

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

POSGRADO EN ECOLOGIA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGIA



Análisis de la Estructura Genético Poblacional de la Trucha Arcoiris

de la Sierra San Pedro Mártir *Oncorhynchus mykiss nelsoni*

(Evermann, 1908)



Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Presenta:

Norma Alicia Villarreal Zazueta

Ensenada, Baja California

Febrero 2012

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS
POSGRADO EN ECOLOGIA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGIA

**ANALISIS DE LA ESTRUCTURA GENETICO POBLACIONAL DE LA
TRUCHA ARCOIRIS DE LA SIERRA SAN PEDRO MARTIR
ONCORHYNCHUS MYKISS NELSONI (EVERMANN, 1908)**

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS


PRESENTA

NORMA ALICIA VILLARREAL ZAZUETA

Aprobada por:


Dr. Faustino Camarena Rosales
Director de Tesis


Dr. Gorgonio Ruiz Campos
Sinodal


Dr. Francisco Cutra Sandoval
Sinodal


M. en C. Roberto Escobar Fernández
Sinodal

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a todas las personas que directa o indirectamente han contribuido para la culminación de este trabajo.

Al comité de Posgrado por permitirme continuar con mis estudios.

Al *Dr. Faustino Camarena Rosales* por guiarme durante toda mi carrera y en la dirección de este trabajo.

Al *Dr. Francisco Correa Sandoval* por darse el tiempo de revisar mi trabajo de licenciatura poder continuar con el tema y por permitirme realizar el trabajo de laboratorio en Laboratorio de Genética de Poblaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas a su cargo.

Al *Dr. Gorgonio Ruiz Campos* por usar su equipo de electropesca durante las recolecciones de trucha arcoiris en las salidas de campo en las localidades de la Sierra San Pedro Mártir, por su ayuda con las disecciones de las truchas y en la revisión de este trabajo.

Al *M. en C. Roberto Escobar Fernández* por formar parte de mi comité de tesis como sinodal y por sus muy acertadas observaciones durante la revisión de este trabajo.

Al grupo de estudiantes que nos ayudaron en las salidas de campo a la Sierra San Pedro Mártir durante la recolecta de las truchas en el periodo 2000-2001:

J. Echanove, C. Brum, U. Pacheco, A. Jullian, F. León, y J. Zamudio.

A *M. en C. Martha Valles*, por su valiosa ayuda durante las disecciones en el Laboratorio de Vertebrados de la Facultad de Ciencias.

A mis compañeros de Posgrado, en especial a Dora por las porras cuando los geles no revelaban.

A la beca otorgada por CONACYT 329530/236536.

A *Ing. Leopoldo Ruvalcaba* por su amistad y apoyo cuando se ha requerido incluyendo la 3G.

A *C.P. Gustavo Peña Chong* por su apoyo y amistad cuando se nos ha atorado la carreta y en el uso de su gran equipo de trabajo en imprenta olimpica.

A mi suegra *Doña Dolores García Vda. de Segura* por estar siempre con nosotros.

A mi mamá por su indiferencia, que me hace esforzarme más.

..... *A todos Gracias*

Por su apoyo y amor

A mis hijas

Nallely y Miranda

A mi esposo

Ing. Gerardo Segura

INDICE GENERAL

	Num. de Página
Introducción.....	9
Antecedentes.....	15
Área de Estudio.....	19
Objetivos.....	21
Metodología	
A) Periodo 2000-2001.....	22
B) Periodo 2010-2011.....	28
Análisis de Datos.....	31
Resultados	
A) Periodo 2000-2001.....	33
B) Periodo 2010-2011.....	44
C) Comparación de los periodos 2001-2011.....	53
Discusiones.....	63
Conclusiones.....	71
Anexo I	
A) Preparación del gel de almidón para estandarización.....	73
B) Preparación del gel de almidón para alozimas.....	75
Anexo II Preparación del Amortiguador TME pH 7.8.....	77
Anexo III Protocolos de los Sistemas Enzimáticos.....	80
Anexo IV Alozimas del periodo 2000-2001	87
Anexo V Alozimas del periodo 2010-2011.....	89
Anexo VI – Intermedio	91
Mike’s Sky	93
El Potrero	96
San Antonio	98
La Grulla	100
Anexo VII Índice de Tablas y Figuras.....	103
Bibliografía.....	105

INTRODUCCION

La trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir (SSPM), *Oncorhynchus mykiss nelsoni*, conocida comúnmente como trucha de San Pedro Mártir, trucha de Nelson, San Pedro Mártir “rainbow trout”, “Baja trout”, “Nelson’s trout” (Ruiz-Campos 1993), es una subespecie endémica de la vertiente occidental de la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México (Miller 1950, Ruiz-Campos y Pister 1995), confinada a las cuencas de los arroyos Santo Domingo y San Rafael en altitudes entre 540 y 2030 msnm, (Ruiz-Campos 1993, Ruiz-Campos y Pister 1995, Ruiz-Campos et al. 2000). Esta trucha residente dichos arroyos habita pozas y recodos de los arroyos con profundidades mayores a 30 cm, de mayor cobertura (sombreado), sustrato arenoso y mayor disponibilidad de presas (Ruiz-Campos 1993).

El tamaño de la trucha de Sierra San Pedro Martir (SSPM) es menor de 26 cm de longitud patrón promedio con abundantes lunares oscuros de forma irregular, arriba y debajo de la línea lateral, contrastando con el color verde oliváceo de la cabeza y dorso. Los adultos con fase de coloración oscura poseen una franja lateral rojo ladrillo. Escamas en serie lateral de 125 a 140, presentándose en promedio 118, ciegos pilóricos de 46 a 53 y vértebras de 61

a 62 (Ruiz-Campos 1993). Dentro del complejo “arcoiris”, esta subespecie es la que exhibe el intervalo mas amplio en la altura del cuerpo y en la distancia del origen de la aleta dorsal al origen de las aletas pélvicas (Ruiz-Campos 1993, Ruiz-Campos et al. 2000) (Fig. 1).

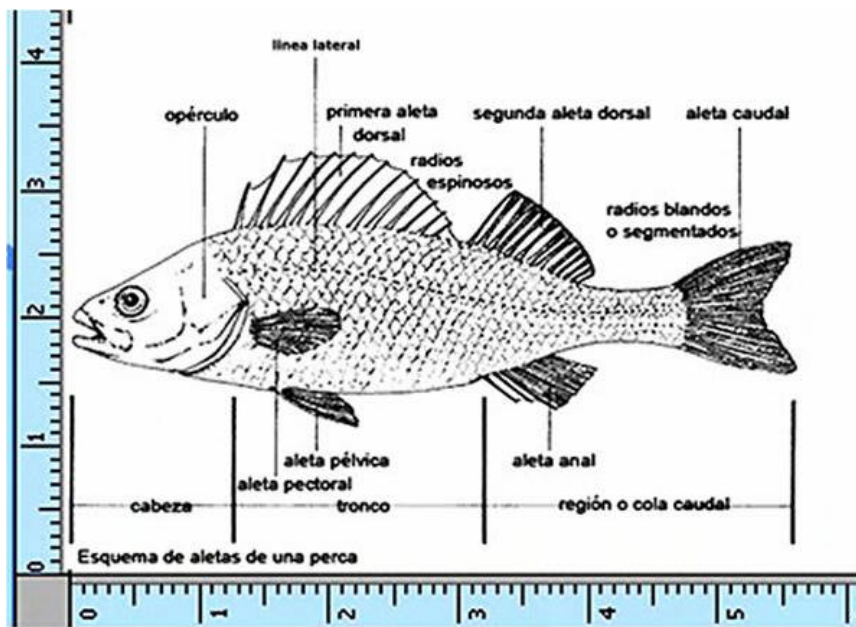


Fig. 1. Representación esquemática de la ubicación y nombre de las diferentes estructuras anatómicas de un pez.

La trucha de *SSPM* es considerada como uno de los stocks más puros de trucha arcoiris costera en Norteamérica (Berg y Gall 1988), cuyos atributos ecológicos que la distingue de otros miembros de la serie “arcoiris costera” (serie “*coastal rainbow trout*”), como es su capacidad euritérmica y su comportamiento no migratorio en su habitat natural (Needham 1938), su baja fecundidad y su madurez sexual precoz (Ruiz-Campos 1993) misma que se

presenta en el primer año de edad; así mismo posee un alelo único de creatinina kinasa, CK-2(115) que es compartido con otras truchas con distribuciones pequeñas y aisladas (Berg 1987).

La trucha de la SSPM forma parte de un complejo de morfotipos de salmónidos nativos, reconocidos como truchas nativas mexicanas, de las cuales solo *Oncorhynchus mykiss nelsoni* y *Oncorhynchus chrysogaster* han sido descritas (Nielsen y Sage 2001, Hendrickson et al. 2003, Ruiz-Campos et al. 2003, Hendrickson et al. 2006, Camarena-Rosales et al. 2008). Ruiz-Campos et al. 2003 determinaron al menos 16 caracteres morfométricos que distinguen a la trucha de SSPM de aquellas truchas de la Sierra Madre Occidental. Incluyendo la dorada mexicana (*O. chrysogaster*).

A partir de análisis genéticos de la trucha de SSPM se ha demostrado que posee un haplotipo de ADN mitocondrial idéntico al dominante para las truchas costeras (“*steelhead*” o cabeza de acero) (Nielsen et al. 1994). Por su parte, esta trucha bajacaliforniana se distingue de otras truchas de la serie costera por poseer un único alelo dominante para tres microsatélites nucleares (Nielsen et al. 1996). Así mismo, presenta un haplotipo de ADN mitocondrial

determinado por PCR-RFLP exclusivo para las truchas de las cuencas de los rios San Rafael y Santo Domingo en la *SSPM* (Camarena-Rosales et al. 2008).

Recientemente se comprobó que la trucha arcoiris de la *SSPM* puede ser mantenida en condiciones *ex situ* mediante un sistema de recirculación, siendo la tasa de crecimiento somático (longitud y peso) de 0.42 mm/día y 0.86 g/día, respectivamente, en un lapso de 13.2 meses; su maduración gonádica es variable mediante un sistema artificial de fotoperíodo y con una alimentación adecuada es posible aumentar la calidad del esperma (Aguilar-Juárez 2010).

La distribución original de la trucha de la *SSPM* se restringía a la cuenca del Santo Domingo, en el arroyo San Antonio (Evermann 1908, Nelson 1921, Snyder 1926, Smith 1991) y la Zanja (Needham 1938). El naturalista Charles Edward Utt efectuó trasplantes de esta trucha entre 1929 y 1941, del Arroyo San Antonio hacia otros arroyos de la misma sierra, como La Misión, La Grulla, La Zanja, El Potrero y San Rafael (Ruiz-Campos y Pister 1995). Actualmente se reconocen cinco poblaciones establecidas, como son aquellas de los arroyos San Antonio, La Zanja, La Grulla, Potrero y San Rafael (Ruiz-Campos 1993).

La trucha arcoiris de la *SSPM* se encuentra bajo protección especial, ya que podría estar amenazada por factores que incidan negativamente en su viabilidad (SEMARNAT 2010) y se considera como especie vulnerable, por estar en peligro por factores naturales o antropogénicos que pudieran afectar su existencia (Jelks et al., 2008). Su estatus de conservación fue reportado como estable, después de monitoreos poblacionales durante siete años (Ruiz-Campos y Pister 1995). En años recientes no han sido evaluadas las poblaciones de trucha arcoiris, la información que se tiene sobre estructura y variabilidad genética es muy escasa por lo que es importante realizar estudios que nos permitan conocer el estado actual de esta subespecie.

La estrategia para la obtención de datos genéticos son muy variados, entre ellos se encuentran la Electroforesis de Alozimas, RFLP, Secuenciación, Hibridación, Barrido de ADN (scnADN), Microsatélite y RAPDS, pero su utilización depende del tipo de problema que se desea resolver. Los análisis de genética de poblaciones por medio de alozimas revelan diferencias químicas que contribuyen a identificar poblaciones y especies (Futuyma 1998). Esto se debe a que las proteínas presentan, en su mayoría de las especies, un elevado número de polimorfismos que pueden servir como marcadores genéticos. De esta manera, los estudios de genética de poblaciones aportan los elementos

que permiten un mayor entendimiento de cómo algunos factores influyen en la variación de la distribución geográfica o en la restructuración de una población por lo que es viable establecer pautas para su manejo (Utter y Hodgins 1972, Correa-Sandoval y De la Rosa-Vélez 1996, Camarena-Rosales et al. 1999, Gallo y Diaz-Sarmiento 2003, Farrington et al. 2004, Licona-Chavez et al. 2007).

El objetivo de esta investigación es determinar la variabilidad genética y los posibles cambios que hayan ocurrido en un periodo de diez años, en las poblaciones locales de *Oncorhynchus mykiss nelsoni* que habitan en las cuencas hidrológicas de San Rafael y Santo Domingo de la Sierra de San Pedro Mártir, Baja California; todo ello permitirá obtener elementos diagnósticos que conlleven a caracterizar el estatus de conservación y de utilización actual del recurso, así como identificar a las poblaciones mejor conservadas de esta subespecie.

ANTECEDENTES

El origen evolutivo de la trucha de la Sierra San Pedro Mártir (*SSPM*) fue señalado por *Evermann* 1908, quien considera una mayor afinidad con la trucha arcoiris del río Kern, California (*O. mykiss gilberti*) sugiriendo que el Arroyo San Antonio de la *SSPM* fue poblado por truchas provenientes de las corrientes costeras de California, las cuales migraron por el Océano Pacífico hasta llegar a la boca del Arroyo Santo Domingo y penetraron por casi 45 Km (Ruiz-Campos y Pister 1995, Ruiz-Campos et al. 2000). Snyder (1926) concluyó que presenta una mayor afinidad con la trucha arcoiris costera de California (*O. mykiss irideus*) (Ruiz-Campos 1993). Según Behnke (1992) la trucha del Arroyo Santo Domingo es considerada como una población aislada de trucha arcoiris costera, cuyo ancestro es probablemente similar al de la trucha arcoiris de Pauma Creek (Sur de California), una mezcla de formas primitivas de trucha “redband” y trucha arcoiris costera. Estudios genéticos muestran que la trucha de San Pedro Mártir posee un haplotipo de DNA mitocondrial idéntico al dominante para el linaje de truchas costera cabeza de acero (Nielsen et al. 1994), también posee un alelo único determinado por microsatélite que la diagnostica y diferencia de todas las truchas costeras cabeza de acero y arcoiris, solo la trucha arcoiris de río Little Kern (*O. mykiss*

whitei) comparten este único alelo con la trucha de *SSPM* (Nielsen et al. 1996).

El naturalista norteamericano, Edward William Nelson, durante sus exploraciones en la península de Baja California en julio de 1905, recolectó nueve truchas en el arroyo San Antonio cuenca del Rancho San Antonio. Estos ejemplares fueron turnados al Dr. Barton Warren Evermann para su identificación taxonómica, siendo descrita en 1908 como una especie nueva para la ciencia, a la cual denominó *Salmo nelsoni*, en honor a su recolector (Evermann 1908).

