



Universitat de Girona

**DIVERSITAT GENÈTICA DE LA TRUITA COMUNA
(SALMO TRUTTA L.) A LA PENÍNSULA IBÈRICA:
BIOGEOGRAFIA I GESTIÓ**

Núria SANZ BALL-LLOSERA

ISBN: 978-84-692-5565-0
Dipòsit legal: GI-990-2009



Universitat de Girona
Laboratori d'Ictiologia Genètica

**DIVERSITAT GENÈTICA DE LA TRUITA
COMUNA (*SALMO TRUTTA* L.) A LA
PENÍNSULA IBÈRICA:
BIOGEOGRAFIA I GESTIÓ**

Memòria de la tesi doctoral

Núria Sanz Ball-Ilosera

Girona, octubre de 2000

JOSÉ LUIS GARCÍA MARÍN I CARLES PLA ZANUY, PROFESSORS
TITULARS DE GENÈTICA DEL DEPARTAMENT DE BIOLOGIA DE LA
UNIVERSITAT DE GIRONA

CERTIFIQUEN,

Que el treball titulat **Diversitat genètica de la truita comuna (*Salmo trutta* L.) a la Península Ibèrica: Biogeografia i gestió**, presentat per **Núria Sanz Ball-Ilosera** per a obtenir el grau de Doctor, ha estat realitzat sota la seva direcció en el Laboratori d'Ictiologia Genètica de la Universitat de Girona, el consideren acabat i autoritzen la seva presentació al tribunal qualificador

Girona, 2 d'octubre de 2000

José Luis García Marín

Carles Pla Zanuy

A la meva família i
especialment a la Paula

Agraïments

En primer lloc, desitjo expressar el més sincer agraïment al Dr. José Luis García Marín per haver-me dirigit aquesta tesi, per la seva paciència, dedicació i ajut constant i per l'estímul que m'ha donat per seguir endavant. També al Dr. Carles Pla, pel seu suport i per l'assessorament i crítica amb els quals el treball ha assolit els seus objectius.

Vull manifestar també el meu agraïment a la Direcció General del Medi Natural de la Generalitat de Catalunya i als seus guardes forestals, especialment en Juanito i en Josep Jordana, per l'ajut en la presa de mostres dels Pirineus catalans occidentals. Part d'aquest estudi va estar suportat econòmicament pel contracte LCC-60016/017/93 entre el nostre laboratori i el Servei de Protecció de la Natura de la DGMN. Així mateix, agraeixo també a la Sra. Rosa Marsol, Directora dels centres piscícoles de Bagà i Pont de Suert de la Generalitat de Catalunya, la informació rebuda sobre les repoblacions efectuades en aquesta àrea d'estudi.

A la Sección de Ecología del IMIA de la Dirección General de Agricultura y Alimentación de la Comunidad de Madrid, en especial a l'Annie Machordom, haig d'agrair la col·laboració en l'article publicat conjuntament amb les mostres del Sistema Central. Aquest treball va ser realitzat gràcies al finançament del INIA com a part del Projecte INIA-9645.

Agraeixo també als tècnics i agents forestals del Servicio Territorial de León de la Dirección General del Medio Natural (Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, Junta de Castilla y León), la informació facilitada i l'ajut rebut en la captura dels exemplars de les mostres de la Comunitat Autònoma de Castilla-León.

Agraïments a Diego García de Jalón, per les mostres de truita del Sistema Bètic.

Molt especialment, donada la sòlida relació que existeix entre ell i el nostre laboratori, gràcies al Dr. F.M. Utter per la revisió d'alguns articles i per les valuoses suggerències que m'ha fet.

Agraeixo també als altres membres del laboratori, Dra. M^a Inés Roldán, Jordi, Martí Pujolar, Rosa M^a Araguas, Martí Cortey, la seva ajuda incondicional en tot el que ha calgut; així com també a la Cesca, en Vicens i la Sara, el seu suport tècnic en el laboratori durant el temps que han estat treballant amb nosaltres.

Gràcies a l'Emili García pel seu assessorament estadístic sempre que m'ha calgut.

A la Marta, la Rosa, l'Ariadna, les Gemmes i la Sussi, agraïments per les bones estones que hem passat juntes i pel recolzament constant, i a la Margarita, la Sandra, en Pitu, en Quim, a l'Anna i als altres eventuals, per la seva companyia cada matí de tres quarts de deu a un quart d'onze.

Aquest treball no hagués estat possible sense una beca pre-doctoral FIAP concedida pel Departament de la Presidència de la Generalitat de Catalunya, de la qual he gaudit durant aquests els anys 1996-1999.

Finalment, el més profund agraïment als meus pares, la meva família i en Jaume, perquè sempre han estat al meu costat confiant en mi i donant-me suport en tot el que he fet.

Índex

Resums	1
Resum	3
Resumen	4
Summary	5
I. Introducció	7
I.1 Interès del treball	9
I. 2 Antecedents	11
I.2.1 Història evolutiva de la truita comuna	11
I.2.2 Agents responsables de l'estructura poblacional de la truita comuna	15
I.2.3 La variabilitat genètica a la truita comuna i la seva importància en la gestió de les poblacions	17
I.2.4 Les repoblacions amb exemplars al.lòctons	19
I.3 Objectius del treball	21
I.3.1 Distribució dels recursos genètics nadius de la truita comuna (<i>Salmo trutta</i>) a la Península Ibèrica	21
I.3.2 Els efectes genètics de les repoblacions	21
I.3.3 Factors determinants i dinàmica del procés de substitució dels genomes autòctons com a conseqüència de les repoblacions	22
II. Material i mètodes	23
II.1 Material	25
II.2 Metodologia	30
II.2.1 Electroforesi	30
II.2.2 Anàlisi de les dades	32

III. Resultats	39
III.1 Distribució dels recursos genètics nadius de la truita comuna a la Península Ibèrica	43
Article I. Divergence of brown trout (<i>Salmo trutta</i>) within glacial refugia	45
Article II. Genetic diversity of brown trout (<i>Salmo trutta</i>) in the peripheral Mediterranean populations	81
III.2 Els efectes genètics de les repoblacions: Exemples	127
Article III. Allozyme diversity in brown trout (<i>Salmo trutta</i>) from Central Spain: Genetic consequences of restocking	129
Article IV. Anàlisi genètica de la truita comuna, <i>Salmo trutta</i> L., a la conca alta de la Noguera Ribagorçana	143
III.3 Factors determinants i dinàmica del procés de substitució dels genomes autòctons com a conseqüència de les repoblacions	165
Article V. Proportions of Native and Introduced Brown Trout in Adjacent Fished and Unfished Spanish Rivers	167
Article VI. Erosion of the native genetic resources of brown trout in Spain	177
IV. Discussió general	187
IV.1 Estructura genètica de les poblacions de truita comuna la Península Ibèrica	189
IV.1.1 Una revisió global	189
IV.1.2 La vessant atlàntica	196
IV.1.3 La vessant mediterrània	200
IV.1.4 Dinàmiques evolutives a la Península Ibèrica: Atlàntic vs. Mediterrani	203
IV.2 Els efectes de les repoblacions	207
IV.2.1 Erosió dels patrimonis genètics autòctons	207
IV.2.2 Dinàmica de substitució dels genomes autòctons	210
IV.2.3 Factors determinants de l'èxit o el fracàs de les repoblacions	211
IV.3 Cap a una gestió autosostenible	214
V. Conclusions	219
VI. Referències	225

RESUMS

Resum

L'estudi de la diversitat i la diferenciació genètiques de les poblacions de truita comuna (*Salmo trutta* L.) a la Península Ibèrica ha confirmat l'elevada diferenciació observada en treballs previs i la divergència, ja descrita, entre les poblacions de la vessant atlàntica i la mediterrània. El resultats obtinguts, però, ens permeten observar patrons d'estructura poblacional tant en les poblacions atlàntiques com les mediterrànies. A l'Atlàntic s'observa un marcat patró hidrogràfic en la distribució de la diferenciació genètica, que contrasta fortament amb la distribució d'aquesta diferenciació en les poblacions mediterrànies, caracteritzades pels contactes secundaris entre llinatges durant les expansions pleniglacials i una forta divergència local conseqüència de la seva marginalitat i aïllament en els períodes interglacials.

El manteniment d'aquesta diferenciació i individualitat descrites en les poblacions de truita de la Península, es veu seriosament compromès per les contínues repoblacions dels rius amb exemplars exògens d'origen nord europeu. La substitució dels genomes autòctons per la introducció de gens al·lòctons provoca una erosió dels patrimonis genètics nadius i una homogeneïtzació de les poblacions, destruint els patrons de diferenciació existents. Al mateix temps, els nostres resultats indiquen que les conseqüències de les repoblacions no són sempre les mateixes. Concretament, es constata un fracàs de les repoblacions en rius intensament repoblats i sotmesos a pesca intensiva, que contrasta amb una enorme erosió de les poblacions quan les repoblacions s'efectuen sobre àrees protegides i sense cap mena de pressió pesquera. Això suggereix que múltiples factors com la gestió dels rius posterior a les repoblacions, l'estat de les poblacions o les condicions de l'hàbitat són determinants de la introducció efectiva dels exemplars alliberats; fet que dificulta la predicció sobre actuacions particulars.

Malgrat aquesta introgressió de gens exògens que es detecta en moltes de les poblacions analitzades, els gens nadius predominen en gairebé tots els rius de la Península. La conservació d'aquesta elevada riquesa genètica que encara resta en les poblacions de truita de la Península Ibèrica ha de ser l'objectiu final de qualsevol programa de gestió. Per això, defensem una gestió basada en el propi riu mitjançant una pesca sostinguda per la reproducció natural de les poblacions salvatges, acompanyada d'una millora i recuperació d'hàbitats adequats per la truita, i evitant, per sobre de tot, la introducció en els rius d'exemplars exògens, degut als efectes nocius i incontrolables que comporta aquest procés.

Resumen

El estudio de la diversidad y la diferenciación genética de las poblaciones de trucha común (*Salmo trutta* L.) en la Península Ibérica ha confirmado la elevada diferenciación observada en trabajos anteriores y la divergencia, ya descrita, entre las poblaciones de la vertiente atlántica y la mediterránea. Pero los resultados obtenidos nos permiten observar patrones de estructura poblacional tanto en las poblaciones atlánticas como en las mediterráneas. En la vertiente atlántica se observa un marcado patrón hidrográfico en la distribución de la diferenciación genética, que claramente contrasta con la distribución de esta diferenciación en las poblaciones de la vertiente mediterránea, caracterizadas por los contactos secundarios entre linajes durante las expansiones pleniglaciales y una fuerte divergencia local consecuencia de su marginalidad y aislamiento en los períodos interglaciales.

La conservación de esta diferenciación y individualidad descrita en las poblaciones de trucha de la Península, está seriamente comprometida por las repoblaciones continuadas de los ríos con ejemplares exógenos de origen norte europeo. La substitución de los genomas autóctonos debida a la introducción de genes extraños provoca una erosión de los patrimonios genéticos nativos y una homogeneización de las poblaciones, destruyendo los patrones de diferenciación existentes. Así mismo, nuestros resultados demuestran que las consecuencias de las repoblaciones no son siempre iguales. En concreto, se constata un fracaso de las repoblaciones en ríos intensamente repoblados sometidos a pesca intensiva, que contrasta con una gran erosión de las poblaciones cuando las repoblaciones se efectúan sobre áreas protegidas y sin presión pesquera. Esto sugiere que múltiples factores como la gestión de los ríos posterior a las repoblaciones, el estado de las poblaciones o las condiciones del hábitat son determinantes de la introducción efectiva de los ejemplares liberados, hecho que dificulta la predicción sobre actuaciones particulares.

A pesar de esta introgresión de genes exógenos detectada en un gran número de poblaciones analizadas, los genes nativos predominan en casi todos los ríos de la Península. La conservación de esta elevada riqueza genética que aún mantienen las poblaciones de trucha de la Península Ibérica debe ser el objetivo final de cualquier programa de gestión. Por eso, defendemos una gestión basada en el propio río, mediante una pesca sostenible por la reproducción natural de las poblaciones salvajes, acompañada de una mejora y recuperación de hábitats adecuados para la trucha, evitando, por encima de todo, la introducción de ejemplares exógenos en los ríos, debido a los efectos perjudiciales y incontrolables que conlleva este proceso.

Summary

Our study on the genetic diversity and differentiation of brown trout (*Salmo trutta* L.) population of the Iberian Peninsula confirmed the high levels of differentiation and the divergence between Atlantic and Mediterranean populations previously described. However, additional substructuring among Atlantic rivers and among Mediterranean ones has been detected. In the Atlantic, genetic diversity is related with the river network, producing a marked hydrographical pattern in sharp contrast with a mosaic distribution of genetic variation among the Mediterranean collections. In this later area, genetic resources distributed as a result of distinct colonization episodes during pleniglacial expansions, secondary contacts, and local divergence due to its marginality and isolation in the interglacial periods.

Continuous stocking with hatchery-reared fish of north European origin, seriously compromises the conservation of this differentiation and individuality described in brown trout populations of the Iberian Peninsula. Replacement of the autochthonous genome due to introduction of exogenous genes is leading to an erosion of the native gene pools, a homogenisation of populations, and a destruction of the ancestral patterns of differentiation. At the same time, our results indicated that successful stocking appears to be limited to wild populations subjected to occasional releases in protected or unfished areas. Extensive stocking in fished areas result in a more limited impact on the recipient native population. These results suggest that stocking success is unpredictable and controlled by different factors including habitat and population conditions at the time of stocking, as well as post-release management actuations.

Although many of the analysed populations are introgressed with exogenous genes, native gene pools predominate in almost all the Iberian rivers. Conservation of this high genetic richness that still remains in brown trout Iberian populations must be the final goal of any management program. So, our management proposal is based on fisheries sustained by natural reproduction of the respective wild populations, coupled with an improvement and recovery of habitat suitable for brown trout; avoiding stocking with exogenous fish due to the harmful and incontrollable risks that this process involves for the genetic resources of the species.

I. INTRODUCCIÓ

I.1 Interès del treball

La truita comuna és una espècie nativa a Euràsia i al Nord d'Àfrica i, per tant, autòctona en els rius de la Península Ibèrica; on habita les aigües netes i fredes, amb alta concentració d'oxigen. Actualment, les poblacions de truita es localitzen en zones d'alta i mitjana muntanya poc desenvolupades, on mantenen una important indústria turística durant les èpoques en què es permet la seva captura. En aquest sentit, la truita comuna és, actualment, el recurs íctic d'aigua dolça més important a la Península Ibèrica, tant pel que fa al seu interès comercial com per a les seves possibilitats per a la pesca recreativa (García de Jalón & Schmidt 1995).

Malauradament, al llarg d'aquest segle moltes de les poblacions natives de la Península Ibèrica s'han perdut com a conseqüència d'actuacions incorrectes, tant realitzades directament sobre elles com en el seu hàbitat natural (veure García de Jalón *et al.* 1988, Elvira 1996). Davant l'alarma produïda per aquestes pèrdues, les diferents administracions espanyoles han intentat mesures correctores, que degut a la manca de suficient informació biològica no han donat els resultats esperats, i que en alguns casos han estat, fins i tot, contraproductes (García de Jalón 1987).

En l'actualitat, els termes biodiversitat i gestió sostenible són àmpliament utilitzats per institucions internacionals, governs, ONGs, científics, industrials i públic en general, per a referir-se a una nova percepció del medi ambient que s'ha desenvolupat, bàsicament, a partir dels anys '90. Malgrat que ambdós termes són amplis i poden utilitzar-se amb significats ben diversos, és una realitat que la gestió sostenible dels recursos biològics es basa en la diversitat genètica de les espècies (Mustafa 1999). La diversitat genètica és el primer nivell de la biodiversitat i una

component que necessita molta més atenció de la que gaudeix actualment. De fet, tots els nivells de la biodiversitat representen un continu de diferències genètiques (Antonovics 1990), on la conservació dels gens, espècies o ecosistemes representa els diferents punts d'aquest continu (Ryman *et al.* 1995). La importància de la conservació i els usos sostenibles de la biodiversitat a nivell genètic està també reconeguda per acords internacionals com la "Declaració de la Convenció de Río sobre la Diversitat Biològica" celebrada a Río de Janeiro, Brasil, el 1992. Les pèrdues de diversitat genètica poden fer disminuir la capacitat de resposta d'una espècie als canvis ambientals, reduir l'abundància de les poblacions -fet que en les espècies piscícoles explotades provoca un col·lapse de les pesqueries- i, en última instància, produir l'extinció de l'espècie. La pèrdua constant d'hàbitats i d'ecosistemes aquàtics afegeix un sentit d'urgència a les investigacions sobre la possible relació entre la destrucció de l'hàbitat, la pèrdua de patrimonis genètics, la redistribució de la variabilitat genètica i la pèrdua de poblacions piscícoles autosostenibles (Mustafa 1999).

El manteniment de la diversitat genètica de la truita comuna té una importància capital pel seu ús extensiu en aqüicultura; però si a més precisem les diferències entre les poblacions que contribueixen a aquesta diversitat, obtenim una peça fonamental per a la gestió de la seva pesqueria. Encara ara, molts gestors consideren que les repoblacions amb exemplars obtinguts en centres piscícoles són la millor solució als problemes de reclutament de les poblacions naturals; però les anàlisis genètiques han posat de manifest importants diferències entre les poblacions naturals receptores i els exemplars alliberats des dels centres piscícoles, tant a Europa (Ferguson 1989) com a Espanya (García-Marín *et al.* 1991). En general, les repoblacions amb exemplars obtinguts en centres piscícoles resulten perjudicials per a les poblacions natives que, com a conseqüència d'aquestes pràctiques, poden patir una sobrepesca de la pesqueria mixta resultant, la introducció de malalties, la fragmentació de la població, la introgressió de gens exògens no adaptats al medi i, finalment, la seva extinció (Hindar *et al.* 1991, Utter 1994)

Per tots aquests motius, amb aquest treball ens proposarem ampliar els coneixements sobre els patrons de variabilitat genètica de la truita comuna a la Península Ibèrica, i avaluar els efectes que sobre ells produeixen les repoblacions amb exemplars exògens. L'objectiu final del coneixement és aconseguir preservar millor els recursos genètics de l'espècie i plantejar alternatives a la gestió actual de les seves pesqueries, de manera que puguin ser sostingudes amb les pròpies poblacions natives, reduint així l'actuació dels centres piscícoles en aquest sentit i abaratint, per tant, els costos de la seva gestió.

I.2 Antecedents

I.2.1 Història evolutiva de la truita comuna

La truita comuna és un dels salmònids més estudiats a Europa i representa una de les espècies íctiques més estructurada poblacionalment (Bernatchez *et al.* 1992, García-Marín *et al.* 1999), alhora que mostra també una considerable variabilitat i plasticitat en molts aspectes de la seva morfologia, ecologia i comportament (Ferguson 1989). Segurament aquesta deu ser la causa per la que, des de 1758, s'han descrit unes 50 espècies sobre el que es coneix amb el nom genèric de truita comuna (Behnke 1986). Actualment, s'assumeix l'existència d'una única espècie, *Salmo trutta* (Behnke 1986, Elliot 1989), que recull la gran majoria de formes geogràfiques i ecològiques. Ara bé, com que no totes les formes descrites responen a patrons clars d'estructura genètica (Guyomard 1989), encara avui es discuteix sobre el valor taxonòmic d'algunes d'elles, ja que considerar una única espècie podria no reflectir l'extensa variabilitat genètica interpoblacional que s'observa (veure Kottelat 1997).

Els primers estudis sobre l'estructura genètica de la truita comuna realitzats en poblacions atlàntiques (Allendorf *et al.* 1976, Ryman *et al.*

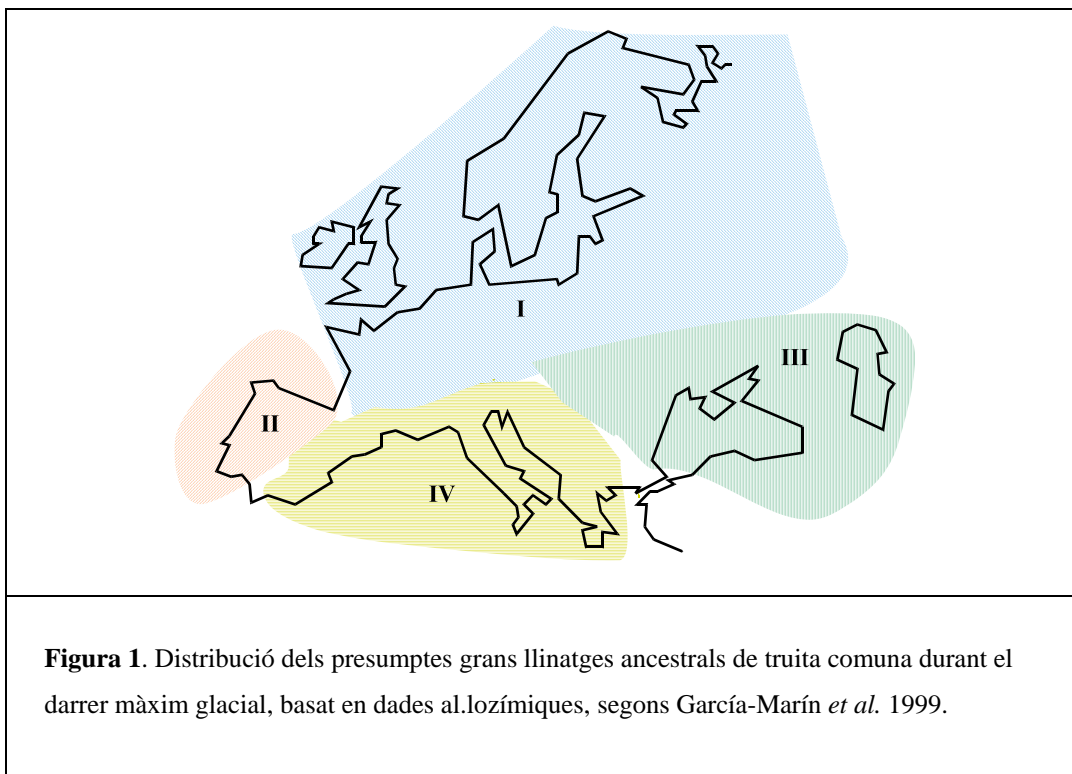
1979, Ferguson & Mason 1981), indicaven una elevada diversitat genètica en aquesta espècie que podria estar relacionada tant amb paràmetres ecològics (per exemple l'adaptació als diferents ambients), com amb raons històriques (per exemple la influència dels períodes glacials), com amb totes dues causes (Ferguson 1989). Però els treballs realitzats posteriorment han mostrat que les diferents formes descrites no presenten un origen monofilètic, sinó que han estat originades en múltiples ocasions dintre dels gran llinatges creats per la història glacial i hidrogràfica d'Europa (Bernatchez *et al.* 1992). Les poblacions de truita comuna configuren un mosaic de llinatges evolutius dispersos per tot Europa que presenta, sovint, un patró imprevisible causat per l'aïllament glacial i la dispersió subsegüent, i pels contactes secundaris ocorreguts entre els diferents llinatges (Grant *et al.* 1999).

Tot i que la reconstrucció detallada de la història evolutiva i l'aparició de les diferents formes de truita comuna descrites a Europa és encara confusa (Berrebi *et al.* 2000), els estudis genètics basats en diferents tècniques moleculars (al.lozims, ADN mitocondrial, microsatèl.lits...) indiquen una important diferenciació genètica entre les poblacions mediterrànies i les atlàntiques (Krieg & Guyomard 1985, García-Marín *et al.* 1991, Bernatchez *et al.* 1992, Presa *et al.* 1994, Apostolidis *et al.* 1996a, García-Marín & Pla 1996, Cagigas *et al.* 1999a). Al mateix temps, aquestes anàlisis suggereixen que la divergència d'aquests llinatges hauria estat anterior al darrer període glacial, que finalitzà fa uns 13000 anys (Bernatchez *et al.* 1992, Apostolidis *et al.* 1996a, 1996b, Apostolidis *et al.* 1997, García-Marín *et al.* 1999). En aquest sentit, basant-se en dades d'ADN mitocondrial, Apostolidis *et al.* (1996b) suggereixen que la truita comuna podria haver colonitzat el Mediterrani a finals del Messinià (fa 5 milions d'anys), proposant-se l'origen de la majoria de llinatges de truita comuna durant el refredament climàtic del Pliocè-Pleistocè (fa 2,5-6 milions d'anys, Apostolidis *et al.* 1997) o més tard (fa 0.5-0.7 milions d'anys, Osinov & Bernatchez 1996).

