la cuerda) de Cavalli-Sforza y Edward (1967). En este árbol se observa primeramente un clado con un soporte del 100% en el que se encuentran las poblaciones pertenecientes a la cuenca del Guzmán y la de la subcuenca del Bavispe perteneciente del Yaqui. Se aprecia también, un segundo clado pero con un menor soporte (41%) que agrupa a una población de la cuenca del Mayo y las poblaciones de la parte sur de la cuenca del Yaqui las cuales pertenecen a la subcuenca de Río Sirupa la cual colinda con la cuenca del Mayo.

Un tercer clado con un soporte del 90% estuvo conformado por dos poblaciones de la cuenca del Conchos. En el cuarto clado también con un alto soporte (100%) se agrupan los individuos descritos pertenecientes a la especie *O. chrysogaster*, los cuales fueron colectados en las cuenca del Fuerte y Culiacán. En un quinto clado se agruparon los

individuos de *O. mykiss nelsoni* del Río Santo Domingo y el arroyo Aparique perteneciente a la cuenca del Fuerte, el cual presenta alelos y frecuencias alélicas muy distintas a aquellos encontradas en las poblaciones donde se distribuyen las truchas doradas mexicanas (*O. chrysogaster*).

En un sexto clado también bien soportado (89%) se agrupan las poblaciones de las cuencas San Lorenzo y Piaxtla. Por último en el séptimo clado con un soporte del 32%, se agrupa las poblaciones de las cuencas Acaponeta, Presidio y Baluarte, en este séptimo clado se separan dos clados externos, en el primero con un 73% de bootstrap, se agrupan los individuos colectados en las granjas trutícolas localizadas en tributarios de las Cuencas San Lorenzo, Fuerte, Presidio e individuos provenientes de una granja trutícola del Estado de México; el segundo clado con un soporte del 90% se agrupan individuos del arroyo La Sidra perteneciente a la cuenca del San Lorenzo, los cuales provienen de dos localidades, una primera colectada arriba de una cascada localizada en este arroyo y la segunda localidad después de la cascada.

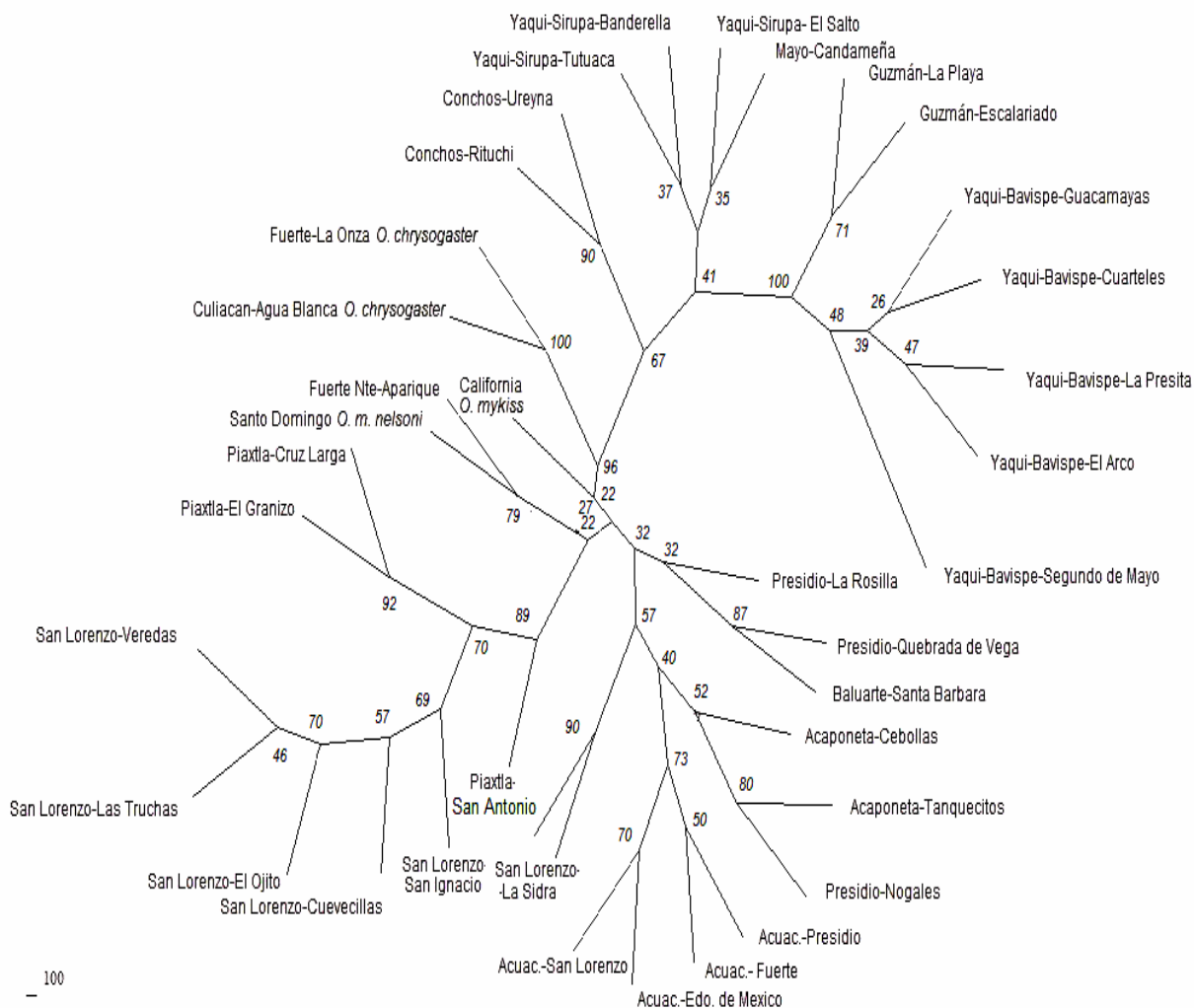


Figura 3. Cladograma reconstruido mediante el método de vecino más cercano (NJ) no enraizado, basado en distancias D_{CE} (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) por pares de poblaciones usando 11 *loci* microsatélites. En el tratamiento de los datos se empleó cada localidad muestreada como se muestra en la Tabla I del anexo del complejo de truchas mexicas y truchas arcoíris exóticas. El soporte de las ramas se realizó mediante Bootstrapping con 1000 permutaciones.

Con la intención de comprobar la agrupación encontrada en el cladograma anterior, se calcularon las distancias de Chakraborty y Jin (1993) (D_{AS}), por pares de individuos entre todos los individuos que compone la base de datos totales, es decir los 713 individuos, con estas distancias se construyó un árbol NJ no enraizado (debido a lo extenso del árbol estos resultados no se muestran), y posteriormente se calculó los porcentajes de individuos que se agruparon correctamente en las cuenca hidrológica consideradas en este estudio.

Tabla IV. Proporción de individuos bien agrupados en las cuencas hidrológicas donde se distribuye el complejo de truchas mexicanas y truchas arcoíris exóticas mediante el cálculo de las distancias D_{AS} (Chakraborty y Jin, (1993) y la construcción de árboles del vecino más cercano (NJ).

Cuenca	Porcentaje de Individuos bien agrupados
Guzmán	95.74
Yaqui	98.26
Mayo	92.85
Conchos	92.30
Fuerte	100
Culiacán	100
San Lorenzo	96.64
Piactla	100
Presidio	89.65
Baluart	87.17
Acaponeta	84.61
Santo Domingo	100
California	100
Acuacultura	90.78

En la tabla IV se muestra los resultados de la proporción de individuos bien agrupados por cuencas, los individuos provenientes de las cuencas del Fuerte, Culiacán,

Piactla, Santo Domingo y California presentaron los valores más altos (100%) y aquellos de las cuencas del Presidio, Baluarte y Acajoneta presentaron los valores más bajos con 89.65%, 87.17% y 84.61% respectivamente.

Tomando en cuenta el cladograma de la figura 3, así como los resultados del cladograma por individuos (resultados no mostrados) y el cálculo de individuos bien clasificados, se observó que los individuos provenientes de la Acuacultura, del río Middle Fork en California, Estados Unidos y del arroyo La Sidra estuvieron estrechamente relacionados genéticamente, por lo que se consideró que estas poblaciones de nativas pudieron haber estado impactados por la acuacultura y con la finalidad de buscar una mayor resolución en la asociación genética que existe entre las poblaciones nativas, estas poblaciones se excluyeron para la reconstrucción de un segundo cladograma. Así mismo, en este segundo cladograma los datos genéticos de los individuos colectados en cada una de las localidades descritas en la Tabla I del anexo se agruparon por cuencas con excepción de la cuenca de Yaqui, la cual en el cladograma de la figura 3 mostró diferencias genéticas entre sus dos subcuencas, por lo que para esta cuenca los individuos se agruparon por subcuencas. También se utilizó como grupo externo a los individuos clasificados como *O. chrysogaster* de las cuencas Fuerte y Culiacán.

En la figura 4 se muestra este segundo cladograma, en el cual se aprecian dos grandes clados (soportados con 100% de bootstrap), en el primero se agrupa los individuos de las cuencas norteñas (Guzmán, Yaqui con sus dos subcuencas, Mayo, Conchos, la subespecie *O. m. nelsoni* de la cuenca del Santo Domingo y el arroyo Aparique

perteneciente a la cuenca del Fuerte); y el segundo clado agrupa los individuos de la cuencas sureñas (San Lorenzo, Piaxtla, Presidio, Baluarte y Acaponeta).

Al interior del clado norteño se observa 2 subgrupos con bajos soporte (25%): uno complejo y bien soportado (98%) constituido por los individuos de las cuencas del Conchos, Yaqui-Bavispe, Guzman, Yaqui-Sipura, Mayo (67%); y otro segundo formado por los individuos del Fuerte-Aparique y *O. mykiss Nelson*.

Dentro del clado complejo de truchas norteñas se destaca las truchas de la cuenca del Conchos que se separa del resto (98%), las cuales se subdividen en dos clados bien soportados (85%); uno constituido por las truchas de la cuenca Guzmán y la subcuenca Yaqui-Bavispe (100%); y otro formado por las truchas de la subcuenca Yaqui-Sirupa y la cuenca del Mayo (67%).

Al interior del clado sureño se observaron dos subgrupos con bajos valores de bootstrap (47%): el primero formado por truchas de las cuencas San Lorenzo y Piaxtla con un soporte del 97%; y el segundo formado por las cuencas del Baluarte (91%) por un lado y por el otro un clado terminal conformado por las truchas de las cuencas de la Acaponeta, Presidio (92%).

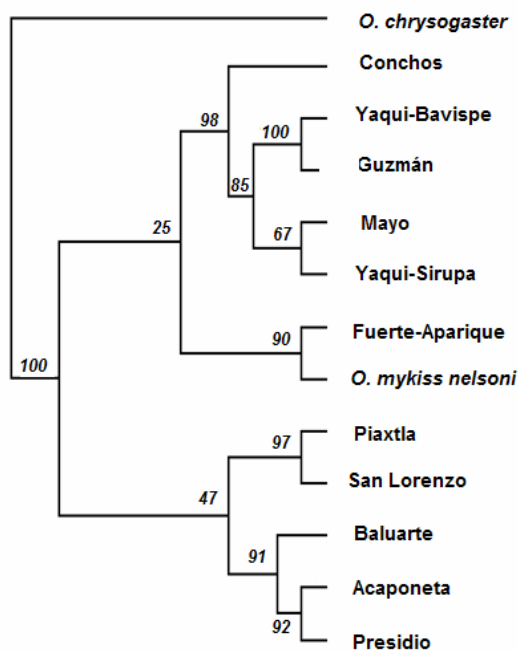


Figura 4. Cladograma reconstruido a partir del algoritmo del vecino más cercano (NJ) enraizado, basado en distancias DCE (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) usando 11 *loci* microsatélites. Las localidades descritas en la Tabla I se agruparon por cuencas para describir las relaciones filogenéticas del complejo de truchas mexicas. Se empleó bootstrapping con 1000 permutaciones para soportar los clados.

7.3.3 Análisis de grupos y asignación de individuos.

Para verificar el agrupamiento obtenido de los cladogramas basados en distancias, se utilizó un método bayesiano de asignación, en la figura 5 se muestran los resultados obtenidos. El número de grupos que mejor soportó el modelo fue 15. Se observa en la figura que los grupos 1, 2 y 3 corresponden a las truchas de las subcuencas Guzmán y Yaqui-Bavispe; Yaqui-Sirupa y Mayo; y de la cuenca de Conchos respectivamente, los 3

grupos están aislados y sin o escaso flujo genético entre ellos mismos u otros grupos como se aprecia en la coloración más o menos uniforme de cada grupo.