En 1925 fueron recolectadas truchas en la localidad tipo por Chester C. Lamb, llevándoselas al Dr. John O. Snyder para su revisión en 1926. Snyder comparó los ejemplares con otros miembros congénéricos, y llegó a la conclusión de que se trataba de una población aislada geográficamente de la trucha arcoiris costera ya conocida como *Salmo irideus Richardson*, (actualmente referida como *Oncorhynchus mykiss irideus*; cf Behnke, 1992). Revisiones posteriores tanto del Dr. Snyder como el Dr. Bean, comprobaron que el conteo de 170 escamas en la serie lateral del holotipo efectuado por

el *Dr. Evermann* fue erróneo, demostrando que el número de escamas se encuentra en el intervalo de 127 y 143.

Estudios de variación genética basados en electroforesis de proteínas en especies de Salmonidos han sido capaz de establecer relaciones evolutivas, con un porcentaje alto de loci, tanto diagnósticos como informativos entre especies (Utter et al. 1973, Ferguson y Fleming, 1983, Jonson 1984, Osinov y Lebedev 2000).

Existen mas de 350 publicaciones científicas sobre variación genética en Salmón del Atlántico (*Salmo salar*) basados en alozimas desde 1966 (Wilson y Verspoor 1996). En muestras de hígado presenta tres fenotipos de alozima defosfoglucomutasa *PGM-1*, estableciendo que hay una variación co-dominante alelica en un locus regulador (Verspoor y Moyes 2005).

En España central datos alozímicos de poblaciones de trucha café (*Salmo trutta*) mostraron baja variación genética en comparación de criaderos, pero con parámetros dentro de los intervalos de otras poblaciones europeas (Machordom 1999), en poblaciones silvestres del noreste de España se estudiaron con marcadores alozímicos y microsatélites (Corujo, et al. 2004),

en 1010 individuos de los sistemas fluviales del Rin, Meuse, Weser, Elba y Danubio se estudiaron 34 loci alozímicos (Schreiber y Diefenbach 2005). También se han asociado marcadores alozímicos con los de ADN obtenidos por secuenciación (McMeel, et al., 2001).

En Londres se analizaron 129 trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) originarias del río McCloud, California (Gall y Crandell 1972), basados en electroforesis de alozimas para diferenciar variación genética entre las poblaciones de trucha arcoiris de los arroyos de Londres y comparándola con los arroyos de criaderos, mostrando que los niveles de variación genética se encuentran dentro de los mismos parámetros (Gregg et al. 2001).

En Australia utilizando electroforesis de alozimas de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), no muestran diferencias entre las poblaciones de trucha de criaderos, silvestres a través de Norte América, Nueva Zelanda y Sur de África, pero hay evidencia de pérdida de alelos raros durante la translocación de California a Australia vía Nueva Zelanda (Farrington et al. 2004).

AREA DE ESTUDIO

La Sierra de San Pedro Mártir en el Estado de Baja California, tiene una superficie de 342,801.30 ha, de las cuales 63 mil constituyen el Parque Nacional, decretado como área natural protegida en 1947 y localizado a 150 km al sureste de la ciudad de Ensenada y a 200 km al sur de Mexicali.

La recolecta se llevo a cabo en las Cuencas San Rafael en las localidades Mike's Sky ubicada a 1250 m de altitud, Garet (1363 msnm) y una localidad en intermedio en estas dos (1351 msnm) y la en Cuenca Santo Domingo, San Antonio (560msnm), Potrero (892 msnm) y La Grulla (2034 msnm) (Fig. 2).

La formación de una alta cascada aproximadamente a 5 millas arroyo arriba del Rancho San Antonio, es considerada una barrera física que ha impedido la dispersión natural de la trucha arcoiris hacia aguas más arriba (Nelson 1921, Snyder 1926, Needham 1938 y Ruiz-Campos 1993).



Fig. 2. Mapa de una sección de la Sierra de San Pedro Mártir, mostrando los sitios de recolecta de trucha arcoiris en las Cuentas San Rafael y Santo Domingo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estimar la variabilidad genética de la trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss nelsoni*, en las Cuencas San Rafael y Santo Domingo de la Sierra San Pedro Mártir.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la variabilidad genética inter e intrapoblacional de las truchas arcoiris *Oncorhynchus mykiss nelsoni*.
2. Contrastar la variabilidad genética actual con la obtenida en muestras de las poblaciones de trucha arcoiris de la SSPM, recolectadas en el periodo 2000-2001 con la de 2010-2011.

METODOLOGIA

A) PERIODO 2000 – 2001

El material biológico que se utilizó para este estudio se obtuvo con un equipo de electropesca Smith Root 15-B POW (110V CA) en las Cuencas del Rio San Rafael en las localidades Rancho Garet, en Mike's Sky y población nombrada en este estudio "Intermedio", que se encuentra entre el Rancho Mike's Sky y el Rancho Garet, y la Cuenca del Rio Santo Domingo en las localidades de El Potrero, San Antonio y La Grulla (Tabla 1).

En octubre del año 2000 se recolectaron truchas en el Arroyo San Rafael en los Ranchos Garet obteniendo 9 truchas, Mike's Sky 9 truchas, y la localidad "intermedio" 10 truchas.

En enero del 2001 se realizó la recolecta de los ejemplares del Arroyo San Antonio y El Potrero obteniendo 14 truchas en cada uno de los sitios.

Para septiembre del 2001 en el Arroyo La Grulla se recolectaron 13 truchas, con un número de muestras en total de 69 ejemplares (Anexo VII).

Tabla 1. Coordenadas y altitud de las localidades de recolecta de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Martir, Baja California.

Cuenca San Rafael	Latitud (N)	Longitud (S)	Altitud (m)
Rancho Garet	31°04'27.2"	115°36'09.4"	1363
"Intermedia"	31°04'53.9"	115°36'38.3"	1351
Rancho Mike's Sky	31°05'51.7"	115°37'16.3"	1250
Cuenca Santo Domingo			
El Potrero	30°49'10.0"	115°37'35.0"	892
San Antonio	30°54'59.8"	115°38'42.7"	560
La Grulla	30°48'59.4"	115°37'47.4"	2034

Los ejemplares después de ser recolectados, se guardaron en bolsas de plástico, etiquetaron y se mantuvo frío en hielo seco para ser transportados y llevados al laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias, UABC, en donde se almacenaron en el ultra congelador a -80° C, hasta disección de los mismos.

De la disección se obtuvo el corazón, el hígado, el ojo y una porción del músculo del lado derecho de la trucha, depositando cada uno de los tejidos en tubos estériles con tapa marcados e inmediatamente en un ultracongelador a -80° C hasta que se realizó la homogeneización de los tejidos.

La homogeneización de los tejidos se realizó individualmente con un homogenizador manual de vidrio, en una proporción de uno a dos volúmenes

de una solución de 0.1M Tris-HCl pH 8, que contiene NAD, NADP y PVP (100:0.1:0.1:1;v:w:w:w) (Lester 1983).

Una vez que estaban homogenizadas las muestras, fueron centrifugadas a 2500 g por 25 minutos a 4°C, los sobrenadantes se separaron por decantación y se conservaron a -80°C hasta su proceso electroforético.

Antes del proceso electroforético con los organismos, se estandarizaron los métodos de alozimas siguiendo los reportados por Berg y Gall 1988, Utter y Hodgins 1972, Grant et al 1980, Grijalva-Chon et al 1996, Correa-Sandoval y Rosa-Vélez 1996, Camarena et al 1999, Licona-Chavez 2007.

El proceso de estandarización de la técnica de alozimas que consiste en una electroforesis horizontal en gel de almidón al 11.5 % (Anexo IA), de homogenizado de tejido y la posterior tinción histoquímica específica para cada uno de los sistemas enzimáticos que se probaron (Tabla 2) en 100 ml de amortiguador (Tabla 3). Los homogenizados fueron sembrados individualmente, dejando un carril con azul de bromofenol. Para la electroforesis la cámara se mantuvo a 4°C.

Una vez terminada la electroforesis, fue teñido el gel utilizando tinciones histoquímicas específicas (Anexo III).

Tabla 2. Relación de sistemas enzimáticos probados, su estructura cuaternaria y loci expresados en trucha arcoiris de Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001.

<i>No.</i>	<i>ECUACION*</i>	<i>ABREVIATURA</i>	<i>ENZIMA</i>	<i>ESTRUCTURA CUATERNARIA</i>	<i>LOCI EXPRESADOS</i>
1	E.C.1.1.1.49	G6PDH	GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA	DIMERICA	2
2	E.C.1.1.1.8	G3PDH	GLUCOSA 3 FOSFATO DESHIDROGENASA	DIMERICA	1
3	E.C.1.1.1.37	MDH	MALATO DESHIDROGENASA	DIMERICA	2
4	E.C.5.4.2.2	PGM	FOSFOGLUCOMUTASA	MONOMERICA	1
5	E.C.1.1.1.27	LDH	L-LACTATO DESHIDROGENASA	TETRAMERICA	2
6	E.C.1.15.1.1	SOD	SUPEROXIDO DISMUTASA	DIMERICA	1
7	E.C.5.3.1.9	GPI	GLUCOSA-6-FOSFATO ISOMERASA	DIMERICA	1
8	E.C.3.1.3.2	ACP	FOSFATASA ACIDA	MONOMERICA	1
9	E.C.3.1.1.1	EST	ESTERASAS	MONOMERICA	1

Tabla 3. Sistemas amortiguadores empleados para el análisis electroforético, en trucha arcoiris de Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001.

<i>SISTEMA AMORTIGUADOR</i>	<i>ELECTRODO</i>	<i>GEL</i>
Amortiguador A pH 8	Tris 0.607M Acido cítrico 0.157 M	Tris 0.0229 M Acido cítrico 0.0052 M
Amortiguador E pH 6.1 (Se estabiliza el pH con amino propil morfolina)	Acido cítrico 0.04 M	Acido cítrico 0.002 M
Amortiguador F (Poulik-Discontinuo)	<i>pH 8.2</i> Acido bórico 0.3 M NaOH 0.06 M	<i>pH 8.7</i> Tris 0.076 M Acido cítrico 0.005 M

Una vez estandarizados los protocolos se procedió a analizar las poblaciones de las truchas recolectadas (Anexo IB). Las condiciones electróforeticas inicialmente programadas, fueron de 450V-50mA-50W, 250V-50mA-50W y 250V-35mA-50W (Tabla 4).

Tabla 4. Relación de sistemas amortiguadores, tejidos empleados y condiciones de electroforesis, en trucha arcoiris de Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001.

<i>No</i>	<i>ENZIMA</i>	<i>ABREVIATURA</i>	<i>AMORTI GUADOR</i>	<i>TEJIDOS</i>	<i>CONDICIONES DE ELECTROFORESIS</i>
1	FOSFATASA ACIDA	ACP-1	E	HIGADO	250V – 50mA - 50 W
2	ESTERASAS	EST-1	E	HIGADO	250V – 50mA - 50 W
3	GLUCOSA 3 FOSFATO DESHIDROGENASA	G3PDH-1	A	HIGADO	450V – 50mA - 50 W
4	GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA	G6PDH-1	A	HIGADO	450V – 50mA - 50 W
5	GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA	G6PDH-2	A	HIGADO	450V – 50mA - 50 W
6	GLUCOSA 6 FOSFATO ISOMERASA	GPI-1	F	HIGADO	250V - 35 mA - 50 W
7	L-LACTATO DESHIDROGENASA	LDH-1	A	CORAZON	250V – 50mA - 50 W
8	L-LACTATO DESHIDROGENASA	LDH-2	A	CORAZON	250V – 50mA - 50 W
9	MALATO DESHIDROGENASA	MDH-1	A	CORAZON	250V – 50mA - 50 W
10	MALATO DESHIDROGENASA	MDH-2	A	CORAZON	250V – 50mA - 50 W
11	FOSFOGLUCOMUTASA	PGM-1	A	HIGADO	450V – 50mA - 50 W
12	SUPEROXIDO DISMUTASA	SOD-1	F	HIGADO	250V - 35 mA - 50 W

B) PERIODO 2010 – 2011

Las truchas se obtuvieron en las siguientes localidades y fechas: en el Arroyo San Antonio, de la Cuenca Santo Domingo se recolectaron 21 ejemplares (24 de septiembre del 2010) y se recolectaron 27 truchas del Arroyo San Rafael en Rancho Mike's Sky de la Cuenca del San Rafael, (26 de Enero del 2011). Para la recolecta de truchas se utilizó un equipo de electropesca Smith Root 15-B POW (110V CA).

Una vez recolectadas las truchas se guardaron en bolsas de plástico individuales, etiquetadas y se guardaron en hielo seco para su transporte. Posteriormente se almacenaron a -80°C en el ultracongelador del Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias, UABC.

Al realizar la disección de cada una de las truchas se obtuvo el hígado y el corazón, guardándolos en tubos con tapa, marcado cada uno y conservándolos a -45°C en un ultracongelador REVCO Ultima II, hasta la realización de la homogenización de los tejidos.

La homogenización de los tejidos se realizó individualmente con un homogenizador manual de vidrio, en uno a dos volúmenes de una solución Tris-HCl 0.1M pH 8, con NAD, NADP y PVP (100:0.1:0.1:1;v:w:w:w) (Lester 1983).

Una vez homogenizadas las muestras se pesó cada uno de los tubos, en una balanza Mettler AE200, igualando todos al peso que se obtuvo menor, posteriormente se centrifugaron a 11752 g (12000 rpm) durante 25 minutos, en una centrifuga Eppendorf 5415D, separando los sobrenadantes por decantación, tomando 90 µl y añadiendo 10 µl de azul de bromofenol al 5%, conservándose a -45°C, hasta el proceso electroforético.

Antes del proceso electroforético con las muestras de los organismos se procedió a estandarizar el método de alozimas. Para la técnica de alozimas se utilizó electroforesis vertical (Chávez-Romo et al. 2009; Paz-García et al. 2009), probando con los 3 amortiguadores estandarizados en el periodo 2000 - 2001 (Tabla 3) y TME pH 7.8 con bis-poliacrilamida (Anexo II).

Una vez estandarizados los protocolos se procedió a analizar las poblaciones de las truchas recolectadas. Las condiciones electroforéticas

fueron de 200V, 11 y 12 mA, 15 W, durante 4 a 5:30 horas y de 200V, 15 mA, 15 W durante 20 minutos, reduciendo a 12 mA por 3:30 y 4 horas (Tabla 5).

Tabla 5. Relación de las condiciones eléctricas de electroforesis de los sistemas enzimáticos y los tejidos empleados en cada uno de ellos, en trucha arcoiris de Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2010-2011.