El que sí és segur, és que les poblacions de truita comuna de la regió Mediterrània són molt més antigues que les poblacions del nord i centre d'Europa, on els rius van ser colonitzats després del retrocés del gel, al final del darrer període glacial (Hamilton *et al.* 1989, García-Marín *et al.* 1999). Aquestes poblacions del sud podrien haver existit a la Península Ibèrica, com a mínim, durant els darrers 100000 anys, tenint, d'aquesta manera, una oportunitat molt més gran per a acumular variació i per a diferenciar-se genèticament (Ferguson 1989). Els estudis al·lozimics i amb ADN mitocondrial realitzats al sud d'Europa han mostrat un alt grau de divergència genètica entre les poblacions de truita (Krieg & Guyomard 1983, Osinov 1984, 1989, 1990, Karakousis & Triantaphyllidis 1990, García-Marín & Pla 1996). L'elevada diferenciació genètica trobada entre aquestes poblacions suggereix l'existència de diversos llinatges evolutius altament divergents en aquesta regió (Bernatchez *et al.* 1992, Giuffra *et al.* 1994, 1996, Apostolidis *et al.* 1996a, Largiader & Scholl 1996, Antunes *et al.* 1999, García-Marín *et al.* 1999). A la Mediterrània, les anàlisis de l'ADN mitocondrial han revelat l'existència de quatre grans grups de poblacions filogenèticament separats: Grup I al Mediterrani nord-occidental, Grup II a l'Adriàtic i a Còrsega, Grup III a la conca del Danubi i Grup V (corresponent al fenotip marmoratus) a l'Adriàtic (Bernatchez *et al.* 1992).

Al nord-est de l'Atlàntic, les poblacions de truita comuna van estar fortament afectades per les glaciacions del Pleistocè, de manera que les poblacions actuals provenen dels episodis de recolonització que ocorregueren després del retrocés del gel, al final del darrer període glacial. Els treballs de Bernatchez *et al.* (1992) descriuen un únic llinatge evolutiu (Grup IV) en tot l'Atlàntic. Però les anàlisis posteriors, tant amb al·lozims com amb ADN mitocondrial, indiquen que, també aquí, la situació seria més complexa i les recolonitzacions en l'època postglacial es podrien haver donat des de més d'un únic refugi glacial (Hynes *et al.* 1996, García-Marín *et al.* 1999, Weiss *et al.* 2000). A més de les poblacions de truita que sobrevisqueren en les zones descobertes pel gel,

com la Península Ibèrica (García-Marín *et al.* 1999), sembla ser que haurien existit més refugis glacials al marge de les grans capes de gel (Osinov & Bernatchez 1996, Weiss *et al.* 2000). La discontinuïtat d'aquestes capes i els avanços i retrocessos del gel, associats a canvis en el nivell del mar, podrien haver donat lloc a fenòmens d'allopatría seguits per contactes secundaris entre llinatges (Hewitt 1996, Bernatchez & Wilson 1998). Malgrat es desconeix exactament quants llinatges poden ser identificats a les zones recolonitzades de l'Atlàntic (Hynes *et al.* 1996), García-Marín *et al.* (1999) descriuen com a mínim dos llinatges distribuïts en aquesta regió abans de la última glaciació: un al nord caracteritzat per elevades freqüències de l'al·lel *LDH-C*90*, llinatge I, i un al sud, distribuït a la Península Ibèrica i caracteritzat pels al·lells *LDH-C*100* i *CK-A1*115*, llinatge II (Figura 1).



Com a conseqüència de tots aquests processos evolutius, les poblacions de truita comuna de la Península Ibèrica presenten una elevada diversitat

i diferenciació gènica ($H_T = 0.085$, $G_{ST} = 0.64$). Aparentment, dos grups ancestrals diferents haurien colonitzat la Península, un que ocupà els rius del Mediterrani i un altre que colonitzà els de la vessant atlàntica. Però les diferències genètiques que s'observen entre aquests dos grans grups ($G_{DT} = 0.13$) no són les úniques responsables de l'elevat grau de diferenciació detectat entre les poblacions. La diferenciació entre poblacions dins de rius i sobretot la diferenciació entre rius principals són també elevades ($G_{SR} = 0.12$ i $G_{RD} = 0.39$), i es considera que són conseqüència de la limitació del flux gènic i la deriva genètica ocorreguda durant els períodes interglacials del quaternari, quan l'augment de la temperatura impediria l'existència de poblacions anàdromes aïllant les poblacions de truita a les capçaleres dels rius (García-Marín & Pla 1996).

1.2.2 Agents responsables de l'estructura poblacional de la truita comuna

Els estudis realitzats a la truita comuna han mostrat una elevada diferenciació genètica entre les poblacions dins dels diversos països europeus ($F_{ST} = 0.143-0.572$, García-Marín *et al.* 1999). Tot i que en les espècies piscícoles d'aigua dolça la diferenciació genètica està sovint associada a la jerarquia hidrogràfica (Meffe & Vrijenhoek 1988), i que en ocasions s'ha demostrat una elevada concordància entre distància genètica i geogràfica entre poblacions de truita comuna (Hansen & Mensberg 1998); no sembla ser aquest l'únic factor que contribueix a la diferenciació observada en aquesta espècie. En aquest sentit, un gran número d'estudis indiquen una elevada diferenciació genètica entre poblacions geogràficament properes (Ryman *et al.* 1979, Ryman 1983, Crozier & Ferguson 1986, Apostolidis *et al.* 1997). Aquesta elevada diferenciació microgeogràfica s'ha observat sovint a nivell local, incloent l'aïllament total de poblacions simpàtrides. Un cas extrem el tenim al Llac Melvin, al nord-oest d'Irlanda, on s'han trobat fins a tres poblacions simpàtrides de truita reproductivament aïllades i diferenciables genèticament (Ferguson & Mason 1981), que s'expliquen per l'existència de múltiples episodis de colonització en l'època postglacial (Ferguson &

Taggart 1991). De la mateixa manera, en els rius Po a Itàlia (Giuffra *et al.* 1994) i Soca a Eslovènia (Berrebi *et al.* 2000) s'han descrit, com a resultat dels múltiples i complexos processos de colonització, poblacions intercalades de diferents llinatges evolutius que produeixen un patró de distribució en mosaic a molt petita escala. Es considera que les fluctuacions climàtiques ocorregudes durant els períodes glacials van comportar canvis en el cabal dels rius i en la geografia, provocant l'aïllament de poblacions de truita a les seves capçaleres, que no haurien pogut ser desplaçades per posteriors episodis de colonització i estarien sotmeses a forts efectes de deriva (Hamilton *et al.* 1989).

Però si bé és cert que les múltiples colonitzacions, resultat de les fluctuacions climàtiques del quaternari, han estat, en part, responsables de l'estructura poblacional de la truita comuna a escala microgeogràfica; l'aparició de barreres físiques, l'existència del comportament migratori i l'impuls de retornar al seu hàbitat natal per a reproduir-se, han jugat també un paper important en la distribució dels patrimonis genètics en la truita (Crozier & Ferguson 1986, Ferguson 1989, Morán *et al.* 1995, Grant *et al.* 1999). El paper homogeneïtzador dels exemplars migradors queda de manifest amb els distints nivells de diferenciació observats entre poblacions anàdromes (rang de F_{ST} 0.009-0.160) i poblacions residents (rang F_{ST} 0.147-0.443) en els diferents països europeus (Grant *et al.* 1999). A la Península Ibèrica, l'estudi portat a terme per Bouza *et al.* (1999) sobre les poblacions de truita comuna del nord-oest de la Península, on actualment trobem les poblacions anàdromes, ha indicat també una reducció important de la diferenciació genètica ($G_{ST} = 0.27$ vs. $G_{ST} = 0.17$) i una correlació significativa entre distància genètica i geogràfica, quan les poblacions aïllades no s'inclouïen en les anàlisis. Aquesta correlació entre distància genètica i geogràfica resultava, però, no significativa quan comparaven només les poblacions dins d'un mateix riu. Resultats similars han estat obtinguts per Morán *et al.* (1995) a Astúries (F_{ST} entre rius = 0.215, F_{ST} dins de rius = 0.077) i posen de manifest tant l'homogeneïtzació de poblacions dins d'un riu, degut a

l'existència d'individus migradors que comporten un flux gènic, com l'aïllament entre rius, conseqüència de que la majoria dels exemplars migradors retornen a les seves conques natalis per a reproduir-se. Tot plegat acaba produint en aquests territoris un patró d'aïllament per distància entre els individus de les diferents conques.

A més, aquests estudis demostren també la importància de les barreres físiques com a un dels factors que sovint són responsables de la diferenciació genètica entre les poblacions de truita comuna (Crozier & Ferguson 1986). Les barreres físiques impassables per les truites provoquen una restricció del flux gènic entre les poblacions separades augmentant la seva diferenciació genètica. Tanmateix, com a conseqüència d'aquesta fragmentació, les poblacions d'aigües amunt queden aïllades i poden patir majors efectes de deriva genètica. En aquest sentit, el treball de Bouza *et al.* (1999) indicava la importància d'aquesta fragmentació de l'hàbitat en l'augment observat de la diferenciació genètica entre les poblacions residents.

1.2.3 La variabilitat genètica a la truita comuna i la seva importància en la gestió de les poblacions

L'elevada diversitat i diferenciació de la truita comuna en tots els nivells fa que aquesta espècie sigui de gran interès des del punt de vista evolutiu, però complica, alhora, la seva gestió. Aquesta variabilitat genètica representa l'actuació dels agents evolutius sobre les poblacions de l'espècie i en ella està escrita la seva història. A partir dels gens, que es transmeten de generació en generació, les poblacions elaboren la resposta als possibles canvis ambientals. Així, la diversitat genètica observada en les poblacions naturals de truita, com la de qualsevol altra espècie, és la base que li permetrà adaptar-se a les condicions canviabls del medi i que assegurarà la supervivència de les seves poblacions a curt i a llarg termini (Ryman 1981, Allendorf *et al.* 1987, Utter 1991, Presa *et al.* 1994). La protecció i conservació d'aquesta diversitat és de vital

importància per a una gestió racional de les poblacions de l'espècie (Laikre 1999).

Les poblacions natives de truita comuna de la Península Ibèrica representen un dels refugis glacials que van contribuir a la recolonització de les àrees del nord d'Europa (García-Marín *et al.* 1999). Aquestes poblacions són antigues i, com a tals, al llarg de la història han acumulat una quantitat important de variació genètica. Però degut a la particularitat dels processos evolutius, cada població representa només una petita part d'aquesta diversitat, essent marcada la divergència genètica entre poblacions tant de rius diferents com dins de rius (García-Marín & Pla 1996). En aquest sentit, la identificació i el manteniment de la diversitat genètica de la truita que resta en els nostres rius és, en aquests moments, el principal objectiu que cal plantejar-nos en la gestió d'un recurs biològic tant valuós com aquest. L'objectiu actual de qualsevol programa de gestió de la truita, i per extensió de tota la fauna, no ha d'incloure la conservació de l'espècie en si, sinó la dels patrimonis genètics presents en les diferents poblacions. Preservant les poblacions amb els seus patrimonis genètics mantenim alhora la capacitat de supervivència de l'espècie (Ryman *et al.* 1995).

Com ja hem indicat, durant les últimes dècades, el desenvolupament de tècniques bioquímiques i moleculars ha permès un millor coneixement de la diversitat i diferenciació genètica existent en la truita comuna. Les anàlisis de variació al·lozimica han revelat que la truita representa una de les espècies animals més estructurada genèticament (Ferguson 1989), amb més del 50% de la diversitat genètica total distribuïda entre poblacions en algunes regions (García-Marín *et al.* 1999). Però el coneixement de les relacions filogenètiques entre les diferents formes geogràfiques descrites és encara limitat, i la gestió de les poblacions de truita portada a terme fins ara a tot Europa no ha contribuït, en absolut, al manteniment d'aquesta diversitat (Laikre 1999).

1.2.4 Les repoblacions amb exemplars al·lòctons

Durant aquest segle hem viscut un canvi i una intensificació de tots els usos del riu, responsables d'una multitud d'agressions que han suposat i suposen una degradació constant del que tradicionalment han estat els rius i els seus elements biòtics i abiòtics, entre ells els salmònids (Laikre 1999). Des de principis de segle XX, la destrucció de l'hàbitat i la sobrepesca han causat una forta depressió en la grandària de les poblacions naturals de truita comuna (García de Jalón & Schmidt 1995, Elvira 1996). Aquesta situació ha forçat l'aplicació de mesures correctores per part de les diferents administracions espanyoles durant tot aquest temps (Muñoz 1988) que, seguint pautes generals d'altres països, s'han basat en reforços de les poblacions mitjançant l'alliberament d'exemplars produïts en centres piscícoles. Malauradament, a Espanya els estocs s'han originat amb exemplars nord i centre europeus importats fa anys (García-Marín *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993, Arias *et al.* 1995, Blanco *et al.* 1998, Cagigas *et al.* 1999b) que, com ja s'ha comentat, pertanyen a un llinatge evolutiu diferent als trobats a la Península Ibèrica. Malgrat que en els darrers anys l'eficàcia d'aquestes mesures s'ha qüestionat repetides vegades (Ferguson 1989, Evans & Willox 1991, Hindar *et al.* 1991, Krueger & May 1991, Laikre 1999), els gestors de la pesca continental segueixen utilitzant la repoblació com a eina principal per a compensar les pèrdues d'exemplars en les poblacions naturals deprimides.

Observacions recents indiquen que la pràctica continuada de la repoblació pot representar un risc per a la integritat de la població gestionada i per a l'ecosistema (Leary *et al.* 1995). Repoblant amb estocs forans, i mitjançant la introgressió de gens al·lòctons, estem diluint i perdent les combinacions genètiques úniques coadaptades a una localitat (Ferguson 1989, Ryman *et al.* 1995). La repoblació amb exemplars exògens comporta una forta erosió dels patrimonis genètics de les poblacions natives i un desplaçament d'aquestes poblacions localment adaptades, per truites

domesticades en el centre piscícola, que moltes vegades no sobreviuen després de ser llençades al riu. Efectivament, els resultats d'aquestes repoblacions són sovint dubtosos, ja que moltes de les truites alliberades no sobreviuen el temps suficient com per a incorporar-se a la població receptora (Taggart & Ferguson 1986, Morán *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993, Beaudou *et al.* 1994). En aquest sentit, malgrat s'utilitza el terme "repoblar", el resultat principal de la majoria dels actuals programes dits de repoblació és la incorporació de peixos al riu que acaben ràpidament morts o capturats, pel que hauríem de parlar d'alliberaments més que d'autèntiques repoblacions. És el "llençar per capturar", que és, a més, econòmicament molt costós.

Els estudis genètics realitzats sobre els estocs de centre piscícola (García-Marín *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993) indiquen que aquests estocs es caracteritzen per presentar un elevat nivell de variabilitat genètica, conseqüència de la hibridació entre exemplars importats de diferents orígens, i una considerable homogeneïtat entre els diferents estocs, que representen bàsicament un únic patrimoni genètic. Aquesta homogeneïtat contrasta fortament amb l'elevada divergència que existeix entre les poblacions natives de la Península Ibèrica. En conseqüència, el principal efecte que les repoblacions poden produir sobre les poblacions natives és la introducció dels mateixos gens forans en totes elles, produint la seva homogeneïtzació i destruint els patrons de diferenciació existents, degut a què un o pocs estocs de centre piscícola són la font per a totes les repoblacions (Krieg & Guyomard 1985, Ferguson 1989, Utter 1994).

La diferència genètica més important entre les poblacions autòctones espanyoles i els estocs dels centres piscícoles d'origen nord i centre europeu és la que s'observa en el locus *LDH-C**, pel qual les poblacions natives tenen fixat l'al·lel *100 mentre que els estocs piscícoles presenten l'al·lel *90 (García-Marín *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993, Arias *et al.* 1995, Cagigas *et al.* 1999b). Aquesta diferenciació s'ha observat també en altres rius mediterranis fora de la Península Ibèrica (Guyomard & Krieg

1986, Barbat-Leterrier *et al.* 1989, Largiadèr & Scholl 1995, Apostolidis *et al.* 1996a). Utilitzant aquest al·lel com a marcador, diversos autors han estudiat les interaccions genètiques a curt i a llarg termini entre les poblacions autòctones i les de centre piscícola i han constatat el fracàs de les repoblacions efectuades en alguns rius espanyols (Morán *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993, Arias *et al.* 1995). En canvi, en altres casos s'ha posat de manifest una important taxa d'incorporació dels exemplars repoblats a la població salvatge (García-Marín *et al.* 1991, García-Marín & Pla 1996).

I.3 Objectius del treball

Tenint en compte els estudis previs de què disposem sobre les poblacions de truita comuna i intentant respondre als interessos que genera el coneixement dels recursos genètics d'aquesta espècie al nostre país, en aquest treball ens hem proposat els següents tres objectius,

I.3.1 Distribució dels recursos genètics nadius de la truita comuna (Salmo trutta) a la Península Ibèrica

El primer objectiu d'aquest treball és estudiar detalladament l'estructura de les poblacions naturals de truita comuna a la Península Ibèrica. L'anàlisi genètica d'aquestes poblacions ens permetrà conèixer els patrons de diferenciació tant macrogeogràfics com microgeogràfics que existeixen entre elles, amb la finalitat de comprendre les seves relacions filogenètiques i la seva història evolutiva, i millorar les estratègies per a la seva conservació.

I.3.2 Els efectes genètics de les repoblacions

El segon objectiu d'aquest treball ha estat exemplaritzar els efectes que les repoblacions, amb exemplars de centre piscícola d'origen nord i centre

europèu, tenen sobre les poblacions natives de truita comuna de la Península Ibèrica, tant a nivell macrogeogràfic com microgeogràfic.

1.3.3 Factors determinants i dinàmica del procés de substitució dels genomes autòctons com a conseqüència de les repoblacions

El tercer objectiu del treball és descobrir quins són els mecanismes que determinen l'èxit o el fracàs de les repoblacions i veure, en aquells casos on es produeix una introducció efectiva d'exemplars repoblats, quina dinàmica segueix el procés de substitució de genoma autòcton per genoma de repoblació.

II. MATERIAL I MÈTODES

II.1 Material

Un total de 1091 exemplars procedents de 27 mostres de truita comuna de la vessant atlàntica i 26 de la mediterrània (Taula 1, pàgina següent, Figura 2, pàgina 29), han estat processades al laboratori seguint la metodologia electroforètica descrita a García-Marín *et al.* (1991). La grandària de la mostra (10-35 individus) ha estat limitada per les autoritzacions en els permisos de pesca científica (màxim 25 individus adults per captura) i per la disponibilitat d'exemplars en el riu en els punts i moments de la captura. Un cop capturades, les truites s'han anestesiats amb tricaina metanosulfonat (MS-222) abans de ser congelades en gel sec en la mateixa zona de captura. Al laboratori, els exemplars s'han conservat sencers en un congelador a -30° fins al moment de ser analitzats.

Les anàlisis estadístiques inclouen també les dades electroforètiques procedents de 25 mostres de truita analitzades anteriorment al nostre laboratori i que pertanyen al treball de García-Marín & Pla (1996), més dues mostres del riu Eresma analitzades pel "Servicio de Gestión de Recursos de Investigación Agraria de la Subdirección General de Investigación Agraria de la Comunidad de Madrid" dins el Projecte INIA-9645 compartit entre el nostre laboratori i el citat servei, en l'actualitat "Sección de Ecología del IMIA de la Comunidad de Madrid". Sumant les localitats mostrades de nou amb les procedents d'aquests treballs hem disposat de les dades electroforètiques d'un total de 80 mostres de truita (1695 individus), 40 procedents de la vessant atlàntica i 40 de la mediterrània (Taula 1, pàgina següent, Figura 2, pàgina 29).

D'aquestes 80 mostres 70 han estat seleccionades per a ser analitzades conjuntament, per tal de fer una revisió global de la variabilitat i l'estructura genètica de les poblacions de la Península Ibèrica (Taula 1). Aquesta selecció és deguda a que 70 és el nombre màxim de poblacions que poden ser processades pel programa NTSYS utilitzat per a realitzar les anàlisis de coordenades principals en aquesta revisió. En la selecció s'han exclòs les mostres on clarament hi predominaven els gens exògens procedents de repoblacions, ja que presentaven una freqüència de l'al.lel *LDH-C*90* superior al 30% (a més d'altres al.lels de repoblació com *G3PDH-2*50* i *sMDH-A2*120*), tot procurant mantenir, dins el que era possible, un número de mostres més o menys homogeni per a cada riu principal.