El grupo 4 lo constituyen los individuos de la localidad arriba de la cascada en La Sidra del río San Lorenzo, en este grupo se observan individuos con genotipos que se asemejan a diferentes grupos (color verde de San Lorenzo y rosa de acuacultura), la alta frecuencia de similitud genética de la acuacultura hace suponer que las truchas de la parte de arriba de la cascada del arroyo La Sidra de la cuenca del río San Lorenzo tienen un alto riesgo de ser introgradadas por las truchas arcoíris exóticas.

El grupo 5 esta formado por organismos colectados en el mismo Arroyo La Sidra, pero debajo de la cascada, aparentemente la cascada puede estar funcionando como una barrera física y podría estar manteniendo a esta población aislada, lo que la hace poseer una identidad genética única.

El grupo 6 esta formado por el resto de los individuos provenientes de la cuenca San Lorenzo, también muestra poco indicios de heterogeneidad genética y el grupo 7 esta formado por los individuos colectados en la cuenca Piaxtla; en la figura se puede apreciar que en este grupo 7 existe un cierto grado de mezcla en colores morado y verde, lo cual es indicativo que los individuos colectados en la cuenca del Piaxtla muestran grados importantes de flujo genético con las truchas colectadas en la cuenca San Lorenzo, estas localidades son: El Granizo y San Antonio (ver Tabla I del anexo).

Los grupos 8, 9 y 10 están formados por las truchas colectadas en las cuencas del Presidio, Baluarte y Acaponeta, la mezcla de colores indica flujo genético entre ellos así como una cierta introgresión por parte de las truchas exóticas cultivadas.

Los grupos 11, 12 y 13 están conformados por los individuos de las especies *O. chrysogaster* (Fuerte y Culiacán), *O. mykiss nelsoni* (Santo Domingo) y *O. mykiss* (California) respectivamente, todos ellos aislados y sin flujo genético con respecto a otras cuencas.

En el grupo 14 se agruparon todos los individuos provenientes de la acuicultura. Finalmente el grupo 15 esta formado por los organismos colectados en el arroyo Aparique tributario el río Fuerte, esta localidad también se encuentra sin flujo genético con otras localidades.

Estas agrupaciones de las unidades taxonómicas coincide con lo obtenido en los cladogramas basados en distancias genéticas.

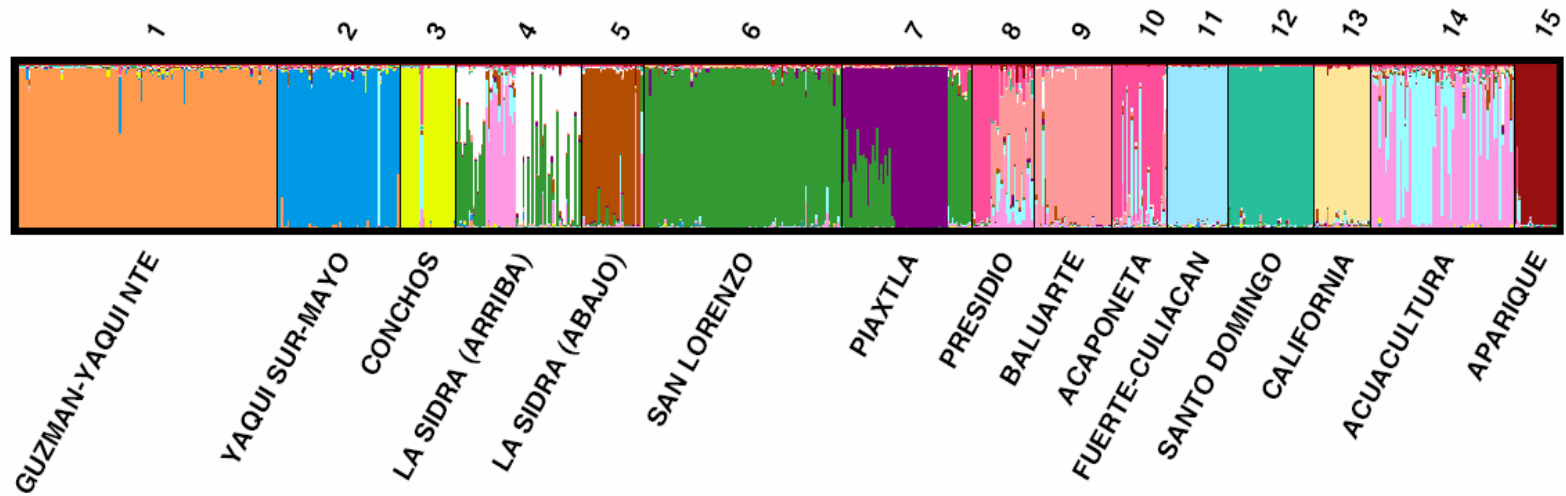


Figura 5. Poblaciones obtenidos a partir del programa STRUCTURE ver. 2.2 (Pritchard *et al.*, 2000). El genoma de cada individuo esta representado como una línea vertical muy delgada coloreada en segmentos dependiendo a la población a la que fue asignada.

7.3.4 Métodos de genética de poblaciones

Estimación de F_{ST}

En la diagonal superior de la Tabla V se muestran los resultados de los valores de F_{ST} por pares calculados de acuerdo a los grupos o unidades taxonómicas obtenidas a partir de los cladogramas y métodos bayesianos.

Todos los valores de F_{ST} resultaron ser altamente significantes con valores de $P = 0.000$. Los valores obtenidos oscilan entre 0.062 entre la Acuacultura y Acaponeta, hasta 0.745 entre Fuerte Norte (Aparique) y Guzmán. Con estos resultados se confirman los resultados que se obtuvieron en los análisis anteriores.

Estimación de flujo genético Nm .

Los resultados de Nm por pares los grupos de truchas conformados mediante los métodos de reconstrucción filogenético y bayesianos se muestran en la diagonal inferior de la Tabla V. Los pares de poblaciones que mostraron valores de 1 o más de migrantes efectivos fueron: La Sidra – Presidio, La Sidra – Acaponeta, La Sidra – California, La Sidra – Fuerte, La Sidra – Acuacultura, Presidio – Baluarte, Presidio – Acaponeta, Presidio – California, Presidio – Acuacultura, Acaponeta – Acuacultura, California – Acuacultura, Fuerte Norte (Aparique) – Fuerte. Estos resultados confirman los resultados encontrados en

los análisis anteriores y precisan que los niveles de flujo genético son relativamente importantes entre algunas cuencas.

Tabla V. Valores reales de F_{ST} en la diagonal superior y migrantes eficaces (Nm) en la parte inferior obtenidos a partir del paquete Genetix versión 4.01 (Belkhir *et al.* 1998), para cada par de poblaciones en el complejo de truchas mexicanas agrupadas por cuencas y subcuencas conforme a los análisis bayesianos y de reconstrucción filogenética. Los valores altamente significativos después de la prueba secuencial de Bonferroni (Rice, 1986) se muestran en negrilla ($P \leq 0.0003$)

		<i>Valores de F_{ST}</i>															
	Guzman	Yaqui Norte	Yaqui Sur	Mayo	Conchos	La Sidra	San Lorenzo	Piaxtla	Presidio	Baluarde	Acaponeta	Santo Domingo <i>O.m nelsoni</i>	California <i>O. mykiss</i>	Fuerte <i>O. chrysogaster</i>	Culiacan	Fuerte Norte	Acuac.
Guzman		0.247	0.427	0.576	0.687	0.414	0.668	0.649	0.510	0.577	0.527	0.669	0.533	0.576	0.693	0.745	0.437
Yaqui Norte	0.76		0.297	0.399	0.566	0.374	0.611	0.587	0.434	0.499	0.452	0.590	0.448	0.495	0.568	0.637	0.380
Yaqui Sur	0.33	0.59		0.227	0.407	0.268	0.515	0.448	0.293	0.388	0.303	0.470	0.307	0.369	0.436	0.498	0.256
Mayo	0.18	0.38	0.85		0.603	0.376	0.655	0.601	0.407	0.510	0.427	0.588	0.428	0.497	0.634	0.679	0.344
Conchos	0.11	0.19	0.36	0.16		0.396	0.679	0.621	0.460	0.567	0.473	0.635	0.503	0.552	0.693	0.720	0.368
La Sidra	0.35	0.42	0.68	0.42	0.38		0.234	0.251	0.112	0.211	0.118	0.345	0.179	0.190	0.248	0.366	0.084
San Lorenzo	0.12	0.16	0.24	0.13	0.12	0.82		0.315	0.414	0.481	0.490	0.565	0.447	0.477	0.565	0.616	0.379
Piaxtla	0.14	0.18	0.31	0.17	0.15	0.75	0.54		0.348	0.436	0.431	0.532	0.408	0.445	0.523	0.555	0.332
Presidio	0.24	0.33	0.6	0.36	0.29	1.99	0.35	0.47		0.146	0.089	0.324	0.179	0.240	0.302	0.320	0.076
Baluarde	0.18	0.25	0.4	0.24	0.19	0.94	0.27	0.32	1.46		0.273	0.446	0.301	0.352	0.434	0.436	0.222
Acaponeta	0.22	0.3	0.58	0.34	0.28	1.87	0.26	0.33	2.56	0.67		0.393	0.208	0.261	0.340	0.426	0.062
Santo Domingo	0.12	0.17	0.28	0.17	0.14	0.47	0.19	0.22	0.52	0.31	0.39		0.377	0.456	0.552	0.485	0.306
California	0.22	0.31	0.56	0.33	0.25	1.15	0.31	0.36	1.14	0.58	0.95	0.41		0.283	0.341	0.443	0.162
Fuerte	0.18	0.26	0.43	0.25	0.2	1.07	0.27	0.31	0.79	0.46	0.71	0.3	0.63		0.182	0.478	0.214
Culiacan	0.11	0.14	0.25	0.12	0.1	0.43	0.16	0.2	0.53	0.32	0.34	0.27	0.31	0.27		0.660	0.278
Fuerte Norte	0.09	0.19	0.32	0.14	0.11	0.76	0.19	0.23	0.58	0.33	0.49	0.2	0.48	1.12	0.13		0.332
Acuacult	0.32	0.41	0.73	0.48	0.43	2.73	0.41	0.5	3.03	0.88	3.79	0.57	1.3	0.92	0.65	0.5	
		<i>Nm</i>															

7.3.1 Análisis de varianza molecular (AMOVA).

Finalmente se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) solamente para las truchas nativas y con la siguiente estructura: Grupo 1 conformado por Guzmán y Yaqui-Bavispe; Grupo 2 con Yaqui-Sirupa y Mayo; Grupo 3 con Conchos; Grupo 4 con las dos poblaciones de la Sidra; Grupo 5 con San Lorenzo y Piaxtla; Grupo 6 con Acaponeta, Baluarte y Presidio; Grupo 7 California; Grupo 8 Santo Domingo; Grupo 9 Fuerte y Culiacán; Grupo 10 Aparique.

Los resultados del análisis de AMOVA se presentan en la Tabla VI. El AMOVA reveló que la mayor varianza genética se encuentra entre los grupos (63.94%), pero también no es despreciable la varianza genética observada a nivel individual dentro de las poblaciones (31.79%). Estos resultados indican que la mayor variabilidad de las frecuencias alélicas se encuentra entre los grupos y que la variabilidad entre las diferentes poblaciones dentro de los grupos fue baja (4.30%), lo cual confirma los análisis anteriores, es decir, que existen grupos (unidades taxonómicas) de truchas mexicanas que se han mantenido aisladas, y sin flujo genético conformado acervos genéticos únicos.

Además los resultados de la AMOVA concuerdan con la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg, el valor de F_{IT} global sobre todas las poblaciones en todos los *loci* fue altamente significativo ($F_{IT} = 0.682$; $P = 0.000$).

Tabla VI. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de 11 *loci* microsatélites en el complejo de truchas mexicanas, para la definición de la estructura genética de los grupos y poblaciones ver texto.

Fuentes de la Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la Varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos	9	461409.027	402.024	63.94
Entre poblaciones dentro de los grupos	8	16277.042	27.048	4.30
Al interior de las poblaciones	1270	253630.122	199.709	31.76
Total	1287	731316.192	628.781	100

7.4 Impacto de la trucha arcoíris exótica

En la figura 3 se observa que los individuos provenientes de las 4 estaciones de acuicultura ubicadas en las cuencas Fuerte, Presidio, San Lorenzo y una en el estado de México (según Tabla I) se encuentran formando un clado con un soporte de bootstrap del 73%. Este clado esta al interior de un clado interno con un soporte del 32%, en el cual se incluyen individuos colectados en las cuencas Presidio, Baluarte y Acaponeta, así como individuos colectados en el Arroyo La Sidra de la cuenca de San Lorenzo.