<i>No</i>	<i>ENZIMA</i>	<i>ABREV.</i>	<i>TME</i> <i>Ph7.8</i>	<i>TEJIDOS</i>	<i>CONDICIONES DE ELECTROFORESIS POR GEL</i>
1	ESTERASAS	<i>EST-1</i>	2 pasos	HIGADO	200V - 15mA -15W-20min 200V-12mA -15W-3:30hrs
2	ESTERASAS	<i>EST-2</i>	2 pasos	HIGADO	200V - 15mA -15W-20min 200V-12mA -15W-3:30hrs
3	GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA	<i>G6PDH-1</i>	2 pasos	HIGADO	200V - 15mA -15W-20min 200V-11mA -15W- 4 hrs
4	GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA	<i>G6PDH-2</i>	2 pasos	HIGADO	200V - 15mA -15W-20min 200V-11mA -15W- 4 hrs
5	L-LACTATO DESHIDROGENASA	<i>LDH-1</i>	1 paso	CORAZON	200V -11mA -15W-5:30 hrs
6	L-LACTATO DESHIDROGENASA	<i>LDH-2</i>	1 paso	CORAZON	200V -11mA -15W-5:30 hrs
7	MALATO DESHIDROGENASA	<i>MDH-1</i>	2 pasos	HIGADO	200V - 15mA -15W-20min 200V-11mA -15W-3:30hrs
8	MALATO DESHIDROGENASA	<i>MDH-2</i>	2 pasos	HIGADO	200V - 15mA -15W-20min 200V-11mA -15W-3:30hrs
9	FOSFOGLUCOMUTASA	<i>PGM-1</i>	1 paso	HIGADO	200V - 12mA -15W- 4 hrs
10	FOSFOGLUCOMUTASA	<i>PGM-2</i>	1 paso	HIGADO	200V - 12mA -15W- 4 hrs

ANALISIS DE DATOS

Los genotipos obtenidos directamente de los zimogramas fueron interpretados utilizando la designación alélicas A, B, C, etc., todo ello para describir el alelo que ha alcanzado la distancia mayor al ánodo desde el origen. En el caso de sistemas que presentan más de un locus en el zimograma, éstos fueron numerados en orden ascendente, desde los más anódicos hasta los más catódicos. Se nombran como homocigotos, a aquellos individuos que revelan una sola banda coloreada con determinada movilidad mientras que los heterocigotos son aquellos individuos que dependiendo de la estructura cuaternaria de la enzima (Fig. 3), presentaban dos bandas para los monoméricos, tres bandas para los diméricos, cuatro bandas para los triméricos y cinco bandas para los tetraméricos (Harris y Hopkinson 1976). Los alelos que su frecuencia es menor a 0.01 se consideran como raros (Bulmer 1971, De la Rosa Vélez 1986).

Los genotipos designados se utilizarán en los programas genéticos computacionales como BIOSYS-1 (Swofford y Selander 1981), GENEPOP (Raymond y Rousset 1994) para estimar el polimorfismo, la diversidad genética, equilibrio de Hardy-Weinberg, la distancia genética por el método

reportado por Nei (1978) y el grado de diferenciación entre las poblaciones mediante el Estadístico F (Wright 1965, 1978).



Fig. 3. Representación Esquemática de la obtención de genotipos directamente de los zimogramas, a los lados los alelos A y B, en medio los heterocigotos, de arriba hacia abajo representa la estructura cuaternaria tetramérica, dimérica y monomérica.

RESULTADOS

A) Periodo 2000 -2001

Para las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001 se obtuvieron 12 loci polimórficos:

G6PDH-1, G6PDH-2, G3PDH-1, MDH-1, MDH-2, PGM-1, LDH-1, LDH-2, SOD-1, GPI-1, ACP-1 y EST-1 (Tabla 6) (Anexo IV)

En algunos casos se observa la presencia de un solo alelo, siendo éste el alelo B, en las poblaciones La Grulla (cuenca Santo Domingo) en el locus *G6PDH-1*, Mike's Sky (cuenta San Rafael) en el locus *GPI-1* y Garet (cuenca San Rafael) en el locus *PGM-1* (Tabla 6).

En la población San Antonio (cuenca Santo Domingo) se observa mayor frecuencia alélica, en el alelo A en el locus *PGM-1* (0.833) en comparación con Garet (cuenca San Rafael) que carece de este alelo, siendo el valor mas bajo de 0.250 en Mike's Sky (cuenca Sam Rafael) y el valor mas alto 0.500 en l Potrero (cuenca Santo Domingo) (Tabla 6).

Para la Cuenca San Rafael se observa una mayor frecuencia para el alelo A en el locus *LDH-1* para la población “Intermedia”, con un valor de 0.722 y el frecuencia menor es de 0.231 en La Grulla (cuenca Santo Domingo) (Tabla 6).

En la cuenca San Rafael en el loci *ACP-1* en el alelo A, en la población del Mike’s Sky la frecuencia para ese alelo es de 0.111, mientras que en Garet es de 0.611 (Tabla 6).

Al comparar la heterocigosis observadas y esperadas en la cuenca Santo Domingo se aprecia una disminución en la heterocigosis observadas en Potrero en los todos los loci con excepción del locus *LDH-2*, en San Antonio en los todos los loci, en La Grulla en los loci *G6PDH-1*, *G3PDH-1*, *MDH-2*, *PGM-1*, *LDH-1* Y *ACP-1* (Tabla 6).

En la cuenca San Rafael la heterocigosis observada es menor a la esperada en Mike’s Sky en todos los loci con excepción de *ACP-1* y *SOD-1*, en Rancho Garet en todos los loci a excepcion de *SOD-1* y *GPI-1* donde los valores de heterocigosis observada y esperada son iguales, en el “Intermedio” tambien en todos los loci con excepción de *SOD-1* (Tabla 6).

Se presenta ausencia de heterocigotos en las población de la cuenca Santo Domingo en El Potrero en los loci *G6PDH-1* y *G6PDH-2* y en La Grulla en los loci *LDH-1*, *G6PDH-1* y *PGM-1* (Tabla 6).

En la cuenca San Rafael también se presenta ausencia de heterocigotos, en la población Mike's Sky en los loci *GPI-1* y *PGM-1*, en Garet en los loci *G3PDH-1* y *PGM-1*, mientras que en la población "intermedia" se presenta en los loci *PGM-1* y *G6PDH-2* (Tabla 6).

Para el estadístico D, que indica la deficiencia de heterocigotos, un valor positivo indica un exceso y uno negativo una deficiencia de heterocigotos (Abreu-Grobois 1983). Encontrando un exceso de heterocigotos en las poblaciones de la cuenca San Rafael Mike's Sky en *SOD-1* y *ACP-1*, en Garet en el locus *SOD-1*, "intermedia" en los loci *MDH-1* y *SOD-1* (Tabla 6).

En las poblaciones de cuenca Santo Domingo, se encontró valores positivos en el estadístico D indicando un exceso de heterocigotos, en El Potrero en el locus *LDH-2*, y La Grulla en los loci *G6PDH-2*, *MDH-1*, *LDH-2*, *SOD-1*, *GPI-1*, *ACP-1* y *EST-1* y en San Antonio en todos los loci son valores negativos (Tabla 6).

Tabla 6. Frecuencias alélicas, Heterocigosis Observada y Esperada, Estadístico D,, X^2 con un grado de libertad, en trucha arcoiris de Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001.

<i>LOCUS</i>	<i>ALELO</i>	<i>MIKE'S SKY</i>	<i>GARET</i>	<i>INTER-MEDIO</i>	<i>POTRERO</i>	<i>SAN ANT.</i>	<i>GRULLA</i>
<i>G6PDH-1</i>	N	8	8	10	12	12	2
	A	0.188	0.313	0.300	0.250	0.292	0.000
	B	0.813	0.688	0.700	0.750	0.708	1.000
	He	0.325	0.458	0.442	0.391	0.431	0.000
	Ho	0.125	0.125	0.200	0.000	0.083	0.000
	D	-0.615	-0.727	-0.548	-1.000	-0.807	0.000
	X^2 (g.l.)	4.308 (1)	5.091 (1)	3.488 (1)	13.976 (1)	8.874 (1)	0.000
<i>G6PDH-2</i>	N	7	8	9	11	13	13
	A	0.429	0.688	0.778	0.727	0.654	0.308
	B	0.571	0.313	0.222	0.273	0.346	0.692
	He	0.527	0.458	0.366	0.416	0.471	0.443
	Ho	0.286	0.125	0.000	0.000	0.231	0.615
	D	- 0.458	-0.727	-1.000	-1.000	-0.510	0.389
	X^2 (g.l.)	1.729 (1)	5.091 (1)	11.487 (1)	12.800 (1)	3.728 (1)	2.196 (1)
<i>G3PDH-1</i>	N	9	9	10	11	13	9
	A	0.500	0.444	0.700	0.636	0.577	0.444
	B	0.500	0.556	0.300	0.364	0.423	0.556
	He	0.529	0.523	0.442	0.485	0.508	0.523
	Ho	0.333	0.000	0.400	0.364	0.231	0.222
	D	-0.370	-1.000	-0.095	-0.250	-0.545	-0.575
	X^2 (g.l.)	1.389 (1)	10.159 (1)	0.105 (1)	0.769 (1)	4.208 (1)	3.359 (1)
<i>MDH-1</i>	N	8	9	10	14	14	13
	A	0.500	0.500	0.650	0.357	0.214	0.462
	B	0.500	0.500	0.350	0.643	0.786	0.538
	He	0.533	0.529	0.479	0.476	0.349	0.517
	Ho	0.250	0.333	0.500	0.429	0.286	0.769
	D	-0.531	-0.370	0.044	-0.100	-0.182	0.488
	X^2 (g.l.)	2.580 (1)	1.389 (1)	0.022 (1)	0.153 (1)	0.540 (1)	3.359 (1)

<i>MDH-2</i>	N	8	9	10	14	14	13
	A	0.438	0.500	0.500	0.571	0.357	0.654
	B	0.563	0.500	0.500	0.429	0.643	0.346
	He	0.525	0.529	0.526	0.508	0.476	0.471
	Ho	0.375	0.111	0.200	0.429	0.429	0.231
	D	-0.286	-0.790	-0.620	-0.156	-0.100	-0.510
	X² (g.l.)	.750 (1)	6.321 (1)	4.271 (1)	0.369 (1)	0.153 (1)	3.728 (1)
<i>PGM-1</i>	N	4	3	3	7	5	10
	A	0.250	0.000	0.429	0.500	0.833	0.400
	B	0.750	1.000	0.571	0.500	0.167	0.600
	He	0.429	0.000	0.527	0.556	0.333	0.505
	Ho	0.000	0.000	0.000	0.200	0.333	0.000
	D	-1.000	0.000	-1.000	-0.640	0.000	-1.000
	X² (g.l.)	7.200 (1)	0.000	8.229 (1)	2.560 (1)	0.000 (1)	11.221 (1)
<i>LDH-1</i>	N	8	9	9	13	13	13
	A	0.500	0.667	0.722	0.385	0.462	0.231
	B	0.500	0.333	0.278	0.615	0.538	0.769
	He	0.533	0.471	0.425	0.492	0.517	0.369
	Ho	0.250	0.222	0.111	0.154	0.154	0.000
	D	-0.531	-0.528	-0.738	-0.688	-0.702	-1.000
	X² (g.l.)	2.580 (1)	2.917 (1)	5.908 (1)	6.722 (1)	6.955 (1)	15.158 (1)
<i>LDH-2</i>	N	8	9	9	13	13	13
	A	0.375	0.500	0.333	0.423	0.462	0.154
	B	0.625	0.500	0.667	0.577	0.538	0.846
	He	0.500	0.529	0.471	0.508	0.517	0.271
	Ho	0.250	0.333	0.444	0.692	0.308	0.308
	D	-0.500	-0.370	-0.056	0.364	-0.405	0.136
	X² (g.l.)	2.333 (1)	1.389 (1)	0.032 (1)	0.032 (1)	2.310 (1)	0.312 (1)
<i>SOD-1</i>	N	9	8	9	13	14	13
	B	0.333	0.438	0.333	0.385	0.464	0.385
	C	0.667	0.563	0.667	0.615	0.536	0.615
	He	0.471	0.525	0.471	0.492	0.516	0.492
	Ho	0.667	0.625	0.667	0.462	0.071	0.769

	D	0.417	0.190	0.417	-0.063	-0.862	0.563
	X² (g.l.)	1.818 (1)	0.333 (1)	1.818 (1)	0.056 (1)	11.200 (1)	4.500 (1)
GPI-1	N	3	3	9	9	12	13
	A	0.000	0.167	0.333	0.333	0.417	0.346
	B	1.000	0.833	0.667	0.667	0.583	0.654
	He	0.000	0.333	0.471	0.471	0.507	0.471
	Ho	0.000	0.333	0.444	0.444	0.500	0.692
	D	0.000	0.000	-0.056	-0.056	-0.014	0.471
	X² (g.l.)	0.000	0.000	0.032 (1)	0.032 (1)	0.003 (1)	3.176 (1)
ACP-1	N	9	9	10	14	14	13
	A	0.111	0.611	0.550	0.429	0.393	0.462
	B	0.889	0.389	0.450	0.571	0.607	0.538
	He	0.209	0.503	0.521	0.508	0.495	0.517
	Ho	0.222	0.333	0.500	0.143	0.357	0.462
	D	0.062	-0.337	-0.040	-0.718	-0.278	0.106
	X² (g.l.)	.067 (1)	1.171 (1)	0.018 (1)	7.78 (1)	1.175 (1)	0.160 (1)
EST-1	N	9	9	10	14	14	13
	A	0.389	0.444	0.350	0.357	0.464	0.346
	B	0.611	0.556	0.650	0.643	0.536	0.654
	He	0.503	0.523	0.479	0.476	0.516	0.471
	Ho	0.333	0.222	0.300	0.286	0.500	0.538
	D	-0.338	-0.575	-0.374	-0.400	-0.031	0.144
	X² (g.l.)	1.171 (1)	3.359 (1)	1.588 (1)	2.447 (1)	0.014 (1)	0.297 (1)

Tabla 7. Similitud genética, debajo de la diagonal, y distancia genética, arriba de la diagonal (Nei 1978), en trucha arcoiris de Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001.

POBLACION	1	2	3	4	5	6
1.POTRERO	-----	0.000	0.023	0.026	0.000	0.026
2. SAN ANTONIO	1.000	-----	0.078	0.109	0.043	0.075
3. LA GRULLA	0.977	0.925	-----	0.080	0.071	0.032
4. GARET	0.974	0.897	0.923	-----	0.005	0.021
5. INTERMEDIO	1.000	0.958	0.931	0.995	-----	0.040
6. MIKE'S SKY	0.980	0.928	0.968	0.979	0.960	-----

La distancia génica es 0 (cero) en las poblaciones Potrero - Intermedio, y en Potrero - San Antonio, siendo la distancia más grande entre las poblaciones Garet - San Antonio con 0.109 (Tabla 7).

La similitud genética más baja es entre las poblaciones Garet-San Antonio con 0.897 y las que presentan similitud de 1.000 son las poblaciones San Antonio-Potrero y Potrero-Intermedio (Tabla 7).

La estructura de la población y el grado de diferenciación genética entre las poblaciones de *O. mykiss nelsoni* se estimó mediante los índices de fijación o estadísticos F de Wright (Wright 1978). Debido a que las diferencias en las frecuencias génicas entre poblaciones subdivididas produce una deficiencia de heterocigotos, comparada con una población aleatoria, estas diferencias pueden ser medidas mediante tres parámetros: F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} (Wright 1978).

El índice F_{IS} o *coeficiente de endogamia*, mide la reducción de la heterocigocidad dentro de las subpoblaciones. Los valores positivos (1.000) de este índice por locus y para todos los loci, significa que existe una deficiencia de heterocigotos y valores negativos (-1.000) indica exceso de heterocigotos con respecto al modelo de Hardy-Weinberg.

Los valores mas altos del coeficiente de endogamia es en los loci *PGM-1* (0.8469) y *G6PDH-1* (0.7440) y los mas bajos fueron en los loci *GPI-1* (-0.1678) y *SOD-1* (-0.0894), el promedio para todos los loci es de 0.3115 (Tabla 8).