Taula 1. Descripció de les captures de truita comuna utilitzades en aquest estudi. [Mostres noves analitzades per aquest treball.](#)

Localitat	Riu principal (afluent)	Altitud (metres)	Aïllament natural	Número d'individus	Utilitzada a la revisió global
Atlàntic					
1-Dilar	Guadalquivir	800	no	23	X
2-Genil	Guadalquivir	1200	no	22	X
3-Castril	Guadalquivir	1800	no?	15	X
4-Hoceseca	Tajo (Tajo)	1200	no	19	X
5-Valsalobre	Tajo (Guadiela)	1300	no	18	X
6-Palomares	Tajo (Guadiela)	1190	no	17	X
7-Guadiela	Tajo (Guadiela)	830	no	19	X
8-Dulce	Tajo (Henares)	900	Al Quaternari	20	X
9-Pelagallinas	Tajo (Henares)	1120	no	17	X
10-Bornova	Tajo (Henares)	1000	no	17	X
11-Iruela	Tajo (Alberche)	?	?	24	X
12-Alberche	Tajo	?	?	23	X
13-Arenal	Tajo (Tiétar)	?	?	30	X

Taula-1. Continuació

14-Duruelo	Duero	?	?	28	X
15-Tera	Duero	?	?	22	X
16-Mazo	Duero	?	?	22	X
17-Muriel	Duero (Abión)	?	?	26	X
18-Aguisejo	Duero (Riaza)	1240	no	19	X
19-Pisuerga	Duero	1200	no	31	X
20-Carrión	Duero (Pisuerga)	1400	no	29	X
21-Moros	Duero (Eresma)			28	X
22-Eresma-1	Duero	1340	no	25	
23-Eresma-2	Duero	1340	no	20	
24-Yuso	Duero (Esla)	1200	no	18	X
25-Riaño	Duero (Esla)	1100	no	14	X
26-Esla	Duero (Esla)	900	no	16	X
27-Villomar	Duero (Esla)	850	no	20	X
28-Bernesga	Duero (Esla)	1200	no	21	X
29-Millar	Duero (Esla)	1100	no	18	X
30-Boeza	Miño (Sil)	900	no	20	X
31-Sil	Miño (Sil)	1400	no	20	X
32-Orayo	Miño (Sil)	1200	no	24	X
33-Palacios	Miño (Sil)	1000	no	21	X
34-Bubal	Miño	520	Salts d'aigua	25	X
35-Tea	Miño	500	no	6	X
36-Vendúl	Nansa	500	no	29	X
37-Gorrotola	Oria (Leizarán)	240	no	26	X
38-Santolatz	Oria (Leizarán)	340	Salts d'aigua	23	X
39-Garona	Garona	1550	no	25	X
40-Nere	Garona	1500	no	25	X
Mediterrani					
41-Ter.a	Ter	1600	no	18	X
42-Ter.b	Ter	1000	no	15	X
43-Queralbs	Ter (Freser)	1200	no	28	X
44-Massanes	Ter (Freser)	1000	no	11	X
45-Núria	Ter (Freser)	1400	no	6	X
46-Rigart	Ter (Freser)	1400	no	10	X
47-Riutort'88	Llobregat	840	no	31	
48-Riutort'90	Llobregat	840	no	42	X

Taula 1. Continuació

49-Redó	Ebre (Segre)	2000	no	20	
50-Peixerany	Ebre (Segre)	2040	no	21	
51-Contraig	Ebre (Segre)	2100	no	21	X
52-Murrano	Ebre (Segre)	2000	no	20	
53-Aigüestortes	Ebre (Segre)	1900	no	20	
54-Llacs	Ebre (Segre)	1800	no	21	
55-Serrader	Ebre (Segre)	2000	no	12	X
56-Llebreta	Ebre (Segre)	1620	no	24	
57-Molina-St.Nicolau	Ebre (Segre)	1400	no	28	
58-Llastres	Ebre (Segre)	1860	Salts d'aigua	21	X
59-Nog. de Tor	Ebre (Segre)	1700	no	20	X
60-Pl. de la Sallent	Ebre (Segre)	1900	Salts d'aigua	20	X
61-Conangles	Ebre (Segre)	1600	no	22	X
62-Nog. Pallaresa	Ebre (Segre)	1700	no	29	X
63-Cardós	Ebre (Segre)	1000	no	25	X
64-Tor	Ebre (Segre)	1700	no	25	X
65-Manyanet	Ebre (Segre)	1100	no	24	X
66-Filià	Ebre (Segre)	1900	no	15	X
67-Otal	Ebre (Cinca)	1600	Salts d'aigua	18	X
68-Ordisa	Ebre (Cinca)	1660	no	15	X
69-Guares	Ebre	1100	no	30	X
70-Linares	Mijares	1300	no	28	X
71-Villahermosa	Mijares	600	no	27	X
72-Guadalaviar	Turia	1600	no	26	X
73-Noguera	Turia	1500	no	27	X
74-Madera	Segura	1000	no	27	X
75-Mundo	Segura (Mundo)	1300	no	5	X
76-Endrinales	Segura (Mundo)	>1500	Salts d'aigua	35	X
77-Lanjarón	Guadalfeo	?	no?	11	X
78-Chico	Guadalfeo	?	no?	10	X
79-Poqueira	Guadalfeo	?	no?	12	X
80-Trevez	Guadalfeo	?	no?	10	X

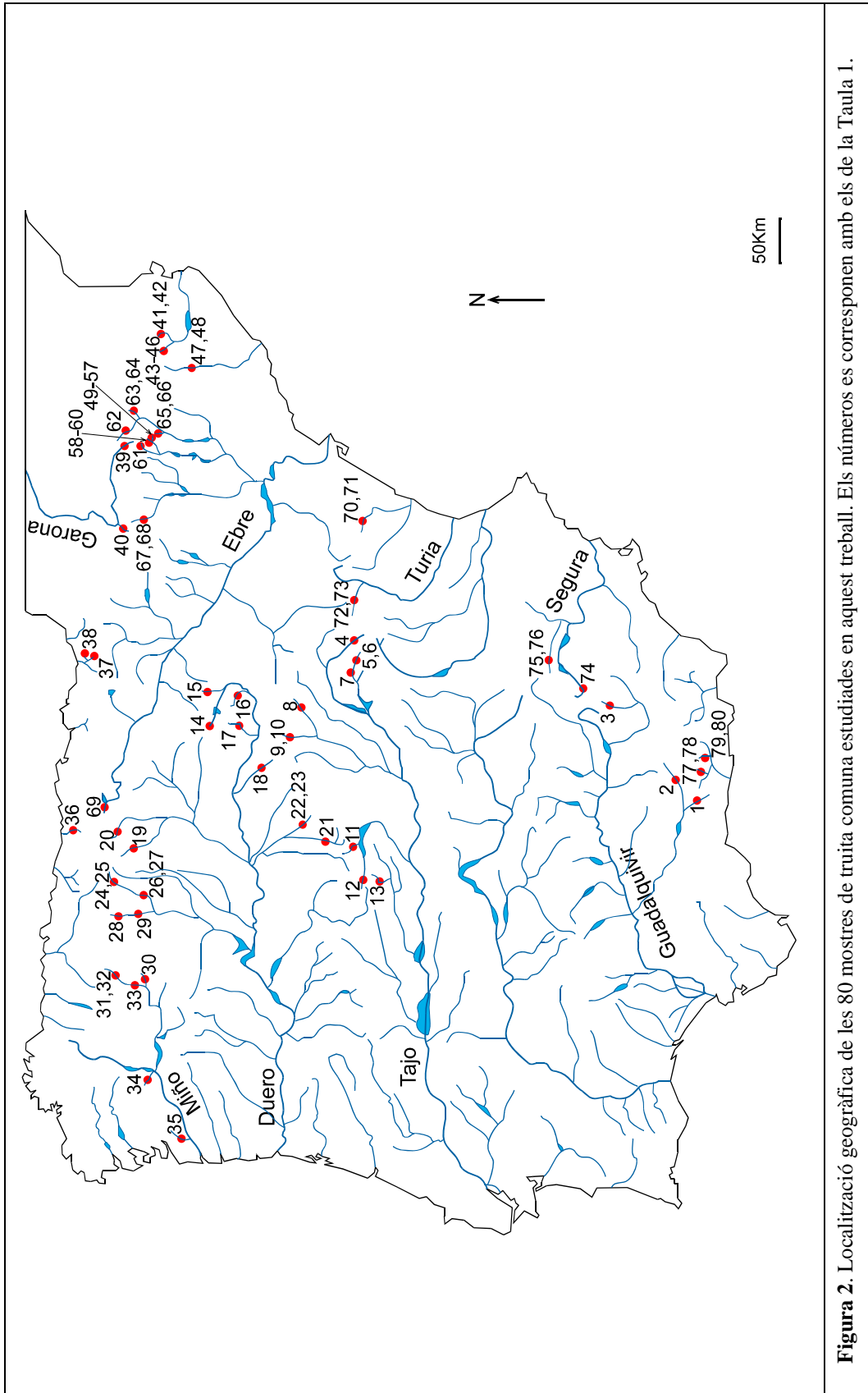


Figura 2. Localització geogràfica de les 80 mostres de truita comuna estudiades en aquest treball. Els números es corresponen amb els de la Taula 1.

II.2 Metodologia

II.2.1 *Electroforesi*

En tots els treballs, les anàlisis electroforètiques s'han realitzat en gels de midó al 11% seguint la metodologia descrita a García-Marín *et al.* (1991) i García-Marín & Pla (1996). Els teixits analitzats han estat el múscul esquelètic, el fetge i l'ull. Els sistemes de tampons utilitzats per a realitzar les electroforesis han estat els tampons continus *AC*, *TBE*, *TBE+NAD* i *TP* i el tampó discontinu *TC/LB*. En general s'han realitzat entre 26 i 37 tincions enzimàtiques que han permès identificar entre 41 i 48 loci en els diferents treballs. Les tincions i els loci concrets utilitzats en cada treball estan referenciats en cadascun dels articles. A la Taula 2 s'indica la relació de totes les tincions utilitzades i els loci identificats al llarg de tots els treballs presentats. Tal i com s'indica en aquesta taula, per a la revisió global s'han utilitzat les dades electroforètiques de 33 loci polimòrfics més 8 loci monomòrfics, llegits en totes les mostres.

Taula 2. Tincions enzimàtiques utilitzades i loci identificats, amb indicació del N° en la Comissió Enzimàtica Internacional.

Enzim	N°C.E.	Loci detectats	Utilitzat a la revisió global
Aconitat hidratasa	4.2.1.3	<i>AH-1*</i> <i>AH-2*</i>	
Adenilat quinasa	2.7.4.3	<i>AK</i>	
Alcohol deshidrogenasa	1.1.1.1	<i>ADH*</i>	X
Aspartat aminotransferasa	2.6.1.1	<i>sAAT-4*</i>	X
Creatina quinasa	2.7.3.2	<i>CK-AI,2*</i> <i>CK-C*</i>	X X

Taula 2. Continuació

Diaforasa	1.6.4.3	<i>DIA</i> *	
Esterasa	3.1.1.-	<i>EST-1</i> *	
		<i>EST-2</i> *	
Fosfatasa àcida	3.1.3.2	<i>ACP</i>	X
Fructosa bifosfatasa	3.1.3.11	<i>FBP</i> *	
Fumarat hidratasa	4.2.1.2	<i>FH-1</i> *	
β -N-acetilgalactosaminidasa	3.2.1.53	β <i>GALA-2</i> *	X
N-acetil- β -glucosaminidasa	3.2.1.30	β <i>GLUA</i> *	X
Glucosa-6-fosfat deshidrogenasa	1.1.1.49	<i>G6PDH</i> *	
Glucosa-6-fosfat isomerasa	5.3.1.9	<i>GPI-A1</i> *	X
		<i>GPI-B1</i> *	X
		<i>GPI-B2</i> *	X
β -Glucuronidasa	3.2.1.31	β <i>GUS-2</i> *	
Glutamat deshidrogenasa	1.4.1.2	<i>GLUDH</i> *	
Glutatió reductasa	1.6.4.2	<i>GR-2</i> *	
Gliceraldehid-3-fosfat deshidrogenasa	1.2.1.12	<i>GAPDH-1</i> *	X
		<i>GAPDH-2</i> *	X
		<i>GAPDH-3</i> *	X
Glicerat deshidrogenasa	1.1.1.29	<i>GLYDH</i> *	X
Glicerol-3-fosfat deshidrogenasa	1.1.1.8	<i>G3PDH-2</i> *	X
Guanina desaminasa	3.5.4.3	<i>GDA</i> *	X
Hidroxitiracat deshidrogenasa	3.1.1.30	<i>HBDH</i> *	
Isocitrat deshidrogenasa	1.1.1.42	<i>IDHP-1</i> *	
		<i>IDHP-2</i> *	X
		<i>IDHP-3</i> *	X
L-Lactat deshidrogenasa	1.1.1.27	<i>LDH-A1</i> *	X
		<i>LDH-A2</i> *	X
		<i>LDH-B2</i> *	X
		<i>LDH-C</i> *	X
Lactoilglutatió liasa	4.4.1.5	<i>LGL</i> *	X
α Manosidasa	3.2.1.24	α <i>MAN</i> *	X
Malat deshidrogenasa	1.1.1.37	<i>sMDH-A1</i> *	X
		<i>sMDH-A2</i> *	X
		<i>sMDH-B1,2</i> *	X
Enzim màlic-NAD	1.1.1.39	<i>ME</i> *	X

Taula 2. Continuació

Enzim màlic-NADP	1.1.1.40	<i>MEP-1*</i>	X
		<i>MEP-2*</i>	X
		<i>MEP-3*</i>	X
Manosa 6-fosfat isomerasa	5.3.1.8	<i>MPI-2*</i>	X
Peptidasa leucina-tirosina	3.4.11.-	<i>PEPLT*</i>	X
Prolina dipeptidasa (subs. fenilalanina-prolina)	3.4.13.9	<i>PEPPAP*</i>	X
Dipeptidasa (subs. glicil-leucina)	3.4.13.11	<i>PEPGL</i>	X
Tripeptidasa (subs. leucil-glicil-glicina)	3.4.11.4	<i>PEPLGG*</i>	X
Fosfoglucomutasa	5.4.2.2	<i>PGM*</i>	X
6-Fosfogluconat deshidrogenasa	1.1.1.44	<i>PGDH-1*</i>	X
		<i>PGDH-2*</i>	
Piruvat quinasa	2.7.1.40	<i>PK-1*</i>	
		<i>PK-2*</i>	
		<i>PK-3*</i>	X
Sorbitol deshidrogenasa	1.1.1.14	<i>SDH-1*</i>	
		<i>SDH-2*</i>	
Superòxid dismutasa	1.15.1.1	<i>SOD*</i>	X
Xantina deshidrogenasa	1.2.3.2	<i>XDH*</i>	X

II.2.2 Anàlisi de les dades

En la majoria de loci enzimàtics estudiats electroforèticament els al·lels han mostrat codominància, de manera que ha estat possible relacionar cada fenotip amb el seu genotip i les freqüències al·lèliques s'han pogut calcular per compte directe. Pels loci on existeix dominància d'algun al·lel (com *sMDH-B1*80* i *LDH-A2*100*) no ha estat possible distingir l'homozigot dominant de l'heterozigot; en aquests casos, les freqüències al·lèliques s'han calculat assumint que la població de la qual prové la mostra es trobava en equilibri de Hardy-Weinberg. D'aquesta manera, el càlcul de la freqüència relativa de l'al·lel recessiu s'ha estimat com l'arrel quadrada de la freqüència relativa del fenotip homozigot recessiu. Així per exemple, pel locus *LDH-A2** la freqüència de l'al·lel recessiu *LDH-*

A2*100QL s'ha estimat amb l'arrel quadrada del fenotip homozigot recessiu *100QL/100QL. De la mateixa manera s'ha calculat la freqüència de l'al.lel recessiu *100 del sistema d'isoloci *SMDH-B1,2**, assignant tota la variació de l'al.lel *80 al locus *SMDH-B1**. Per l'al.lel *SMDH-B1,2*75* les freqüències al.lèliques han pogut ser calculades directament a partir dels fenotips electroforètics observats, assignant també la màxima variació al locus *SMDH-B1** segons García-Marín & Pla (1996).

Variabilitat genètica en les mostres

L'ajustament de les proporcions genotípiques observades amb les esperades segons l'equilibri de Hardy-Weinberg s'ha comprovat, de forma general, utilitzant un test de probabilitats exactes (Fisher 1935). A més, ocasionalment, s'han realitzat dos tests addicionals, variants de l'anterior, que ens permeten veure si els desequilibris obtinguts són deguts a una deficiència o a un excés d'heterozigots (Rousset & Raymond 1995). Els possibles desequilibris gamètics entre tots els possibles parells de loci s'han mesurat a cada població mitjançant el test compost de desequilibri genotípic de Weir (*D*, Weir 1990). S'ha utilitzat la tècnica seqüencial de Bonferroni (Rice 1989) per ajustar els nivells de significació al caràcter múltiple dels tests.

Diferenciació genètica entre les mostres

La diferenciació entre les mostres s'ha analitzat a través d'una anàlisi de contingència de χ^2 (Sokal & Rohlf 1995) o bé mitjançant un test de probabilitats exactes, en el qual l'estimació no esbiaixada de p per a cada locus s'ha obtingut pel mètode de la cadena de Markov (Raymond & Rousset 1995a). En els casos on les freqüències al.lèliques utilitzades han estat les corregides pels efectes de les repoblacions (veure més endavant), les diferències en les freqüències al.lèliques entre les poblacions natives s'ha comprovat a través del test de χ^2 de Workman & Niswander (1970). Tanmateix, la diferenciació genètica entre cada parell

de mostres s'ha resumit mitjançant matrius de distància genètica de Nei (1972) o bé de distància corda de Cavalli-Sforza (Cavalli-Sforza & Edwards 1967), que s'han utilitzat en cada cas per construir dendrogrames UPGMA (Sneath & Sokal 1973) o Neighbor-Joining (NJ, Saitou & Nei 1987). La consistència de les associacions en els dendrogrames s'ha estimat amb 1000 rèpliques de les dades de les freqüències al·lèliques mitjançant el mètode de "bootstrap" (Felsenstein 1985).

A fi de superar les limitacions que es donen a vegades utilitzant algorismes jeràrquics, quan els patrons de variació genètica tenen un origen semi- o no-jeràrquic, la diferenciació entre les mostres s'ha analitzat també utilitzant una anàlisi de coordenades principals (Gower 1966) sobre la matriu de distàncies genètiques. Les coordenades obtingudes per aquest mètode permeten una representació exacta de les associacions en forma de distància entre les mostres, en una dimensió igual al nombre de mostres menys un. A l'article III, les relacions entre poblacions s'han analitzat també cladísticament, a través d'una matriu de presència/absència dels al·lels utilitzant els mètodes Wagner i Dollo (Farris 1970, 1977).

Distribució de la variabilitat genètica

La variabilitat genètica total d'una espècie es pot descompondre en la diversitat dintre les poblacions i la diversitat entre les poblacions. Tant en els primers articles dedicats a l'estudi dels patrons de diferenciació entre els rius atlàntics i els mediterranis, com en la revisió global, la variació genètica total (H_T) s'ha descompost en les seves components dins de localitats (H_S), entre localitats dins de rius (F_{LR}), i entre rius (F_{RT}), mitjançant una anàlisi jeràrquica de diversitat gènica (Chakraborty *et al.* 1982). A l'article III s'han utilitzat els índexs de fixació F de Wright calculats segons Weir & Cockerham (1984), per determinar la variabilitat genètica en el total de l'àrea d'estudi (F_{IT}), entre els individus (F_{IS}) i entre

les localitats (F_{ST}). En canvi, a l'article IV s'han utilitzat els índexs G_{IS} , G_{IT} i G_{ST} (equivalents als índexs de fixació de Wright), calculats segons el mètode de Nei (1977), a partir de les heterozigositats observades i esperades.

Correcció de les freqüències al·lèliques pels efectes de les repoblacions

Alhora de plantejar-nos l'estudi filogenètic de les poblacions de truita comuna, és important poder detectar i eliminar de les mostres que s'analitzen el genoma introduït amb les repoblacions, a fi d'aconseguir observar l'estructura poblacional i les relacions filogenètiques ancestrals. Per això, en els dos primers articles que presentem en l'apartat de resultats, destinats a estudiar els patrons d'estructura poblacional i les relacions filogenètiques entre les poblacions natives de truita, s'ha aplicat un mètode de correcció de les freqüències al·lèliques pels efectes de les repoblacions, amb el qual s'aconsegueix eliminar gran part del genoma exogen present en les mostres analitzades. Aquesta és una metodologia nova que considerem com una aportació de gran interès per a futures aplicacions, alhora d'estudiar l'estructura genètica de poblacions natives. Degut a això, malgrat que ja està explicada en els articles citats, creiem que val la pena introduir-la breument en aquest apartat.

Com ja s'ha dit, les anàlisis electroforètiques realitzades sobre les poblacions espanyoles de truita comuna, han posat de manifest l'existència de marcadors genètics, que ens permeten distingir clarament les poblacions autòctones espanyoles i els estocs dels centres piscícoles d'origen nord i centre europeu utilitzats per a les repoblacions. L'al·lel *LDH-C*90* és el marcador per excel·lència de genoma exogen d'origen nord-europeu en les poblacions natives espanyoles. Juntament amb aquest al·lel, els al·lels *G3PDH-2*50*, *sMDH-A2*120* i *sMDH-B1*80* són altres polimorfismes comuns en els estocs de centre piscícola absents en les poblacions natives, que han estat utilitzats en repetides ocasions tan per a detectar exemplars de repoblació com per a mesurar la introgressió

de genoma exogen en els rius de la Península Ibèrica (García-Marín *et al.* 1991, Morán *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993, García-Marín & Pla 1996, Cagigas *et al.* 1999b). En base a marcadors de repoblació com aquests s'ha estimat la contribució relativa de genoma exogen en les poblacions naturals mitjançant un coeficient d'introgressió " \hat{S} " calculat com:

$$\hat{S} = (p_w - p_n) / (p_s - p_n)$$

on p_w , p_n i p_s són, respectivament, la freqüència d'un determinat al·lel en la població salvatge en qüestió, en la població nativa ancestral i en l'estoc del centre piscícola. Els estudis al·lozímics realitzats en 14 estocs de diferents centres piscícoles espanyols han indicat una gran similitud entre ells (García-Marín *et al.* 1991). Aleshores, per a cada al·lel marcador de repoblació, s'ha estimat p_s com el valor mig observat en aquests 14 estocs (García-Marín 1994) i s'ha considerat $p_n = 0$ degut a l'absència d'aquests al·lells en els llinatges ancestrals de truita presents a la Península Ibèrica. Per tal de mesurar la contribució de genoma exogen en cada una de les mostres, el coeficient d'introgressió ha estat calculat per a cadascun dels al·lells marcadors, i, a través de la seva mitjana aritmètica, s'ha obtingut la taxa de introgressió per a cada mostra.

Per aconseguir les freqüències al·lèliques natives ancestrals, hem assumit un origen completament natiu per a totes aquelles poblacions on no s'ha detectat cap dels al·lells considerats marcadors de repoblació. En les mostres introgressades ($\hat{S} \neq 0$), les freqüències al·lèliques s'han recalculat ajustant-les proporcionalment al nivell d'introgressió de cada mostra. Per això, en primer lloc s'han exclòs de totes les mostres els al·lells marcadors de repoblació: *LDH-C*90*, *G3PDH-2*50*, *sMDH-A2*120* i *sMDH-B1*80*, i en les mostres atlàntiques també *β GALA-2*95*. En segon lloc i partint de la fórmula anterior $\hat{S} = (p_w - p_n) / (p_s - p_n)$, s'ha estimat, per a tots els loci polimòrfics, la freqüència al·lèlica en la població nativa ancestral com:

$$p_n = (p_w - \hat{S} p_s) / (1 - \hat{S})$$

on \hat{S} és el coeficient d'introgressió promig calculat tal i com s'ha descrit anteriorment. Degut a l'error estadístic associat al mètode utilitzat per estimar \hat{S} (veure Campton 1987), un cop obtingudes les freqüències al·lèliques corregides (p_n) s'ha aplicat, per a cada cas, el test de la *t-student* d'igualtat de dos percentatges (Sokal & Rohlf 1995). Quan la freqüència corregida de l'al·lel natiu ha estat més elevada que 0.5, la *t-student* s'ha realitzat per comprovar si es podia considerar $p_n = 1$. Quan la freqüència corregida de l'al·lel ha resultat més baixa que 0.5, i l'al·lel és una variant comú en els estocs de centre piscícola, s'ha comprovat si podem considerar $p_n = 0$, mitjançant el test anterior. En el cas de no obtenir-se una significació estadística en aquests dos contrastes, les freqüències al·lèliques ancestrals s'han ajustat a 1 i 0 respectivament.

Paquets estadístics utilitzats

En els càlculs necessaris per al processament de les dades s'han utilitzat els programes BIOSYS-1 (Swofford & Selander 1981), FSTAT (Goudet 1995), GENEPOP, versió 1.2 ò 3.1b i el seu paquet adicional LINKDOS (Raymond & Rousset 1995b), NTSYS (Rohlf 1993), PHYLIP, versió 3.5c (Felsenstein 1993), NEGST (Chakraborty *et al.* 1982) i DISPAN (Ota 1993).

III. RESULTATS

La totalitat dels resultats obtinguts en el decurs del treball de tesi es presenten elaborats en forma de sis articles científics, dels que únicament l'Article II resta per publicar. Aquests articles conformen el nucli d'aquesta memòria de tesi i estan ordenats en tres apartats corresponents als tres objectius del treball descrits al capítol d'Introducció. Així, el punt III.1 comprèn l'Article I (Divergence of brown trout (*Salmo trutta*) within glacial refugia) i l'Article II (Genetic diversity of brown trout (*Salmo trutta*) in the peripheral Mediterranean populations) sobre la distribució dels recursos genètics nadius de la truita comuna a la Península. El punt III.2 presenta dos exemples sobre els efectes genètics que les repoblacions tenen sobre les poblacions autòctones de truita; l'Article III (Allozyme diversity in brown trout (*Salmo trutta*) from Central Spain: Genetic consequences of restocking) es refereix bàsicament als efectes macrogeogràfics detectats a les conques del Duero i el Tajo, mentre que l'Article IV (Anàlisi genètica de la truita comuna, *Salmo trutta* L., a la conca alta de la Noguera Ribagorçana) estudia els efectes a escala microgeogràfica a la conca de la Noguera Ribagorçana. Finalment, el punt III.3 presenta els resultats sobre l'estudi per determinar la dinàmica del procés de substitució dels genomes autòctons com a conseqüència de les repoblacions; l'Article V (Proportions of Native and Introduced Brown Trout in Adjacent Fished and Unfished Spanish Rivers) analitza l'àrea de la Noguera Ribagorçana, mentre que l'Article VI (Erosion of the native genetic resources of brown trout in Spain) presenta una discussió global sobre aquest procés, a partir dels nostres resultats i dels que amb anterioritat s'havien vist al riu Riutort.