La agrupación de las muestras provenientes de la acuicultura obtenida en la figura 3 fue corroborada mediante el cálculo de distancias de Chakraborty y Jin (1993) (D_{AS}), por pares de individuos, la construcción del cladograma por individuos en base a estas

distancias (no mostrado debido a lo extenso) y el posterior cálculo del porcentaje de individuos bien clasificado. En la tabla IV se observa que los individuos provenientes de las distintas acuaculturas presentaron un 90.78% de individuos bien clasificados.

El análisis de grupos y asignación de individuos mediante el método bayesiano (figura 5) muestra a su vez que las truchas arcoíris exóticas formaron un solo grupo (grupo 14 en colores rosa y celeste). También en esta misma figura 5 se observa la existencia de truchas con una composición genotípica aparentemente exóticas mezcladas con truchas nativas, tal es el caso de la población del Arroyo la Sidra localidad ubicada arriba de la cascada (grupo 4), la cual en la figura se indica mediante barras en color rosa evidenciando la existencia de flujo genético de esta localidad y la acuacultura que se encuentra a su vez en ese mismo arroyo. De igual manera en individuos provenientes de la cuenca de Presidio y Acaponeta se observa una mezcla por parte de las truchas exóticas cultivadas.

En la Tabla V se observan valores de F_{ST} pequeños entre los pares poblacionales formados por Acuacultura – Acaponeta (0.062) seguido por Acuacultura – Presidio (0.076), y Acuacultura – La Sidra (0.084); y los resultados de Nm por pares entre los grupos de truchas (Tabla V) indican que los pares de poblaciones que mostraron valores de 1 o más de migrantes efectivos fueron: La Sidra – Acuacultura, Presidio – Acuacultura, Acaponeta – Acuacultura, California – Acuacultura, confirmando los resultados anteriores e indicando que los niveles de flujo genético son relativamente importantes entre las cuencas Presidio, Acaponeta y San Lorenzo, específicamente la población de la Sidra en la zona anterior a la cascada, y las truchas arcoíris cultivadas.

8 DISCUSIONES.

Desde el advenimiento de la reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) en los años ochenta (Saiki *et al.*, 1985) los marcadores microsátélites han sido ampliamente usados en biología. Hasta ahora existen un gran número de estudios donde se utilizan estos marcadores genéticos codominantes para investigar la estructura genética de las poblaciones, responder preguntas específicas tanto en Biología de la Conservación como en Evolución (Balloux y Lugon-Moulin, 2002).

Los *loci* microsátélites son una clase especial de fragmentos de ADN repetidos en tándem que debido a sus altas tasas de mutación presentan un gran polimorfismo, lo que incrementa la probabilidad de que poblaciones aisladas divergen rápido en estos *loci*. Estas características lo hacen particularmente útiles en el estudio de genética de poblaciones o relaciones genéticas entre especies estrechamente relacionadas y que muestran limitada variabilidad en otros marcadores, como los mitocondriales (ADNmt) (Angers *et al.*, 1995; Pope *et al.*, 1996; Tessier *et al.*, 1997). Algunos de las aplicaciones no extensamente exploradas son la reconstrucción filogenética entre poblaciones o especies (Estoup *et al.*, 1995; Forbes *et al.*, 1995; Nei y Takezaki, 1996). La relaciones filogenéticas intraespecíficas inferidas a partir de microsátélites, en muchos de los casos, han sido congruentes con aquellas obtenidas a partir de otros marcadores como los del ADNmt (Estoup *et al.*, 1995; Nei y Takezaki, 1996) y algunas veces han mostrado grupos con mayor exactitud geográfica en poblaciones o especies estrechamente relacionadas (Bowcock *et al.*, 1994). Por tales razones se consideró interesante explorar esta

aproximación metodológica para contribuir en discernir cuantas unidades taxonómicas diferentes existen dentro del complejo de truchas mexicanas que habitan en la región noroeste de México.

En este trabajo se utilizaron 11 *loci* microsatélites y por primera vez se analizaron poblaciones de todas las cuencas donde se distribuyen las truchas nativas mexicanas, incluyendo dos poblaciones de la cuenca del río Conchos, en donde en 2005 por primera vez se colectan truchas por el grupo de investigadores que conforman el consorcio autodenominado “Truchas Mexicanas”. Esta cuenca es a diferencia de las demás, una cuenca que vierte sus aguas hacia el Atlántico, y durante mucho tiempo se pensó que existían truchas nativas, a pesar de que fueron mencionados vagamente en la literatura desde hace mas de 100 años (Hendrickson *et al.*, 2006).

Descripción de la variabilidad genética

Los 11 *loci* microsatélites analizados en este trabajo resultaron ser altamente polimórficos con un promedio de 24 alelos por locus. El locus Omy2 resulto ser el más polimórfico con 49 alelos, seguido del locus Ssa14 con 41; los menos polimórficos fueron Omy27 con 8 alelos y Oneu11 con 5 alelos.

Nielsen y colaboradores (1999) realizaron un estudio de genética de poblaciones de las subespecies del género *Oncorhynchus* que se distribuyen en California incluyendo una población de Baja California y una proveniente del río Yaqui, en el que emplearon los

mismos 11 *loci* microsatélites empleados en este trabajo. En su estudio Nielsen *et al.* reportan 17 alelos promedio por locus. Para el locus Omy2 reporta solo 26 alelos así como para el locus Ssa14 reporta 19 alelos. En otro estudio realizado por Nielsen y Sage en el 2001 reportan que los *loci* Omy2 y Omy27 no amplificaron en la especies *O. gila*, *O. apache* y *O. clarki clarki*.

En el presente trabajo, los valores de riqueza alélica y diversidad genética se encontraron en un intervalo de 1.707-4.800 y 0.219-0.750 respectivamente. Las poblaciones que presentaron los valores más bajos tanto de riqueza alélica así como de diversidad genética fueron la cuenca del Conchos (1.718, 0.263) y los individuos provenientes del arroyo Aparique de la cuenca del Fuerte (1.707, 0.219), en ambos casos estos valores se pueden atribuir a un efecto de cuello de botella. La población del Conchos colectadas en el 2005 se presume que fue muy pequeña (<100 individuos) y restringida a un segmento muy corto del arroyo (<0.5 km.), con un evidente límite de reclutamiento. En el caso del arroyo Aparique también se observó una población muy pequeña donde además, todos los individuos eran morfológicamente muy similares. Aunado a lo anterior, por comunicación con los pobladores de la región, estos organismos están sujetos a una fuerte presión de pesca por parte de los habitantes de las áreas rurales, lo que podría ser la principal causa de la reducción de las poblaciones y el efecto de cuello de botella en los valores pequeños de diversidad genética.

Por el contrario los individuos provenientes de la Acuacultura (4.800, 0.750) y de la cuenca del Presidio (4.263, 0.707) presentaron los valores más altos de riqueza alélica y

diversidad, así como de heterocigocidad. Los valores altos del Presidio son atribuidos al hecho de que en esta cuenca se muestra una mezcla de truchas nativas y exóticas así como la posible introgresión del genoma de las exóticas.

Otro dato importante que se observó fue el gran número de alelos exclusivos que se detectó en los 11 *loci* microsatélites, los cuales en general suman un total de 70 alelos distribuidos de la siguiente manera: en la cuenca del Guzmán y la subcuenca Bavispe del Yaqui se encontraron 6 alelos exclusivos; al interior de la cuenca el Mayo y de la subcuenca Sirupa del Yaqui se encontraron el mayor número de alelos exclusivos siendo estos 16 alelos; la cuenca del Conchos solo presentó 3 alelos exclusivos; las cuencas de San Lorenzo y Piaxtla presentaron 6 alelos exclusivos, mientras que las cuencas Presidio, Baluarte y Acaponeta presentaron solo 3 alelos; por otro lado dentro de los individuos pertenecientes a la especie *O. chrysogaster* se observaron un total de 13 alelos exclusivos; en los individuos pertenecientes a la especie *O. mykiss* se observaron 15 alelos exclusivos mientras que para la subespecie *O. m. nelsoni* se observaron 6 alelos; finalmente la población del arroyo Aparique ubicada en la cuenca del Fuerte presentó 3 alelos exclusivos.

El número de alelos exclusivos en los diferentes *loci* microsatélites al interior de las unidades taxonómicas que se identificaron en este trabajo así como al interior de las especies descritas (*O. mykiss*, *O. m. nelsoni* y *O. chrysogaster*) podría estar reflejando una diferenciación genética importante entre las unidades taxonómicas, lo cual podría a su vez indicar tiempos de aislamiento relativamente grandes coincidentes con la hipótesis de que dichas diferencias genéticas correspondan a diferencias entre especies distintas.

Identificación de unidades taxonómicas

Los valores altos de alelos promedio por locus (20), el valor de heterocigicidad esperada no sesgada mayor que la observada (0.7894, 0.3904), así como el desequilibrio de Hardy-Weinberg altamente significativo, son fuertes evidencia de una mezcla de poblaciones y/o especies entre las truchas nativas no descritas en el Noroeste de México.

Sin embargo, el desequilibrio de Hardy-Weinberg presente en la población proveniente del Santo Domingo (*O. mykiss nelsoni*) así como el número reducido de alelos promedio por locus, puede ser resultado de un efecto fundador, ya que esta bien documentado el trasplante de estos organismos a diferentes arroyos de la Sierra de San Pedro Martir (Ruiz-Campos *et al.*, 2000; Hendrickson *et al.*, 2002).

Los estudios filogeográficos de poblaciones se han realizado generalmente basados solo en secuencias del ADN mitocondrial (ADNm) debido a sus atributos como presentar un modelo de herencia uniparental y no recombinante, simplicidad en la organización de genoma y presentar tasas de mutación relativamente altas (Moritz *et al.*, 1987). Pero como en otros métodos, los análisis de ADNmt no están libres de limitaciones. La utilidad del ADNmt en inferir relaciones a nivel de poblaciones o especies jóvenes puede ser limitada cuando la escala temporal de divergencia no ha sido la suficiente para permitir una coalescencia monofilética recíproca de las variantes del ADNmt entre las poblaciones (Avice *et al.*, 1984).

Muchos eventos evolutivos importantes, como el establecimiento de las poblaciones humanas modernas, la radiación de una gran cantidad de especies en lagos de agua dulce, y la recolonización del hemisferio norte por plantas y animales al terminar el último periodo glacial sucedieron hace un periodo de tiempo relativamente corto, en todos estos casos los análisis con variaciones en el ADNmt han aparentemente llegado a su límite de utilidad para resolver historias evolutivas, siendo incapaces de delimitar especies jóvenes incluso en largas escalas geográficas o han resultado en la agrupación de individuos en grupos que no concuerdan con la ubicación geográfica de origen o específica taxonómicamente hablando (Cann *et al.*, 1987; Pigeon *et al.*, 1997; Richard y Thorpe, 2001). Estas observaciones ilustran que en estudios donde se pretende delimitar especies relativamente jóvenes o incluso en proceso de especiación, el uso de marcadores como los microsatélites con tasas de mutación más altas, pueden producir una resolución más fina de la señal filogenética entre grupos de organismos que han divergido recientemente.

La elección de la distancia apropiada para la reconstrucción filogenética mediante marcadores microsatélites es un aspecto metodológico importante. Para este trabajo se seleccionaron la distancia en base a la proporción de alelos compartidos D_{AS} (Chakraborty y Jin, 1993) y la distancia de la cuerda D_{CE} (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967).

La distancia de la cuerda D_{CE} no hace ninguna suposición con respecto a la talla de la población o a las tasas de mutación de los *loci*. La magnitud de esta distancia no es proporcional al tiempo evolutivo, pero se ha probado en varios sistemas como en mamíferos, peces, e insectos que el uso de esta distancia produce con mayor probabilidad

árboles con una correcta topología en poblaciones o especies estrechamente relacionadas (Bowcock *et al.*, 1994; Takezaki y Nei, 1996; Angers y Bernatchez, 1998; Richard y Thorpe, 2001; Sonstebo y Borgstrom, 2007).

La distancia basada en la proporción de alelos compartidos D_{AS} es usada para inferir la relaciones a nivel individual. Es la estimación de distancias más simple y su aplicación ha sido muy útil en la identificación de poblaciones como resultado de la asignación particular de individuos a su población de origen. Esta distancia ha sido probada con éxito en humanos (Bowcock *et al.*, 1994), salmónidos (Angers y Bernatchez, 1998) insectos (Harr *et al.*, 1998) y aves (Pritchard *et al.*, 2000).