El índice F_{IT} , también conocido como el *coeficiente de endogamia total*, incluye las contribuciones de los apareamientos no aleatorios y la

subdivisión de las poblaciones debidas a la deriva génica que provocan reducciones en la heterocidad. Para este índice un valor máximo de 1.000 indica que no existen poblaciones y con un mínimo de -1.000, que las poblaciones están completamente aisladas.

Los valores mas altos de F_{IT} es en los loci *PGM-1* (0.8704) y *G6PDH-1* (0.7499), mientras que los valores mas bajos se encontraron en los loci *GPI-1* (-0.1136) y *SOD-1* (-0.0788). El valor de F_{IT} para todos los loci es 0.3567 (Tabla 8).

El índice F_{ST} es denominado *índice de fijación* y es empleado para comparar el grado de diferenciación genética entre poblaciones. Los valores de este indice van de 0.000 que indica flujo de genes entre la población y 1.000 indicando fijación de alelos alternativos en la población.

El valor mas alto del indice de fijación es de 0.1539 en el locus *PGM-1*, y los mas bajos es de 0.0097 en los loci *SOD-1* y *EST-1*. El valor de F_{ST} para todos los loci es 0.0657 (Tabla 8).

Tabla 8. Valores de los índices $F_{(IS)}$, $F_{(IT)}$ y $F_{(ST)}$ para todos los loci en las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001.

LOCUS	F (IS)	F (ST)	F (IT)
G6PDH-1	0.7440	0.0229	0.7499
G6PDH-2	0.4566	0.1269	0.5256
G3PDH-1	0.4488	0.0356	0.4684
MDH-1	0.0213	0.0785	0.0981
MDH-2	0.3560	0.0407	0.3822
PGM-1	0.8469	0.1539	0.8704
LDH-1	0.6880	0.1092	0.7220
LDH-2	0.0859	0.0606	0.1413
SOD-1	- 0.0894	0.0097	- 0.0788
GPI-1	- 0.1678	0.0464	- 0.1136
EST-1	0.2012	0.0097	0.2090
ACP-1	0.2581	0.0821	0.3190
LOCI	<i>0.3115</i>	<i>0.0657</i>	<i>0.3567</i>

Los estimadores promedio de la variabilidad genética para las poblaciones de *O. mykiss nelsoni*, el porcentaje de loci polimórficos es del 100%, para las poblaciones del Intermedio, Potrero, San Antonio y La Grulla y 90.90 % para el Mike's Sky y Garet (Tabla 9).

En relación a la heterocidad observada promedio, ésta siempre fue menor a la esperada, en todas las poblaciones de trucha de la Sierra San Pedro Mártir, el valor mas alto es para el “intermedio” siendo 0.379 (0.062) y el valor más bajo para San Antonio de 0.302 (0.043) (Tabla 9).

Tabla 9. Tamaño de muestra por locus, número de alelos por locus, el porcentaje de polimorfismo y los niveles de heterocigosis, en las poblaciones trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir, en el periodo 2000-2001.

<i>POBLACION</i>	<i>TAMAÑO DE MUESTRA POR LOCUS</i>	<i>NUMERO DE ALELOS POR LOCUS</i>	<i>LOCI POLIMORFICOS %</i>	<i>HETEROCIDAD OBSERVADA</i>	<i>HETEROCIDAD ESPERADA HDY WBG</i>
<i>MIKE'S SKY</i>	7.6 (0.6)	2.1 (0.2)	90.90	0.304 (0.065)	0.451 (0.058)
<i>GARET</i>	7.8 (0.7)	2.0 (0.1)	90.90	0.309 (0.079)	0.468 (0.053)
<i>INTERMEDIO</i>	9.4 (0.3)	2.1 (0.1)	100	0.379 (0.062)	0.493 (0.015)
<i>POTRERO</i>	12.0 (0.8)	2.2 (0.2)	100	0.350 (0.049)	0.518 (0.022)
<i>SAN ANTONIO</i>	12.50 (1.0)	2.2 (0.0)	100	0.302 (0.043)	0.497 (0.031)
<i>LA GRULLA</i>	12.4 (0.4)	2.0 (0.0)	100	0.377 (0.087)	0.464 (0.023)

B) Periodo 2010-2011

Se obtuvieron un total de 10 loci polimorficos para las muestras de trucha obtenidas en el periodo 2010-2011, estos son:

EST-1, EST-2, G6PDH-1, G6PDH-2, MDH-1, MDH-2,
PGM-1, PGM-2, LDH-1 y LDH-2 (Anexo V).

Solo *LDH-1* y *LDH-2* se expresaron mejor en corazón y el resto de los loci en hígado.

En todos los loci obtenidos se utilizo el amortiguador TME pH 7.8, en corridas de un paso se obtuvieron: *PGM-1, PGM-2, LDH-1* y *LDH-2*, con una duración de electroforesis de 4 a 5:30 horas, 200 V, 11 y 12 mA y 15 W. Las corridas en dos pasos para los loci restantes fueron a 200V, 15 mA, 15 W durante 20 minutos, reduciendo a 12 mA por 3:30 horas en los loci: *EST-1* y *EST-2*, a 11 mA por 3:30 horas los loci: *MDH-1* y *MDH-2*, y por 4 horas los loci: *G6PDH-1* y *G6PDH-2* (Tabla 5).

En la población del Arroyo San Antonio (cuenca Santo Domingo) la heterocigosis observada es mas baja que en la heterocigosis esperada en todos los loci a excepción de los loci *MDH-1* y *LDH-2* donde la heterocigosis observada es mayor a la heterocigosis esperada (Tabla 10).

Para la población Mike's Sky (cuenca San Rafael) se mantienen similares la heterocigosis observada y la heterocigosis esperada en los loci *PGM-1*, *PGM-2* y *G6PDH-1*. Los loci en donde la heterocigosis observada es mayor que la heterocigosis esperada son: *EST-1*, *EST-2*, *G6PDH-2*, *MDH-1*, *MDH-2* y *LDH-2*, siendo solo *LDH-1* el loci donde se presenta menor la heterocigosis observada que la Esperada (Tabla 10).

El Estadístico D para la población San Antonio indica una deficiencia de heterocigotos en la población en los loci *EST-1*, *EST-2*, *PGM-1*, *PGM-2*, *G6PDH-1*, *G6PDH-2*, *MDH-2*, *LDH-1* y solo en *MDH-1* y *LDH-2* señala exceso de heterocigotos (Tabla 10).

Para la población Mike's Sky se encontró una deficiencia de heterocigotos solo en los loci *PGM-1*, *G6PDH-1* y *LDH-1*, indicando en los siete loci restantes exceso de heterocigotos (Tabla 10).

La heterocigosis observada en promedio de los 10 loci para la población del Arroyo San Antonio es de 0.368 (0.060) menor a la heterocigosis esperada (0.470 [0.019]) y el número de muestra por locus es de 16.7 (1.1) (Tabla 11).

En la población Mike's Sky la heterocigosis observada es de 0.586 (0.047) mayor que la heterocigosis esperada (0.480 [0.011]), y el número de muestra por locus es de 24.8 (0.8) (Tabla 11).

Se muestra una deficiencia de heterocigotos en la población San Antonio en los loci: *EST-1*, *PGM-1*, *PGM-2*, *G6PDH-1*, *MDH-2* y *LDH-1* y en los loci *MDH-1* y *LDH-2* se observan exceso de heterocigotos (Tabla 12).

En la población del Mike's Sky en los loci *EST-1*, *EST-2*, *G6PDH-2*, *MDH-1*, *MDH-2* y *LDH-2* se observa un exceso de heterocigotos, en los loci *PGM-1*, *PGM-2* y *G6PDH-1* se mantienen en equilibrio los heterocigotos observados con respecto a los esperados, encontrando una deficiencia de heterocigotos en el locus *LDH-1* (Tabla 12).

El índice de fijación (F) en la población del Arroyo San Antonio mas alto es de 0.616 en el locus *PGM-1* y el menor es de -0.556 en *MDH-1* y para la población Mike's Sky el índice de fijación mas alto es de 0.162 en el loci *LDH-1* y de -0.586 para *G6PDH-2* (Tabla 12).

El coeficiente de similaridad de Nei (1978) entre las poblaciones San Antonio-Mike's Sky es de 0.986 y la distancia genética de 0.014 (Tabla 13).

Tabla 10. Relación de numero de muestra, la frecuencia de cada uno de los alelos, la Heterocigosis Observada, la Heterocigosis Esperada, Estadístico D y X^2 para cada uno de los loci de las poblaciones de trucha arcoiris de las localidades San Antonio y Mike's Sky de la Serra San Pedro Mártir, en el periodo 2010-2011.

Locus	San Antonio 2011	Mike's Sky 2011
<i>EST-1</i>		
(N)	19	24
A	0.368	0.500
B	0.632	0.500
He	0.478	0.511
Ho	0.211	0.667
D	-0.560	0.306
X^2	6.27	2.34
<i>EST-2</i>		
(N)	11	24
A	0.500	0.458
B	0.500	0.542
He	0.524	0.507
Ho	0.455	0.750
D	-0.132	0.479
X^2	0.21	5.74
<i>PGM-1</i>		
(N)	19	27

A	0.289	0.278
B	0.711	0.722
He	0.422	0.409
Ho	0.158	0.407
D	-0.626	-0.0003
X ²	7.86	0.000
<i>PGM-2</i>		
(N)	15	16
A	0.421	0.389
B	0.579	0.611
He	0.331	0.462
Ho	0.133	0.462
D	-0.597	0.000
X ²	5.73	0.000
<i>G6PDH-1</i>		
(N)	19	27
A	0.421	0.389
B	0.579	0.611
He	0.501	0.484
Ho	0.316	0.481
D	-0.369	-0.0006
X ²	2.73	0.000
<i>G6PDH-2</i>		
(N)	12	24
A	0.292	0.479
B	0.708	0.521
He	0.431	0.510
Ho	0.417	0.792
D	-0.034	0.553
X ²	0.01	7.66
<i>MDH-1</i>		
(N)	21	27
A	0.357	0.630
B	0.643	0.370
He	0.470	0.475
Ho	0.714	0.667
D	0.519	0.403
X ²	5.92	4.55
<i>MDH-2</i>		
(N)	19	27
A	0.553	0.519
B	0.447	0.481
He	0.508	0.509
Ho	0.263	0.667
D	-0.482	0.310

X ²	4.65	2.70
LDH-1		
(N)	17	22
A	0.500	0.682
B	0.500	0.318
He	0.515	0.444
Ho	0.412	0.364
D	-0.201	-0.181
X ²	0.73	0.75
LDH-2		
(N)	15	20
A	0.500	0.400
B	0.500	0.600
He	0.517	0.492
Ho	0.600	0.600
D	0.160	0.219
X ²	0.41	1.01

Tabla 11. Relación de el tamaño muestra por locus, numero de alelos por locus, porcentaje de loci polimorficos, Heterocigosis Observada y Heterocigosis Esperada, en promedio de los 10 loci para las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir, en las localidades San Antonio y Mike's Sky de la SSPM, en el periodo 2010-2011.

<i>Población 2011</i>	<i>Tamaño de muestra por locus</i>	<i>Numero de alelos por locus</i>	<i>Porcentaje de loci polimorficos</i>	<i>Heterocigosis Observada</i>	<i>Heterocigosis Esperada Hdy Wbg</i>
<i>San Antonio</i>	16.7 (1.1)	2.0	100	0.368 (0.060)	0.470 (0.019)
<i>Mike's Sky</i>	24.8 (0.8)	2.0	100	0.586 (0.047)	0.480 (0.011)

En cuanto a los Estadísticos F para las dos localidades, encontramos el Coeficiente de Endogamia F_{IS} , la cual mide la reducción de la heterocigosidad dentro de las poblaciones, en el loci *PGM-1* se encontró el valor mas alto 0.2493 y en el loci *MDH-1* valor mas bajo -0.4841. El F_{IS} promedio para todos los loci es de -0.0785 (Tabla 14).

Tabla 12. Coeficientes para deficiencia o excesos de heterocigotos en las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir, en las localidades San Antonio y Mike's Sky, en el periodo 2010-2011.

2011	<i>San Antonio</i>			<i>Mike's Sky</i>		
Locus	Het Obs	Het Esp	Indice de Fijacion (F)	Het Obs	Het Esp	Indice de Fijacion (F)
<i>EST-1</i>	4	9.081	0.548	16	12.255	-0.333
<i>EST-2</i>	5	5.762	0.091	18	12.170	-0.510
<i>PGM-1</i>	3	8.027	0.616	11	11.038	-0.015
<i>PGM-2</i>	2	4.966	0.583	12	12.000	-0.020
<i>G6PDH-1</i>	6	9.514	0.352	13	13.075	-0.013
<i>G6PDH-2</i>	5	5.174	-0.008	19	12.234	-0.586
<i>MDH-1</i>	15	9.878	-0.556	18	12.830	-0.429
<i>MDH-2</i>	5	9.649	0.468	18	13.736	-0.335
<i>LDH-1</i>	7	8.758	0.176	8	9.767	0.162
<i>LDH-2</i>	9	7.759	-0.200	12	9.846	-0.250

Tabla 13. Coeficientes de Similaridad bajo la diagonal y distancia genética Arriba de la diagonal, Nei (1978), en las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Martit, en las localidades San Antonio y Mike Sky, en el periodo 2010-2011.

Población	San Antonio	Mike's Sky
San Antonio	*****	0.014
Mike's Sky	0.986	*****

El Coeficiente de Fijación F_{ST} , representa el efecto sobre las frecuencias genotípicas, debido a la existencia de estructura poblacional, valores de 0.000 indica que no hay fijación de alelos y valores de 1.000 que hay fijación completa de alelos. El valor en todos los loci es muy cercano al 0 y el valor promedio para todos los loci es de 0.0197 (Tabla 14).

El Coeficiente de Endogamia Total F_{IT} , es la medida mas completa de endogamia por que toma en consideración ambos efectos: la falta de apareamiento azaroso dentro de las poblaciones F_{IS} y los efectos de la subdivisión poblacional F_{ST} debido a la deriva génica que provocan reducciones en la heterocigosidad. Valores de 1.000 indican que no existen

subpoblaciones y valores de -1.000 que las poblaciones están completamente aisladas.

El valor más alto de F_{IT} es de 0.2494 y en el locus *PGM-1* y el valor menor de -0.3756 en el locus *MDH-1*. El F_{IT} promedio para todos los loci es de -0.0572 (Tabla 14).

Tabla 14. Estadísticos F para todos los loci en las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Martín, en las localidades San Antonio y Mike's Sky, en el periodo 2010-2011.