III.1 Distribució dels recursos genètics nadius de la truita comuna a la Península Ibèrica (Articles I i II)

A la Península Ibèrica són varis els treballs que s'han fet amb al.lozims sobre les poblacions atlàntiques de truita comuna (Morán *et al.* 1991,1995, Martínez *et al.* 1993, Arias *et al.* 1995, García-Marín & Pla 1996, Bouza *et al.* 1999), però la majoria han estat destinats a analitzar àrees geogràfiques molt petites o a avaluar l'impacte de les repoblacions sobre les poblacions natives, i donen poca informació sobre la història evolutiva de les poblacions estudiades. Només el treball de García-Marín & Pla (1996) ha enfocat l'estudi de les poblacions de truita de la Península des d'un punt de vista evolutiu, malgrat que el nombre de mostres analitzades per cada riu principal era bastant reduït. Pel que fa a les poblacions mediterrànies, són pocs els treball previs que descriguin els patrons de diferenciació i les relacions filogenètiques entre les poblacions de truita. En aquest sentit, el treball de García-Marín & Pla (1996) inclou 13 mostres de rius mediterranis, però només descriu a gran escala la diferenciació genètica entre les poblacions d'aquest territori, ja que es concentra bàsicament en la diferenciació observada entre les vessants atlàntica i mediterrània.

Segons García-Marín *et al.* (1999), les poblacions atlàntiques de la Península Ibèrica pertanyen a un llinatge ancestral de truita comuna que anomenen llinatge II i que es caracteritza per presentar freqüències elevades dels al.lels *CK-A1*115* i *LDH-C*100*. Pel que fa a les poblacions mediterrànies, aquests autors descriuen un llinatge ancestral que anomenen llinatge IV, que s'estén des de la Península Ibèrica fins a la costa oest de Grècia i que es caracteritza per la fixació de l'al.lel **100* als loci *CK-A1** i *LDH-C** (veure Figura 1, pàgina 14). Dins aquest context, els estudis que presentem descriuen més concretament la distribució dels

recursos genètics nadius de la truita comuna a la Península Ibèrica i progressen en el coneixement de la subdivisió actual Atlàntic-Mediterrani.

Article I

Sanz N., García-Marín J.L., Pla C. 2000. *Divergence of brown trout (Salmo trutta) within glacial refugia*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences (en premsa).

Manuscript, revised July 2000

Do not distribute without permission of the authors

Divergence of brown trout (*Salmo trutta*)

within glacial refugia.

Núria Sanz*,

José-Luis García-Marín,

Carles Pla

Laboratori d'Ictiologia genètica. Facultat de Ciències. UdG. Campus de Montilivi s/n, E-

17071-Girona, Spain.

Right running: evolution within glacial refugia

Left running: Sanz et al.

*to whom correspondence should be addressed.

Telf: +34. 972418168

Fax: +34. 972418277

email: dbnsb@fc.udg.es

Abstract

The Pleistocene glaciations produced a range of changes that affected the genetic population structure of fish species. Usually, studies focused on the population structure of species in postglacial recolonized areas and less attention was devoted to the species differentiation within refuge areas. Allelic frequencies for 21 polymorphic protein coding loci were compared among 25 collections within a northwestern Iberian glacial refuge of brown trout (*Salmo trutta*), using adjusted frequencies for nine populations to account for introgressions with exogenous hatchery fish. The high divergence observed ($F_{ST} = 0.645$), and geographical patterns of allelic variation are interpreted to reflect the existence of strong population structuring among native populations of this refuge. Four major geographic groups were defined within the region: (i) the Tajo River, (ii) the Duero River, (iii) the Sil River and (iv) among Cantabrian Sea-flowing rivers including present anadromous populations. These gene pools have diverged genetically and ecologically in response to climatic oscillations. Anthropogenic effects on habitat and fish populations seriously compromise their future.

Article II

Sanz N., García-Marín J.L., Pla C. *Genetic diversity of brown trout (Salmo trutta) in the peripheral Mediterranean populations* (enviat al Conservation Biology).

Manuscript, September 2000

Do not distribute without permission of the authors

Genetic diversity of brown trout (*Salmo trutta*) in the peripheral
Mediterranean populations

N. Sanz*, J.L. García-Marín, C. Pla

Laboratori d'Ictiologia genètica. Facultat de Ciències. UdG. Campus de

Montilivi s/n, E-17071-Girona, Spain.

Keywords: allozyme, brown trout, conservation, genetic differentiation,
phylogeny, *Salmo trutta*

*to whom correspondence should be addressed.

Telf: +34. 972418168

Fax: +34. 972418277

email: dbnsb@fc.udg.es

Running title: Gene diversity of Mediterranean trout

Word count: 5371

Abstract

Allozyme data from 36 samples were used to elucidate the genetic structure and phylogenetic relationships among the peripheral brown trout populations in the Mediterranean Rivers of the Iberian Peninsula. After removing the effects of stocking, 26 out of the 42 protein-coding loci examined remained polymorphic. Native populations were characterised by low heterozygosities ($H_S = 0.029$) and high degree of genetic differentiation ($F_{ST} = 0.615$). Distribution of allozymic variants permitted identifying four distinct groups of populations among collections. These were not linked to clear hydrographical patterns and may be attributed to several colonisation episodes. The scattered distribution of those groups between and within rivers suggests a subsequent evolution by drift and secondary intergradations; which complicates management and conservation of these gene pools. Based on our results, we recommend a change from the "geographical neighbourhood" rule presently used in re-stocking towards increasing population sizes through habitat improvement and reducing exploitation to levels only sustained by natural reproduction.

Resumen

A partir de los datos alozímicos de 36 muestras se ha estudiado la estructura genética y las relaciones filogenéticas entre las poblaciones periféricas de trucha común que habitan los ríos mediterráneos de la Península Ibérica. De los 42 loci proteicos examinados, 26 permanecieron polimórficos después de eliminar los efectos de las repoblaciones. Las poblaciones nativas se caracterizan por bajos niveles de heterozigosidad ($H_S = 0.029$) y por una elevada diferenciación genética ($F_{ST} = 0.615$). La distribución de algunas variantes alélicas permiten identificar cuatro grupos de poblaciones distintos. La distribución de estos grupos no presenta una clara relación con los patrones hidrográficos sino que más bien parece ser debida a la existencia de distintos procesos de colonización. La dispersa distribución de estos grupos entre y dentro de ríos sugiere una evolución posterior a través de deriva y contactos secundarios, y complica la gestión y conservación de estos patrimonios genéticos. Basándonos en los resultados obtenidos, se recomienda un replanteamiento del criterio de igualdad genética entre poblaciones geográficamente cercanas utilizado para repoblar, y un cambio en las estrategias de gestión enfocado hacia un aumento del tamaño de las poblaciones a través de la mejora del hábitat y la reducción de la explotación a niveles que puedan ser sostenidos únicamente por la reproducción natural de las poblaciones.

III.2 Els efectes genètics de les repoblacions: Exemples (Articles III i IV)

Tant a Espanya com a altres llocs d'Europa, són molts els treballs que han estat destinats a avaluar les conseqüències genètiques de les repoblacions amb exemplars de centre piscícola sobre les poblacions autòctones de truita comuna (Guyomard & Krieg 1986, Barbat-Leterrier *et al.* 1989, García-Marín *et al.* 1991, Morán *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993, Beaudou *et al.* 1994, Arias *et al.* 1995, Largiadèr & Scholl 1995, 1996, Blanco *et al.* 1998, Cagigas *et al.* 1999b, Berrebi *et al.* 2000). Malgrat això, el fet que la gestió de les poblacions de truita segueixi basant-se en les repoblacions, sense tenir en compte els ja comentats efectes nocius que comporten sobre les poblacions autòctones, sumat a què contínuament anem detectant la presència de gens exògens al llarg de totes les mostres analitzades; ens impulsa a seguir insistint en aquest tema a fi de descobrir el destí final dels exemplars llençats als nostres rius i comprovar què està passant amb les poblacions autòctones com a conseqüència d'aquestes repoblacions.

L'impacte de les repoblacions a nivell macrogeogràfic s'ha estudiat sobre les poblacions de truita comuna de les conques del Duero i el Tajo. Malgrat que les conques de tots dos rius s'estenen sobre territoris que pertanyen a tres comunitats autònomes diferents (Madrid, Castilla-La Mancha i Castilla-León), totes tres administracions han portat a terme una estratègia de gestió similar, basada en repoblacions fetes a partir d'exemplars que provenen bàsicament de centre piscícola. Aquestes dues conques, que en la biogeografia dels peixos d'aigua dolça de la Península Ibèrica han estat classificades en dos subgrups diferents de la mateixa àrea (Doadrio 1988); presenten, en estudis previs, una important

diferenciació genètica entre les seves poblacions de truita (García-Marín & Pla 1996).

A nivell microgeogràfic, l'impacte de les repoblacions s'ha estudiat a la conca de la Noguera Ribagorçana. Juntament amb la Noguera Pallaresa, la Noguera Ribagorçana representa una de les conques més productives de truita comuna a Catalunya i és on es concentren la majoria de zones pesca (Ruiz-Olmo 1997). Això fa que sigui també aquí on les repoblacions dels rius han estat més intenses, i és la raó per la qual hem escollit aquesta conca per avaluar, a escala microgeogràfica, els efectes que les repoblacions efectuades en certs punt del riu produeixen sobre les poblacions d'una mateixa conca.

Article III

Machordom A., García-Marín J.L., Sanz N., Almodóvar A., Pla C. 1999.
*Allozyme diversity in brown trout (Salmo trutta) from Central Spain:
Genetic consequences of restocking.* *Freshwater Biology*, **41**, 707-717.

DIGITAL OBJECT IDENTIFIER (DOI)

<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2427.1999.00418.x>

ABSTRACT

1. The brown trout (*Salmo trutta*) represents one of the main freshwater resources in Spain, but habitat alterations and overharvesting have contributed to the decline or disappearance of numerous natural populations. In addition, reinforcement programs of wild populations based on releases of hatchery reared fish of exogenous origin compromise the conservation of remnant native trout resources.

2. We present allozymic data from Central Spain trout populations including stocked and unstocked populations. Although the levels of genetic variation observed were low and affected by hatchery releases ($p = 18.23\%$, $H_o = 3.39\%$), they were within the range observed in other European areas.

3. The effective introduction of hatchery reared fish is genetically homogenising the populations in the studied area and disturbing the ancestral pattern of genetic variation that distinguishes the Tajo and Duero basins. Within the eight natural populations analysed, seven had alleles assigned to the foreign trout. The introgression in these populations, following the LDH-5*90 allele frequency, ranged between 2% and 29.4%, but those values are not in concordance with the respective stocking effort undertaken in each population. Moreover, the release of hatchery-reared fish does not solve the problems related to the reduced size of wild populations and their recruitment instability.

Accepted: 29 October 1998;

KEYWORDS

brown trout • *Salmo trutta* • genetic variability • restocking • introgression

Article IV

Sanz N. 1998. *Anàlisi genètica de la truita comuna, Salmo trutta L., a la conca alta de la Noguera Ribagorçana*. Butlletí de la Institució Catalana d'Història Natural, **66**, 17-34.*

*Aquesta publicació és el resultat del Primer Premi per a estudiants de la Institució Catalana d'Història Natural, que va ser guanyat per Núria Sanz Ball-Ilosera, dins la convocatòria de 1998 dels "Premis i Borses d'Estudis de l'Institut d'Estudis Catalans".

<http://www.raco.cat/index.php/ButlletilCHN/article/view/33121/32955>

Rebut: 29.05.98 Acceptat: 11.11.98

Resum

L'anàlisi genètica de cinquanta *loci* proteics ha permès estudiar l'estructura poblacional de la truita comuna a l'alta Noguera Ribagorçana, incloent-hi part del Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici. Els resultats obtinguts indiquen una important diferenciació genètica entre les mostres, que és conseqüència dels diferents graus d'introducció de peixos originaris de repoblació. La incidència de les repoblacions és menor fora del Parc Nacional, en àrees explotades i intensament repoblades. Sembla que en aquestes àrees la pesca extreu els exemplars repoblats abans que aquests s'incorporin al grup reproductor de la població receptora. En el Parc Nacional la incidència de les repoblacions és més elevada. Aquí, l'establiment d'una població al·lòctona al barranc de Morrano, representa el principal perill per a la conservació de la diversitat genètica de l'espècie i la integritat de tot l'ecosistema. Aquests resultats posen de manifest importants errades de gestió tant en les àrees de pesca com en el Parc Nacional.

MOTS CLAU: truita comuna, electroforesi de proteïnes, repoblació, introducció, centre piscícola, hibridació, gestió.

Abstract

The population structure of brown trout in the upper Noguera Ribagorçana, including areas within the «Aigüestortes i Estany de Sant Maurici» National Park, was assessed by electrophoretic variation at 50 protein coding loci. An important genetic differentiation was detected among samples, basically due to the different genetic impact of the released exogenous hatchery fish. The occurrence of fish of hatchery ancestry is lower in the fished and heavily stocked areas outside the National Park. Apparently, the capture of hatchery fish prior to sexual maturity permits the perpetuation of a predominantly native population in this area. The occurrence of fish of hatchery origin is higher within the National Park, where almost complete displacement of native fish has occurred at Barranc de Morrano. This population represents the main risk for the conservation of the genetic diversity of the specie and the ecosystem. These data suggest important errors in the management undertaken in both fished and protected areas.

KEYWORDS: brown trout, protein electrophoresis, stocking, introduction, hatchery, hybridisation, management.

III.3 Factors determinants i dinàmica del procés de substitució dels genomes autòctons com a conseqüència de les repoblacions (Articles V i VI)

Si bé les condicions poc estructurades i variables de la majoria de programes de repoblació han impedit un bon coneixement del progrés d'aquests programes, el fet de trobar estratègies de gestió diferents afectant a rius similars ens dóna l'oportunitat de fer estudis comparatius de gran utilitat. Aquesta situació és la que existeix en dos rius adjacents que gaudeixen de condicions físiques semblants, tots dos de la conca alta de la Noguera Ribagorçana. El riu Noguera de Tor pateix un règim de pesca intensiva i és anualment repoblat, mentre que el riu Sant Nicolau, afluent de l'anterior, flueix dins la zona protegida del "Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici", i està, per tant, exempt de qualsevol tipus de pesca. En aquesta àrea es poden analitzar patrons d'interacció genètica entre els peixos nadius i els de repoblació sota diferents figures de gestió, i detectar quins factors juguen un paper important alhora de determinar les conseqüències que la repoblació comporta sobre les poblacions autòctones de truita comuna.

D'altra banda, un segon estudi s'ha fet analitzant les dades obtingudes en el riu Riutort (afluent del riu Llobregat), que és un refugi biològic des de fa molt de temps. En aquest riu, l'efecte de les repoblacions sobre la població nativa de truites havia estat ja estudiat en treballs previs del nostre laboratori (García-Marín *et al.* 1991, García-Marín 1994). Aquests treballs van detectar, l'any 1988, la presència d'individus de repoblació clarament diferenciables genèticament dels exemplars nadius. La incorporació dels seus gens exògens a la població salvatge es feu ja evident en una mostra corresponent a l'any 1990. Ara presentem les conclusions finals de l'estudi a partir de l'anàlisi global dels resultats.

L'estudi portat a terme en el riu Riutort i la revisió de dades d'altres rius repoblats com la Noguera Ribagorçana, ens permet descobrir la importància relativa dels factors que determinen la introducció efectiva d'exemplars exògens en la població nativa, i veure si les conclusions vistes en l'estudi de la conca de la Noguera Ribagorçana i al riu Riutort (Articles Vi VI) són aplicables a altres rius. En aquest sentit, i en base als resultats d'aquesta part del treball, es pretén oferir propostes per a la millora de la gestió de la truita comuna, que contemplin la situació actual del riu i les seves poblacions.

Article V

García-Marín J.L., Sanz N., Pla C. 1998. *Proportions of Native and Introduced Brown Trout in Adjacent Fished and Unfished Spanish Rivers*. Conservation Biology, **12**(2), 313-319.

DIGITAL OBJECT IDENTIFIER (DOI)

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1739.1998.96133.x>

ABSTRACT

Evidence of different degrees of genetic interactions of exogenous hatchery fish with native populations was electrophoretically obtained from collections of brown trout from four heavily fished areas and eight adjacent protected and unfished areas in northeastern Spain. Although some degree of hybridization or introgression was detected in each collection based on fixed differences between hatchery and native fish at the LDH-C * locus and less distinct differences were found at three other loci (sMDH-A2*, IDHP-2*, IDHP-3*), fished populations had significantly lower levels of hatchery genes than protected ones. The greater persistence of native fish in areas that were fished and stocked appeared to reflect a greater susceptibility of hatchery-reared fish to angling. Although it remains uncertain whether this difference is innate or a reflection of hatchery rearing, stocking was ineffective in enhancing the recipient population in the exploited river. These data suggest that different strategies may be needed for protection of native populations in fished and protected areas and that more intense measures may be required in the latter instance.

Proporciones de Trucha Común Nativa e Introducida en Ríos Españoles Adyacentes Sometidos o No a Explotación Pesquera

A partir del análisis electroforético de muestras de trucha común de cuatro áreas sometidas a un régimen intensivo de pesca y ocho áreas adyacentes protegidas y sin actividad pesquera, se han obtenido evidencias de diferentes grados de interacción genética entre los peces producidos en los centros piscícolas y las poblaciones nativas del noreste de España. En cada muestra se constató algún grado de hibridación o introgresión en base a las diferencias conocidas entre los peces de piscifactoría y los nativos, fijadas en el locus LDH-C * y menores en otros tres loci (sMDH-A2*, IDHP-2*, IDHP-3*). Sin embargo, los niveles de genes típicos de los centros piscícolas fueron significativamente inferiores en las poblaciones sometidas a explotación pesquera respecto a aquellos observados en las áreas protegidas. Esta mayor persistencia de los genes nativos en las áreas sometidas a explotación, y por ello más intensamente repobladas, parece reflejar una mayor susceptibilidad de los peces criados en los centros piscícolas a ser capturados. A pesar de que es aún incierto si esta diferencia es innata o un reflejo del manejo en el centro piscícola, sí resulta claro que la repoblación se mostró ineficaz para aumentar las poblaciones en los ríos explotados. Los resultados sugieren la necesidad de utilizar diferentes estrategias para la protección de las poblaciones nativas en las zonas pesqueras y en las protegidas, y que en estas últimas serían necesarias medidas más intensas.

Article VI

García-Marín J.L., Sanz N., Pla C. 1999. *Erosion of the native genetic resources of brown trout in Spain*. Ecology of Freshwater Fish, **8**, 151-158.

DIGITAL OBJECT IDENTIFIER (DOI)

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0633.1999.tb00066.x>

ABSTRACT

Abstract—We analyzed the introduction of hatchery-reared trout in the Riutort Creek, a small stream in the eastern Spanish Pyrennees. We used gene correlation matrices between individuals to analyze the fish coancestry in the Riutort Creek samples and in the hatchery stock. Hatchery fish disturbed the single ancestry in the native population of the creek, and were clearly detected with principal coordinate analysis of the gene correlation matrix. The amount of introgression produced by successful introductions was estimated from the principal coordinate analysis projections of the matrix of F_{ST} values between the putative native Riutort Creek population, the hatchery stock and the introgressed population. In only two years the amount of introgression rose to 10%, indicating that 5% of the native ancestry is lost each year as a result of the stocking program. Based on these results, we review the present understandings on the genetic impact of hatchery fish on indigenous Spanish brown trout populations. The stocking of these populations involves a non-native broodstock widespread through the Spanish hatcheries, but successful stockings appear to be limited to wild populations subjected to occasional releases in protected or unfished areas. Surprisingly, extensive stocking in fished areas result in a more limited genetic impact on the recipient native population.

Accepted for publication April 9, 1999

KEYWORDS

brown trout • conservation • gene correlation • genetic resources • introgression
• *Salmo trutta* • stocking

IV. DISCUSSIÓ GENERAL

IV.1 Estructura genètica de les poblacions de truita comuna a la Península Ibèrica.

IV.1.1 Una revisió global

Les poblacions analitzades tant a la vessant atlàntica com mediterrània presenten nivells variables d'introgressió de genoma exogen conseqüència de les repoblacions efectuades. Però malgrat els gens de repoblació que es detecten en moltes de les poblacions, els al·lels nadius predominen en la majoria de mostres (Taula 2, Article I; Taula 1, Article II, Taula 1, Article VI) i ens permeten observar, encara avui, els patrons ancestrals de diferenciació genètica entre les poblacions natives.

La primera revisió sobre els patrons de diversitat genètica de la truita comuna a la Península Ibèrica feta per García-Marín & Pla (1996) indicava l'existència de nivells considerables de diversitat ($H_T = 0.085$) i una forta diferenciació entre poblacions ($G_{ST} = 0.640$). Aquesta diferenciació era deguda a la diferenciació entre poblacions dins d'un riu ($G_{SR} = 12\%$) i entre rius d'una mateixa vessant ($G_{RD} = 39\%$), així com també eren importants les diferències observades entre la vessant atlàntica i la mediterrània ($G_{DT} = 13\%$). Aquest patró de distribució de la diferenciació genètica portà a aquests autors a suposar una colonització dels rius de la Península Ibèrica per dos llinatges diferents de truita comuna (llinatges II i IV de García-Marín *et al.* 1999, veure Figura 1, pàgina 14). Aquestes anàlisis, però, es realitzaren amb mostres de tan sols 24 localitats. En aquest sentit, el major nombre de noves localitats analitzades en aquesta tesi (Taula 1, pàgina 26), ens ha permès fer una revisió dels resultats i conclusions obtinguts per García-Marín & Pla

(1996), per tal d'obtenir una visió més acurada de la distribució dels recursos genètics de la truita comuna a la Península Ibèrica. Per això, hem analitzat conjuntament 70 mostres (Taula 1, pàgina 26) de les quals disposem de la informació conjunta per a 33 loci polimòrfics d'aquesta espècie (Taula 4, pàgina 192). Cal dir que les dues mostres del Garona s'han inclòs a la revisió global tot i pertànyer a un llinatge evolutiu diferent al de la Península. Aquestes poblacions, que pertanyen al llinatge atlàntic del nord i centre d'Europa, es caracteritzen per presentar l'al·lel *LDH-C*90* com a natiu, de manera que, en aquestes mostres, aquest al·lel no és indicador de repoblació.

D'acord amb els resultats observats per García-Marín & Pla (1996), la diversitat genètica total que s'ha obtingut en aquesta revisió ha estat també elevada ($H_T = 0.108$), amb només el 39.5% d'aquesta variació compartida entre localitats. Estudis similars al nostre, però que comprenen àrees geogràfiques molt més àmplies (com França o Rússia) han presentat una diversitat genètica comparable a l'observada en el nostre treball, però els valors de diferenciació que s'han observat en aquests estudis són fins i tot més baixos als que s'han detectat entre les nostres poblacions ($G_{ST} = 0.605$, Taula 3).

Taula 3. Distribució de la diversitat genètica a *Salmo trutta* i a altres espècies de salmònids.