En este trabajo los microsatélites y el uso de la distancia D_{CE} fueron capaces de proveer un árbol filogenético en el cual la topología concuerda con la ubicación geográfica de las cuencas, además con valores de soporte estadístico altos.

Primeramente se observó en el clado mas interno, la formación de dos grupos (100%), el primero que contiene las cuencas Norteñas (Guzmán, Yaqui, Mayo, Conchos) y el segundo clado (San Lorenzo, Piaxtla, Presidio, Baluarte y Acaponeta) que contiene las cuencas que se encuentran al sur de la distribución de las truchas nativas. Aquí es importante resaltar que esta agrupación coincide con los análisis de la hidroclimatología de las cuencas de la SMO donde se detectaron dos regiones con características climatológicas e hidrológicas distintas, una en el norte y otra hacia el sur del noroeste de México (Gochis *et al.*, 2006; Gochis *et al.*, 2007). Estas diferencias hidroclimáticas en las dos regiones, la capacidad del ambiente y la orografía de las cuencas presuntamente han mantenido a las

poblaciones aisladas por un tiempo suficiente para darles a las truchas la oportunidad de generar el grado de divergencia que se observa en estos dos grandes grupos filogenéticamente divergentes.

Al interior del grupo norteño se encuentran 2 subgrupos, el primero formado por los individuos que habitan la cuenca del Guzmán, las poblaciones provenientes de la subcuenca Bavispe en el río Yaqui, las poblaciones del Yaqui de la subcuenca Sirupa, los individuos del Mayo y por los individuos provenientes de la cuenca del Conchos. El segundo grupo se encuentra formado por los individuos del Fuerte-Aparique y *O. mykiss nelsoni*.

Dentro del primer grupo observado en el clado de truchas norteñas, la cuenca del Conchos se separa del resto, y dos subgrupos son formados al interior de un clado bien soportado en los cuales se observan por un lado los individuos de la cuenca Guzmán y de la subcuenca Yaqui-Bavispe y en el segundo grupo los individuos de la subcuenca Yaqui-Sirupa y de la cuenca del Mayo.

Esta bien documentado en la cuenca del Guzmán específicamente en un tributario del río Piedras Verdes la existencia de dos introducciones de truchas nativas provenientes del río Yaqui de la subcuenca Bavispe alrededor del año 1905 y la segunda durante los años 1920s y 1930s (Nielsen y Sage, 2001; Hendrickson *et al.*, 2002), por los que los descendientes de estas introducciones podrían ser los individuos colectados en el río Escalariado, los cuales fueron analizados en este trabajo y debido a esto, probablemente se encuentran estrechamente relacionados a la subcuenca del Yaqui. Aunando a lo anterior la

cuenca del Guzmán que ahora es una cuenca endorreica, en algún momento estuvo conectada al río Grande, el cual tiene tributarios en los cuales habita la trucha de la especie *O. clarki* por lo cual Behnke (1992; 2002) sugiere que, si existiera una trucha nativa en la cuenca del Guzmán ésta estaría más relacionada a la especie *O. clarki*.

La diferencias genéticas entre las poblaciones de las subcuencas del río Yaqui podría deberse a que el punto donde se interceptan estas dos subcuencas se encuentra en un área donde el hábitat ya no es propicio para la subsistencia de las truchas, ya que estas requieren de hábitat localizados por encima de los 2000 metros sobre el nivel del mar (Nielsen y Sage, 2001), en efecto áreas por debajo de esta altitud podrían ya no ser adecuadas para su sobrevivencia. La zona donde convergen las dos subcuencas se encuentra en un valle de menor altitud, donde además la temperatura es mas elevada, creando con esto una barrera natural que no permite las mezcla de los individuos entre las distintas subcuencas (Hendrickson *et al.*, 2006).

En lo que respecta a la relación genética entre las truchas del Mayo y el Yaqui-Sirupa, dos escenarios pueden ser invocados para explicar su ocurrencia, en primer lugar, las cabeceras de estos dos ríos estuvieron conectadas en algún momento en el pasado reciente y por otro lado, pudo haber habido transfaunación de truchas del río Yaqui hacia el Mayo del cual no existe reportes.

Las truchas de la cuenca del Conchos se encuentran formando el tercer grupo norteño, esta cuenca a diferencia de las demás tiene su vertiente hacia el río Grande y posteriormente al Golfo de México. Análisis preliminares de ADNmt claramente revelan

que estas truchas pertenecen a una nueva especie endémica de esta cuenca, relacionada con las truchas del sur del Yaqui y el Mayo (Hendrickson *et al.*, 2006).

En el grupo de truchas sureño se observaron dos subgrupos: el primero formado por los individuos de las cuencas San Lorenzo y Piaxtla; y el segundo formado por los individuos de las cuencas Presidio Baluarte y Acaponeta. Es interesante resaltar que estos registros representan el rango de distribución más sureña reportada para los salmónidos de Norte América (Behnke y Tomelleri, 2002). Análisis preliminares de secuencias de la región control del ADNmt publicados por Hendrickson *et al.*, (2006) revelaron los mismos dos subgrupos arriba mencionados.

El análisis de grupos y asignación de individuos corroboró los grupos obtenidos a partir de la reconstrucción filogenética además puso de manifiesto lo siguiente:

- a) Los grupos descritos anteriormente se encuentran aislados sin flujo genético entre grupos.
- b) En el arroyo La Sidra el cual se encuentra en la Cuenca del San Lorenzo existen dos unidades taxonómicas al parecer provenientes de dos ancestros distintos, estas dos grupos se encuentran divididas por una gran cascada y tanto la población de arriba como la de debajo de la cascada son distintas entre si. La población de arriba muestra sin embargo, flujo genético con el resto de las poblaciones del San Lorenzo mientras que la población que se ubican después de la cascada es completamente distinta y aislada del resto de las poblaciones de

la misma cuenca. Behnke y Tomelleri (2002) mediante un análisis morfológico mencionan que las poblaciones que se encuentran arriba de la cascada presentan en promedio 65 vértebras mientras que aquellas que están en otros tributarios de la cuenta presentan un promedio de 61 vértebras, lo que los llevan a proponer la existencia de dos ancestros distintos que pudieron haber invadido el río San Lorenzo en diferente tiempo.

- c) En la cuenca del Fuerte existe otra pequeña unidad taxonómica con identidad genética diferente y aislada. La existencia de esta unidad taxonómica podría explicarse de dos maneras, la primera hace intervenir a la orografía del lugar, la cual ha mantenido aislada a esta población por un periodo de tiempo largo, o que al igual que la cuenca del San Lorenzo dos ancestros pudieron haber invadido esta cuenca en diferentes periodos de tiempo.

En el análisis de F_{ST} todos los valores resultaron altamente significativos, mostrando que los valores más altos se encontraron entre pares de poblaciones que pertenecen a las unidades taxonómicas distintas (0.348-0.745) mientras que los valores más pequeños se encontraron entre pares de poblaciones pertenecientes a la misma unidad taxonómica (0.086-0.315).

El análisis de varianza molecular (AMOVA) indica que la mayor varianza se encuentra entre las unidades taxonómicas (63.94%), mientras que entre poblaciones dentro de las unidades solo existe una varianza del 4.30% lo que indica que los grupos formados

son genéticamente homogéneos. El resto de la varianza (31.76) esta repartida al interior de las poblaciones. ($F_{IT} = 0.682$, $P = 0.000$).

Finalmente, tanto la reconstrucción filogenética como el resto de los análisis realizados soportan la existencia de 7 unidades taxonómicas en el complejo de truchas nativas mexicanas formadas de la siguiente manera:

- 1) Guzmán – Yaqui-Bavispe
- 2) Yaqui-Sirupa – Mayo
- 3) Conchos
- 4) Arroyo Aparique
- 5) Arroyo La Sidra
- 6) San Lorenzo – Piaxtla
- 7) Presidio – Baluarte – Acaponeta

En biología, el concepto de especie ha sido debatido amplia y arduamente (Dobzhansky, 1950; Templeton, 1989; Mallet, 1995; Mayden y Wood, 1999; De Queiroz, 2005), no obstante, recientemente De Queiroz (2007) ha propuesto un concepto unificador en el que considera que una especie es un linaje perteneciente a una metapoblación (especie estructurada en poblaciones con cierta diferenciación genética y requerimientos ecológicos) que evoluciona independientemente, que pueden presentar una o varias de las siguientes propiedades accesorias con evolución independiente y con tasas evolutivas distintas:

- Aislamiento reproductivo intrínseco

- Comparte sistemas de fertilización o de reconocimiento reproductivo específicos
- Presenta el mismo nicho o zona adaptativa
- Diferencias cuantitativas fijadas
- Monofilia
- Coalescencia de alelos exclusiva (todos los alelos de un gen dado provienen de un alelo ancestral común el cual no se comparte con otra especie).
- Forman un clado fenético (diferencias cuantitativas)
- Forman un clado genotípico

De forma similar Turner (1999), Mallet (1995) y Wiens (2007) coinciden que la delimitación especie es un asunto complejo por las diversas contradicciones en las que han caído los diversos conceptos de especies (ejemplo, concepto biológico, concepto filogenético, por cohesión, etc.), sin embargo, una característica emergente es la formación de grupos genotípicos homogéneos y con exclusividad de alelos en diversos marcadores moleculares como es el caso de los *loci* microsatélites (Turner 1999; Mallet 1995). Las distintas unidades taxonómicas identificadas en este estudio podrían ser consideradas como especie, según el criterio de De Queiroz (2007).

Introgresión genética de la truchas arcoíris exóticas en el complejo de truchas nativas mexicanas.

La figura 3 muestra a los individuos provenientes de las diversas estaciones de acuacultura como un solo clado bien soportado (73%), lo que indica que estas poblaciones presentan una identidad genética distinta a las del resto de las truchas mexicanas. Este primer análisis mostró que contrario a lo que se esperaba, las truchas exóticas a pesar de encontrarse en estaciones de acuaculturas localizadas en diferentes cuencas, no están introgradando al genoma de las truchas nativas o si este existe puede ser restringido solo a las cuencas mas sureñas (Fuerte, Presidio, San Lorenzo).

Posteriormente el análisis de grupos y asignación de individuos identificó la existencia de probables híbridos solo en las cuencas Presidio y Acaponeta, así mismo este análisis fue capaz de identificar organismos provenientes de la acuacultura en las cuencas Mayo (1), Conchos (2) y en el Arroyo la Sidra antes de la cascada. Estos resultados parecen indicar que las truchas de la especie *O. mykiss* no se están reproduciendo con las truchas nativas, lo cual puede explicarse por la existencia de barreras reproductivas, por ejemplo presencia de periodos reproductivos desfasados, o probablemente la diferencia de tamaños corporales entre las exóticas y las nativas que no les permita cruzarse entre si; las truchas exóticas en el área de estudio oscilan entre los 20 cm de longitud mientras que las nativas son considerablemente mas pequeñas (los adultos reproductores son de menos del 15 cm aproximadamente). Por otro lado, la existencia de una gran cantidad de alelos exclusivos descritos anteriormente en las poblaciones naturales es una evidencia más de la ausencia de

flujo genético entre las cuencas antes mencionadas y las truchas provenientes de la acuicultura.

La cantidad de migrantes efectivos (Nm) calculados a partir de los F_{ST} revelo que entre la Sidra y la acuicultura existe más de un migrante efectivo (2.73), así como entre la acuicultura y el Presidio (3.03) y entre la acuicultura y Acaponeta (3.79); así mismo entre la Acuicultura y la población proveniente de California Estados Unidos se encontró un valor de 1.3, en este ultimo caso, es posible que se deba a alelos ancestrales que comparten, ya que comparten una gran cantidad de alelos de los cuales 4 se presentan exclusivamente en estas poblaciones (Acuicultura y California). Así mismo, existen reportes que las poblaciones de truchas exóticas que se introdujeron al país desde los inicios del cultivo de trucha alrededor de 1880, fueron organismos provenientes de la cuenca río Sacramento, cuenca a la cual pertenece la población de California (Nielsen, 1999).