<i>Locus</i>	<i>F(IS)</i>	<i>F(ST)</i>	<i>F(IT)</i>
<i>EST-1</i>	0.0404	0.0173	0.0570
<i>EST-2</i>	-0.3206	0.0015	-0.3186
<i>PGM-1</i>	0.2493	0.0002	0.2494
<i>PGM-2</i>	0.1551	0.0239	0.1753
<i>G6PDH-1</i>	0.1401	0.0010	0.1410
<i>G6PDH-2</i>	-0.4170	0.0321	-0.3714
<i>MDH-1</i>	-0.4841	0.0731	-0.3756
<i>MDH-2</i>	-0.0054	0.0011	-0.0043
<i>LDH-1</i>	0.1688	0.0339	0.1970
<i>LDH-2</i>	-0.2281	0.0099	-0.2159
<i>PROM</i>	-0.0785	0.0197	-0.0572

C) Comparación de los Periodos 2001-2011

De las poblaciones de Trucha Arcoiris se compararon las muestras obtenidas en el periodo 2000-2001 y las del periodo 2010-2011, de las localidades San Antonio y Mike's Sky de la Sierra San Pedro Mártir, obteniendo 8 loci polimorficos comparables en los dos periodos:

EST-1, PGM-1, G6PDH-1, G6PDH-2, MDH-1, MDH-2,
LDH-1 y LDH-2.

La heterocigosis observada en todos los loci fue menor que la heterocigosis esperada en el periodo 2001 en la población Mike's Sky y para el periodo 2011 la heterocigosis observada es mayor en los loci *EST-1, G6PDH-1, G6PDH-2, PGM-1, MDH-1, MDH-2* y *LDH-2*, en el loci *LDH-1* la heterocigosis esperada es menor que la observada (Tabla 15).

Para la población del Arroyo San Antonio en el periodo 2001, el numero de muestra vario de 5 a 14, mientras que para el periodo 2011 fue de 12 a 21. En el periodo 2000-2001 se obtuvo menor la heterocigosis observada que la esperada para todos los loci. En el periodo 2010-2011 en

los locus *MDH-1* y *LDH-2* la heterocigosis observada es mayor que la esperada y para el resto de los loci la heterocigosis observada menor que la esperada. (Tabla 15).

La variabilidad genética promedio de los ocho loci se encontró que el tamaño de muestra por locus en el población Mike's Sky 2000-2001 es de 7.5 (0.5) y en el 2010-2011 de 24.6 (1.1), para la población del Arroyo San Antonio 2000-2001 es de 12.0 (1.3) y en el 2010-2011 de 17.5 (1.0) (Tabla 16).

El número de alelos por locus en las poblaciones Mike's Sky y San Antonio en los dos periodos es de 2.0 (0.0). El porcentaje de loci polimorficos es del 100% en todas las poblaciones (Tabla 16).

La heterocigosis observada en la población del Mike's Sky del periodo 2010-2011 es de 0.613 (0.052) mayor a la heterocigosis esperada, en el periodo 2000-2001 la heterocigosis observada es de 0.251 (0.049) menor a la heterocigosis esperada (Tabla 16).

La heterocigosis observada en la población San Antonio en los dos periodos es menor a la heterocigosis esperada (Tabla 16).

Los heterocigotos observados en los ocho loci para la población Mike's Sky 2000-2001 es menor a los heterocigotos esperados, al contrario para el periodo 2010-2011 en donde se observo que solo en el locus LDH-1 los heterocigotos observados son menores a los heterocigotos esperados, para el resto de los loci los heterocigotos observados son mayores que los heterocigotos esperados (Tabla 17).

Para la población de San Antonio en el periodo 2000-2001 los heterocigotos observados son menor que los esperados en los loci: *G6PDH-1*, *G6PDH-2*, *MDH-1*, *MDH-2*, *LDH-1* y *LDH-2*, mientras que para el 2010-2011 también son menores los heterocigotos observados que los esperados en los loci: *EST-1*, *PGM-1*, *G6PDH-1*, *MDH-2* y *LDH-1*, presentando mas heterocigos observados que los esperados en los loci *MDH-1* y *LDH-2* (Tabla 18).

Tabla 15. Relación de numero de muestra, la frecuencia de cada uno de los alelos, la Heterocigosis Observada, la Heterocigosis Esperada, Estadístico D y X^2 para cada uno de los loci de las poblaciones de trucha arcoiris de las localidades San Antonio y Mike Sky de la Serra San Pedro Mártir, en los muestreos 2000-2001 y 2010-2011.

Locus	Mike's Sky 2001	San Antonio 2001	Mike's Sky 2011	San Antonio 2011
<i>EST-1</i>				
(N)	9	14	24	19
A	0.389	0.464	0.500	0.368
B	0.611	0.536	0.500	0.632
He	0.503	0.516	0.511	0.478
Ho	0.333	0.500	0.667	0.211
D	-0.338	0.031	0.306	-0.560
X^2	1.171 (1)	0.014 (1)	2.340	6.270
<i>PGM-1</i>				
(N)	4	5	24	19
A	0.250	0.833	0.458	0.289
B	0.750	0.167	0.542	0.711
He	0.429	0.333	0.507	0.422
Ho	0.000	0.000	0.750	0.158
D	-1.000	-1.000	0.479	-0.626
X^2	7.200 (1)	8.229 (1)	5.740	7.860
<i>G6PDH-1</i>				
(N)	8	12	27	19
A	0.188	0.292	0.389	0.421
B	0.813	0.708	0.611	0.579
He	0.325	0.431	0.484	0.501
Ho	0.125	0.083	0.481	0.316
D	-0.625	-0.807	-0.006	-0.369
X^2	4.308 (1)	8.874 (1)	0.000	2.730
<i>G6PDH-2</i>				
(N)	7	13	24	12
A	0.429	0.654	0.479	0.292
B	0.571	0.346	0.521	0.708
He	0.527	0.471	0.510	0.431
Ho	0.286	0.231	0.792	0.417
D	-0.458	-0.510	0.553	-0.034
X^2	1.729 (1)	3.728 (1)	7.660	0.010
<i>MDH-1</i>				
(N)	8	14	27	21
A	0.500	0.214	0.630	0.357
B	0.500	0.786	0.370	0.643
He	0.533	0.349	0.475	0.470

Ho	0.250	0.286	0.667	0.714
D	-0.531	-0.182	0.403	0.519
X ²	2.580 (1)	0.540 (1)	4.550	5.920
MDH-2				
(N)	8	14	27	19
A	0.438	0.357	0.519	0.553
B	0.563	0.643	0.481	0.447
He	0.525	0.476	0.509	0.508
Ho	0.375	0.429	0.667	0.263
D	-0.286	-0.100	0.310	-0.482
X ²	0.750 (1)	0.153 (1)	2.700	4.650
LDH-1				
(N)	8	13	22	17
A	0.500	0.462	0.682	0.500
B	0.500	0.538	0.318	0.500
He	0.533	0.517	0.444	0.515
Ho	0.250	0.154	0.364	0.412
D	-0.531	-0.702	-0.181	-0.201
X ²	2.580 (1)	6.955 (1)	0.750	0.730
LDH-2				
(N)	8	13	20	15
A	0.375	0.462	0.400	0.500
B	0.625	0.538	0.600	0.500
He	0.500	0.517	0.492	0.517
Ho	0.250	0.308	0.600	0.600
D	-0.500	-0.405	0.219	0.160
X ²	2.333 (1)	2.310 (1)	1.010	0.411

Tabla 16. Variabilidad Genética en promedio de los siete loci en las poblaciones de Trucha Arcoiris de las localidades San Antonio y Mike Sky en la Sierra San Pedro Martir, en los periodos 2000-2001 y 2010-2011.

<i>Población</i>	<i>Tamaño muestra por locus</i>	<i>Numero de alelos por locus</i>	<i>Porcentaje de loci polimorficos</i>	<i>Het Obs</i>	<i>Het Esp Hdy Wbg</i>
<i>Mike Sky 2001</i>	7.5 (0.5)	2.0	100	0.251 (0.049)	0.530 (0.036)
<i>San Antonio 2001</i>	12.0 (1.3)	2.0	100	0.290 (0.048)	0.451 (0.026)
<i>Mike Sky 2011</i>	24.6 (1.1)	2.0	100	0.613 (0.052)	0.486 (0.011)
<i>San Antonio 2011</i>	17.5 (1.0)	2.0	100	0.399 (0.070)	0.481 (0.012)

Tabla 17. Coeficiente para Deficiencia o Excesos de Heterocigotos, Índice de Fijación, de las Poblaciones de Trucha Arcoiris de las Localidad Mike Sky de la Sierra San Pedro Mártir, en los periodos 2000-2001 y 2010-2011

Mike's Sky 2000-2001				Mike's Sky 2010-2011		
<i>Locus</i>	<i>Het Observ</i>	<i>Het Esperados</i>	<i>Indice de Fijacion (F)</i>	<i>Het Observ</i>	<i>Het Esperados</i>	<i>Indice de Fijacion (F)</i>
<i>EST-1</i>	3	4.529	0.299	16	12.255	-0.333
<i>PGM-1</i>	0	1.714	1.000	12	11.472	-0.066
<i>G6PDH-1</i>	1	2.600	0.590	15	13.453	-0.136
<i>G6PDH-2</i>	3	3.769	0.143	21	12.755	-0.680
<i>MDH-1</i>	2	4.267	0.500	18	12.830	-0.429
<i>MDH-2</i>	3	4.200	0.238	18	13.585	-0.350
<i>LDH-1</i>	2	4.267	0.500	8	9.561	0.143
<i>LDH-2</i>	2	4.000	0.467	13	9.649	-0.384

El índice de Fijación (F), para la población del Mike's Sky en el periodo 2000-2001, varia de 0.143 a 1.000 y para el periodo 2010-2011 de -0.680 a 0.143 (Tabla 17). Mientras que en el Arroyo San Antonio el índice de fijación (F) para el periodo 2000-2001 varia de 0.798 a -0.200 y en periodo 2010-2011 fue de 0.616 a -0.556 (Tabla 18).

El Coeficiente de Similaridad Génica de Nei (1978), mas alto es de 1.000 para las poblaciones Mike's Sky 2001-Mike's Sky 2011 y Mke's Sky 2001-San Antonio 2011. Mientras que el valor mas bajo fue de 0.893 para las poblaciones Mike's Sky 2011-San Antonio 2001. Comparando cada población en los dos periodos tenemos para la población del Arroyo San Antonio 0.916 y para el Mike's Sky 1.00 (Tabla 19).

En el Coeficiente de Distancia Genética de Nei (1978), el valor mas alto es de 0.113 para las poblaciones San Antonio 2001-Mike's Sky 2011, y valor de 0.000 para las poblaciones Mike's Sky 2001-Mike's Sky 2011 y Mike's Sky 2001-San Antonio 2011. Comparando las poblaciones en los dos periodo tenemos 0.088 para la población del Arroyo San Antonio y para el Mike's Sky 0.000 (Tabla 19).

Tabla 18. Coeficiente para Deficiencia o Excesos de Heterocigotos, Índice de Fijación, de las Poblaciones de Trucha Arcoiris de las Localidad San Antonio de la Sierra San Pedro Mártir, en los periodos 2000-2001 y 2010-2011

San Antonio 2000-2001				San Antonio 2010-2011		
<i>Locus</i>	<i>Het Observ</i>	<i>Het Esperados</i>	<i>Indice de Fijacion (F)</i>	<i>Het Observ</i>	<i>Het Esperados</i>	<i>Indice de Fijacion (F)</i>
<i>EST-1</i>	7	7.222	-0.005	4	9.081	0.548
<i>PGM-1</i>	1	1.000	-0.200	3	8.027	0.616
<i>G6PDH-1</i>	1	5.174	0.798	6	9.514	0.352
<i>G6PDH-2</i>	3	6.120	0.490	6	5.760	0.352
<i>MDH-1</i>	4	4.889	0.152	15	9.878	-0.556
<i>MDH-2</i>	6	6.667	0.067	5	9.229	0.443
<i>LDH-1</i>	2	6.720	0.690	7	8.636	0.165
<i>LDH-2</i>	4	6.720	0.381	9	7.222	-0.292

Tabla 19. Coeficientes de Similitud Génica (bajo la diagonal) y Distancia Genética (arriba de la diagonal), Nei (1978) de las poblaciones de Trucha Arcoiris de Mike Sky y San Antonio de la Sierra San Pedro Mártir, en los periodos 2000-2001 y 2010-2011.

<i>Poblaci?n</i>	<i>Mike's Sky 2001</i>	<i>San Antonio 2001</i>	<i>Mike's Sky 2011</i>	<i>San Antonio 2011</i>
<i>Mike's Sky 2001</i>	*****	0.061	0.000	0.000
<i>San Antonio 2001</i>	0.941	*****	0.113	0.088
<i>Mike's Sky 2011</i>	1.000	0.893	*****	0.013
<i>San Antonio 2011</i>	1.000	0.916	0.987	*****

Los Estadísticos F para todos los loci de las localidades San Antonio y Mike's Sky en los periodos 2000-2001 y 2010-2011, encontramos que el Coeficiente de Endogamia F_{IS} mas alto de 0.381 para el locus *LDH-1* y los mas bajo fueron valores negativos para *MDH-1* de -0.088 y para *G6PDH-2* con -0.044, siendo el F_{IS} promedio para todos los loci es de 0.148 (Tabla 20).

El Coeficiente de Fijación F_{ST} mas alto es de 0.239 para el locus *PGM-1* y mas bajo de 0.012 para el locus *EST-1*, el F_{ST} promedio para todos los loci es de 0.064 (Tabla 20).

El Coeficiente de Endogamia Total F_{IT} mayor es de 0.396 para el locus *LDH-1* y el mas bajo de 0.019 para el locus *G6PDH-2*, el F_{IT} promedio para todos los loci es de 0.203 (Tabla 20).

Tabla 20. Estadísticos F para cada locus y promedio para todos los loci, de las poblaciones de Trucha Arcoiris de las Localidades San Antonio y Mike Sky de la Sierra San Pedro Martir, de los periodos 2000-2001 y 2010-2011.

<i>Locus</i>	<i>F(IS)</i>	<i>F(ST)</i>	<i>F(IT)</i>
<i>EST-1</i>	0.117	0.012	0.128
<i>PGM-1</i>	0.368	0.239	0.519
<i>G6PDH-1</i>	0.363	0.044	0.391
<i>G6PDH-2</i>	-0.044	0.060	0.019
<i>MDH-1</i>	-0.088	0.099	0.020
<i>MDH-2</i>	0.101	0.025	0.123
<i>LDH-1</i>	0.381	0.024	0.396
<i>LDH-2</i>	0.037	0.013	0.050
<i>PROM</i>	0.148	0.064	0.203

DISCUSION

En el periodo 2000-2001, se obtuvo la variabilidad genética de seis poblaciones de trucha arcoiris en las Cuencas San Rafael y Santo Domingo obteniendo 12 loci polimorficos y en el periodo 2010-2011 se obtuvieron 10 loci polimorficos de las localidades Mike Sky y San Antonio de los cuales *EST-2*, *G6PDH-2* y *PGM-2* no se habían encontrado en el periodo 2001 y los loci que no se obtuvieron en ultimo periodo son *G3PDH-1*, *SOD-1*, *GPI-1* y *ACP-1*.

El total de loci polimorficos encontrados en los dos periodos es un poco alto en comparación con aquel encontrado de 8 loci en trucha café (*Salmo trutta*) introducida en el sur de Chile (Colihueque et al. 2003), en trucha arcoiris australiana (*O. mykiss*) se encontraron 4 (Farrington et al. 2004), dentro de los intervalos encontrados en este trabajo, se reportan 10 loci polimorficos en 5 poblaciones de trucha arcoiris (*O. mykiss*) de criaderos de Londres (Thompson 1985) y en trucha silvestre (*O. mykiss*) también se reportan 10 loci polimorficos para 37 poblaciones (Allendorf y Phelps 1981).