Espècie	H_T	G_{ST}	Referència
<i>Salmo trutta</i>			
Espanya	0.108	0.605	Aquest treball
França	0.112	0.550	Krieg & Guyomard 1985
Grècia	-	0.259	Karakousis & Triantaphyllidis 1990
Illes Britàniques	0.047	0.333	Fleming 1983
Suècia	0.040	0.375	Ryman 1983
Rússia	0.122	0.467	Osinov & Bernatchez 1996

Taula 3. Continuació

<i>Salmo salar</i>	0.034	0.235	Ryman 1983
	0.041	0.361	Ståhl 1987
<i>Oncorhynchus clarki</i>	0.128	0.703	Loudenslager & Gall 1980
<i>O.c.bouvieri</i>	0.022	0.082	Loudenslager & Gall 1980
<i>O.c.clarki</i>	0.101	0.058	Allendorf & Leary 1988
<i>O.c.henshawi</i>	0.065	0.445	Loudenslager & Gall 1980
<i>O.c.lewisi</i>	0.029	0.334	Allendorf & Leary 1988
	0.024	0.328	Leary <i>et al.</i> 1988.
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	0.046	0.022	Altukhov & Salmenkova 1991
	0.055	0.031	Altukhov & Salmenkova 1991
<i>Oncorhynchus keta</i>	0.087	0.070	Altukhov & Salmenkova 1991
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	0.038	0.160	Bartley 1987
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.092	0.140	Berg & Gall 1988
	0.053	0.018	Reisenbichler & Phelps 1989
	0.069	0.159	Ryman 1983
<i>Oncorhynchus nerka</i>	0.035	0.098	Utter <i>et al.</i> 1984
	0.046	0.058	Ryman 1983
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	0.041	0.177	Bartley 1987
	-	0.123	Utter <i>et al.</i> 1989

Comparant els nostres resultats amb la diferenciació que s'observa en espècies afins al gènere *Salmo*, la diferenciació observada entre les nostres poblacions és només superada per la diferenciació detectada en *Oncorhynchus clarki*. Espècie, aquest última, que es caracteritza per tenir descrites nombroses subespècies.

Aquesta revisió global sobre 70 mostres de la Península Ibèrica confirma l'elevada diferenciació descrita entre poblacions, però indica una distribució d'aquesta diferenciació una mica diferent; detectant nivells similars de diferenciació tant dins de rius ($G_{LR} = 20.3\%$) com entre rius

d'una mateixa vessant ($G_{RD} = 20.7\%$), semblants al grau de diferenciació observat entre els possibles llinatges presents a la Península (llinatge I representat pel riu Garona, llinatge II representat pels rius de la vessant atlàntica i llinatge IV representat pels rius mediterranis) ($G_{DT} = 19.5\%$, Taula 4). Per loci, la diferenciació genètica no es distribueix uniformement, Així, trobem que les freqüències al·lèliques per alguns loci com *LDH-A2**, *ME** i sobretot per *CK-A1** ($G_{DT} = 0.671$) contribueixen molt més a la diferenciació entre vessants, ja comentada en el treball de García-Marín & Pla (1996). Per altra banda, els al·lèls de loci com *ADH**, *LGL**, *αMAN**, *sMDH-B1**, *MEP-3** o *PEPLGG** contribueixen més a la diferenciació entre rius principals, essent les freqüències al·lèliques pels loci *LGL**, *MEP-3** o *PEPLGG** les principals responsables de la diferenciació entre els rius del sud de la península i la resta de poblacions analitzades (veure Article II). Per últim, els loci com per exemple *GPI-B2**, *IDHP-3**, *PEPPAP** o *PGM** tenen un major índex de diferenciació entre localitats dins de rius i contribueixen bàsicament als patrons de diferenciació microgeogràfics que s'observen en els rius estudiats (Taula 4).

Taula 4. Distribució de la diferenciació genètica ($G_{ST} = 0.605$).

Locus	Dins de localitats (H_S/H_T)	Entre localitats dins de rius (G_{LR})	Entre rius dins de vessants (G_{RD})	Entre vessants (G_{DT})
<i>ACP*</i>	0.847810	0.108582	0.038750	0.004858
<i>ADH*</i>	0.404451	0.004959	0.571291	0.019300
<i>sAAT4*</i>	0.753905	0.193541	0.051567	0.000987
<i>CK-A1,2*</i>	0.218173	0.068796	0.041461	0.671570
<i>βGALA-2*</i>	0.600006	0.295688	0.039961	0.064345
<i>βGLUA*</i>	0.453614	0.267128	0.094825	0.184433
<i>GPI-A*</i>	0.917507	0.059026	0.021048	0.002419
<i>GPI-B1*</i>	0.692225	0.266547	0.027555	0.013673
<i>GPI-B2*</i>	0.492917	0.321155	0.182709	0.003218
<i>GAPDH-2*</i>	0.967244	0.030669	0.001391	0.000696

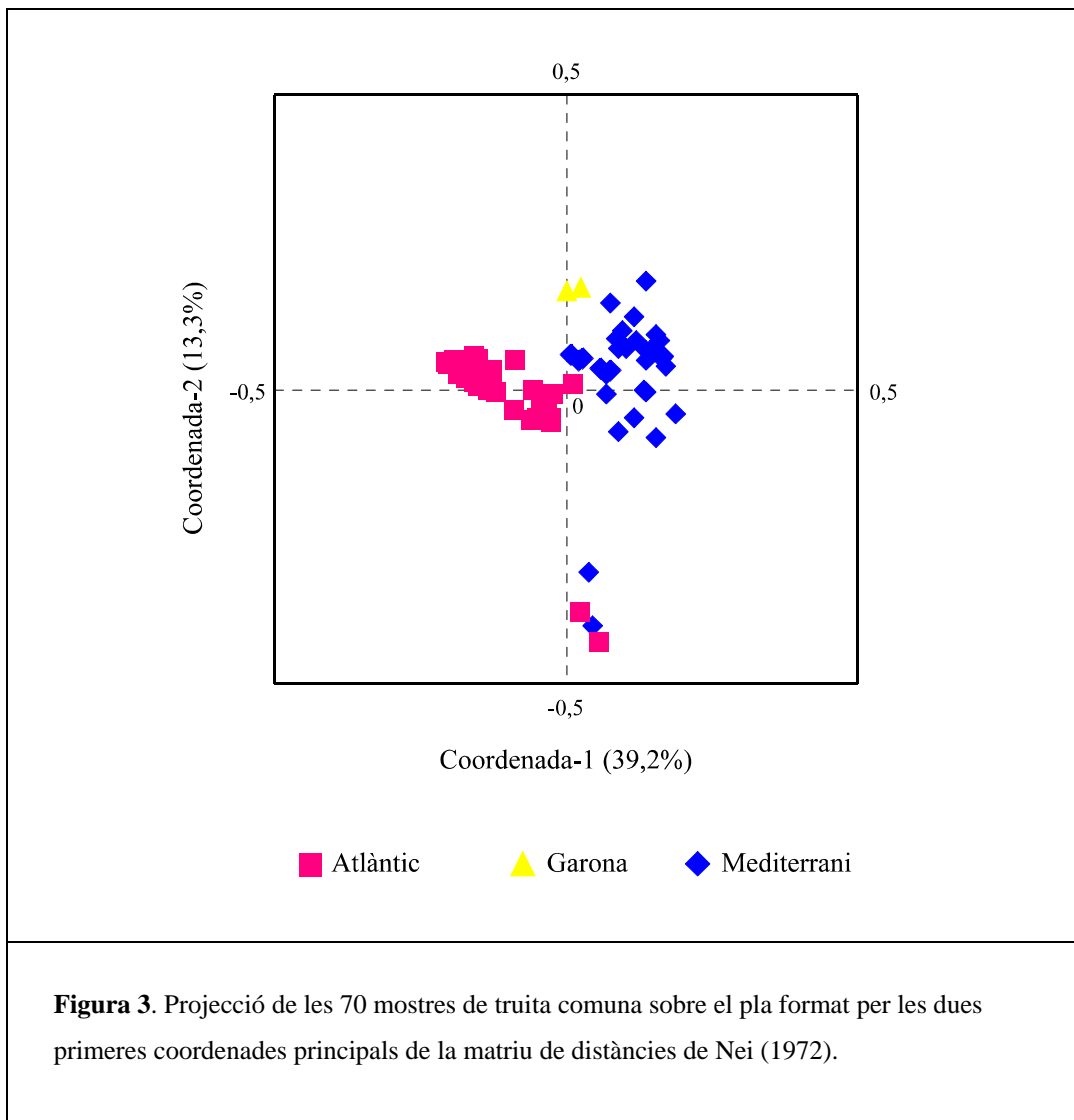
Taula 4. Continuació

<i>GAPDH-3*</i>	0.961741	0.032476	0.005622	0.000161
<i>G3PDH-2*</i>	0.905949	0.075043	0.018553	0.000455
<i>IDHP-2*</i>	0.591906	0.219238	0.138716	0.050140
<i>IDHP-3*</i>	0.529298	0.380656	0.056370	0.033676
<i>LDH-A1*</i>	0.917107	0.005018	0.000000	0.077875
<i>LDH-A2*</i>	0.286828	0.197879	0.219359	0.295934
<i>LDH-C*</i>	0.646767	0.080821	0.034371	0.238041
<i>LGL*</i>	0.121069	0.365207	0.511576	0.002147
<i>αMAN*</i>	0.187136	0.381944	0.423029	0.007892
<i>MDH-A2*</i>	0.858029	0.091196	0.009386	0.041389
<i>MDH-B1*</i>	0.365996	0.204052	0.331635	0.098317
<i>MDH-B2*</i>	0.584896	0.129532	0.214470	0.071102
<i>ME*</i>	0.398183	0.202700	0.122843	0.276274
<i>MEP-1*</i>	0.834999	0.155447	0.006724	0.002830
<i>MEP-2*</i>	0.972346	0.026163	0.001267	0.000224
<i>MEP-3*</i>	0.344613	0.096602	0.555771	0.003013
<i>MPI-2*</i>	0.667623	0.113627	0.182852	0.035898
<i>PEPLT*</i>	0.225701	0.228699	0.286163	0.259437
<i>PEPPAP*</i>	0.593324	0.343139	0.059515	0.004022
<i>PEPLGG*</i>	0.087929	0.239884	0.624303	0.047885
<i>PGM*</i>	0.395400	0.339323	0.237781	0.027495
<i>PGDH-1*</i>	0.975376	0.022371	0.001836	0.000417
<i>SOD*</i>	0.666894	0.147421	0.167602	0.018083
MITJANA	0.394284	0.203034	0.207539	0.195142
S.E.	0.038654	0.022515	0.036944	0.059714
MITJANA #	0.36	0.12	0.39	0.13
S.E. #	(0.04)	(0.02)	(0.06)	(0.07)

Dades del treball previ de García-Marín & Pla (1996).

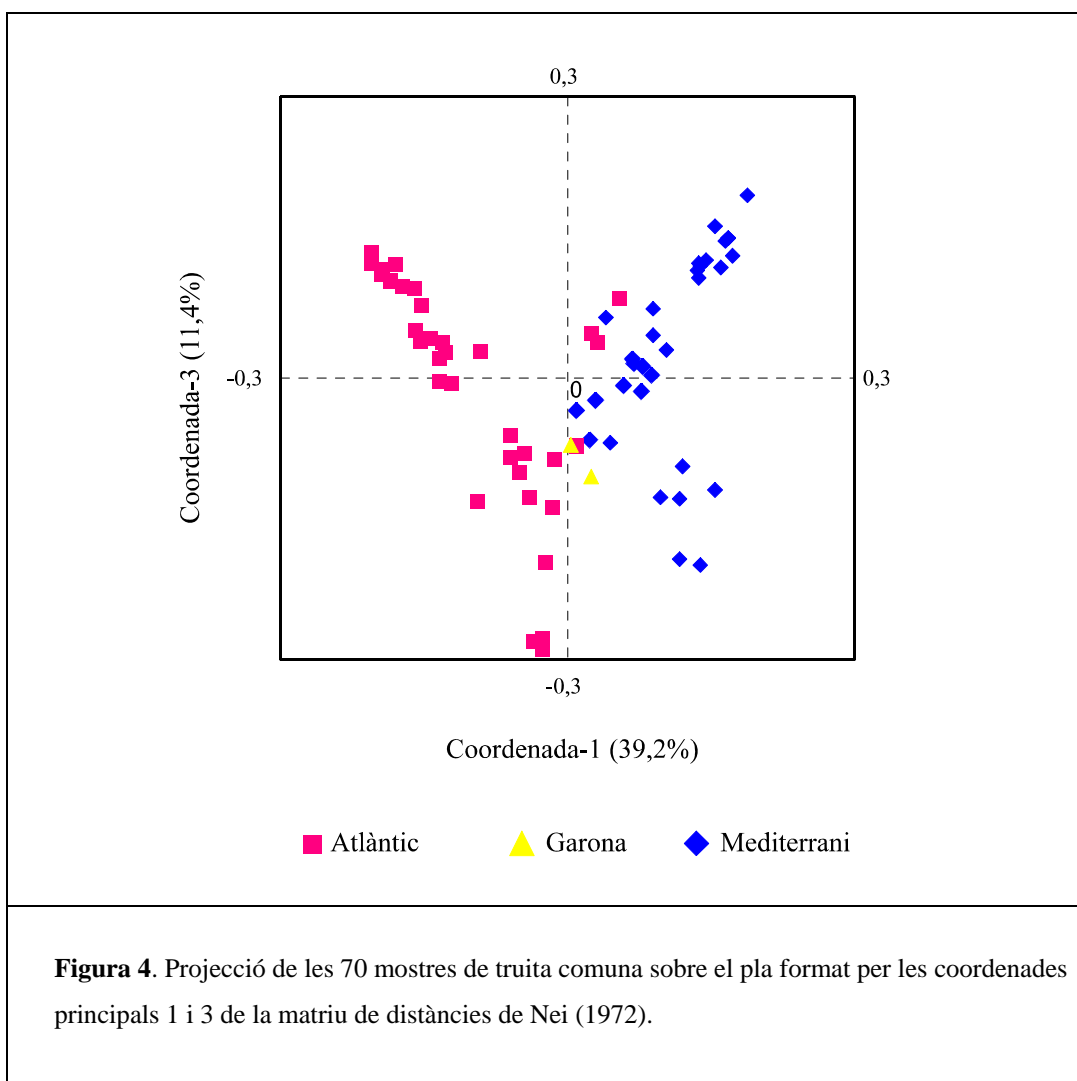
Els patrons de diferenciació entre mostres s'observen també en l'anàlisi de coordenades principals (PCO) feta amb els índexs de distància de Nei (1972) amb les 70 mostres senyalades a la Taula 1 (pàgina 26). La projecció de les mostres sobre les dues primeres coordenades del PCO, que expliquen el 50% de la variació genètica total (Figura 3), permet

observar clarament les diferències entre els llinatges atlàntic i mediterrani com a conseqüència de la seva distribució segons els valors de la primera coordenada, situant entremig les localitats del Garona. La segona coordenada és menys important (13.3%), però permet distingir perfectament un grup de localitats que corresponen al sud de la Península de la resta de mostres tant atlàntiques com mediterrànies.



Efectivament, les mostres que es situen en els valors més baixos d'aquesta coordenada 2 són les tres del riu Guadalquivir i dues del riu Guadalfeo. Aquesta distinció recolza l'alta influència a tot el sud de la

Península (tant els rius atlàntics com els mediterranis) d'un mateix llinatge ancestral de truita comuna (veure Article II). Sembla ser que les condicions climàtiques, tant en els temps recents com durant els períodes interglacials del quaternari, molt més càlides i seques al sud de la Península, haurien portat a un aïllament de les poblacions de truita en les capçaleres dels rius i a una forta deriva genètica que hauria contribuït a augmentar la diferenciació de les poblacions en aquesta regió.



A la Figura 4, la incorporació de la tercera coordenada, amb una importància relativa semblant a la de la segona, permet veure la dispersió

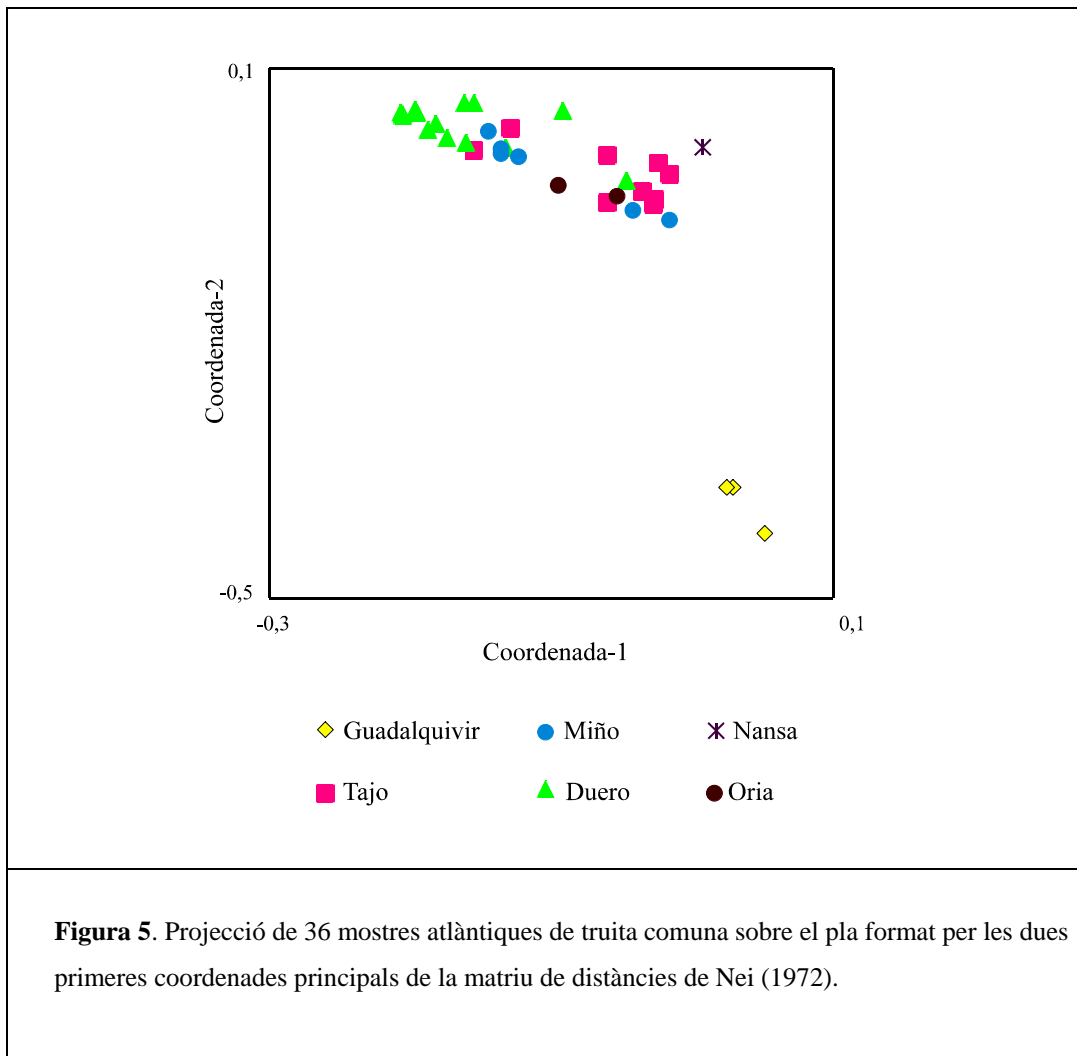
de les poblacions dins de les dues vessants, atlàntica i mediterrània. Aquesta coordenada sembla doncs relacionada amb els valors de diferenciació detectats dins i entre rius d'una mateixa vessant (G_{LR} i G_{RD}).

No obstant, l'anàlisi més detallada de la variació genètica dins d'aquestes dues vessants, que discutim a continuació, indica que la diferenciació es distribueix de manera diferent en l'Atlàntic i el Mediterrani i que l'origen d'aquesta dispersió no és el mateix en les dues vessants.

IV.1.2 La vessant atlàntica

Les anàlisis genètiques d'estudis anteriors han mostrat l'existència d'almenys dos llinatges de truita comuna distribuïts als rius atlàntics europeus, un al nord i centre d'Europa i un altre distribuït a la Península Ibèrica (García-Marín *et al.* 1999). Però, com hem vist, els nostres resultats indiquen la presència d'un grup de poblacions de truita distribuït al sud de la Península, que és clarament diferent de la resta de poblacions atlàntiques (Article II); tal i com es veu reflectit quan projectem les mostres atlàntiques (excloent les dues mostres del Garona) sobre el pla format per les dues primeres coordenades del PCO anterior (Figura 5, pàgina següent). La similitud de la composició genètica d'aquest grup amb la d'algunes poblacions mediterrànies ens suggereix dues hipòtesis per la colonització d'aquesta regió. Segons la primera hipòtesi, en la colonització inicial de la Península Ibèrica un llinatge mediterrani de truita comuna hauria estat també el primer en colonitzar els rius atlàntics del sud de la Península, segurament fins al Tajo, prèviament a l'arribada dels principals colonitzadors de la regió atlàntica. La posterior colonització d'aquests rius per llinatges atlàntics hauria desplaçat el llinatge mediterrani d'aquesta regió; fet que explicaria la presència de l'al.lel típic d'algunes poblacions mediterrànies, αMAN^*90 , només a la capçalera del riu Tajo, també com una resta de la primera colonització mediterrània. Les condicions climàtiques molt més caluroses i seques en la regió del Guadalquivir produirien l'aïllament de les seves poblacions de truita en les

capçaleres dels rius i explicarien la menor influència de la posterior colonització pels llinatges atlàntics.



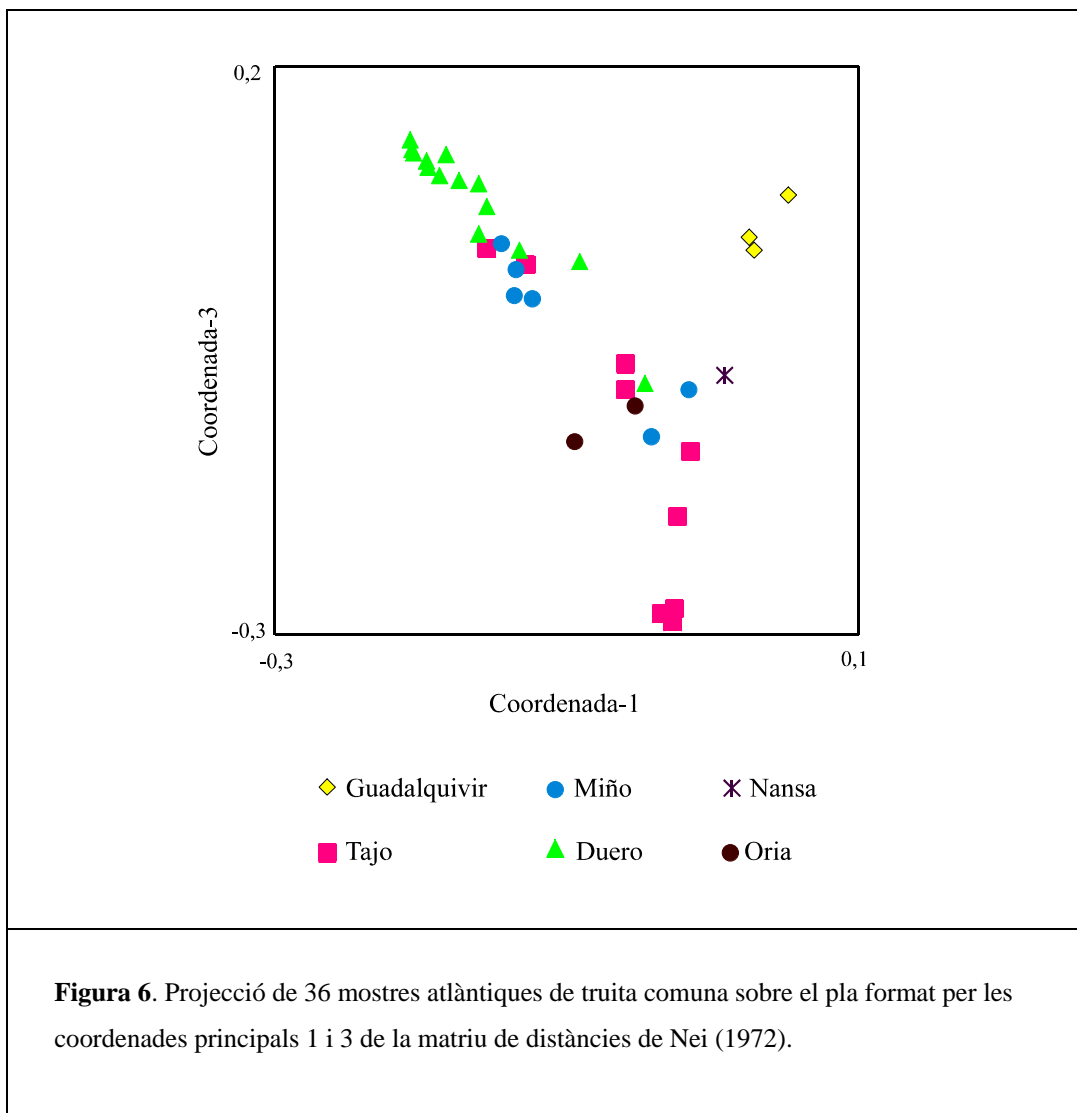
La segona hipòtesi es basa en una hibridació recent entre els llinatges atlàntic i mediterrani al sud de la Península, deguda a l'expansió de les respectives poblacions durant l'últim pleniglacial. Segons Bianco (1990) el gel existent a les parts altes dels rius durant el màxim glacial de Würm podria haver causat captures hidrogràfiques i inversions en la direcció del flux, que podrien haver afavorit fenòmens com aquests. En aquest cas la presència de l'al·lel αMAN^*90 en la part alta del Tajo suggeriria

l'existència de contactes secundaris entre la capçalera d'aquest riu i els rius mediterranis més propers, Júcar i Túria.