En el caso del Arroyo la Sidra los valores de Nm con respecto a la acuicultura (2.73) indican que ambos grupos muestran altos flujos génicos sin diferenciación entre ellos. Sin embargo, los resultados del análisis de asignación en la figura 5, muestran que el grupo conformado por el Arroyo la Sidra se encuentra mezclado con individuos que muestran una identidad genética específica, los de color rosa son los que provienen de la acuicultura, no mostrando individuos intermedios en su composición genética (genotipos multilocus). La introgresión genética corresponde a la inclusión de un genoma extraño dentro de otro debido a la reproducción y recombinación de genes, mostrando en la descendencia individuos intermedios en el caso de híbridos de primera generación. Los resultados de

Structure concuerdan más con la idea de una mezcla de poblaciones que con el fenómeno de introgresión por hibridación, no obstante, es necesario de análisis mas detallados de este arroyo con un muestreo especialmente diseñado para probar esta hipótesis. Las poblaciones del Presidio y Acaponeta aunque mostraron evidencias de introgresión mediante los análisis de flujo genético y asignación de individuos a poblaciones mediante el paquete estadístico de Structure, también requiere de un estudio a una escala mas fina para determinar los niveles de impacto que las exóticas están ejerciendo en el genoma de las nativas.

Por otro lado, el hecho de no encontrar evidencia de introgresión genética en la mayoría de las cuencas, no significa que no exista otro tipo de competencia entre las truchas nativas y las exóticas que pueda desplazar al genoma de las nativas, como lo es la exclusión ecológica, debido a la competencia por alimento y espacio que pudiera estar ocurriendo entre las dos especies cuando habitan el mismo nicho ecológico.

9 CONCLUSIONES.

- Este es el primer trabajo de análisis genético realizado que abarca la mayor parte del área de distribución de las truchas nativas mexicanas, así como incluye las cuencas más sureñas que no habían sido estudiadas con marcadores microsatélites.
- Se caracterizaron 11 *loci* microsatélites que permitieron evaluar la diversidad genética en el complejo de truchas mexicanas
- Los métodos de reconstrucción filogenética utilizados así como el análisis de los grupos y asignación con métodos bayesianos de individuos pudieron reconocer la existencia de 7 unidades taxonómicas genéticamente distintas entre ellas y entre las especies ya descritas que se enlistan a continuación:
 - Guzmán – Yaqui-Bavispe
 - Yaqui-Sirupa – Mayo
 - Conchos
 - Arroyo Aparique
 - Arroyo La Sidra
 - San Lorenzo – Piaxtla
 - Presidio – Baluarte – Acaponeta
- De acuerdo al concepto unificador de especie de De Queiroz (2007) estas unidades taxonómicas corresponderían a especies distintas. El reconocimiento de unidades taxonómicas específicas requieren de una rápida asignación de un nombre científico,

para que este grupos de especies de truchas mexicanas altamente impactadas por el hombre sean incluidas en la lista de especies amenazas, con lo cual se puedan diseñar programas de manejo y conservación de este recurso único en nuestro país.

- Contrario a lo que se esperaba solo las cuencas del Presidio y Acaponeta muestran evidencia de introgresión genética por parte de las truchas exóticas, sin embargo esta información debe ser tomada con cautela ya que es necesario un análisis más detallado en estas cuencas, así como del Arroyo la Sidra.
- Se encontró evidencia de niveles de flujo genético nulo entre las truchas nativas de las cuencas Fuerte, Conchos y Mayo y las truchas exóticas, manteniendo a los grupos discretos entre las cuencas.
- Finalmente este trabajo es el resultado de 10 años de esfuerzo y colectas de los miembros del grupo Binacional Truchas Mexicanas.

10 LITERATURA CITADA.

Angers, B. y L. Bernatchez. 1998. Combined use of SMM and Non-SMM methods to infer fine structure and evolutionary history of closed related brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Salmonidae) populations from microsatellites. *Mol. Biol. Evol.* 52:(2)143-159.

Angers, B., L. Bernatchez, A. Angers y L. Desgroseillers. 1995. Specific microsatellite loci for brook chair reveal strong populationsubdivision on a microgeographic scale. *J. Fish. Biol.* 47 (suppl. A)177-185.

Avise, J. C., J. E. Neigel y J. Arnold. 1984. Demographic influences on mitochondrial DNA linages survivorship in animal populations. *J. Mol. Evol.* 20:(99-105.).

Balloux, F. y N. Lugon-Moulin. 2002. the estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology.* 11:155-165.

Behnke, R. L. 1992. Native trout of western North America. American Fisheries Society Monograph 6, Bethesda. Ed. 275 pp.

Behnke, R. L. y J. R. Tomelleri. 2002. Trout and Salmon of North America. The Free Press. 1era. Ed. New York, USA. 359 pp.

Belkhir, K., P. Borsa, J. Goudet, L. Chikhi y F. Fonhomme. 1998. GENETIX, logiciel sous WindowsTM pour la génétique des populations. Versión 4.01. Laboratoire Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II. Montpellier, France.

- Bowcock, A. M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde, E. Minch, J. R. Kidd y L. L. Cavalli-Sforza. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*. 368:455-457.
- Brown, D. E. 1994. *Biotic communities : southwestern United States and northwestern Mexico* University of Utah Press. Ed. Salt Lake City. 342 pp.
- Cann, R. L., M. Stoneking y A. C. Wilson. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*. 325:31-36.
- Cavalli-Sforza, L. L. y A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis models and estimation procedures. *Evolution*. 32:550-570.
- Cockerham, C. C. 1969. Variance of gene frequencies *Evolution*. 23:72-83.
- Cockerham, C. C. 1973. Analyses of gene frequencies *Genetic*. 74:679-700.
- Cordes, J. F., M. Stephens, M. A. Blumberg y B. May. 2006. Identifying introgressive hybridization in native populations of California Golden Trout based on molecular markers. *Transactions of the American Fisheries Society*. 135:110-128.
- Chakraborty, R. y L. Jin. 1993. A unified approach to study hypervariable polymorphism: statistical considerations of determining relatedness and population distances. En: Pena, D. J., R. Chakraborty, T. J. Epplen y J. A. J. DNA fingerprinting: state of the science Alemania. Birkhäuser Verlag Basel. 153-175.

De Queiroz, K. 2005. Different species problems and their resolution. *Bioessays*. 27:(12)1263-1269.

De Queiroz, K. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Syst. Biol.* 56:(6)87-886.

Dobzhansky, T. 1950. Mendelian populations and their evolution. *Am. Nat.* 84:401-418.

Estoup, A., L. Garnery, M. Solignac y J. M. Cornuet. 1995. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*. 140:679-695.

Evermann, B. W. 1908. Description of a new species of trout (*Salmo nelsoni*) and a new ciprinodont (*Fundulus meeki*) with notes of other fishes from lower California *Proc. Biol. Soc. Wash.* . 21:19-30.

Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 1:47-50.

Excoffier, L., P. Smouse y J. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetic*. 131:479-491.

Felsenstein, J. 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package). Versión 3.6. Distributeb by the author, Department of Genetics, University of Washington. Seattle.

Forbes, S. H., J. T. Hoog, F. C. Buchanan, A. M. Crawford y F. W. Allendorf. 1995. Microsatellite evolution in congeneric mammal: domestic and bighorn sheep. *Mol Biol Evol.* 12:(1106-1113).

Fuller, P. L., L. G. Nico y J. D. Williams. 1999. Nonindigenous Fishes Introduced into Inland Water of the United States. American Fisheries Society. Ed. Bethesda, MD.pp.

Gochis, D. J., L. Brito-Castillo y W. J. Shuttleworth. 2006. Hydroclimatology of the North American Monsoon region in northwest Mexico. *Journal of Hydrology.* 316:53-70.

Gochis, D. J., L. Brito-Castillo y W. J. Shuttleworthc. 2007. Correlations between sea-surface temperatures and warm season streamflow in northwest Mexico. *International Journal of Climatology.* in press:in press.

Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995). Versión

Harr, B., S. Weiss, J. R. David, G. Bream y C. Schlotterer. 1998. A microsatellite-based multilocus phylogeny of the *Drosophila melanogaster* species complex. *Current Biology.* 8:1183-1186.

Hendrickson, D. E., H. Espinoza Perez, L. T. Findley, W. Forbes, J. R. Tomelleri, R. L. Mayden, J. L. Nielsen, B. Jensen, G. Ruiz-Campos, R. Varela Romero, A. Van der Heiden, F. Camarena y F. J. Garcia de Leon. 2002. Mexican native trout: a review of their history

and current systematic and conservation status. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 12:273-316.

Hendrickson, D. E., D. A. Neely, R. L. Mayden, K. Anderson, J. E. Brooks, F. Camarena, R. Cutter, L. Cutter, A. B. De Los Santos, G. W. Ernsting, H. Espinoza Perez, L. T. Findley, F. J. Garcia de Leon, A. L. George, J. Hatch, B. R. Kuhajda, K. E. Mayden, K. Mcnyset, J. L. Nielsen, F. W. Pfeifer, D. L. Propst, G. Ruiz-Campos, S. E., J. R. Tomelleri y R. Varela Romero. 2006. Conservation of Mexican Native Trout and the Discovery, Status, Protection and Rediscovery of the Conchos Trout, the First Native. En: Lozano Villano, M. d. L. y A. J. Contreras Balderas. 1era. Ed. *Studies of North American Desert Fishes in Honor of E. P. (Phil) Pister, Conservationist*. Monterrey, NL. Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. 162-201.

Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. Sinauer. 2da Ed. Massachusetts, U. S. A. 655 pp.

Hitt, N. P., C. A. Frissell, C. C. Muhlfeld y F. W. Allendorf. 2003. Spread of hybridization between native westslope cutthroat trout, *Oncorhynchus clarki lewisi*, and nonnative rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 60:1440-1451.

Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg, P. F. Stevens y M. J. Donoghue. 2002. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. 2da Ed. Sunderland, MA. 576 pp.

Mallet, J. 1995. A SPECIES DEFINITION FOR THE MODERN SYNTHESIS. Trends in Ecology & Evolution. 10:(7)294-299.

Mayden, R. L. y R. Wood. 1999. Consilience and hierarchy of species concepts: Advances toward closure on the species puzzle. J. Nematol. 31:95-116.

McConnell, S. K., P. T. O'Reilly, L. C. Hamilton, J. M. Wright y P. Bentzen. 1995. Polymorphic microsatellite loci from Atlantic salmon (*Salmon salar*): genetic differentiation of North American and European populations Can. J. Fish. Aquat. Sci. 52:1863-1872.

McGinnity, P., P. Prodohl, A. Ferguson, R. Hynes, N. O. Maoileidigh, N. Baker, D. Cotter, B. O'Hea, D. Cooke, G. Rogan, J. Taggart y T. Cross. 2003. Fitness reduction and potential extinction of wild population of Atlantic salmon, *Salmon salar* as a result of interactions with escaped farm salmon. Proc. Biol. Soc. 270:(1532)2443-2445.

Minch, E. 2001. MICROSAT. Versión 1.5d. Stanford University Medical Center. Stanford.

Mittermeier, R. A., G. A. B. DaFonseca, M. Hoffman, J. Pilgrim, T. Brooks, P. Robles Gil, C. G. Mittermeier y J. Lamoreux. 2004. Hotspots Revisited : earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions CEMEX, Agrupación Sierra Madre and Conservation International, University of Virginia. Ed. Washington, D.C.pp.

Moritz, C., T. E. Dowling y W. M. Brown. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematic. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18:269-292.

- Morris, D. B., K. R. Richards y J. M. Wright. 1996. Microsatellites from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their use for genetic study of salmonids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53:120-126.
- Needham, P. R. y R. Gard. 1959. Rainbow trout in Mexico and California with notes of the cutthroat series. *Univ. Calif. Publ. Zool.* 67:1-124.
- Needham, P. R. y R. Gard. 1964. A new trout from central Mexico: *Salmo chrysogaster*, the Mexican golden trout. *Copeia.* 1964:169-174.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. Ed. New York. p. 164 pp.
- Nei, M. y N. Takezaki. 1996. The root of the phylogenetic tree of human populations. *Mol. Biol. Evol.* 13:170-177.
- Nielsen, J. L. 1997. Molecular Genetics and Evolutionary Status of Trout of the Sierra Madre. En: Greeswell, R. E., P. Dwyer, and R. H. Hamre. 1st. *Wild Trout VI. Putting the Native Back in Wild Trout*. Montana State University. 103-109.
- Nielsen, J. L. 1999. The evolutionary history of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) along the US Pacific Coast: Developing a conservation strategy using genetic diversity. *Journal of Marine Science.* 56:449-458.
- Nielsen, J. L., M. C. Fountain, J. Campoy Favela, K. Cobble y B. L. Jensen. 1998. *Oncorhynchus* at the southern extent of their range: a study of mtDNA control-region

sequence with special reference to an undescribed subspecies of *O. mykiss* from Mexico. *Environmental Biology*. (51)7-13.

Nielsen, J. L., K. D. Crow, and M. C. Fountain. 1999. Microsatellite diversity and conservation of a relic trout population: McCloud River redband trout. *Molecular Ecology*. 8:S129-S142.