Una forma de medir la variabilidad genética en una población es a través de la proporción de individuos que poseen dos de las n variantes o lo que es lo mismo, copias distintas de sus alelos, llamados individuos heterocigotos. Esta proporción de individuos heterocigotos, representan un índice denominado Heterocigosis (H). La heterocigosis observada es la que se obtiene del conteo directo de los individuos y la heterocigosis esperada es la que se espera encontrar en una población en equilibrio de Hardy-Weinberg.

En las seis poblaciones analizadas en el periodo 2000-2001, la heterocigosis observada fue menor a la heterocigosis esperada, siendo las poblaciones con heterocigosis mas alta, la población Intermedia con $H=0.379(.062)$ y La Grulla $H=0.377(.087)$, las poblaciones con heterocigosis menor son la San Antonio con $H=0.302(.043)$ y Mike's Sky con $H=0.304(.065)$.

Para el 2011 se encontró en la población del Mike's Sky una heterocigosis mas alta que la esperada $H=0.586(.047)$ y San Antonio $H=0.368(.060)$ menor a la heterocigosis esperada pero más alta con respecto al periodo 2000-2001.

Comparando con trabajos reportados en otras truchas la heterocigosis en las truchas de San Pedro Martir son elevados, se reporta que en truchas nativas de Estados Unidos $H=0.146(0.041)$ y en truchas de criaderos $H=0.167(0.022)$ (Currens et al. 1990), en truchas australiana $H=0.020-0.042$ (Farrington et al. 2004), en trucha de criadero del sur de África $H=0.223(0.094)$ (Van der Bank et al. 1992), en truchas nativas de Nueva Zelanda $H=0.142(0.008)$ (Snowdon y Adam 1992) y en trucha café del sur de Chile $H=0.1216$ (Colihueque et al. 2003).

En la tabla 6 encontramos que la distancia genética es 0.00 para las poblaciones Potrero-San Antonio y para Potrero-Intermedio. Las poblaciones Potrero-San Antonio provienen de la Cuenca Santo Domingo y la población Intermedio, pertenece a la Cuenca San Rafael, lo que indicaría que no hay diferencias genéticas significativas entre las poblaciones de trucha arcoiris de las Cuencas Santo Domingo y San Rafael de la Sierra San Pedro Mártir en el periodo 2000-2001.

En el Periodo 2010-2011 la Distancia Génica de Nei (1978) entre las poblaciones de trucha arcoiris de las localidades del San Antonio y Mike Sky es de 0.014, lo cual nos indica que no hay diferencias genéticas significativas

entre estas poblaciones. En poblaciones de trucha café del sur de Chile se reporta $D=0.004-0.025$ (Colihueque et al. 2003) y trucha arcoiris de Londres $D=0.009-0.072$ (Gregg et al., 2001).

El índice de Fijación F_{ST} representa el efecto sobre las frecuencias genotípicas debido a la estructura poblacional, valores de 0.000 indica que no hay fijación de alelos y con valores de 1.000 significa que existe fijación completa de alelos. En las poblaciones de trucha analizadas en el periodo 2000-2001 el $F_{ST} = 0.0657$, en el periodo 2010-2011 fue $F_{ST} = 0.0197$ y al comparar los dos periodos con los loci en común es $F_{ST} = 0.0.64$, los cuales se encuentra muy cercano al 0, señalándonos que existe flujo genético entre estas poblaciones o que todavía las poblaciones comparten genes similares después de ser transplantadas a la Cuenca San Rafael.

Contrastando con otros trabajos de poblaciones de truchas se reportan valores de $F_{ST} = 0.230$ en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivada de Londres (Gregg et al., 2001), en 26 familias de salmónidos de California, Estados Unidos hasta Canadá reportan $F_{ST} = 0.102$ (Kuligowski et al., 2002), en 86 familias de Salmónidos del río Babine al río Sacramento en California se reporta $F_{ST} = 0.123$ (Utter et al., 1989), considerando los valores obtenidos

en cada periodo analizado estos se encuentran por debajo de los valores publicados. En truchas del noroeste de México analizadas con microsátélites reportan $F_{ST} = 0.43$ (Nielsen y Sage 2001), elevados comparándolos con los encontrados es este estudio.

El Coeficiente de Endogamia Total F_{IT} cuantifica la perdida de heterocigosis de los individuos con respecto a la heterocigosis esperada si hubiera reproducción al azar entre todos los individuos muestreados, un valor mínimo de -1.000 indica que las poblaciones están completamente aisladas y un valor máximo de 1.000 que no existe poblaciones.

Se obtuvo un valor de $F_{IT} = 0.3567$ en el periodo 2000-2001 y para el periodo 2010-2011 $F_{IT} = -0.0572$, este ultimo valor es bajo comparando lo con el periodo anterior, pero al comparar los dos periodos con los alelos en común $F_{IT} = 0.203$, indicando que no hay diferencias significativas de subdivisión poblacional, a pesar de que se menciona la formación de una cascada considerada una barrera física que ha impedido la dispersión natural (Nelson 1921, Snyder 1926, Needham 1938 y Ruiz-Campos 1993).

Para realizar la comparación del muestreo actual con el del periodo 2000-2001 solo se tomaron en cuenta las poblaciones Mike's Sky y San Antonio encontrando ocho loci polimorficos en común que fueron: *EST-1*, *PGM-1*, *G6PDH-1*, *G6PDH-2*, *MDH-1*, *MDH-2*, *LDH-1* y *LDH-2*.

Con respecto a la heterocigosis entre los dos periodos comparados se obtuvo para la población de Mike's Sky $H=0.251(0.049)-0.613(0.052)$, representando un aumento considerable de heterocigotos en la población incluso con un valor mayor a la heterocigosis esperada en el 2011. En la población de San Antonio $H=0.290(0.0048)-0.399(0.070)$, se aprecia un aumento de heterocigotos pero aun es bajo con respecto a la heterocigosis esperada para el 2011.

En la población Mike's Sky de los periodos 2001 y 2011 encontramos una Similitud Génica de 1.000 y la Distancia Genética de 0.000 y en la población del San Antonio en los periodos la Similitud Génica es de 0.916 y la Distancia Genética de 0.088, indicando que la población mejor conservada es la población de trucha arcoiris en la localidad Mike's Sky y no en la población del San Antonio como se esperaba en la hipótesis de este trabajo ya que aparentemente es la población fuente original.

Por el Coeficiente de Endogamia $F_{IS}=0.148$ para las poblaciones de San Antonio y Mike's Sky en los dos periodos, indica que las Cuencas San Rafael y Santo Domingo se han mantenido estables genéticamente en los últimos 10 años.

El Coeficiente de Fijacion $F_{ST} = 0.064$, puede ser considerado indicador de moderada diferenciación por encontrarse entre los intervalos de 0.05-0.15 (Hartl 1980). El coeficiente de Fijación F_{ST} y el Coeficiente de Endogamia $F_{IS} = 0.148$ son menores al Coeficiente de Endogamia Total $F_{IT} = 0.203$, lo cual indica que existe flujo de genes entre las poblaciones Mike's Sky y San Antonio en los dos periodos comparados. Lo anterior sugiere que no ha pasado el tiempo suficiente para marcar una diferenciación genética después de que la trucha arcoiris fue transplanteda (periodo 1929-1941) de la población original (San Antonio) a otra cuenca adyacente (San Rafael) por el naturalista *Charles Edward Utt*. Otra posibilidad de explicar lo arriba señalado es que ya existían truchas en la Cuenca San Rafael antes de la introducción realizada por Utt.

Lo anterior se fundamenta a la ausencia de un efecto fundador en las poblaciones de trucha de la Cuenca San Rafael (Mike's Sky), ya que en un

efecto fundador la variabilidad genética de la población introducida sería baja en comparación con la población original o fuente (cuenca Santo Domingo). Asimismo, la variabilidad genética en ambas poblaciones es mayor que hace 10 años, por lo tanto no se presenta cuellos de botella, y se puede decir que las poblaciones de trucha arcoiris de las dos cuencas se mantienen en equilibrio de Hardy-Weinberg, considerando que la heterocigosidad se encuentran cercanos a los esperados y no presenta altos índices de endogamia.

CONCLUSIONES

- No hay diferencias genéticas significativas entre las poblaciones de trucha *Onchorynchus mykiss nelsoni* endémica de la Sierra San Pedro Mártir.
- Las poblaciones de trucha de la sierra San Pedro Mártir que están más separadas genéticamente son aquellas de San Antonio y Garet.
- Las poblaciones con similitud genética 1.000 son las poblaciones de Potrero-San Antonio y Potrero-Intermedio.
- Por el valor de F_{IT} de todos los loci es posible inferir que existe una deficiencia de heterocigotos y que no existen subpoblaciones dentro de las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir.
- El valor F_{ST} para todos los loci indica una escasa diferenciación entre las poblaciones de la Sierra San Pedro Mártir.

- Dado que el valor de F_{IT} es menor al valor de F_{ST} , indica que existe flujo genético o es corto tiempo de aislamiento entre las poblaciones de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir.
- Las poblaciones de trucha arcoiris de las Cuenca San Rafael y Santo Domingo se han mantenido Estables Genéticamente en los últimos 10 años.
- La población Mike's Sky relativamente es la mejor conservada y con mayor variabilidad genética en los últimos 10 años.
- No se presenta efecto fundador en las poblaciones de la Cuenca San Rafael.
- La población de San Antonio no presenta un efecto de cuello de botella.
- Las Cuencas Santo Domingo y San Rafael se encuentran en Equilibrio de Hardy-Weinberg.

ANEXO I

A) Preparación del Gel de Almidón Para Estandarización

Para el proceso de estandarización se utilizó una cámara de electroforesis mini gel horizontal con gel de almidón al 11.5 %, con 100 ml de amortiguador, poniendo a hervir 80 ml en un vaso de precipitado sobre un termoplato y los 20 ml restantes para disolver el almidón en un matraz kitazato de 500 ml, una vez hervido el amortiguador se agregó al almidón disuelto y se mezcló fuertemente para que el cocimiento del almidón sea homogéneo, enseguida se le extrajeron las burbujas con vacío, para esto ya se tenía una bomba de vacío conectada por una manguera a un matraz kitazato de 2 litros con hielo hasta las 2/3 partes y éste se tapa con un tapón monohoradado con una adaptación para una manguera que es la que conecta al matraz que contiene el almidón y se tapa, se prende la bomba de vacío por 40 segundos y en seguida, se vierte a la charola, eliminándose las burbujas que se lleguen a formar con una pipeta y se coloca el peine para pozos, se deja enfriar de 8 a 10 horas.

Sembrado de Muestras

Se procede a sembrar los homogenizados, quitando el peine y llenando los pozos con 20 μ l de cada tejido en cada uno llenando un pozo con azul de bromofenol como marcador.

Se llena la cámara de electroforesis con el amortiguador para electrodo y se introduce la charola, se tapa, se coloca en el refrigerador a 4°C, conectándose a una fuente de poder a 100V, 35mA y 50W, por un lapso de entre 4 y 6 horas hasta que pase el doble de tiempo en que el marcador (azul de bromofenol al 0.02%) salga del gel.

Una hora antes de que finalice la electroforesis, se preparan las tinciones histoquímicas (Anexo III), el gel de 1 cm aproximadamente de grueso se rebana quedando cada rebanada de 15 mm aproximadamente, la cual se coloca en una charola agregando la tinción histoquímica, el suficiente para que cubra completamente el gel y se coloca en la incubadora a 37°C, una vez que revela la enzima se fija con solución fijadora y destiñedora (Anexo III) para detener la reacción.

B) Preparación del Gel de Almidón para alozimas

Para la preparación del gel de almidón una vez estandarizado el método de alozimas, se utilizó el mismo procedimiento, pero con mayor volumen, la cámara es un vidrio plano, donde se coloca un marco de acrílico vaciando el almidón disuelto en él, utilizando 475 ml de amortiguador, dejando 375 ml para hervir y 100 ml para disolver el almidón. Una vez vaciado el almidón se coloca un vidrio arriba del marco, tratando de no dejar burbujas, se deja enfriar por 12 horas aproximadamente.

Sembrado de Muestra

Se emplearon mechas de papel filtro Whatman # 3 de 1 X 0.5 cm para sembrar las muestras de los organismos, las cuales fueron colocadas cortando el gel longitudinalmente a unos 4 cm de uno de los extremos separándolo con una espátula, con unas pinzas de disección introduciendo un papel filtro en el tubo con la muestra homogeneizada, se coloca verticalmente en el gel dejando de separación entre muestra y muestra aproximadamente de

0.5 a 1 cm, al terminar de sembrar se junta el gel colocando alrededor el marco de acrílico y poniéndose en la cámara de electroforesis a 4°C, la cual contiene el amortiguador para electrodo, llevando unos puentes de papel para electroforesis entre el gel y el amortiguador (tabla 2), se cubre el gel con un vidrio y se conecta a la fuente de poder según el caso a 450V, 50mA, 50W y a 250V, 50mA, 50W, ver tabla 3.

ANEXO II

Preparación del Amortiguador TME pH 7.8

Preparación de 1 litro de amortiguador para electrodo TME pH 7.8, el cual contiene: 12.04gr de Tris, 3.72gr de Na-EDTA, 11.16gr de Acido maleico, 4.06gr de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 5gr de NaOH y 1 Lt de Agua destilada.

Para la preparación de los geles se utilizan dos placas de vidrio de 10 X 10 cm separados por guías plásticas de 0.8 mm, colocando los vidrio en una doble bolsa de plástico, poniéndolas en la base para preparar geles ajustando los tornillos.

Se toman 10 ml de la solución de amortiguador de electrodo añadiendo 90 ml de agua destilada y se ajusta el pH a 7.8 con NaOH al 40%. Después se agregan y se disuelven 4 gr de Acrilamida y 0.32 gr de Bis-acrilamida.

Una vez disuelto se filtra con un filtro pequeño en un matraz kitazato de 250 ml con una jeringa de 60 ml, ya filtrado se puede almacenar en refrigeración.

De la solución filtrada se toman 10 ml por gel, disolviendo 0.013 gr de persulfato de amonio por cada gel que se prepare. Al momento de sembrar en las placas de vidrio se agregan 10 μ l de TEMED y se inyecta de inmediato lentamente entre las placas de vidrio, se introduce el peine en la parte superior entre las placas y se deja melificar a temperatura ambiente, pudiéndose utilizar los geles ya gelificados o almacenarse en refrigeración a 4°C sellados con plástico para evitar su deshidratación (hasta por 6 meses).

Para el sembrado de las muestras, se colocan los geles ya gelificados en las cámaras de electroforesis sin la bolsa, sembrando 10 μ l de muestra, en cada uno de los pozos, se agrega la solución amortiguadora para electrodo entre las dos placas y abajo aproximadamente 2 cm, se tapa la cámara de electroforesis y se lleva al refrigerador a 4°C y se conecta la fuente de poder con las condiciones eléctricas necesarias.

Una vez transcurrido el tiempo, es necesario apagar la fuente de poder y desconectar la cámara electroforética, sacar con cuidado del refrigerador y desmontar con el fin de obtener las placas de vidrio con el gel.