La resta de poblacions atlàntiques (al nord-oest de la Península) es caracteritzen també per la fixació de l'al·lel *LDH-C*100* i elevades freqüències de l'al·lel *CK-A1*115* i es distingeixen, en aquests loci, del llinatge evolutiu adjacent que ocupà els rius atlàntics francesos (incloent les poblacions del Garona) i de més al nord, caracteritzat tant per elevades freqüències dels al·lells *LDH-C*90* i *CK-A1*100* com per moderades a altes freqüències d'aquells al·lells dels estocs dels centres piscícoles espanyols utilitzats per detectar repoblació (Articles I i II). Segons tot això, aquestes poblacions de truita del nord-oest de la Península són les que pertanyen pròpiament al llinatge II de García-Marín *et al.* (1999). En general, aquestes poblacions es caracteritzen per baixos valors d'heterozigositat (H_S promig = 0.026, Taula 1, Article I), però que concorden amb els descrits en treballs anteriors (Martínez *et al.* 1993, García-Marín & Pla 1996, Bouza *et al.* 1999). La diferenciació genètica entre les poblacions d'aquesta regió és molt elevada ($F_{ST} = 0.645$, Taula 4, Article I), i és comparable a l'observada quan les anàlisis inclouen poblacions d'ambdues vessants i del Garona ($G_{ST} = 0.605$, Taula 4, pàgina 192). Però a diferència del que s'observà en el conjunt de la Península, en aquesta regió de l'Atlàntic es veu clarament que la variació entre rius principals és la component que més contribueix a la diferenciació de les poblacions ($F_{RT} = 0.394$, Taula 4, Article I). La distribució d'alguns al·lells com α *MAN*90*, *sMDH-B1,2*75* i *PEPLT*70* respon a clars patrons geogràfics i és responsable de l'elevat valor de F_{RT} .

Els resultats obtinguts en l'anàlisi d'aquestes poblacions i els obtinguts en estudis similars realitzats en altres rius atlàntics del nord-oest de la Península (Martínez *et al.* 1993, Morán *et al.* 1995, Antunes *et al.* 1999, Bouza *et al.* 1999) indiquen l'existència de patrons geogràfics de variació genètica. Dels resultats que presentem en l'Article I, podem suggerir la presència d'almenys 4 grups de truita en aquesta regió, alguns d'ells

relacionats amb els rius principals: (i) un grup al riu Tajo, caracteritzat per freqüències elevades de al.lel α MAN*90, (ii) un grup distribuït a la conca del Duero i caracteritzat per freqüències elevades de $sMDH-B1,2*75$ i $PEPLT*70$, (iii) un grup al Sil amb moderades freqüències de $ME*120$, i (iv) un grup distribuït a la part baixa del Miño, Lima i als rius cantàbrics, caracteritzat per la presència dels al.lels $MPI*105$, $GPI-B2*135$ i $sMDH-B1*125$. La important divisió entre els dos primers grups de poblacions (Tajo i Duero) es veu reflectida en la tercera coordenada del PCO (Figura 6).



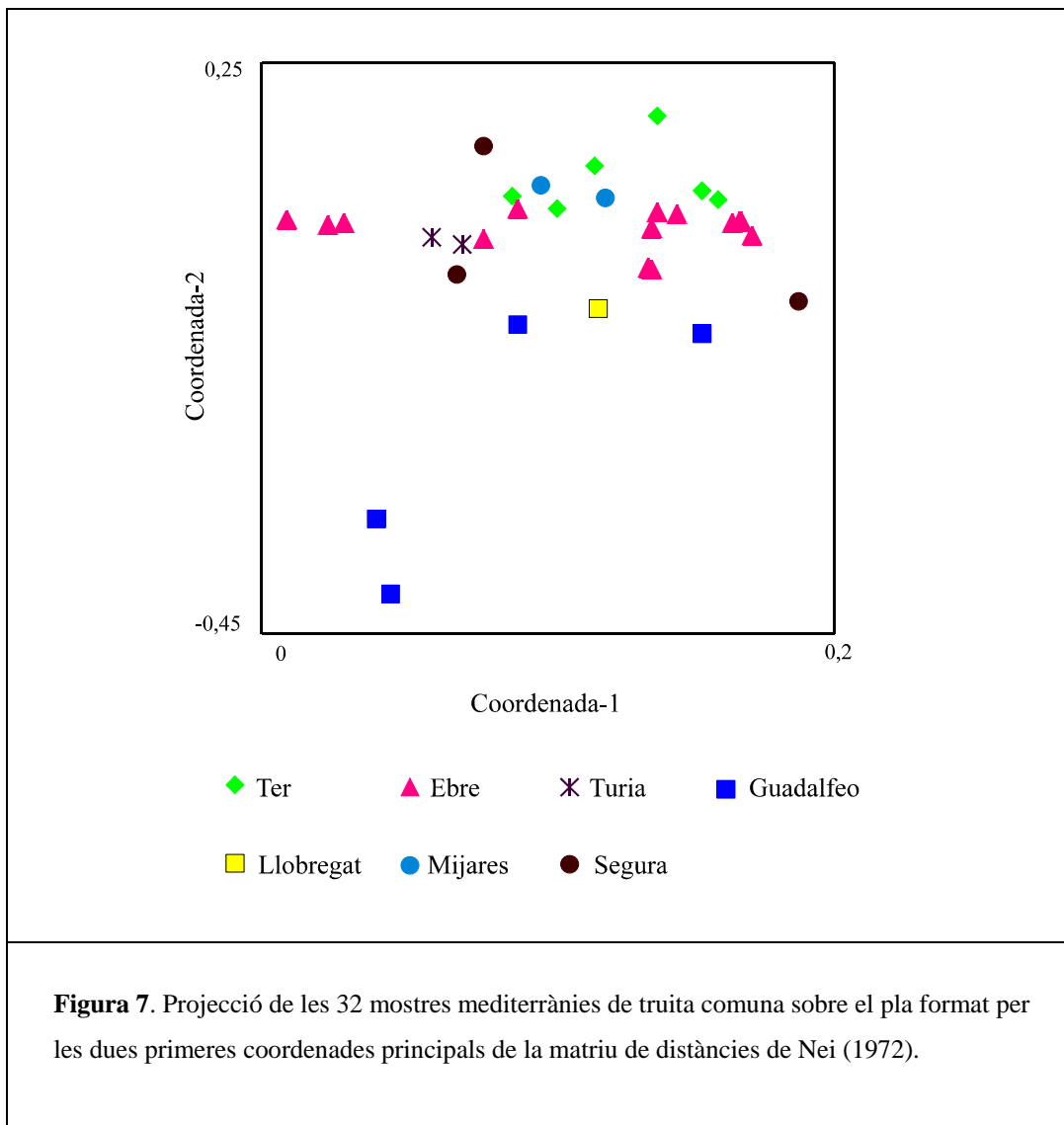
Al nord del Duero, al Miño i als rius cantàbrics, les poblacions no semblen presentar un patró de diferenciació tan clar, segurament degut al fet que el Miño és un riu on es troben en contacte dos grups diferents, i també com a conseqüència d'incloure les poblacions del Guadalquivir en les anàlisis.

L'existència de marcadors genètics que distingeixen les poblacions del Duero dels rius cantàbrics ha estat també observada per Cagigas *et al.* (1999a) en un treball basat en anàlisis d'allozims, microsatèl·lits i amplificació a l'atzar d'ADN polimòrfic (RAPDs). Al mateix temps, treballs realitzats amb poblacions del nord de la Península (Morán *et al.* 1995, Bouza *et al.* 1999) han indicat la importància dels exemplars anàdroms existents en els rius cantàbrics al comportar un flux gènic entre poblacions, que justifiquen que el quart grup descrit es distribueixi pels diversos rius del Cantàbric.

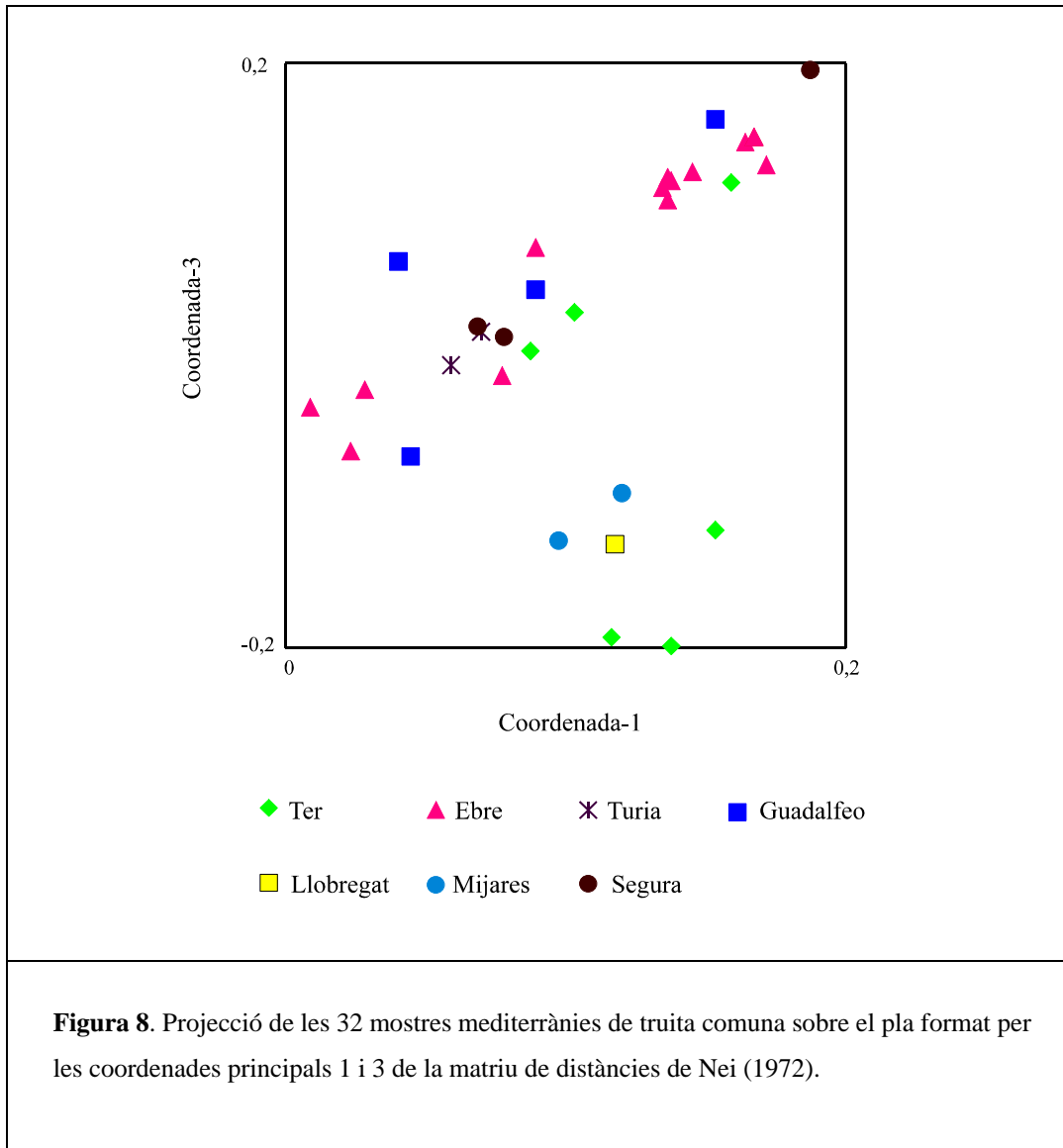
IV.1.3 *La vessant mediterrània*

Per a les poblacions de la regió mediterrània, els valors d'heterozigositat detectats són també baixos ($H_S = 0.029$, Taula 1, Article II) i similars als observats en les poblacions atlàntiques. Els estudis previs de García-Marín & Pla (1996) semblaven indicar l'existència d'un únic grup de truita comuna distribuït als rius mediterranis de la Península Ibèrica (Figura 1, pàgina 14), però com a l'Atlàntic, la diferenciació entre poblacions és molt elevada ($F_{ST} = 0.615$, Taula 2, Article II), superior a l'observada en treballs realitzats amb poblacions mediterrànies gregues ($F_{ST} = 0.259$, Karakousis & Triantaphyllidis 1990) o suïsses ($G_{ST} = 0.149$, Largiadèr *et al.* 1996) i similar a la detectada en altres estudis que abarcaven poblacions de diversos llinatges ($G_{ST} = 0.550$, Krieg & Guyomard 1985; $F_{ST} = 0.562$, Apostolidis *et al.* 1996a). Per aquestes poblacions mediterrànies, la diversitat genètica total és idèntica a la detectada en les poblacions del nord-oest de la Península ($H_T = 0.072$; Taula 4, Article I), com també és semblant el grau de diferenciació entre poblacions ($F_{ST} = 0.615$ vs. $F_{ST} =$

0.645); fet que ens fa pensar en l'existència de diversos grups de truita també en aquesta regió. Però en canvi, els patrons de distribució de la diferenciació en la vessant mediterrània, i per tant les pautes de distribució dels grups sobre aquest territori, són clarament diferents als observats a l'Atlàntic. Tal i com es descriu en l'Article II, en les poblacions mediterrànies la component de diferenciació entre localitats dins de rius ($F_{LR} = 0.316$) és més important que la detectada dins dels rius atlàntics ($F_{LR} = F_{LS} + F_{SR} = 0.251$, Article I). Aquest fet queda de manifest en la projecció de les mostres mediterrànies sobre els plans formats per les tres primeres coordenades del PCO (Figures 7 i 8), que, a part de mostrar la ja



esmentada diferenciació de dues de les mostres del riu Guadalfeo (al sud de la Península), respecte la resta de localitats, mostren també l'absència de patrons clars de diferenciació entre la resta de poblacions mediterrànies. Aquestes poblacions apareixen barrejades i disperses independentment del riu on provenen.



Aquestes dades, que concorden també amb els resultats descrits en l'Article II, recolzen doncs la hipòtesi de diversos episodis de colonització

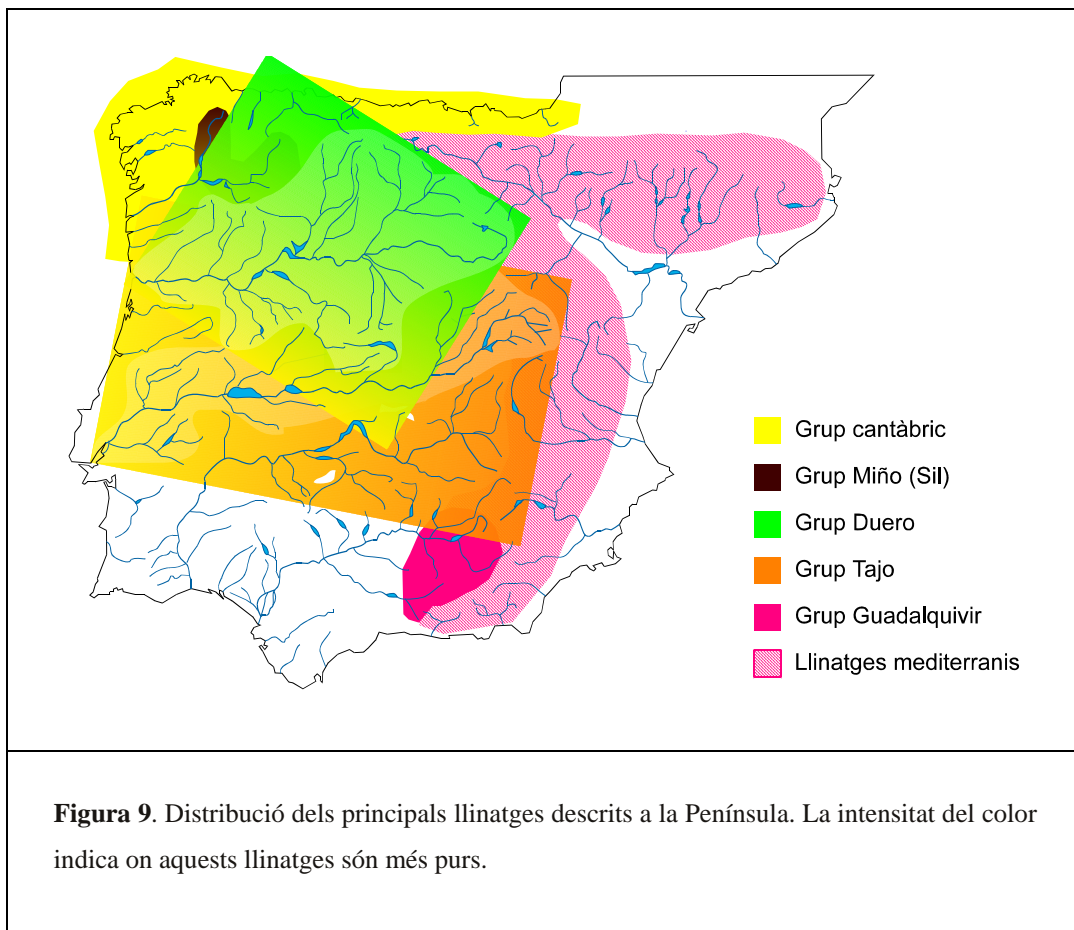
als rius mediterranis, seguits de contactes secundaris entre els diferents llinatges evolutius de truita. La introgressió entre com a mínim dos llinatges, associada a l'aïllament i la deriva genètica de les poblacions, degut a l'augment de temperatura dels rius durant els períodes interglacials, haurien estat responsables de l'estructura poblacional que s'observa en la truita en els rius del Mediterrani de la Península Ibèrica. Algunes adaptacions locals ocorregudes en els temps postglacials podrien haver contribuït també a l'elevada divergència genètica que s'observa a nivell microgeogràfic. En aquest sentit, a Grècia, les dues formes de truita albanesa (*Salmo trutta letnica*) i grega (*S. t. peristicus*) clarament diferenciables morfològicament, han resultat ser poblacions que s'han desenvolupat recentment a partir del mateix llinatge evolutiu que les altres poblacions gregues de truita comuna (Apostolidis *et al.* 1997).

IV.1.4 *Dinàmiques evolutives a la Península Ibèrica: Atlàntic vs. Mediterrani*

Els elevats nivells de diversitat i diferenciació genètiques detectats en la truita comuna de la Península, tant als rius atlàntics com als mediterranis, són el reflex d'una major oportunitat d'acumulació de variació gènica que no és possible en les regions del nord i centre d'Europa, cobertes pel gel durant el darrer període glacial i colonitzades després del desglaç (Ferguson 1989). Però si bé en totes dues vessants les poblacions són anteriors als darrers períodes glacials, els patrons d'estructura poblacional que s'observen en els rius no són iguals i responen a dinàmiques evolutives diferents.

A l'Atlàntic, amb excepció dels rius cantàbrics que semblen compartir un únic patrimoni genètic, cadascuna de les conques principals sembla tenir la seva pròpia composició genètica. Així, a més del grup cantàbric, tenim un grup al Miño (Sil), un grup al Duero, un altre grup al Tajo, i un altre al Guadalquivir (Figura 9, pàgina següent). La forta influència mediterrània que presenten les poblacions del Guadalquivir desvincula aquest grup de

la resta de poblacions atlàntiques i suggereix, tal i com ja s'ha comentat anteriorment, la colonització prèvia del sud de la Península per llinatges mediterranis, o bé l'existència de contactes secundaris recents entre les poblacions d'aquest riu i els rius mediterranis. Excepte el Guadalquivir, la resta de grups descrits al nord-oest de la Península, inclòs el cantàbric, semblarien ser diferents agrupacions dins del llinatge atlàntic ibèric descrit per García-Marín & Pla (1996), equivalent al llinatge II descrit a García-Marín *et al.* (1999).



Com a resultat dels escassos efectes que les glaciacions van tenir en aquesta regió, aquest llinatge hauria pogut evolucionar de forma continuada, originant una estructura poblacional relacionada amb la xarxa

hidrogràfica. Durant els episodis glacials, les baixes temperatures haurien afavorit l'existència de poblacions anàdromes de truita en tot el nord-oest de la Península que haurien donat lloc a una colonització del riu atlàntics Sil, Duero i Tajo a partir d'un únic grup ancestral. La similitud entre algunes localitats de les capçaleres dels rius Tajo i Duero (Dulce i Aguijejo respectivament) amb les localitats cantàbriques, associat a l'elevada diversitat genètica observada en les poblacions d'aquesta àrea, suggereix el grup Cantàbric com el colonitzador ancestral de la resta de conques del nord-oest de la Península (veure Article I). Els posteriors episodis d'aïllament de les poblacions i la deriva genètica durant els períodes interglacials haurien donat lloc a una evolució independent de les diferents conques i a l'aparició de l'estructura hidrogràfica present en la truita comuna d'aquesta regió. Al mateix temps, la presència, encara avui, de poblacions anàdromes en alguns rius cantàbrics explicaria la distribució del grup de truites descrit en aquesta regió al llarg de varies conques hidrogràfiques.

En temps més recents, l'expansió de les poblacions i el flux gènic en els darrers períodes glacials podrien haver donat lloc a posteriors episodis de colonització en els rius del nord-oest de la Península. Així, per exemple, l'existència del grup cantàbric a la part baixa del Miño i la similitud detectada entre les mostres de la part alta (Sil) amb el grup distribuït al Duero, suggereix la possibilitat de contactes secundaris més recents entre les poblacions de les capçaleres dels rius Duero i Sil, o bé la colonització recent de la part baixa del Miño pels rius cantàbrics. Fenòmens com aquests podrien també explicar la similitud que es detecta en l'ADN mitocondrial entre poblacions de la part baixa del Duero i poblacions d'altres conques portugueses (Weiss *et al.* 2000). Per altra banda, al Tajo, la presència de l'al·lel αMAN^*90 , amb freqüències elevades en poblacions de la capçalera (veure Taula 3, Article I), ens permet suggerir, en aquesta conca, una dinàmica evolutiva més complexa i relacionada amb la descrita pels rius del sud de la Península. Així, com ja s'ha dit, la

colonització del Tajo estaria basada en una colonització prèvia per un llinatge mediterrani o bé en la possibilitat de contactes secundaris entre les capçaleres d'aquest riu i dels rius mediterranis més propers, Júcar i Túria.

El model d'evolució descrit per a les poblacions de truita del nord-oest de la Península, amb un marcat patró hidrogràfic ($F_{RT} = 0.394$), contrasta fortament amb els processos evolutius responsables de l'estructura poblacional de la truita a la vessant mediterrània. Aquí, per a quantitats similars de diversitat genètica total i diferenciació entre poblacions ($H_T \cong 0.07$, $F_{ST} \cong 0.6$), la diferenciació més alta està relacionada amb divergències locals (Mediterrani $F_{LR} = 0.316$ vs. Atlàntic $F_{LR} = 0.251$). La desordenada distribució i fixació, en la regió mediterrània, d'algunes variants al·lèliques natives -com *IDHP-3*130*, *LDH-A2*100QL*, *α MAN*90*, *ME*140* o *MEP-3*90*- reflecteixen, tal i com ja s'ha vist en l'Article II, els contactes secundaris entre com a mínim dos llinatges, a més d'un fort aïllament i la deriva genètica en les poblacions. Tot plegat ha donat lloc a situacions de microparapatría en alguns dels rius estudiats com per exemple el Freser (conca del Ter) o el Guadalfeo. Situacions semblants de diferenciació genètica han estat observats en alguns rius italians (Giuffra *et al.* 1996) i eslovens (Berrebi *et al.* 2000).