Nielsen, J. L. y G. K. Sage. 2001. Microsatellite analyses of the trout of northwest Mexico. *Genetics*. 111:269-278.

O'Reilly, P. T., L. C. Hamilton, S. K. McConnell y J. M. Wright. 1996. Rapid detection of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmon salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53:2292-2298.

Parmesan, C. 2006. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37:637-669.

Pigeon, D., A. Chouinard y L. Bernatchez. 1997. Multiples modes of speciation involved in the parallel evolution of sympatric dwarf and normal morphotypes of like whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Salmonidae). *Evolution*. 51:196-206.

Pope, L. C., A. Sharp y C. Moritz. 1996. Population structure of the yellow-footed rock-wallaby *Petrogale xantophus*, (Gray, 1854) inferred from mtDNA and microsatellite loci. *Mol. Biol.* 5:629-640.

- Pritchard, J. K., M. Stephens y P. Donnelly. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*. 155:(2)945.
- Rice, W. R. 1989. Analysis tables of statistical tests. *Evolution*. 43:223-225.
- Richard, M. y R. S. Thorpe. 2001. Can microsatellites be used to infer phylogenies? Evidence from population affinities of the western Canary Island Lizard (*Gallotia galloti*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 20:(3)351-360.
- Rinne, J. N. 1990. Status, distribution and conservation of two rare southwestern (U.S.A.) salmonids, the Apache trout, *Oncorhynchus apache* Miller and the Gila trout, *O. gilae* Miller. *J. Fish. Biol.* 37:189-191.
- Rosenberg, N. A. 2004. *Distruct*: a program for graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes*. 4:137-138.
- Rousset, F. 2007. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Notes*.
- Ruiz-Campos, G., A. J. Contreras Balderas, M. d. L. Lozano Villano, S. Gonzalez Guzman y J. Alaniz Garcia. 2000. Ecological and distributional status of the continental fishes of northwestern Baja California, Mexico. *Bull. Southern California Acad. Sci.* 99:59-90.
- Saiki, R. K., S. Scharf y F. Faloona. 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 230:1350-1354.

- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: a new method of reconstructing phylogenetic trees *Mol. Biol. Evol.* 4:406-425.
- Scribner, K. T., J. R. Gust y R. L. Fields. 1996. Isolation and characterization of novel microsatellite loci: cross-species amplification and population genetic applications. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53:685-693.
- Seeb, L. W., A. Antonovich, A. A. Banks, T. D. Beacham, A. R. Bellinger, S. M. Blankenship, A. R. Campbell, N. A. Decovich, J. C. Garza, C. M. Guthrie, T. A. Lundrigan, P. Moran, S. R. Narum, J. J. Stephenson, K. J. Supernault, D. J. Teel, W. D. Templin, J. K. Wenburg, S. E. Young y C. T. Smith. 2007. Development of a standardized DNA database for Chinook salmon. *Fisheries.* 32:(11)540-552.
- Smith, G. R. y R. F. Stearley. 1989. The classification and scientific names of rainbow and cutthroat trouts. . *Fisheries.* 14:4-10.
- Sonstebo, J. H. y R. Borgstrom. 2007. Geentic structure of brown trout (*Salmo trutta* L.) from the Hardangervidda mountain plateau (Norway) analyzed by microsatellite DNA: a basis for conservation guidelines. *Conservation Genetics.* 8:(33-44).
- Stearley, R. F. y G. R. Smith. 1993. Phylogeny of the Pacific trout and salmon (*Oncorhynchus*) and genera of the family Salminidae *Transactions of the American Fisheries Society.* 122:(1)1-33.
- Takezaki, N. y M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics.* 144:389-399.

Tamayo, J. L. y R. C. West. 1964. The Hydrography of middle America. En: Wauchope, I. R. 1era. . Handbook of Middle America. Austin. University of Texas, Press. 84-121.

Templeton, A. R. 1989. The meaning of species and speciation: a genetic perspective En: Otte, D. y J. A. Endler. Speciation and its consequences. Sunderland, Massachusetts. Sinauer Associates. 3-27.

Tessier, N. L., L. Bernatchez y J. M. Wright. 1997. Population structure and impact of supportive breeding inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses in landlocked Atlantic salmon (*Salmon salar* L.) Molecular Ecology. 6:(735-750).

Turner, G. F. 1999. What is a fish species ? Reviews in Fish Biology and Fisheries. 9:(4)281-297.

Utter, F. y F. W. Allendorf. 1994. Phylogenetic relationships among species of *Oncorhynchus*: a consensus view. Conservation Biology. 8:864-867.

Weigel, D. A., J. T. Peterson y P. Spruell. 2003. Introgressive hybridization between native cutthroat trout and introduced rainbow trout Ecol. Appl. 13:38-50.

Weir, B. S. y C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution. 38:(6)1358-1370.

Wiens, J. J. 2007. Species delimitation: New approaches for discovering diversity. Systematic Biology. 56:(6)875-878.

Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. Ann. Eugen. 15:322-354.

Wright, S. 1969. *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 2. The theory of gene frequencies. University of Chicago Press. Ed. Chicago. 511 pp.

11 ANEXOS

Tabla I. Localidades muestreadas en el estudio de identificación de unidades taxonómicas en el complejo de truchas mexicanas en el Noroeste de México.

Género	Especie	Fecha (año/mm/dd)	Estado	Cuenca	Río	Long	Lat	N
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss nelsoni</i>	20010331	Baja California	Santo Domingo	San Antonio			40
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960924	Sonora	Yaqui	Arroyo El Arco	-108.630	29.820	19
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960924	Chihuahua	Yaqui	Río Tutuaca	-108.200	28.458	7
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960926	Sonora	Yaqui	Arroyo La Presita	-108.730	29.800	16
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960927	Chihuahua	Guzmán	Arroyo La Playa	-108.170	29.830	8
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960921	Chihuahua	Guzmán	Arroyo Escalariado	-108.030	30.247	11
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960925	Chihuahua	Yaqui	Arroyo El Salto	-108.156	29.530	6
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960927	Chihuahua	Yaqui	Las Guacamayas	-108.500	30.030	12
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960926	Sonora	Yaqui	Arroyo Cuartel	-108.750	29.870	8
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	19960925	Chihuahua	Yaqui	Río Negro	-108.500	29.720	6
<i>Oncorhynchus</i>	<i>chrysogaster</i>	19970224	Chihuahua	Culiacán	Arroyo Agua Blanca	-106.682	25.808	6
<i>Oncorhynchus</i>	<i>chrysogaster</i>	19970223	Chihuahua	Fuerte	Arroyo La Onza	-106.681	25.950	22
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001028	Durango	Presidio	Estacion de Piscicultura	-105.467	23.733	11
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001030	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.888	24.399	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001103	Chihuahua	Fuerte	Estacion de Piscicultura	-107.815	28.017	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001026	Durango	Presidio	Arroyo Nogales	-105.550	23.958	9
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001029	Durango	San Lorenzo	Estación de Piscicultura	-105.791	24.470	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001030	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.888	24.399	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001030	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.888	24.399	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001030	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.888	24.399	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001030	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.791	24.470	12
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001031	Durango	San Lorenzo	Arroyo San Ignacio	-105.888	24.399	7
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001031	Durango	San Lorenzo	Arroyo San Ignacio	-105.888	24.399	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20001103	Chihuahua	Fuerte	Estacion de Piscicultura	-107.815	28.017	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040313	Durango	Baluart	Arroyo Santa Barbara	-105.454	23.649	35
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040313	Durango	Acaponeta	Arroyo Tanquecitos	-105.391	23.648	7
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040313	Durango	Presidio	Arroyo La Rosilla	-105.424	23.709	6
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040314	Durango	Acaponeta	Arroyo las Cebollas	-105.337	23.617	17
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040314	Durango	Baluart	Arroyo Santa Barbara	-105.454	23.649	5

Tabla I Continuación.

Género	Especie	Fecha (año/mdd)	Estado	Cuenca	Río	Long	Lat	N
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040315	Durango	Acaponeta	Arroyo las Moras	-105.370	23.714	2
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040315	Durango	Presidio	Quebrada de La Vega	-105.471	23.881	20
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040316	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.799	24.400	20
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040316	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.791	24.477	15
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	20040316	Durango	San Lorenzo	Arroyo La Sidra	-105.791	24.477	2
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	20040316	Durango	San Lorenzo	Estacion de Piscicultura Vencedores			17
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040317	Durango	San Lorenzo	Arroyo las Truchas	-105.975	24.464	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040317	Durango	San Lorenzo	Arroyo las Cuevecillas	-105.928	24.454	7
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040317	Durango	Piactla	Arroyo del Granizo	-106.002	24.314	25
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040317	Durango	San Lorenzo	Arroyo San Ignacio	-105.872	24.389	6
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040318	Durango	San Lorenzo	Arroyo de las Veredas	-105.918	24.396	15
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040318	Durango	San Lorenzo	Arroyo del Ojito	-105.938	24.386	12
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040318	Durango	San Lorenzo	Arroyo San Ignacio	-105.872	24.389	3
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040318	Durango	Piactla	Arroyo San Antonio	-105.967	24.390	11
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040318	Durango	Piactla	Arroyo Cruz Larga	-106.023	24.245	25
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20040318	Durango	San Lorenzo	Arroyo de Veredas	-105.898	24.366	25
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	20050221	Chihuahua	Conchos	Arroyo Apariachi	-107.315	27.698	2
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20050221	Chihuahua	Conchos	Río Rituchi	-107.441	27.721	10
<i>Oncorhynchus</i>	<i>chrysogaster</i>	20050222	Chihuahua	Fuerte	Arroyo Aparica	-107.815	28.015	22
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20050222	Chihuahua	Yaqui	Arroyo Calaveras	-107.796	28.084	1
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20050223	Chihuahua	Mayo	Río Candameña	-108.210	28.258	15
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20050223	Chihuahua	Yaqui	Arroyo Banderella	-108.022	28.332	18
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20050225	Sonora	Yaqui	Arroyo la Cueva	-108.726	29.817	1
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20050225	Sonora	Yaqui	Arroyo la Presita	-108.722	29.812	14
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20050226	Chihuahua	Guzmán	Río Escalariado	-108.197	30.260	28
<i>Oncorhynchus</i>	<i>sp.</i>	20060322	Chihuahua	Conchos	Arroyo Ureyna	-107.377	27.789	15
<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	20061130	California	Middle Fork	Steely Creek	-120.507	38.632	26

Tabla II. Frecuencias alélicas del locus microsatélites Omy2, datos de sitios de colecta organizados por cuencas en el complejo de truchas mexicanas en el Noroeste de México. La letra “N” corresponde al número de individuos de cada muestra.

LOCUS Omy2 (N)	CUENCA														
	Guzmán	Yaqui	Mayo	Conchos	San Lorenzo	Piactla	Presidio	Baluart	Acaponeta	Santo Domingo	California	Acuacul	Fuerte Culiacán	Fuerte Norte	
	46	115	15	24	178	60	28	36	26	40	25	67	28	19	
81	0	0	0	0	0.0225	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0	
87	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1607	0	
89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1071	0	
93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0536	0	
99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0179	0	
101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0536	0	
103	0	0	0	0	0.0084	0	0	0.0278	0	0	0	0.0149	0	0	
105	0	0	0	0	0.0253	0	0	0.125	0	0	0	0.0522	0.4286	0	
107	0	0	0	0	0.0084	0	0	0	0	0	0	0.0896	0	0	
109	0	0	0	0	0.1685	0.0167	0.2143	0.0694	0.25	0	0	0.0299	0	0	
111	0	0	0	0	0.0112	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
113	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.14	0	0	0	
115	0.0761	0.0609	0	0	0.0197	0	0.0536	0	0.1154	0	0	0.0597	0	0	
117	0.0435	0.0565	0	0	0	0	0	0	0	0.1125	0	0	0.0179	0	
119	0.0109	0.0087	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.125	0	
121	0.2283	0.2174	0	0	0.0028	0	0	0	0	0.075	0	0	0	0	
123	0	0.0304	0	0	0	0	0.3036	0.0556	0.0385	0.0625	0	0	0	0	
125	0	0	0	0	0	0	0.0893	0.5833	0	0	0	0.0075	0	0	
127	0	0.0087	0	0	0	0	0.0714	0	0	0.225	0	0	0	0	
129	0	0.087	0.0333	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0149	0	0	
131	0	0.0913	0	0	0.0421	0	0	0	0	0	0.02	0.0075	0	0	
133	0	0.0435	0	0	0.0927	0.0083	0.0893	0	0.0962	0	0.02	0.1045	0	0	
135	0.0217	0.0043	0	1	0.2416	0	0	0	0	0	0.04	0.0224	0	0	
137	0.0326	0.013	0	0	0.014	0	0.0714	0.0972	0	0	0	0.1567	0	0.0526	
139	0.587	0.1304	0.7667	0	0.0253	0	0	0.0417	0.0577	0	0	0	0	0	
141	0	0.0391	0	0	0.0702	0.4083	0.0714	0	0.1923	0	0	0.2687	0	0	
143	0	0.1783	0	0	0.0084	0.0083	0	0	0.0577	0	0	0	0.0357	0	
145	0	0.0217	0	0	0.1713	0.5583	0.0357	0	0	0.0125	0	0	0	0	
147	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	
149	0	0	0	0	0.0534	0	0	0	0	0.0125	0.02	0.0373	0	0	
151	0	0.0043	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0.02	0	0	0.1842	
153	0	0.0043	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0.0075	0	0.7632	
155	0	0	0.2	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
159	0	0	0	0	0.0056	0	0	0	0.1154	0	0	0.0075	0	0	
161	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.12	0.0373	0	0	
163	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0	0	0	
165	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0	0	0	

Tabla II. Continuación.