Con cuidado se separa una de las placas de vidrio quedando descubierto al menos un lado del gel, y se coloca en una charola etiquetada y se vierte lentamente la solución sustrato preparada específica para cada sistema enzimática, inmediatamente se introduce en la incubadora a 37°C de 30 a 60 minutos, hasta la observación de bandas definidas en el gel, se saca de la incubadora, se tira la solución sustrato y se cubre el gel con solución fijadora. Almacenándose los geles fijados en bolsas con cierre, se etiquetan y se guardan en el refrigerador, ver tabla 4.

Buffer TME pH 7.8

Electrodo

Tris	12.04 gr
Acido Maleico	11.16 gr
Na-EDTA	3.72 gr
MgCl ₂ 6H ₂ O	4.06 gr
NaOH	5 gr
Agua Destilada	1 litro

Gel

Diluir 1:10 buffer de electrodo y ajustar el pH a 7.8 con NaOH al 40%.

ANEXO III

PROTOSCOLOS DE SISTEMAS ENZIMATICOS

Se indica las cantidades de reactivo para 50 ml, los cuales son requeridos para cubrir una rebanada de gel.

1.- ACP (Fosfatasa acida)

Reactivo	50 ml
1-naftil fosfato ácido	0.05 gr
Azul rápido BB	0.05 gr
Amortiguador de acetato 0.05 M, pH 5.0 (Acetato de sodio 6.804 gr + Agua 1000 ml Se ajusta a pH 5.0 con ácido acético) Se puede almacenar a temperatura ambiente .	50 ml

2.- EST (Esterasas)

Reactivo	50 ml
Azul rápido BB	0.05 gr
Tris-HCL 0.5 M, pH 7.1	5 ml
Agua destilada	43.5 ml
Solución sustrato EST (1 naftil acetato 0.05 gr + 2 naftil acetato 0.05 gr + Acetona 2.5 ml + Agua dd 2.5 ml) Se puede almacenar en refrigeración hasta por quince días, en frasco ambar.	1.5 ml

3.- G3PDH (Glicerol-3-fosfato deshidrogenada)

Reactivo	50 ml
NAD	0.025 gr
MTT 1 %	1.5 ml
PMS 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.5 M, pH 7.1	7.5 ml
Agua destilada	35 ml
Solución sustrato G3PDH (DL-a-glicerofosfato 1.08 gr + Agua 5 ml) Se puede almacenar en refrigeración 15 días.	5 ml

4.- G6PDH (Glucosa-6-fosfato deshidrogenada)

Reactivo	50 ml
Glucosa 6 fosfato	0.08 gr
NADP	0.015 gr
MTT 1 %	1 ml
PMS 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.5 M, pH 7.1	12.5 ml
Agua destilada	35.5 ml

5.- GPI (Glucosa-6-fosfato isomerasa)

Reactivo	50 ml
D-fructuosa 6 fosfato	0.08 gr
NADP	0.005 gr
Glucosa 6 fosfato deshidrogenada (100u/ml)	0.8 ml
MTT 1 %	0.5 ml
PMS 0.1 %	0.5 ml
Tris-HCl 0.1 M, pH 8.0	48.2 ml

6.- LDH (*Lactato deshidrogenasa*)

Reactivo	50 ml
NAD	0.025 gr
MTT 1 %	1.5 ml
PMS 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.5 M, pH 7.1	35 ml
Solucion sustrato LDH (Aido lactico 80 % , 0.562 g + Na ₂ CO ₃ 1 M, 2.45 ml + Agua dd 1.987 ml) Se puede almacenar en refrigeración en recipiente ambar, hasta por un mes.	5 ml

7.- MDH (*Malato deshidrogenada*)

Reactivo	50 ml
NAD	0.05 gr
MTT 1 %	1.5 ml
PMS 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.1 M, pH 7.0	5 ml
Agua	37.5 ml
Solucion sustrato MDH (DL-acido malico 13.4 g + Na ₂ CO ₃ 2M, 49 ml + Agua dd , 51 ml) Ajustar a pH 7.0. Se puede almacenar en refrigeración hasta por un mes.	10 ml

8.- PGM (Fosfoglucomutasa)

Reactivo	50 ml
a - D-Glucosa 1 fosfato	0.25 gr
EDTA-Na ₂	0.025 gr
NBT	0.01 gr
NADP	0.005 gr
Glucosa 6 fosfato deshidrogenada (100 u/ml)	0.4 ml
MgCl ₂ 10 %	0.1 ml
PMS 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 01 M, pH 7.1	48.5 ml

9.- SOD (Superoxido dismutasa)

<i>Reactivo</i>	<i>50 ml</i>
Tris-HCl 0.2 M, pH 9	40 ml
MgCl ₂ 0.1M	0.8 ml
NAD (10 mg/ml)	8 ml
NBT (5 mg/ml)	0.4 ml
MTT (5 mg/ml)	0.4 ml
PMS	0.8 ml

SOLUCIONES STOCK

SOLUCION DE HOMOGENEIZADO

V	100	Tris-HCl, 0.1 M, Ph 8	250 ml
P	0.1	NAD	0.25 mg
P	0.1	NADP	0.25 mg
P	1	Pvp	2.5 mg

SOLUCION FIJADORA Y DESTENIDORA

Metanol	600 ml
Acido acetico	200 ml
Agua	1200 ml

SOLUCION PMS 0.1 %

PMS	50 mg
Agua	50 ml

Se puede almacenar en refrigeración hasta por quince días, protegiéndose de la luz.

SOLUCION MTT 1 %

MTT	1 gr
Agua	100 ml

Se puede almacenar en refrigeración hasta por quince días, protegiéndose de la luz.

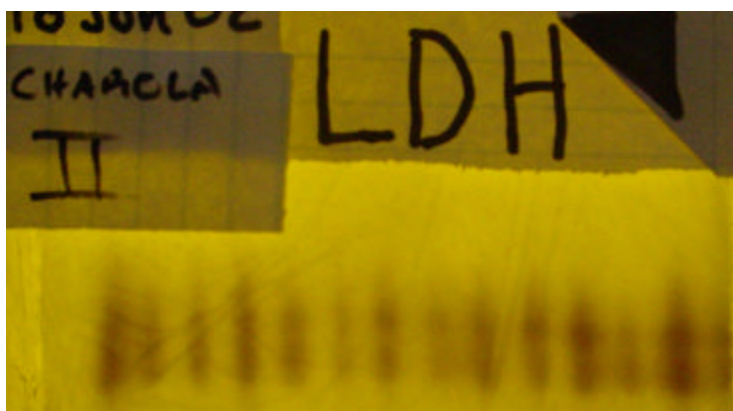
SOLUCION DE MgCl₂ al 10 %

MgCl ₂	10 gr
Agua	100 ml

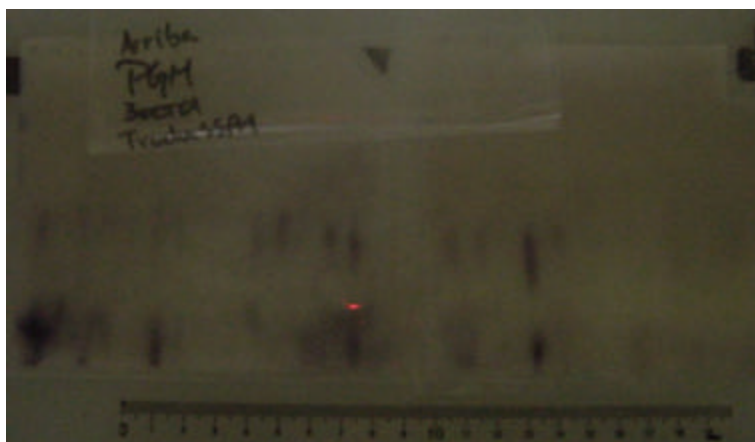
Se puede almacenar a temperatura ambiente.