Per tant, distints processos evolutius haurien donat lloc a una estructura poblacional diferent de la truita comuna en els rius atlàntics i mediterranis, com a conseqüència de que els efectes dels períodes glacials i interglacials del quaternari no van ser els mateixos en ambdues vessants. Unes condicions més fredes i humides a la regió atlàntica, fins i tot durant els episodis interglacials, afavoririen la grandària de les poblacions de truita, que serien també més estables, comportant una estructura poblacional associada a la jerarquia hidrogràfica. Al Mediterrani i al sud de la Península, i fins i tot, probablement al Tajo, els períodes interglacials haurien estat molt més secs i calorosos i haurien restringit les poblacions de truita a les capçaleres, originant-se una sèrie d'hàbitats buits que

només serien apropiats per les truites durant les condicions favorables dels períodes glacials. L'augment de les poblacions de truita durant les expansions glacials (Muñoz & Casadevall 1997) donaria l'oportunitat de noves i múltiples colonitzacions d'aquests hàbitats buits i afavoriria els contactes secundaris entre els diferents llinatges (Hewit 1996). En aquest sentit, l'elevada diversitat genètica a nivell microgeogràfic observada al Mediterrani seria el resultat extrem dels múltiples episodis de colonització associats a l'aïllament interglacial i als contactes secundaris durant els temps glacials.

IV.2 Els efectes de les repoblacions

IV.2.1 Erosió dels patrimonis genètics autòctons

Des de finals del segle XIX, a causa principalment d'un augment de la industrialització, la gestió piscícola portada a terme sobre les poblacions de truita comuna s'ha basat principalment en la repoblació indiscriminada dels rius a fi de satisfer la demanda dels pescadors i assegurar la disponibilitat d'exemplars per la pesca; sense tenir en compte ni la conservació de les poblacions natives ja existents ni les causes que impossibilitaven que les poblacions naturals suportessin una pesqueria. Però les repoblacions amb exemplars exògens criats en centres piscícoles no només s'han mostrat, en molts casos, ineficaces per a recuperar la grandària poblacional de les poblacions deprimides, sinó que a més han comportat una sèrie d'efectes nocius per a la població en qüestió; alguns d'ells irreversibles, com per exemple la pèrdua de diversitat genètica (Articles III i VI).

Un dels principals efectes de les repoblacions sobre les poblacions autòctones és la introducció dels gens dels exemplars dels centres piscícoles en les poblacions salvatges (Guyomard & Krieg 1986, Barbat-Leterrier *et al.* 1989, Beaudou *et al.* 1994, Largiadèr & Scholl 1995, 1996), que a Espanya, ha provocat la incorporació de gens d'un llinatge de truita

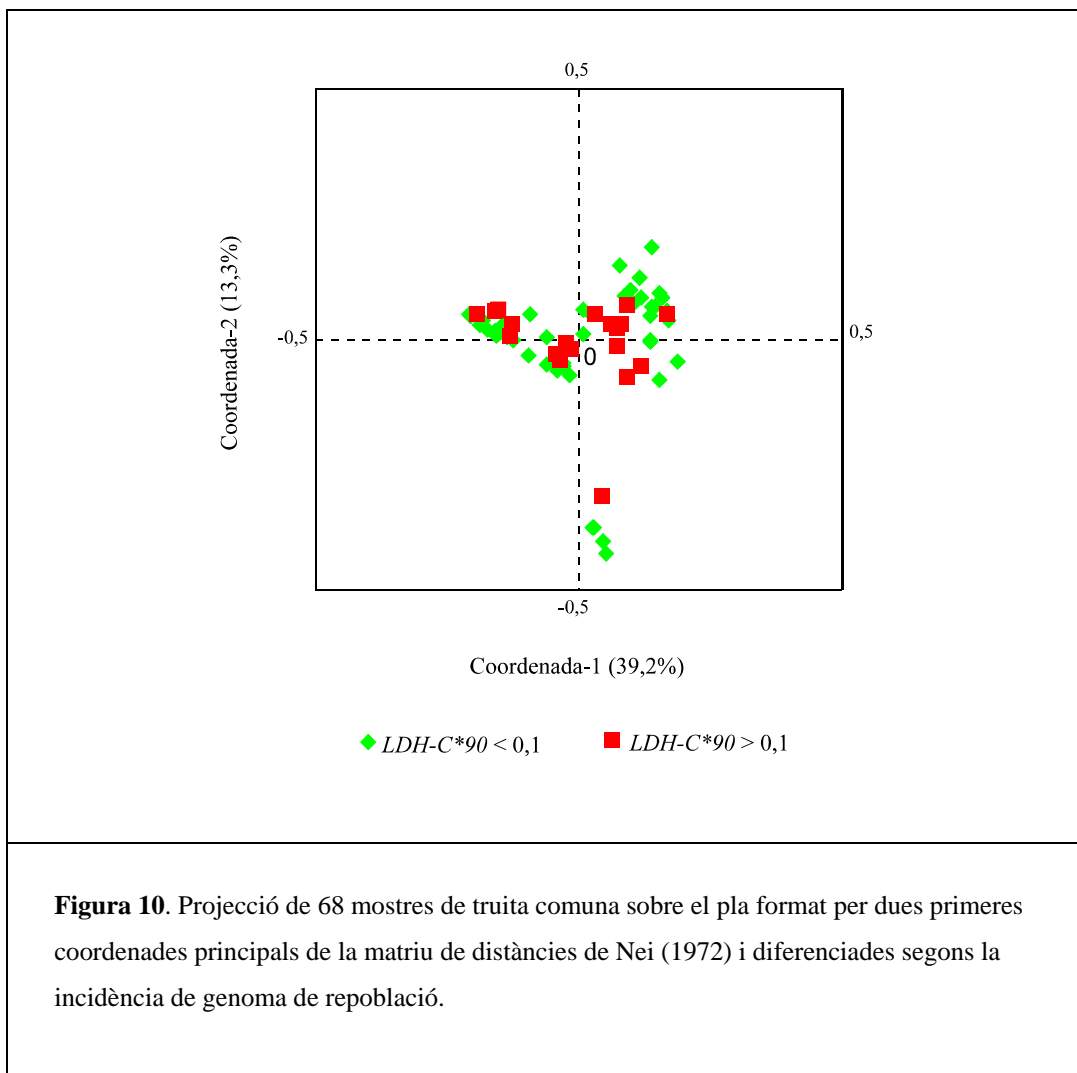
que no es distribueix de forma natural en aquest territori (García-Marín *et al.* 1991, Martínez *et al.* 1993, Cagigas *et al.* 1999b).

Els nostres treballs mostren com la introgressió de gens exògens a conseqüència de les repoblacions varia àmpliament entre les poblacions analitzades a la Península Ibèrica. Aquesta introgressió, mesurada com la freqüència de l'al.lel exogen *LDH-C*90*, pot anar des de la manca aparent d'exemplars de repoblació en zones intensament repoblades com la presa de Cavallers (riu Noguera de Tor), passant per la presència d'exemplars exògens en rius no repoblats directament com el Barranc de Conangles; i arribant al punt de trobar poblacions enterament formades per individus de repoblació com el Barranc de Murrano (riu Sant Nicolau), totes tres localitats corresponents a la conca principal de la Noguera Ribagorçana (veure Article IV).

Però malgrat l'elevada introducció d'al.lels exògens observada en algunes poblacions analitzades, la majoria d'elles conserven encara els seus patrimonis genètics nadius (Taula 1, Article VI). Això és el que es desprèn també de les anàlisis de coordenades principals de la Figura 3 (pàgina 194), quan les localitats es representen diferenciant les més afectades per les repoblacions de les més autòctones, segons la freqüència de l'al.lel *LDH-C*90*, i excloent les dues localitats del riu Garona on es considera que aquest al.lel és natiu. Aquestes anàlisis indiquen que les poblacions afectades per les repoblacions es distribueixen a les dues vessants i no semblen ser, per tant, responsables de cap de les dues coordenades principals de variabilitat genètica (Figura 10, pàgina següent).

Tot i això, la introducció dels mateixos al.lels de repoblació en totes les poblacions ha provocat la homogeneïtzació dels patrimonis genètics i la destrucció dels patrons de diferenciació existents entre poblacions dins de rius i/o entre conques diferents. Per exemple, en les poblacions de truita comuna del Sistema Central, on les conques del Tajo i Duero tenen una marcada diferenciació (Article I i Figura 6, pàgina 199) ja que posseeixen

clars marcadors genètics (α MAN*90 al Tajo i *sMDH-B1,2*75* al Duero), les repoblacions han fet augmentar la diversitat genètica (H_S) dins les poblacions (Taula 1, Article I), però, degut a la incorporació dels mateixos gens aliens en totes elles (Taula 2, Article I), han eliminat part de la diferenciació ancestral existent (Figures 3 i 4, Article III). La pràctica de la repoblació en aquests rius tampoc ha solucionat els problemes de grandària en les poblacions natives sotmeses a pesca intensiva, ja que algunes de les poblacions estudiades tenen un reduït nombre efectiu d'individus reproductors i pateixen grans problemes de reclutament que semblen estar associats amb l'activitat pesquera (Taula 1, Article III).



En ocasions, les repoblacions poden fins i tot fer augmentar la diferenciació genètica entre les poblacions, tal i com s'observa en els rius Noguera de Tor i Sant Nicolau (Article IV). Però això només és un pas intermedi en el procés de substitució dels patrimonis genètics, que es produeix com a conseqüència de diferents graus d'introgressió de gens al·lòctons en les diferents localitats. Les diferències aparents en els loci *IDHP-3**, *LDH-A2** i *ME** entre les poblacions de la capçalera de la Noguera Ribagorçana i les del seu afluent la Noguera de Tor (incloent el riu Sant Nicolau), són ara de menor importància en relació a l'estructura poblacional generada pels diferents graus d'introgressió de gens de repoblació en les localitats d'aquest afluent (Taula 3 i Figura 2, Article IV). Diferents graus d'introgressió i hibridació com els observats aquí han estat descrits també en àrees del nord de la Península (Martínez *et al.* 1993) i en localitats adjacents de la capçalera del riu Roina a Suïssa (Largiadèr & Scholl 1996).

IV.2.2. Dinàmica de substitució dels genomes autòctons

Els nostres resultats evidencien diferents graus d'hibridació genètica entre els peixos produïts en centres piscícoles i les poblacions natives de la Península Ibèrica. En alguns rius com el Sant Nicolau (conca de la Noguera Ribagorçana, Articles IV i V), la incidència de les repoblacions és molt acusada i s'observen elevats nivells d'introgressió de material genètic al·lòcton. Els estudis portats a terme en algunes poblacions d'aquest riu i a la població del riu Riutort (conca del Llobregat, Article VI), permeten distingir clarament individus autòctons, originaris de repoblació i híbrids, i mesurar la taxa d'introgressió de genoma exogen en les poblacions salvatges. Concretament, les dues mostres temporals del riu Riutort demostren que, en només dos anys de persistència de les repoblacions, la introgressió de genoma exogen pot superar el 10%; fet que indica que aproximadament un 5% de l'ascendència nativa dels individus es perd cada any com a conseqüència de les repoblacions. Valors similars d'introgressió han estat estimats en altres rius espanyols com el Asma

(conca del Miño, Arias *et al.* 1995) i el Irati (al Pirineu occidental, Blanco *et al.* 1998), i indiquen el perill que les repoblacions poden representar per a les poblacions autòctones. D'altra banda, aquesta taxa d'introgressió estimada concorda bé amb l'estat actual de les poblacions de truita de la conca del riu Sant Nicolau, després de les repoblacions efectuades al Barranc de Murrano l'any 1984. En aquest riu, les poblacions analitzades l'any 1993 presenten una freqüència promig de l'al·lel *LDH-C*90* de 0.33. Aquest valor indica la pèrdua d'un 33% de genoma natiu de les poblacions del riu Sant Nicolau, com a conseqüència d'un flux gènic continu d'al·lels exògens durant nou anys des del Barranc de Murrano; proporció que aproximadament coincideix amb la previsió d'un 37% de substitució de genoma autòcton en 9 anys, feta a partir de la taxa anual del 5% de substitució observada al riu Riutort. D'altra banda, la població del Barranc de Murrano, dins el Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici, ha adquirit una composició genètica més típica dels estocs de repoblació que d'una població autòctona i és el millor exemple dels efectes nocius que sobre les poblacions natives tenen les repoblacions amb exemplars exògens, que poden arribar, fins i tot, a provocar la pràctica desaparició del genoma autòcton original.

IV.2.3 *Factors determinants de l'èxit o el fracàs de les repoblacions*

En la realitat però, el procés d'introgressió de gens exògens no és sempre tant previsible i mesurable, i, per sort o per desgràcia, observem que els efectes de les repoblacions no són sempre els mateixos, com tampoc és continu aquest procés de substitució de genoma autòcton. En aquest sentit, la incidència desigual de gens de repoblació en moltes de les poblacions analitzades en els nostres treballs, senyalen que múltiples factors poden jugar un paper important alhora de determinar el destí final dels exemplars exògens alliberats en els rius.

Dels nostres resultats podem concloure que, un factor determinant en la incorporació efectiva d'exemplars de repoblació en les poblacions

autòctones és la figura de gestió dels rius posterior a les repoblacions. En les poblacions sotmeses a explotació pesquera, la presència de gens típics de centre piscícola és significativament inferior a l'observada en les àrees protegides de pesca (Taula 2 i Figura 1, Article V), indicant un fracàs de les repoblacions en els rius explotats. En les àrees explotades com la Noguera de Tor, semblaria que els pescadors extreuen els exemplars repoblats abans de que aquests s'incorporin al grup reproductor de la població receptora. Una baixa incidència de les repoblacions i una manca d'hibridació amb els exemplars autòctons ha estat també observada per altres autors, per exemple, al sud de França (Beaudou *et al.* 1994) o a Dinamarca (Hansen *et al.* 1995), i també en treballs realitzats a la Península Ibèrica (Morán *et al.* 1991, Arias *et al.* 1995, Blanco *et al.* 1998). Per altra banda, l'existència d'exemplars híbrids en llocs com el Barranc de Llacs o Cua de Llebeta i l'establiment d'una població exògena naturalitzada al Barranc de Murrano (totes tres localitats dins el Parc Nacional, veure Taula 2, Article V), indica clarament la incorporació efectiva de peixos exògens en rius d'àrees protegides com la del Sant Nicolau i demostra com, en altres ocasions, els exemplars de centre piscícola alliberats poden arribar a la maduresa i encreuar-se amb els exemplars autòctons produint híbrids fèrtils. Els nostres resultats suggereixen també que l'èxit de les repoblacions depèn més de factors com l'estat de protecció dels rius que de la intensitat de les repoblacions efectuades, ja que en àrees intensament repoblades la taxa d'introgressió no és molt superior a l'observada en zones sotmeses només a repoblacions puntuals (Taula 1, Article VI).

Tanmateix, altres factors biòtics i abiòtics particulars de les poblacions receptores en el moment de la repoblació i imprevisibles en el temps, com per exemple la densitat de la població, la disponibilitat i condicions de l'hàbitat, etc., semblarien també responsables de l'èxit o fracàs de la repoblació. Així, per exemple, estudis realitzats a Galícia, demostren un nivell elevat d'introgressió de gens exògens en mostres provinents de

llacs, que contrasta fortament amb l'escassa o nul·la incidència de les repoblacions en les poblacions que habiten els rius (Martínez *et al.* 1993). De la mateixa manera, Largiadèr & Scholl (1996) detecten diferents graus d'introgressió entre dues mostres adjacents però aïllades del riu Roina (Suïssa), que es considera que són conseqüència de diferents condicions ambientals en els hàbitats locals de les poblacions. En altres espècies, una explicació similar ha estat proposada per casos d'absència i presència d'hibridació i introgressió entre exemplars nadius i exògens, com és el cas de la truita irisada (*Oncorhynchus mykiss*) als EUA (Campton 1987).

En general, els efectes de les repoblacions els podem observar en les poblacions independentment de la seva localització geogràfica (Figura 10, pàgina 209). Malgrat això, la diferència en el nombre relatiu de poblacions afectades per les repoblacions al nord-oest de la Península Ibèrica (Taula 2, Article I) respecte al Mediterrani (Taula 1, Article II), indica que els efectes de les repoblacions han estat molt més intensos en aquesta darrera regió i suggereix altres factors determinants de la incidència d'aquest procés. El nombre més elevat de poblacions afectades en els rius mediterranis explicaria l'elevat índex de diferenciació entre vessants que s'observa pel locus *LDH-C**. Aquest valor ($G_{DT} = 0.238$, Taula 4, pàgina 192), per sobre del valor mig observat, és el resultat d'una major freqüència de l'al·lel de repoblació *LDH-C*90* als rius de la vessant mediterrània. Aquesta observació ens fa pensar que les poblacions mediterrànies són més susceptibles a patir les conseqüències de les repoblacions, si tenim en compte que aproximadament en tot l'Estat espanyol, la política de gestió piscícola de la truita comuna ha seguit més o menys les mateixes estratègies, basades fonamentalment en la repoblació sobretot de les zones de pesca. Al mateix temps, al nord-oest de la Península, podem veure també que la incidència de gens exògens és molt més intensa en la conca més meridional, la del Tajo, que en les conques de més al nord. Segons això, semblaria que les condicions

climatològiques que controlen la hidrodinàmica dels rius són també un condicionant important de la introducció dels exemplars de repoblació alliberats. Així, al nord d'Espanya, un clima molt més humit i fred determina un cabal molt més gran dels rius que poden mantenir poblacions de truita molt més estables que les dels rius mediterranis o del sud de la Península. Al Mediterrani, un clima molt més sec i calorós condiona un cabal inferior i més inestable dels rius, en detriment de l'hàbitat per la truita i en conseqüència de les seves poblacions. Tot plegat suggereix que en els rius mediterranis es generen més fàcilment hàbitats buits que poden ser ocupats per les truites alliberades des de centres piscícoles; mentre que a l'Atlàntic, aquests forats d'hàbitat no es produeixen, de manera que les truites s'alliberen sobre poblacions més estables d'exemplars nadius produint-se fenòmens de competència on, segurament, resulten guanyadors els peixos nadius. De fet, treballs d'altres autors amb espècies de salmònids donen evidències que suggereixen clarament un avantatge adaptatiu innat dels peixos autòctons (Hindar *et al.* 1991, Waples 1991).

IV.3 Cap a una gestió autosostenible

L'evolució ocorreguda durant milers d'anys en les poblacions de truita comuna de la Península Ibèrica ha donat lloc a una enorme diversitat genètica i una elevada diferenciació entre poblacions, que des del segle passat es veu amenaçada per les contínues intervencions humanes en els rius, entre elles, les repoblacions amb exemplars exògens.

Com hem vist, la presència estable i autosostenible d'individus de repoblació en algunes de les mostres analitzades demostra que aquests exemplars tenen capacitat per adaptar-se als nostres rius, encreuar-se amb els exemplars autòctons i produir híbrids fèrtils. Al mateix temps, l'elevada freqüència d'al·lels de repoblació en algunes poblacions, com

per exemple en el riu Sant Nicolau o en el Tajo, ens adverteix dels efectes nocius i irreversibles que comporten les repoblacions amb exemplars exògens pel manteniment de la diversitat i diferenciació genètica present en les poblacions naturals. Alhora, l'elevada incidència de gens de repoblació en localitats no repoblades d'aquests rius, indica la capacitat de dispersió dels exemplars alliberats o els seus descendents, i posa en evidència un perill potencial de les repoblacions per les àrees adjacents a les repoblades. En altres ocasions, la manca de genoma exogen en poblacions sotmeses a repoblacions intenses, demostra el fracàs d'aquesta estratègia de gestió com a mecanisme per a reforçar les poblacions naturals. Però en qualsevol cas, l'alliberament d'exemplars de centre piscícola en els rius comporta sempre un dany important de les poblacions natives, ja que, a part del dany genètic que es produeix a l'introduir amb més o menys mesura al·lels que provenen de llinatges aliens, no hem d'oblidar la competència intraespecífica que comporta la pròpia introducció d'exemplars en el riu, la consegüent reducció dels recursos durant la seva permanència, l'amenaça d'una sobrepesca i el risc d'introducció de malalties infeccioses a través dels peixos alliberats (Utter 1994, García de Jalón & Schmidt 1995).

Malgrat el desplaçament dels patrimonis genètics nadius descrit en algunes localitats, els al·lels nadius són encara responsables dels principals patrons de diversitat i diferenciació que s'observen a la Península Ibèrica. Però el futur d'aquesta variabilitat genètica, i per extensió, de les poblacions de l'espècie, a la Península Ibèrica està compromès per les contínues intervencions humanes, com la degradació de l'hàbitat, la sobrepesca, el moviment d'exemplars o la introducció d'espècies al·lòctones (Elvira 1996). Si considerem que aquestes activitats s'iniciaren just a finals del segle XIX, la pèrdua de la variabilitat genètica i per tant de la història evolutiva de les poblacions de truita de la Península és centenars de vegades més ràpida que la seva producció; pel que, a

aquesta velocitat, l'únic futur evolutiu d'aquests patrimonis genètics pot ser la seva extinció.

Hi ha, per tant, una necessitat urgent de protegir i conservar la diversitat genètica que ens resta en les poblacions de truita, com a recurs insubstituïble per assegurar el futur de les nostres poblacions. La impredivibilitat dels efectes de les repoblacions i la manca d'exemplars de centre piscícola en molts dels rius sotmesos a explotació pesquera, posen de manifest el perill de les repoblacions, en el sentit que les seves conseqüències són incontrolables, i la inutilitat d'aquest mètode com a eina per a recuperar la grandària de les poblacions de truita dels nostres rius. Així doncs, la gestió de les poblacions de truita, tant en trams a conservar com en zones explotades, s'hauria de basar en la finalització dels alliberaments d'exemplars exògens, degut a la incapacitat de repoblar eficaçment les poblacions naturals i als riscos genètics, ecològics i sanitaris que comporten sobre aquestes poblacions (García de Jalón & Schmidt 1995, Pla 1995). Al mateix temps cal urgentment un reemplaçament o la immobilització de les poblacions exògenes o altament introgressades, ja que poden estar introduint contínuament gens al·lòctons en les poblacions adjacents.

D'altra banda, la diferenciació observada entre les poblacions naturals autòctones i els estocs dels centres piscícoles ens introdueix la problemàtica de la definició de les figures de gestió. L'aplicació de l'anàlisi genètica a la conservació ha mostrat que la unitat de gestió ha de ser la població i no l'espècie. En aquest sentit, doncs, els alliberaments de truita comuna que s'efectuen dins els actuals plans de gestió, independentment del seu resultat, han de ser considerats com a "introduccions" en lloc de veritables repoblacions. Malgrat tot, i atenent al coneixement històric popular, nosaltres hem usat, i seguirem usant, el terme "repoblació" per indicar l'alliberament d'individus procedents de centre piscícola. Tanmateix, l'enorme diversitat i diferenciació genètica detectada en les poblacions de truita de la Península Ibèrica fan també inviable una gestió

basada en autèntiques repoblacions fetes a partir d'estocs d'exemplars nadius, donat l'elevat número d'estocs que s'haurien de mantenir separatament per tal de no alterar la composició genètica original de les poblacions de truita del riu a repoblar.