LOCUS Omy2 (N)	CUENCA													
	Guzmán 46	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 178	Piaxtla 60	Presidio 28	Baluart e 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 25	Acuacul 67	Fuerte Culiacá n 28	Fuerte Norte 19
167	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.48	0	0	0
169	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0.0149	0	0
171	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0	0	0
203	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0385	0	0	0	0	0
205	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0
207	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0385	0	0	0	0	0
221	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
223	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0149	0	0
224	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
225	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0149	0	0
226	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
228	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0

Tabla IV. Frecuencias alélicas de locus microsatélites Omy77 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.

LOCUS Omy77 (N)	CUENCA													
	Guzmán 47	Yaqui 113	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 179	Piaxtla 59	Presidio 26	Baluarte 35	Acaponeta 25	Santo Domingo 40	California 25	Acuacul 65	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19
97	0	0	0	0	0.0056	0	0.0769	0.5714	0.14	0.0125	0	0.0154	0	0
99	0	0	0.0333	0	0.7849	0.822	0.3077	0.1714	0.32	0	0.5577	0.5	0	0
101	0	0	0	0	0.0223	0	0.2115	0	0.06	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0.0168	0.1525	0	0	0.02	0.0625	0	0.0769	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.925	0	0	0	0.8947
109	0	0	0	0	0.0866	0	0	0.1714	0	0	0.0192	0.0692	0	0
111	0	0	0	0	0.0084	0.0254	0.2885	0	0.12	0	0	0	0	0
113	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0	0.0385	0	0	0
115	0.383	0.8053	0.8333	0	0.067	0	0.1154	0.0857	0.3	0	0	0.2385	0	0.0263
116	0	0.0044	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
117	0.617	0.1327	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0192	0	0	0
119	0	0.031	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
121	0	0.0088	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0.0231	0	0
123	0	0.0088	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0.0154	0	0
125	0	0.0088	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0192	0	0	0
127	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0
129	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0.02	0	0	0.0231	0	0
131	0	0	0.0333	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
133	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0769	0	0	0
135	0	0	0.0667	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0536	0
136	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0192	0	0	0
137	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2308	0	0.3036	0.0789
139	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.6429	0
141	0	0	0.0333	0	0	0	0	0	0	0	0.0192	0.0385	0	0

Tabla V. Frecuencias alélicas de locus microsatélites Omy207 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.

LOCUS Omy207 (N)	CUENCA													
	Guzmán 46	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 178	Piaxtla 60	Presidio 28	Baluart 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 26	Acuacul 67	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19
99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0192	0	0	0
103	0.0109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0.132	0	0.0714	0.0278	0.1923	0.0375	0	0.1642	0	0
107	0	0.1043	0	0.0417	0	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
109	0	0	0	0.0417	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
111	0.2283	0.2261	0.5333	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
113	0.6522	0.1174	0.0333	0	0.0056	0	0	0	0.1538	0	0	0.1866	0	0
115	0.1087	0.3043	0.4333	0	0.6376	0.325	0.1429	0.2361	0.0577	0	0.3846	0.1493	0.3571	0
117	0	0.0565	0	0.375	0.1011	0.35	0	0	0	0	0	0.0522	0	0
119	0	0.0348	0	0.5417	0.0534	0.0417	0	0	0	0	0	0.0821	0	0
121	0	0.0174	0	0	0	0.2417	0	0	0	0	0	0	0.0357	0
123	0	0.0565	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0
125	0	0	0	0	0.014	0	0.0893	0.0972	0.3077	0	0.3269	0.1269	0.125	0
127	0	0	0	0	0.0197	0	0.1607	0	0.1154	0	0	0.0448	0	1
129	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2692	0.0299	0	0
131	0	0.0043	0	0	0	0	0.2679	0	0.0192	0	0	0.0373	0	0
133	0	0.0304	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
135	0	0.0043	0	0	0	0	0	0.0139	0	0	0	0.0224	0.0179	0
137	0	0.0348	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
139	0	0.0043	0	0	0.0112	0	0.0536	0	0	0	0	0.0299	0	0
140	0	0	0	0	0	0.0083	0	0	0	0	0	0	0	0
141	0	0	0	0	0.0084	0.0333	0.2143	0.625	0.1538	0	0	0.0373	0	0
143	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0.15	0	0	0	0
145	0	0.0043	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
147	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.8125	0	0	0	0
155	0	0	0	0	0.0112	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
157	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0149	0	0

Tabla V. Continuación

LOCUS Omy207 (N)	CUENCA													
	Guzmán 46	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 178	Piaxtla 60	Presidio 28	Baluart 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 26	Acuacul 67	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19
171	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2143	0
179	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.125	0
183	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0714	0
189	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0536	0

Tabla VI. Frecuencias alélicas de locus microsatélites Onem8 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.

LOCUS Onem8 (N)	CUENCA													
	Guzmán 47	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 179	Piaxtla 60	Presidio 28	Baluart 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 26	Acuacul 67	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19
154	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0
155	0	0	0	0	0.0056	0	0	0	0	0	0	0	0.1429	0
157	0	0	0	0	0.0726	0	0.0179	0.0833	0.1154	0	0	0.1493	0.2679	0
159	0.0106	0	0	0	0.1453	0.0417	0.9107	0.7917	0.8269	0.8	0.5577	0.5224	0.2143	1
160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0192	0	0	0
161	0	0.0087	0.2	1	0.0922	0	0.0536	0.125	0.0385	0.075	0	0.2313	0.375	0
163	0	0.2304	0	0	0.5726	0.95	0.0179	0	0	0.025	0	0	0	0
165	0.9894	0.3739	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
167	0	0.2826	0	0	0.0279	0	0	0	0	0	0	0	0	0
169	0	0.087	0	0	0.0056	0	0	0	0	0	0	0	0	0
171	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0.1	0	0.0597	0	0
173	0	0.0174	0	0	0.0223	0	0	0	0.0192	0	0	0.0075	0	0
175	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1731	0.0075	0	0
177	0	0	0	0	0.0531	0.0083	0	0	0	0	0.1538	0.0224	0	0
183	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0962	0	0	0

Tabla VIII. Frecuencias alélicas de locus microsatélites Onem11 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.

LOCUS Onem11 (N)	CUENCA													
	Guzmán 47	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 179	Piaxtla 59	Presidio 28	Baluarte 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 22	Acuacul 67	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19
143	0	0.0652	0	0.375	0	0.7288	0	0	0	0	0	0	0	0
145	0.0319	0.5	0.9667	0.625	0.1006	0	0.6071	0.5	0.5577	0.6625	0.4773	0.6343	0.0893	0.9737
147	0.9681	0.4348	0.0333	0	0.8994	0.2712	0.3393	0.5	0.4423	0.05	0.3636	0.3284	0.9107	0.0263
149	0	0	0	0	0	0	0.0536	0	0	0	0.1591	0.0373	0	0
153	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2875	0	0	0	0

Tabla IX. Frecuencias alélicas de locus microsatélites Ots1 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.

LOCUS Ots1 (N)	CUENCA													
	Guzmán 47	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 179	Piaxtla 60	Presidio 28	Baluarte 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 26	Acuacul 67	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19
139	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0
153	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0
155	0	0	0	0	0.0084	0	0	0.0694	0.0385	0	0	0.0373	0	0
157	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0385	0	0	0.0224	0	0
159	0	0	0	0	0.0838	0	0.1786	0	0	0	0.0192	0.0224	0.125	0
161	0	0	0.0667	0	0.0475	0	0.0714	0.0972	0.1154	0	0.0192	0.3209	0.0179	0
163	0	0	0	0	0.6927	1	0.4107	0.7778	0.1538	0	0.2115	0.1567	0.1607	1
165	0	0	0	0	0.0028	0	0.0714	0	0	0.725	0.4808	0.1269	0	0
167	0	0	0	0	0.0112	0	0.0893	0.0556	0.1731	0	0.0577	0.097	0	0
169	0	0	0	0	0.0307	0	0.0179	0	0.3269	0	0	0.0672	0	0
171	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.275	0	0.0149	0	0
173	0	0	0	0	0.0112	0	0	0	0	0	0	0.0299	0	0
175	0	0	0	0	0.0112	0	0.1607	0	0	0	0	0.0224	0	0
177	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
185	0	0	0	0	0.0168	0	0	0	0	0	0	0	0	0
223	0	0.2435	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
225	0	0.0522	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
227	1	0.6957	0.7333	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
231	0	0.0087	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
233	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0179	0
235	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0.0522	0.6786	0
239	0	0	0	0	0.0531	0	0	0	0	0	0.1538	0.0075	0	0
241	0	0	0	0	0.0196	0	0	0	0	0	0	0.0075	0	0
243	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0.1538	0	0.0577	0.0075	0	0

Tabla X. Frecuencias alélicas de locus microsatélites Sfo8 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.

LOCUS Sfo8 (N)	CUENCA														
	Guzmán 47	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 179	Piaxtla 60	Presidio 28	Baluarte 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 26	Acuacul 65	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19	
193	0	0.008	0	0	0	0	0	0	0	0	0.75	0	0	0	
211	0	0.007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0357	0	
217	0	0	0	0	0.0084	0	0	0	0	0	0	0.0308	0	0	
219	0	0	0	0	0.1844	0	0.3036	0	0.6923	0	0	0.3462	0.8929	0	
225	0.5426	0.921	0.8333	1	0	0	0	0	0	0	0	0.0077	0	0	
227	0	0.013	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
231	0.4574	0.052	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
233	0	0.004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
235	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0962	0.0077	0	0	
239	0	0	0	0	0.067	0	0.1964	0.3056	0.0192	0	0.0769	0.1462	0	0	
243	0	0	0	0	0.0168	0.0333	0.0714	0	0.0192	0	0	0.0385	0	0	
245	0	0	0	0	0.0028	0.5833	0.0714	0	0	0	0.0385	0.0077	0	0	
247	0	0	0	0	0.3855	0.125	0	0	0	0.35	0	0.0385	0.0714	0	
249	0	0	0	0	0.0251	0	0.1964	0.5417	0.0769	0	0	0.0231	0	0	
251	0	0	0	0	0.0056	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
253	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
255	0	0	0	0	0.0196	0	0	0	0	0.1625	0	0.0077	0	0	
257	0	0	0	0	0.2039	0.1083	0	0	0.0192	0	0	0	0	0	
259	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4875	0	0	0	0	
261	0	0	0	0	0.0084	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
263	0	0	0	0	0	0.15	0	0	0	0	0	0	0	0	
264	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5263	
265	0	0	0	0	0.0028	0	0.1071	0	0.0385	0	0	0.0308	0	0.4211	
267	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0231	0	0.0263	
283	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0192	0	0	0.0154	0	0	
285	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0962	0	0.0192	0.0077	0	0.0263	
287	0	0	0	0	0.0028	0	0	0	0	0	0	0.0077	0	0	
289	0	0	0	0	0	0	0.0357	0	0	0	0	0	0	0	
297	0	0	0.0667	0	0.0642	0	0.0179	0.1528	0.0192	0	0.0192	0.2615	0	0	

Tabla XI. Continuación

LOCUS Ssa14 (N)	CUENCA													
	Guzmán 45	Yaqui 92	Mayo 13	Conchos 19	San Lorenzo 168	Piaxtla 58	Presidio 28	Baluarte 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 35	California 8	Acuacul 65	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 17
208	0	0.038	0.3846	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
210	0	0	0.1154	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
214	0	0.0217	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
220	0	0	0.1154	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
294	0	0	0.0769	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla XII. Frecuencias alélicas de locus microsatélites Ssa289 en el Complejo de Truchas Mexicanas. La letra “n” corresponde al número de individuos de la muestra.