Per tot això, i basant-nos en tot el que hem dit, suggerim un canvi en la gestió actual basada en les repoblacions cap a una gestió que eviti l'alliberament d'exemplars exògens en els rius, i que es basi, en els trams explotats, en una pesca sostinguda per la reproducció natural de les poblacions. Donada la particularitat de les diferents poblacions, les propostes de gestió haurien de contemplar, bàsicament, la situació actual dels rius i l'estat de les poblacions a gestionar.

V. CONCLUSIONS

L'anàlisi dels resultats obtinguts en aquest treball sobre les poblacions de truita comuna (*Salmo trutta*) de la Península Ibèrica, mitjançant la utilització de l'electroforesi de proteïnes enzimàtiques, ens permeten concloure el següent:

1. Les poblacions de truita comuna de la Península Ibèrica presenten una gran diversitat genètica, gràcies als al·lels nadius que encara mantenen malgrat les repoblacions sofertes amb material exogen. D'altra banda, es confirma l'elevada diferenciació entre les poblacions de truita de la Península i la divergència ja descrita entre les poblacions de la vessant atlàntica i la mediterrània.
2. Totes les poblacions de truita comuna analitzades als rius atlàntics formen part del llinatge ancestral (Llinatge II) ja descrit a l'Atlàntic de la Península Ibèrica, caracteritzat per presentar fixat l'al·lel *LDH-C*100* i elevades freqüències de l'al·lel *CK-A1*115*. En aquest grup, les poblacions del Guadalquivir presenten, però, una important relació amb els llinatges mediterranis. Pel que fa a les poblacions mediterrànies podem descriure, com a mínim, dos grups ancestrals de truita en els rius d'aquesta vessant, dins el Llinatge IV prèviament descrit a la regió mediterrània de la Península.
3. Els patrons d'estructura poblacional que s'observen en les poblacions de truita comuna de la Península són diferents en la regió atlàntica i la mediterrània. A l'Atlàntic es detecta un marcat patró hidrogràfic en la distribució de la diferenciació genètica, que contrasta, al Mediterrani, amb un patró en mosaic dels diferents grups de truita, provocat per les fortes divergències a escala microgeogràfica.

4. La introgressió de gens exògens en les poblacions natives no és sempre predible ni mesurable, ja que són molts els factors determinants de la introducció efectiva dels exemplars alliberats. En el nostre treball s'ha calculat un valor promig d'introgressió de gens exògens de 9.4%. (Taula 1, Article VI). Malgrat no ser un valor elevat, el manteniment de la diferenciació i individualitat descrites en les poblacions de truita comuna es veu seriosament compromès per la introducció de gens exògens d'origen nord europeu a causa de les contínues repoblacions. Aquesta introducció pot augmentar la variabilitat genètica intrapoblacional, però conseqüentment pot destruir parcialment els patrons de diferenciació entre les poblacions dels rius afectats, com a conseqüència de la substitució dels al·lels natius pels mateixos al·lels al·lòctons en totes les poblacions.
5. L'elevada incidència de gens de repoblació en localitats no repoblades posa de manifest la capacitat de dispersió dels individus alliberats o els seus descendents. Així, actuacions errònies en una zona esdevenen un risc per a altres zones properes. D'altra banda, la baixa incidència de gens de repoblació en rius repoblats i sotmesos a pesca intensiva, que contrasta amb una forta erosió de les poblacions en àrees protegides, suggereix la figura de gestió dels rius posterior a les repoblacions com un dels factors determinants de la introducció efectiva dels exemplars alliberats.
6. La conservació de la diversitat i diferenciació genètiques que encara resta en les poblacions de truita comuna de la Península Ibèrica, ha de ser l'objectiu final de qualsevol programa de gestió. On fos possible, en primer lloc, s'hauria de procedir a la completa immobilització o el desplaçament de les poblacions exògenes o altament introgressades, que poden comportar un flux de gens al·lòctons a les poblacions adjacents. L'enorme diversitat i diferenciació genètiques existents en les poblacions de truita de la Península, fa poc viables programes de gestió basats en autèntiques repoblacions dels rius. L'estratègia de

gestió a seguir s'hauria de concentrar en la finalització dels alliberaments d'exemplars exògens i, en els trams explotats, en una pesca sostinguda a partir de la pròpia reproducció natural de les poblacions natives, acompanyada d'una millora i recuperació d'hàbitats adequats per la truita.

VI. REFERÈNCIES

A continuació es presenten les referències citades en aquesta tesi excepte aquelles que pertanyen a cada article que ja estan indicades a la bibliografia corresponent.

Allendorf FW, Ryman N, Stennek A & Ståhl G. 1976. Genetic variation in Scandinavian brown trout (*Salmo trutta*, L.): evidence of distinct sympatric populations. *Hereditas*, **83**, 73-82.

Allendorf FW, Ryman N & Utter F. 1987. Genetics and fishery management: Past, present and future. A: Population Genetics and Fishery Management (N Ryman & F Utter eds.). Washington Sea Grant Program. University of Washington Press. Seattle. pp 1-19.

Allendorf FW & Leary R. 1988. Conservation and distribution of genetic variation in a polytypic species, the cutthroat trout. *Conservation Biology*, **2**(2), 170-184.

Altukhov YP & Salmenkova EA. 1991. The genetic structure of salmon populations. *Aquaculture*, **98**, 11-40.

Antonovics J. 1990. Genetically based measures of uniqueness. A: The Preservation and Valuation of Biological Resources (GH Orians, GMJ Brown, WE Kunin & JE Swierzbinski eds.) University of Washington Press. Seattle and London. pp 94-119.

Antunes A, Alexandrino P & Ferrand N. 1999. Genetic relationships among Portuguese and other European brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Ecology of Freshwater Fish*, **8**, 194-200.

- Apostolidis AP, Karakousis Y & Triantaphyllidis C. 1996a. Genetic divergence and phylogenetic relationships among *Salmo trutta* L. (brown trout) populations from Greece and other European countries. *Heredity*, **76**, 551-560.
- Apostolidis AP, Karakousis Y & Triantaphyllidis C. 1996b. Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Greek *Salmo trutta* L. (brown trout) populations as revealed by RFLP analysis of PCR amplified mitochondrial DNA segments. *Heredity*, **77**, 608-618.
- Apostolidis AP, Triantaphyllidis C, Kouvatsi A & Economidis S. 1997. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek brown trout) populations. *Molecular Ecology*, **6**, 531-542.
- Arias J, Sánchez L & Martínez P. 1995. Low stocking incidence in brown trout from northwestern Spain monitored by *LDH-5** diagnostic marker. *Journal of Fish Biology*, **47(A)**, 170-176.
- Barbat-Leterrier A, Guyomard R & Krieg F. 1989. Introgression between introduced domesticated strains and Mediterranean native populations of brown trout (*Salmo trutta*, L.). *Aquatic Living Resources*, **2**, 215-223.
- Bartley DV. 1987. The genetic structure of chinook and coho salmon populations in California, with a note on the genetic variability in sturgeon (Acipenseridae). *PhD Thesis*, University of California, Davis & San Diego State University.
- Beadou D, Cattaneo-Berrebi G & Berrebi P. 1994. Impacts génétiques des repeuplements en truites communes (*Salmo trutta* L.) sur les populations en place: cas du Bassin de l'Orb (Hérault). *Bulletin Français de la Pêche et la Pisciculture*, **332**, 83-92.
- Behnke RJ. 1986. Brown trout. *Trout*, **27**, 42-47.

- Berg WJ & Gall GAE. 1988. Gene flow and genetic differentiation among California coastal rainbow trout populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **45**, 122-131.
- Bernatchez L, Guyomard R & Bonhomme F. 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*, **1**, 161-173.
- Bernatchez L & Wilson C. 1998. Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology*, **7**, 431-452.
- Berrebi P, Pouz M, Jesensek D & Crivelli AJ. 2000. The genetic diversity of native, stocked and hybrid populations of marble trout in the Soca River, Slovenia. *Heredity*, *in press*.
- Bianco PG. 1990. Potential role of the palaeohistory of the Mediterranean and Paratethys basins on the early dispersal of Euro-Mediterranean freshwater fishes. *Ichthyology Exploration of Freshwaters*, **1**, 167-184.
- Blanco G, Cagigas E, Vázquez E & Sánchez JA. 1998. Genetic impact of introduced domesticated strains of brown trout, *Salmo trutta*, on native Spanish populations. A: Stocking and Introduction of Fish. Fishing News Book (IG Cowx ed.). Oxford: Blackwell Science Ltd. pp 371-379.
- Bouza C, Arias J, Castro J, Sánchez L & Martínez P. 1999. Genetic structure of brown trout, *Salmo trutta* L., at the southern limit of the distribution range of the anadromous form. *Molecular Ecology*, **8**(12): 1991-2001.
- Cagigas ME, Vázquez E, Blanco G & Sánchez JA. 1999a. Combined Assessment of Genetic Variability in Populations of Brown Trout (*Salmo trutta* L.) Based on Allozymes, Microsatellites, and RAPD Markers. *Marine Biotechnology*, **1**, 286-296.

- Cagigas ME, Vázquez E, Blanco G & Sánchez JA. 1999b. Genetic effects of introduced hatchery stocks on indigenous brown trout (*Salmo trutta* L.) populations in Spain. *Ecology of Freshwater Fish*, **8**, 141-150.
- Campton DE. 1987. Natural hybridization and introgression in fishes. A: Population Genetics and Fishery Management (N Ryman & F Utter eds.). Washington Sea Grant Program. University of Washington Press, Seattle. pp 161-192.
- Cavalli-Sforza LL & Edwards AWF. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, **32**, 550-570.
- Chakraborty R, Haag M, Ryman N & Ståhl G. 1982. Hierarchical gene diversity and its application to brown trout population data. *Hereditas*, **97**, 17-21.
- Crozier WW & Ferguson A. 1986. Electrophoretic examination of the population structure of brown trout (*Salmo trutta*) from Lough Neagh catchment, Northern Ireland. *Journal of Fish Biology*, **28**, 459-477.
- Doadrio I. 1988. Delimitation of areas in the Iberian Peninsula on the basis of freshwater fishes. *Bonner Zoologische Beiträge*, **39**, 113-118.
- Elliot JM. 1989. Wild brown trout, *Salmo trutta*: an important national and international resource. *Freshwater Biology*, **21**, 1-5.
- Elvira B. 1996. Endangered Freshwater Fish of Spain. A: Conservation of Endangered Freshwater Fish in Europe (A Kirchhofer & D Hefti eds.). Basel: Birkhäuser Verlag. pp 55-61.
- Evans DO & Willox CC. 1991. Loss of exploited, indigenous populations of lake trout, *Salvelinus namaycush*, by stocking of non-native stocks. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **48** (Suppl. I), 134-147.
- Farris JS. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Systematics Zoology*, **34**, 21-34.

- Farris JS. 1977. Phylogenetic analysis under Dollo's Law. *Systematics Zoology*, **26**, 77-88.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**, 783-791.
- Felsenstein J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Department of Genetics. University of Washington. Seattle.
- Ferguson A. 1989. Genetic differences among brown trout, *Salmo trutta*, stocks and their importance for the conservation and management of the species. *Freshwater Biology*, **21**, 35-46.
- Ferguson A & Mason FM. 1981. Allozyme evidence for reproductively isolated sympatric populations of brown trout *Salmo trutta* L. in Lough Melvin, Ireland. *Journal of Fish Biology*, **18**, 629-642.
- Ferguson A & Taggart JB. 1991. Genetic differentiation among the sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations of Lough Melvin, Ireland. *Biological Journal of the Linnean Society*, **43**, 221-237.
- Fisher RA. 1935. The logic of inductive inference. *Journal of the Royal Statistics Society*, **98**, 39-54.
- Fleming CC. 1983. Population biology of anadromous brown trout (*Salmo trutta* L.) in Ireland and Britain. *PhD Thesis*, Department of Zoology, The Queen's University of Belfast, Belfast, U.K.
- García de Jalón D. 1987. Perspectivas en la gestión de la pesca de la trucha en España. *Montes, Revista de Ambito Forestal*, **13**, 27-30.
- García de Jalón D, Montes C, Barcelo E, Casado C & Menes F. 1988. Effects of hydroelectric scheme on fluvial ecosystems within the Spanish Pyrennees. *Regulated Rivers: Research & Management*, **2**, 479-491.
- García de Jalón D & Schmidt G (eds). 1995. *Manual práctico para la gestión sostenible de la pesca fluvial*. A.E.M.S., Girona. 169 pp.

- García-Marín JL. 1994. Diferenciación genética de la trucha común (*Salmo trutta*) en España. Publicacions UAB. Bellaterra. Barcelona.
- García-Marín JL, Jorde PE, Ryman N, Utter F & Pla C. 1991. Management implications of genetic differentiation between native and hatchery populations of brown trout (*Salmo trutta*) in Spain. *Aquaculture*, **95**, 235-249.
- García-Marín JL & Pla C. 1996. Origins and relationships of native populations of brown trout (*Salmo trutta*) in Spain. *Heredity*, **77**, 313-323.
- García-Marín JL, Utter FM & Pla C. 1999. Postglacial colonization of brown trout in Europe based on distribution of allozyme variants. *Heredity*, **82**, 46-56.
- Giuffra E, Bernatchez L & Guyomard R. 1994. Mitochondrial control region and protein coding genes sequence variation among phenotypic forms of brown trout *Salmo trutta* from northern Italy. *Molecular Ecology*, **3**, 161-171.
- Giuffra E, Guyomard R & Forneris G. 1996. Phylogenetic relationships and introgression patterns between incipient parapatric species of Italian brown trout (*Salmo trutta* L. complex). *Molecular Ecology*, **5**, 207-220.
- Goudet J. 1995. Fstat version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, **86**, 485-486.
- Gower JC. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods in multivariate analysis. *Biometrika*, **53**, 315-328.
- Grant WS, García-Marín JL & Utter FM. 1999. Defining Population Boundaries for Fishery Management. A: Genetics in sustainable fisheries management. Fishing News Book (S Mustafa ed.). Oxford, Blackwell Science Ltd. pp 27-72.

- Guyomard R & Krieg F. 1986. Mise en evidence d'un flux génique entre populations naturelles de truite fario et souche de repeuplement dans deux rivières de Corse. *Bulletin Français de la Pêche et la Pisciculture*, **303**, 134-140.
- Guyomard R. 1989. Diversité génétique de la truite commune. *Bulletin Français de la Pêche et la Pisciculture*, **314**, 118-135.
- Hamilton KE, Ferguson A, Taggart JB, Tómason T, Walker A & Fahy E. 1989. Post-glacial colonization of brown trout, *Salmo trutta* L.: LDH-5* as a phylogeographic marker. *Journal of Fish Biology*, **35**, 651-664.
- Hansen MM, Hynes RA, Loeschcke V & Rasmussen G. 1995. Assessment of the stocked or wild origin of anadromous brown trout (*Salmo trutta* L.) in a Danish river system, using mitochondrial DNA RFLP analysis. *Molecular Ecology*, **4**, 189-198.
- Hansen MM & Mensberg KLD. 1998. Genetic differentiation and relationship between genetic and geographical distance in Danish sea trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Heredity*, **81**, 493-504.
- Hewitt GM. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **58**, 247-276.
- Hindar K, Ryman N & Utter FM. 1991. Genetic effects of cultured fish on natural fish populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **48**, 45-57.
- Hynes RA, Ferguson A & McCann MA. 1996. Variation in mitochondrial DNA and postglacial colonization of northwestern Europe by brown trout. *Journal of Fish Biology*, **48**, 54-64.
- Karakousis Y, Triantaphyllidis CD. 1990. Genetic structure and differentiation among Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Heredity*, **64**, 297-304.

- Kottelat M. 1997. European freshwater fishes. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia, Section Zoology*, **52** (Suppl. 5), 1-271.
- Krieg F & Guyomard R. 1983. Mise en évidence électrophorétique d'une forte différenciation génétique entre populations de Truite Fario de Corse. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris L.*, **296** (Serie III), 1089-1094
- Krieg F & Guyomard R. 1985. Population genetics of French brown trout (*Salmo trutta* L.): large geographical differentiation of wild populations and high similarity of domesticated stocks. *Génétique, Sélection et Evolution*, **17**(2), 225-242.
- Krueger CC & May B. 1991. Ecological and genetic effects of salmonid introductions in North America. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **38** (12), 1877-1881.
- Laikre L. 1999. *Conservation Genetic Management of Brown Trout (Salmo trutta) in Europe*. Report by the Concerted Action on Identification, Management and Exploitation of Genetic Resources in the Brown trout (*Salmo trutta*). ("TROUTCONCERT"; EU FAIR CT97-3882) ISBN 87-987732-0-8.
- Largiadèr CR & Scholl A. 1995. Effects of stocking on the genetic diversity of brown trout populations of the Adriatic and Danubian drainages in Switzerland. *Journal of Fish Biology*, **47** (Suppl. A), 209-225.
- Largiadèr CR & Scholl A. 1996. Genetic introgression between native and introduced brown trout *Salmo trutta* L. populations in the Rhône River Basin. *Molecular Ecology*, **5**, 417-426.
- Largiadèr CR, Scholl A & Guyomard R. 1996. The role of natural and artificial propagation on the genetic diversity of brown trout (*Salmo trutta* L.) of the upper Rhône drainage. A: *Conservation of*

- Endangered Freshwater Fish in Europe* (A Kirchhofer & D Hefti eds.). Birkhäuser Verlag. Basel. Switzerland. pp 181-197.
- Leary RF, Allendorf FW, Phelps SR & Knudsen KL. 1988. Population genetic structure of westslope cutthroat trout: Genetic variation within and among populations. *Proceedings of the Montana Academy of Sciences*, **48**, 57-70.
- Leary RF, Allendorf FW & Sage GK. 1995. Hybridization and Introgression between introduced and native fish. *American Fisheries Society Symposium*, **15**, 91-101.
- Loudenslager EJ & Gall GAE. 1980. Geographic pattern of protein variation and subspeciation in cutthroat trout, *Salmo clarki*. *Systematics Zoology*, **29**, 27-42.
- Martínez P, Arias J, Castro J & Sánchez L. 1993. Differential stocking incidence in brown trout (*Salmo trutta*) populations from Northwestern Spain. *Aquaculture*, **114**, 203-216.
- Meffe GK & Vrijenhoek RC. 1988. Conservation genetics in the management of desert fishes. *Conservation Biology*, **2**, 157-169.
- Morán P, Pendás AM, García-Vazquez E & Izquierdo J. 1991. Failure of a stocking policy of hatchery reared brown trout, *Salmo trutta* L., in Asturias, Spain, using *LDH-5** as a genetic marker. *Journal of Fish Biology*, **39**, 117-123.
- Morán P, Pendás AM, García-Vazquez E, Izquierdo J & Lobón-Cerviá J. 1995. Estimates of gene flow among neighbouring populations of brown trout. *Journal of Fish Biology*, **46**, 593-602.
- Muñoz G. 1988. *Crónica piscícola continental hispana*. ICONA. Madrid. 192 pp.
- Muñoz M & Casadevall M. 1997. Fish remains from Arbreda Cave (Serinyà, Girona), northeast Spain, and their palaeoecological significance. *Journal of Quaternary Science*, **12**(2), 111-115.

- Mustafa S. 1999. Introduction. A: Genetics in sustainable fisheries management. Fishing News Book (S Mustafa ed.). Oxford. Blackwell Science Ltd. pp 3-23.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, **106**, 283-292.
- Nei M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annual of Human Genetics*, **41**, 225-233.
- Osinov AG. 1984. Zoogeographical origins of brown trout, *Salmo trutta* (Salmonidae): data from biochemical genetic markers. *Journal of Ichthyology*, **24**, 10-23.
- Osinov AG. 1989. Brown Trout (*Salmo trutta*, L., Salmonidae) in basins of the Black and Caspian Seas: A population genetic analysis. *Genetika*, **24**, 1523-1534.
- Osinov AG. 1990. The level of genetic variation and differentiation of the brown trout (*Salmo trutta*) in Tadjikistan. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, **45**(1), 37-41.
- Osinov AG & Bernatchez L. 1996. 'Atlantic' and 'Danubian' phylogenetic groupings of brown trout *Salmo trutta* complex: Genetic divergence, evolution, and conservation. *Journal of Ichthyology*, **36**, 723-746.
- Ota T. 1993. DISPAN: Genetic distance and phylogenetic analysis. Pennsylvania State University, PA.
- Pla C. 1995. Ecological effects of genetically modified fish: An overview. A: Pan-European conference on the potential long-term impact of genetically modified organisms. Council of Europa Press, Strasbourg, France. pp 217-222.
- Presa P, Krieg F, Estoup A & Guyomard R. 1994. Diversité et gestion génétique de la truite commune: apport de l'étude du polymorphisme des locus protéiques et microsatellites. *Génétique, Sélection et Evolution*, **26** (Suppl. I), 183-202.

- Raymond M & Rousset F. 1995a. An exact test for population differentiation. *Evolution*, **49**, 1280-1283.
- Raymond M & Rousset F. 1995b. GENEPOP (ver. 1.2): A population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248-249.
- Reisenbichler RR & Phelps SR. 1989. Genetic variation in steelhead (*Salmo gairdneri*) from the North coast of Washington. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **46**, 66-73.
- Rice WR. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, **43**, 223-225.
- Rohlf FJ. 1993. *NTSYS-pc*. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 1.80. Setauket, New York, NY.
- Rousset F & Raymond M. 1995. Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics*, **140**, 1413-1419.
- Ruiz-Olmo J. 1997. La pesca en aigües continentals. *Catalunya Rural i Agrària, Butlletí d'Informació del Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya*, **33**, 18-23
- Ryman N, Allendorf FW & Ståhl G. 1979. Reproductive isolation with little genetic divergence in sympatric populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Genetics*, **92**, 247-262.
- Ryman N. 1981. Conservation of genetic resources: experiences from the brown trout (*Salmo trutta*). *Ecological Bulletin (Stockholm)*, **34**, 61-74.
- Ryman N. 1983. Patterns of distribution of biochemical genetic variation in salmonids: differences between species. *Aquaculture*, **33**, 1-21.
- Ryman N, Utter FM & Laikre L. 1995. Protection of intraespecific biodiversity of exploited fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **5**, 417-446.

- Saitou N & Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**, 406-425.
- Sneath PHA & Sokal RR. 1973. *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco, CA.
- Sokal RR & Rohlf FJ. 1995. *Biometry*, 3rd ed. Freeman, New York.
- Ståhl G. 1987. Genetic population structure of Atlantic salmon. A: Population Genetics and Fishery Management (N Ryman & F Utter eds.). Washington Sea Grant Program. University of Washington Press. Seattle. pp 121-140.
- Swofford DL & Selander RB. 1981. BIOSYS-1: A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Journal of Heredity*, **72**, 281-283.
- Taggart JB & Ferguson A. 1986. Electrophoretic evaluation of a supplemental stocking program for brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquaculture and Fisheries Management*, **17**, 155-162.
- Utter FM, Aebersold P, Helle J & Winans G. 1984. Genetic characterization of populations in the southeastern range of sockeye salmon. A: Proceedings of the Olympic Wild Fish Conference (J Walton & D Houston eds.). Seattle, WA. pp 17-32.
- Utter F, Milner G, Ståhl G & Teel D. 1989. Genetic structure of chinok salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, in the Pacific Northwest. *Fishery Bulletin, U.S.*, **87**, 239-264.
- Utter FM. 1991. Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. *Journal of Fish Biology*, **39** (Suppl. A), 1-20.
- Utter FM. 1994. Detrimental aspects of put-and-take trout stocking. *Fisheries*, **19**, 8-9.

- Waples RS. 1991. Genetic interactions between hatchery and wild salmonids: lessons from the Pacific northwest. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **48**, 124-133.
- Weir BS. 1990. Genetic data analysis. Sinauer, Sunderland, MA.
- Weir BS & Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- Weiss S, Antunes A, Schlötterer C & Alexandrimo P. 2000. Mitochondrial haplotype diversity among Portuguese brown trout *Salmo trutta* L. populations: relevance to the post-Pleistocene recolonization of northern Europe. *Molecular Ecology*, *in press*.
- Workman PL & Niswander JD. 1970. Population studies on Southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *American Journal of Human Genetics*, **22**, 24-29.