LOCUS Ssa289 (N)	CUENCA													
	Guzmán 47	Yaqui 115	Mayo 15	Conchos 24	San Lorenzo 179	Piaxtla 60	Presidio 28	Baluarte 36	Acaponeta 26	Santo Domingo 40	California 19	Acuacul 67	Fuerte Culiacán 28	Fuerte Norte 19
104	0	0.113	0.3	0.9583	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	1	0.813	0.6	0.0417	0.0028	0	0	0	0	0	0	0	0	0
110	0	0	0	0	0.0223	0	0.2143	0.0139	0.2692	0.325	0.3421	0.2985	0.0357	0.0526
112	0	0	0.1	0	0.6145	0.3667	0.1786	0.0139	0.3077	0.625	0.3421	0.209	0.1786	0.0263
114	0	0	0	0	0.1201	0.6333	0.25	0.1111	0.0962	0	0.0263	0.1642	0	0
116	0	0.069 6 0.004	0	0	0.0922	0	0.2143	0.6528	0.1346	0	0.0789	0.0299	0	0
118	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120	0	0	0	0	0.0866	0	0.0714	0.0278	0.0962	0.05	0	0.1343	0.2143	0
122	0	0	0	0	0.0084	0	0	0.0417	0.0962	0	0	0.0896	0.0536	0
124	0	0	0	0	0.0531	0	0.0714	0.1389	0	0	0.0526	0.0672	0.5179	0.9211
126	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1579	0.0075	0	0

Tabla XIII. Estructura alélica de 11 *loci* microsatélites amplificadas en el complejo de truchas mexicanas así como en truchas arcoíris. Datos de sitios de colecta de la Tabla I de anexo agrupados por cuencas. Tamaño de los alelos dado en pares de bases.

N	Guzman		Yaqui		Mayo		Conchos	
	46		115		15		24	
<i>Locus</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>
Omy2	115-139	7	115-153	17	129-155	3	135	1
Omy27	111-113	2	111-115	3	109-115	3	109-113	2
Omy77	115-117	2	115-125	7	99-141	5	123	1
Omy207	103-115	4	107-145	14	111-115	3	107-119	4
Omy325	103-111	4	97-131	10	105-111	3	101-105	2
Onem8	159-165	2	161-173	6	161-171	3	161	1
Onem11	145-147	2	143-147	3	145-147	2	143-145	2
Ots1	227	1	223-231	4	223-227	2	227	1
Sfo8	225-231	2	211-233	5	225-297	3	225	1
Ssa14	132-138	3	132-214	13	136-294	7	138-170	4
Ssa289	108	1	104-118	4	104-112	3	104-108	2

N	San Lorenzo		Piaxtla		Presidio		Baluarte	
	178		60		28		36	
<i>Locus</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>
Omy2	81-205	21	109-145	5	109-145	9	103-139	7
Omy27	101-113	6	107-109	2	107-113	3	101-111	4
Omy77	97-129	10	99-111	3	97-115	5	97-115	4
Omy207	105-155	12	115-141	6	105-141	7	105-141	5
Omy325	99-137	15	105-135	3	103-155	6	99-135	8
Onem8	154-177	10	159-177	3	157-163	4	157-161	3
Onem11	145-147	2	143-147	2	145-149	3	145-147	2
Ots1	139-243	16	163	1	159-175	7	155-167	4
Sfo8	217-297	15	243-263	5	219-297	8	239-297	3
Ssa14	130-162	14	126-166	8	134-162	10	140-146	5
Ssa289	108-124	8	112-114	2	110-124	6	110-124	7

Tabla XIII. Continuación.

N	Acaponeta		O. mykkis nelsoni Santo Domingo		O. mykiss California USA		Acualcultura	
	26		40		26		67	
<i>Locus</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>
Omy2	109-207	10	117-149	7	113-171	13	81-228	24
Omy27	101-113	3	101-109	3	101-113	5	101-113	5
Omy77	97-129	8	97-107	3	99-141	9	97-141	9
Omy207	105-141	7	105-147	3	99-129	4	105-157	16
Omy325	103-125	5	103-125	5	103-135	9	105-155	14
Onem8	157-171	4	159-171	4	159-183	5	157-177	7
Onem11	145-147	2	145-153	3	145-149	3	145-149	3
Ots1	155-243	7	165-171	2	159-243	7	155-243	16
Sfo8	219-297	9	247-259	3	193-297	6	217-297	16
Ssa14	134-162	8	150-156	2	112-166	7	124-158	14
Ssa289	110-122	6	110-120	3	110-126	6	110-126	8

N	O. chrysogaster Fuerte y Culiacan		Fuerte Norte	
	28		19	
<i>Locus</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>	<i>Rango</i>	<i># Allelos</i>
Omy2	87-143	9	137-153	3
Omy27	107-111	2	107-109	2
Omy77	135-139	3	107-137	3
Omy207	115-189	8	127	1
Omy325	105-153	8	99-212	4
Onem8	155-161	4	159	1
Onem11	145-147	2	145-147	2
Ots1	159-235	5	163	1
Sfo8	211-247	3	264-285	4
Ssa14	154-198	13	136-154	3
Ssa289	110-124	5	110-124	3

10.1 Extracción orgánica con proteinasa K

1. A 100 mg de tejido en polvo añadir:
 - 500 μ l de Buffer STE
 - 25 μ l de proteinasa K
 - 75 μ l de SDS al 10%
2. Mezclar bien e incubar mínimo 2 horas a 55 °C. Agitar cada 15 minutos.
3. Añadir igual volumen de PCI o Fenol, es decir 600 μ l. Mezclar vigorosamente a temperatura ambiente durante 5 minutos.
4. Centrifugar por 5 minutos a 14, 000 rpm.
5. Remueva la fase superior (columna) y transfiera a un tubo nuevo.
6. Repita los pasos 3, 4 y 5
7. Añada igual volumen de CI.
8. Mezcle por 2 minutos.
9. Centrifugue por 3 minutos a 14, 000 rpm.
10. Recupere la fase superior y póngalo en un tubo nuevo.
11. Repita los pasos 7, 8, 9 y 10.
12. Añada 1/10 del volumen de la muestra (+/- 45 μ l) de NaCl 2M.
13. Precipite a -20 °C con alcohol absoluto (toda la noche).
14. Centrifugue por 10 minutos a 14, 000 rpm.
15. Lave dos veces la muestra con alcohol al 70% y secar.
16. Resuspenda en 50 μ l de agua di-destilada estéril.

SI 119.H05_061005220Q

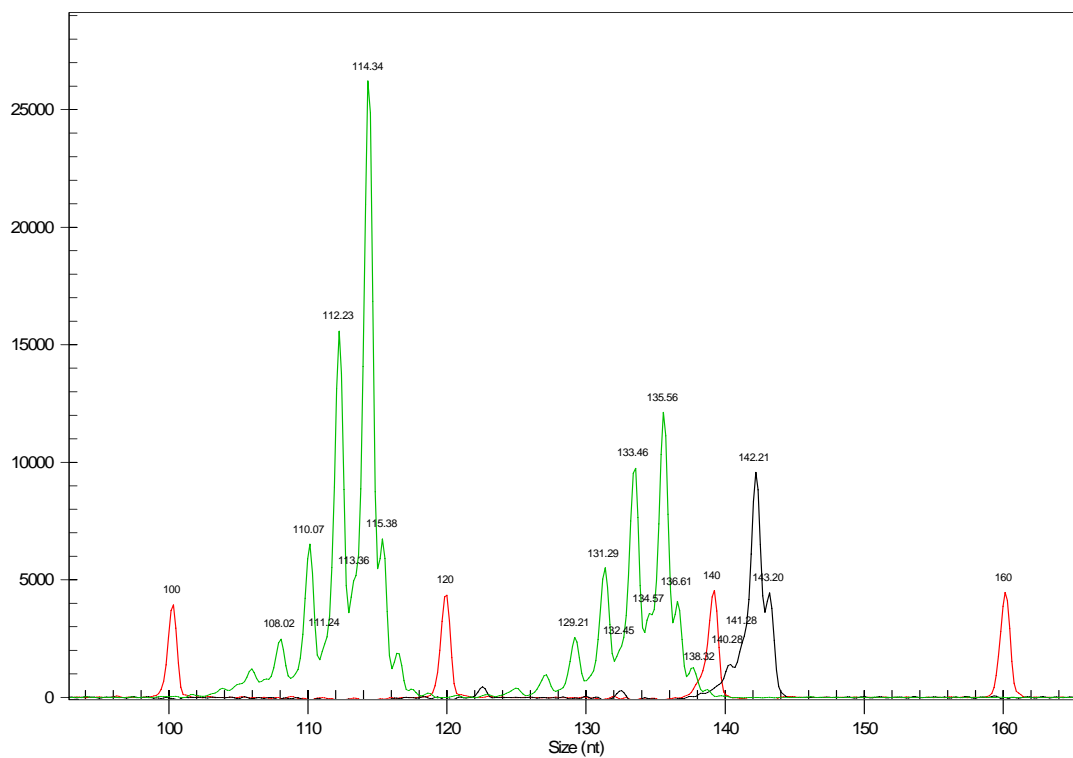


Figura 1. Ejemplo de un electroferograma correspondiente a los *loci* microsatélites Oneu1 en negro y Omy325 en verde. Los picos de color rojo corresponden al marcador en talla. Las electroforesis se llevaron a cabo en un secuenciador automático marca Beckman Coulter modelo CEQ 8000 Genetic Analysis System.

AC06.F01_06091520VH

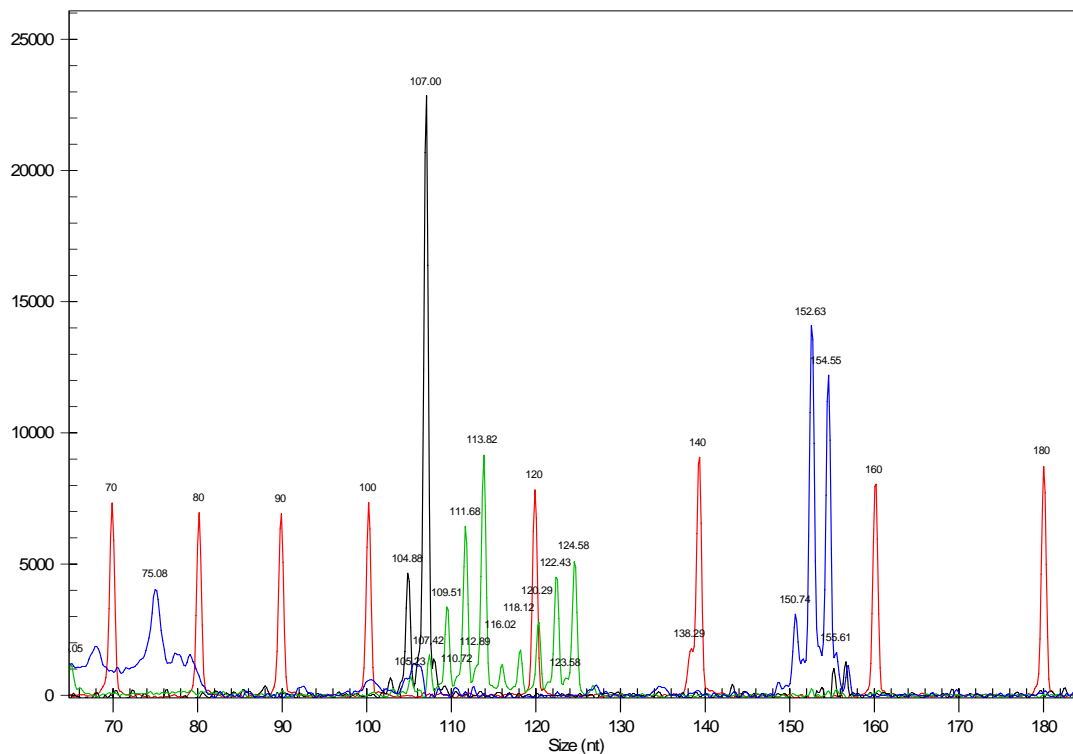


Figura 2. Ejemplo de un electroferograma multiplex correspondiente a los *loci* microsatélites Oneu8 en negro, Omy27 en azul y Omy207 en verde. Los picos de color rojo corresponden al marcador en talla. Las electroforesis se llevaron acabo en un secuenciador automático marca Beckman Coulter modelo CEQ 8000 Genetic Analysis System