**ANEXO IV
ALOZIMAS PERIODO 2000-2001**

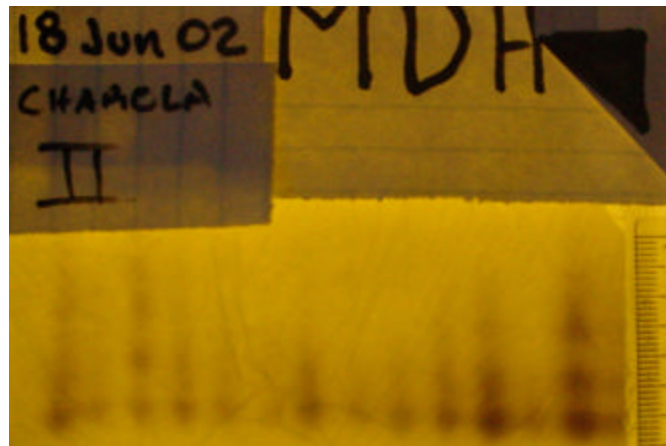
LDH



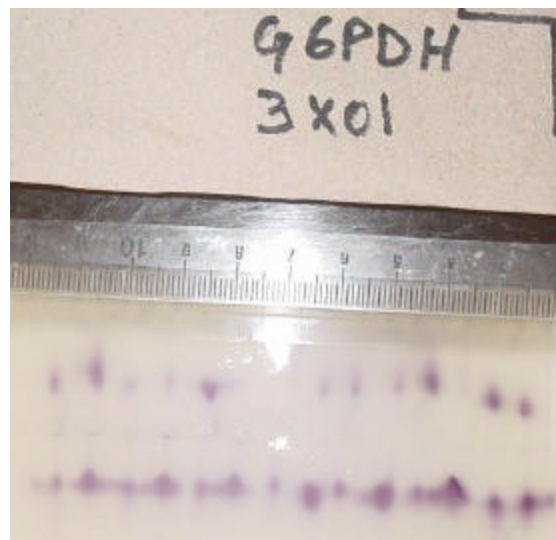
PGM



MDH

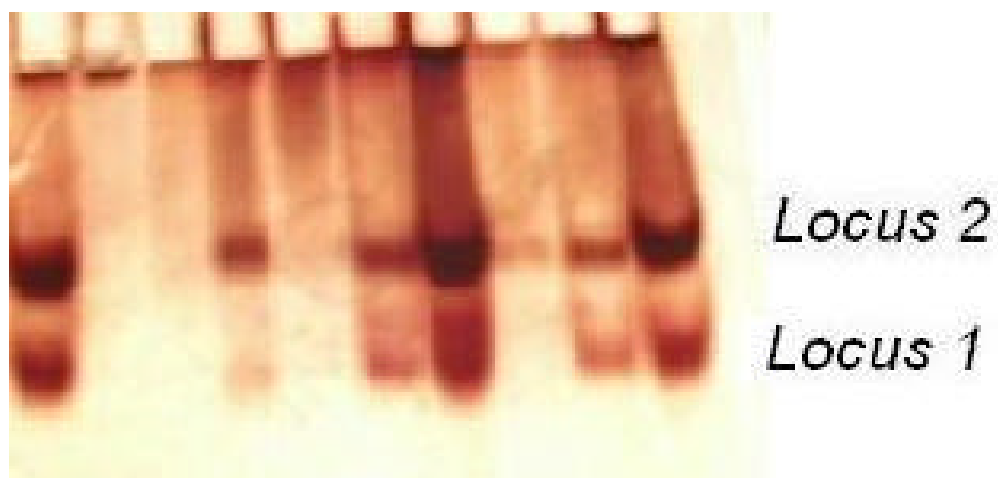


G6PDH

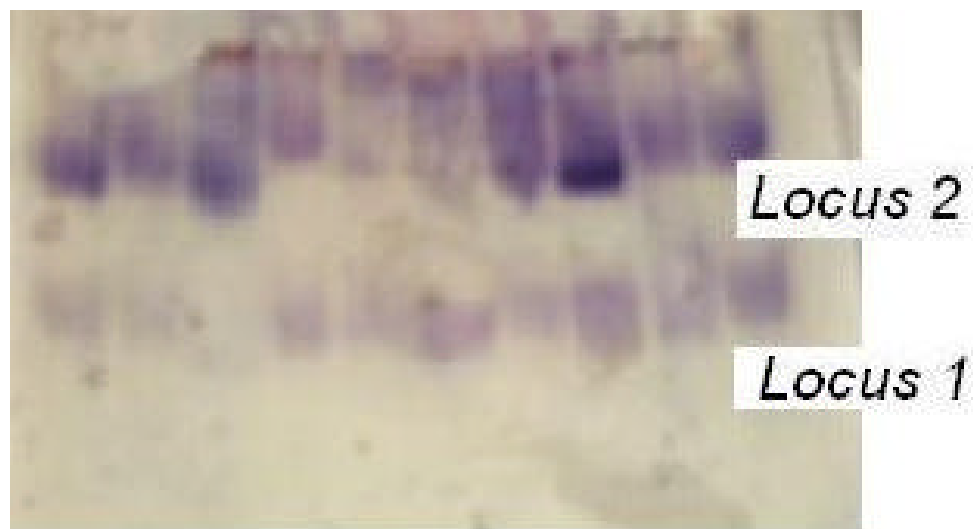


ANEXO V
ALOZIMAS PERIODO 2010-2011

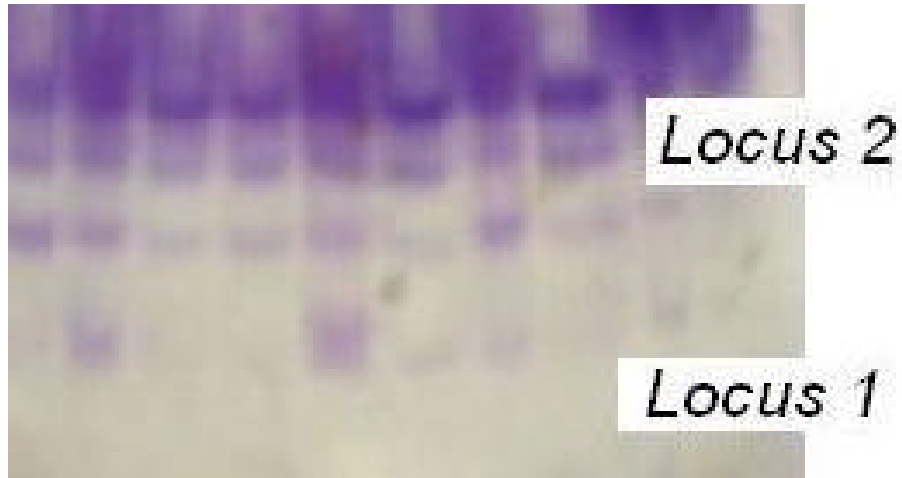
ESTERASAS



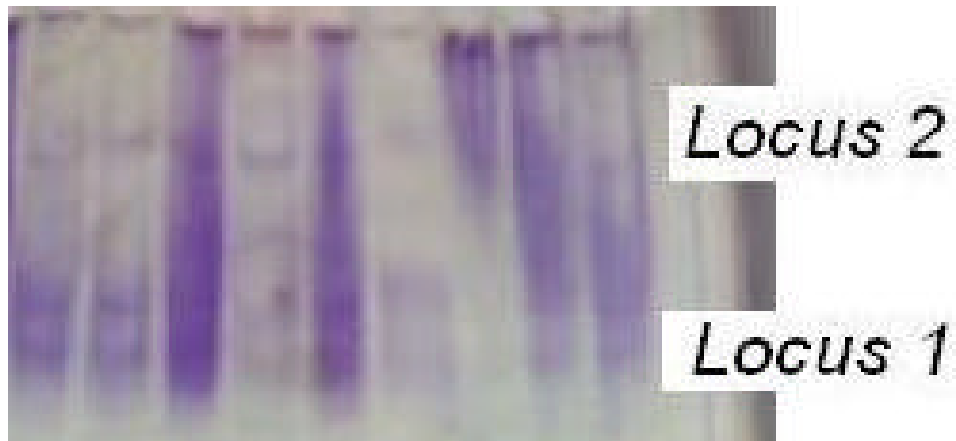
PGM



MDH

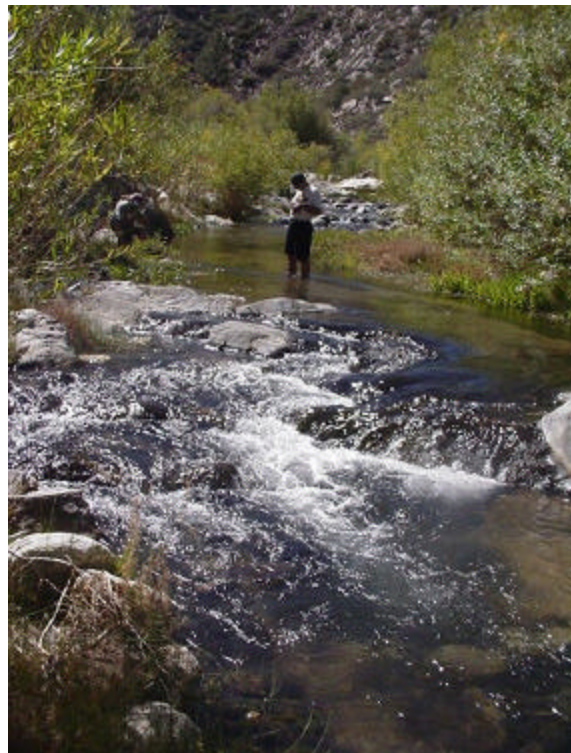


G6PDH



ANEXO VI
INTERMEDIO CUENCA SAN RAFAEL
SIERRA SAN PEDRO MARTIR
OCTUBRE 2000





MIKE'S SKY CUENCA SAN RAFAEL
SIERRA SAN PEDRO MARTIR
OCTUBRE 2000







EL POTRERO CUENCA SANTO DOMINGO
SIERRA SAN PEDRO MARTIR
ENERO 2001





SAN ANTONIO CUENCA SANTO DOMINGO
SIERRA SAN PEDRO MARTIR
ENERO 2001





LA GRULLA CUENCA SANTO DOMINGO
SIERRA SAN PEDRO MARTIR
SEPTIEMBRE 2001







ANEXO VII

Índice de Tablas y Figuras

Tablas	Num. de página
1. Coordenadas y altitud de las localidades de recolecta de trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Martir, Baja California.....	23
2. Relación de sistemas enzimáticos probados, su estructura cuaternaria y loci Expresados	25
3. Sistemas amortiguadores empleados para el análisis electroforético.....	26
4. Relación de sistemas amortiguadores, tejidos empleados y condiciones de electroforesis.....	22
5. Relación de las condiciones eléctricas de electroforesis de los sistemas enzimáticos y los tejidos empleados en cada uno de ellos.....	30
6. Frecuencias alélicas, Heterocigosis Observada y Esperada, Deficiencia Génica, X^2 con un grado de libertad.....	36
7. Similitud genética, debajo de la diagonal, y distancia genética, arriba de la diagonal (Nei, 1978).....	39
8. Valores de los índices $F_{(IS)}$, $F_{(IT)}$ y $F_{(ST)}$ para todos los loci.....	42
9. Tamaño de muestra por locus, número de alelos por locus, el porcentaje de polimorfismo y los niveles de heterocigosis.....	43
10. Relación de numero de muestra, la frecuencia de cada uno de los alelos, la Heterocigosis Observada, la Heterocigosis Esperada, Distancia Genética, X^2 para cada uno de los loci de las localidades San Antonio y Mike's Sky de la Serra San Pedro Mártir.....	47
11. Se muestra el tamaño muestra por locus, numero de alelos por locus, porcentaje de loci polimorficos, Heterocigosis Observada y Heterocigosis Esperada, en promedio de los 10 loci para las Poblaciones San Antonio y Mike's Sky de la SSPM.....	49
12. Coeficientes para deficiencia o excesos de heterocigotos de las Poblaciones San Antonio y Mike's Sky de la SSPM.....	50

13. Coeficientes de Similaridad bajo la diagonal y distancia genética Arriba de la diagonal, Nei (1978).....	51
14. Estadísticos F para todos los loci de las Localidades San Antonio y Mike's Sky de la Sierra San Pedro Martir, 2011.....	52
15. Relación de numero de muestra, la frecuencia de cada uno de los alelos, la Heterocigosis Observada, la Heterocigosis Esperada, Estadístico D, X^2 para cada uno de los loci de las localidades San Antonio y Mike's Sky de la Serra San Pedro Mártir, en los muestreos 2001 y 2011.....	56
16. Variabilidad Genética en promedio de los siete loci en las poblaciones de Trucha Arcoiris de las localidades San Antonio y Mike's Sky en la Sierra San Pedro Martir, en los periodos 2000-2001 y 2010-2011.....	58
17. Coeficiente para Deficiencia o Excesos de Heterocigotos, Índice de Fijación, de las Poblaciones de Trucha Arcoiris de las Localidad Mike's Sky de la Sierra San Pedro Mártir, en los periodos 2000-2001 y 2010-2011.....	58
18. Coeficiente para Deficiencia o Excesos de Heterocigotos, Índice de Fijación de las Poblaciones de Trucha Arcoiris de las Localidad San Antonio de la Sierra San Pedro Mártir, en los periodos 2000-2001y 2010-2011.....	60
19. Coeficientes de Similaridad Génica (bajo la diagonal) y Distancia Genética (arriba de la diagonal), Nei (1978) de las poblaciones de Trucha Arcoiris de Mike's Sky y San Antonio de la Sierra San Pedro Mártir, en los periodos 2000-2001 y 2010-2011.....	60
20. Estadísticos F para cada loci y promedio para todos los loci, de las poblaciones de Trucha Arcoiris de las Localidades San Antonio y Mike's Sky de la Sierra San Pedro Martir, de los periodos 2000-2001 y 2010-2011...	62

Figuras

1. Representación esquemática de la ubicación y nombre de las diferentes estructuras anatómicas de un pez.....	10
2. Mapa de una sección de la Sierra de San Pedro Mártir, mostrando los sitios de recolecta en las Cuentas San Rafael y Santo Domingo.....	20
3. Representación Esquemática de la obtención de genotipos directamente de los zimogramas, a los lados los alelos A y B, en medio los heterocigotos, de arriba hacia abajo representa la estructura cuaternaria tetramérica, dimérica y monomérica.....	32.

BIBLIOGRAFIA

Abreu-Grobois, A., 1983: Population genetics of *Artemia*. Tesis Doc Univ. College of Swansea.
438 pp.

Aguilar-Juarez, M., 2010: Inducción a la maduración gonádica y conservación del esperma de la Trucha de San Pedro Mártir *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (EVERMANN). Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Baja California, México. 253 pp.

Allendorf, F.W. y Phelps, S. R., 1981: Isozymes and the preservation of genetic variation in salmonid fishes. *Ecological Bulletin (Stockholm)* 34, 37-52.

Behnke, R. J., 1992: Native Trout of Western North American Fisheries Society. Monograph
6,275 pp.

Berg, W. J., 1987: Evolutionary genetics of rainbow trout. *Parasalmo gairdnerii* (Richardson).
Doctoral dissertation, University of California, Davis, California.

Berg, W. J. y Gall G. A. E., 1988: Gene flow and genetic differentiation among California coastal rainbow trout populations. *Canadian Journal of Fisheries and aquatic Sciences*.
45(1): 122-131.

Bulmer, M. G., 1971: Protein polymorphism. *Nature*, 324: 410-411.

Camarena-Rosales, F., J. de la Rosa-Vélez, F. Correa-Sandoval y G. Ruiz-Campos .,1999:

Estudio de la variabilidad genética de *Fundulus lima* y sus relaciones filogeográficas con otros fundúlidos (*Pisces: Fundulidae*) de la península de Baja California.. México. Informe técnico final, proyecto L013, CONABIO-UABC. 103 pp.

Camarena-Rosales, F., Ruiz-Campos G., De la Rosa-Vélez J., Mayden R.L., Hendrickson

D.A., Varela-Romero A., García de Leon, F. J., 2008: Mitochondrial haplotype variation in wild trout populations (Teleostei:Salmonidae) from Northwestern Mexico. Rev. Fish. Biol. Fisheries DOI 10.1007/s11160-007-9060-z.

Chavez-Romo, H. E., Correa Sandoval F. , Paz-García D. A., Reyes-Bonilla H., López-Pérez

R. A., Medina-Rosas P., Hernández-Cortés M. P., 2009: Genetic structure of a scleractica coral, Pocillopora damicornis, in the Mexican Pacific. Proc 11th Int Coral Reef Symp, Ft.Lauderdale: 429-433.

Colihueque N., Vergara N., Parraguez M., 2003: Genetic characterization of naturalized

populations of brown trout *Salmo trutta* L. in southern Chile using allozymes and microsatellite markers. Aquaculture Research, 34, 525-533.

Corujo, M., Blanco, G., Vázquez, E. y Sánchez, J. A., 2004: Genetic Structure of northwestern

Spain brown trout (*Salmo trutta* L) populations, differences between microsatellites and alozymes moci. Hereditas 141:258-271.

Correa-Sandoval, F. y De la Rosa-Vélez J., 1996: Allozymatic variation in three populations of

Artemia franciscana (Kellog,1906) from Mexico. In: Gajardo. G. y P. Coutteau (eds.). Proceedings of a workshop on fish and mollusc larviculture. Creces. Chile: 165-171.

Currens K. P., Schreck, C. B., Li, H. W., 1990: Allozyme and morphological divergence of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) above and below waterfalls in the Deshutes River, Oregon. *Copeia* 1990,730-746.

De la Rosa Vélez J., 1986: Variabilidad genética poblacional en ostiones de la especie *Crassostrea virginica* del Golfo de México, Tesis Doctoral Universidad Autónoma Nacional de México, 124 p.p.

Evermann, B. W., 1908: Descriptions of a new species of trout (*Salmo nelsoni*) and a new cyprinodont (*Fundulus meeki*) with notes on other fishes from lower California. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 21: 19-30.

Farrington, L. W., Austin C. M., Burrigde C. P., Gooley, G. L., Ingram, B. A. Talbot, B., 2004: Allozyme diversity in Australian rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries management and Ecology*, 11: 97-106.

Ferguson, A. y Fleming C. C., 1983: Evolutionary and taxonomic significance of protein variation in the brown trout (*Salmo trutta* L.) and other salmonid fishes. In *Protein Polymorphism: Adaptive and taxonomic Significance* (Oxford, G. S. y Rollinson, D., eds), pp. 85-99. London: Academic Press.

Futuyama, D. L., 1998: *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates, Inc. Publisher. Massachusetts, 227-517 p.p.

Gall G. A. E. y Crandell, P. A., 1992: The rainbow trout. *Aquaculture* 100, 1-10.

Gallo, H. y Díaz-Sarmiento J., 2003. Variabilidad genética del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pises:Pimelodidae) en el río Magdalena (Colombia). Rev. Acad. Colomb. Cienc. 27 (105): 599-605, ISSN 03703908.

Grant, W. S., Milner G. B., Krasnowski P. y Utter F. M., 1980: Use of biochemical genetic variants for identification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) stocks in Cook Inlet Alaska. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 37: 1236-1247.

Gregg R. E., Rhodes Jr. O. E., y Armstrong G., 2001: A genetic analysis of the London strain of rainbow trout, Animal Genetics, 32, 210-214.

Grijalva-Chon, J. M., De la Rosa-Vélez J. y Sosa-Nishizaki O., 1996: Allozyme variability in two samples of swordfish. *Xiphias gladius* L. in the North Pacific Ocean. U. S. Fishery Bulletin. 94(3): 589-594.

Hartl, D. L., 1980: Principles of populations genetics. Sinauer Associates. Inc. Massachusetts. 488 p.p.

Harris H., Hopkinson D.A., 1976: Handbrook of Enzymes Electrophoresis in Human Genetics. North Holland, Amsterdam, 259 p.p.

Hendrickson, D. A., Espinoza-Pérez H., Findley L. T., Forbes W., Tomelleri J. R., Mayden R. L., Jensen B., Ruiz-Campos G., Varela-Romero A., Van der Heiden A., Camarena-Rosales F., García de León F., 2003: Mexican native trout: a review of their history and current systematic and conservation status. Rev Fish Biol Fish 12:273-316.

Hendrickson, D. A., Neely D. A., Mayden R., Anderson K., Brooks J. E., Camarena-Rosales F., Cutter R., Cutter L., De los Santos A. B., Ernesting G. W., Espinoza-Pérez H., Findley L.T., García de León F. J., George A., Hatch J., Kuhajda B. R., Mayden K., Monyset K., Nielsen J. L., Pfeifer F.W., Propst D. L., Ruiz-Campos G., Clair E. St., Tomelleri J. R., Varela-Romero A., 2006: Conservation of Mexican native trout and recovery, status, protection and recovery of the Conchos trout, the first native. IN: Lozano-Vilano M. L. y Contreras-Balderas (eds) Studies of North American Desert Fishes in Honor of E.P. (Phil) Pister, Conservationist. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Monterrey, México; 162-201.

IUBNC (*International Union of Biochemistry. Nomenclature Committee*). 1984, Enzyme nomenclature. Academic Press. Orlando. Florida. 646 pp.

Jelks, H. L., Walsh, S. J., Burkhead N. M., Contreras -Balderas, S., Díaz-Pardo, E., Hendrickson, D. A., Lyons, J., Mandrak N. E., McCormick, F., Nelson, J. S., Platania, S. P., Poter, B. A., Renaud, C. B., Schmitter-Soto, J. J., Taylor, E. B., and Warren, M. L. Jr.,2008: Conservation Status of Imperiled North American Freshwater and Diadromous Fishes, *Fisheries* 33(8): 372-407 p.p.

Johson, K. R., 1984: Protein variation in Salmoninae: genetic interpretations of electrophoretic banding patterns, linkage associations among loci, and evolutionary relationships among species. PhD Thesis Pennsylvania state University, USA, 181 pp.

Kuligowski, D. R. y Winans G. A., 2002: Onorganic Pyrophosphatase: A new polymorphic Allozyme Locus in Pacific Salmon, *Biochemical Genetics*, Vol 40, Nos. 11/12.

Lester, L. B.,1983: Developing a selective breeding program for penaeid shrimp Mariculture, Aquaculture 3:41-50.

Licona-Chavez, A. L., 2007: Distribución geográfica genética y morfometría de *Chione* spp. (Mollusca:Bivalvia) del Golfo de California y Pacifico Mexicano, Universidad Autonomoma de Baja California.

Licona-Chávez, A., Correa-Sandoval F., De la Rosa-Vélez J., Camarena-Rosales F., 2007: Análisis genético y morfométrico de *Chione californiensis* y *C. subimbricata* (Bivalvia: veneridae) del Pacifico oriental mexicano y el Golfo de California. Ciencias Marinas 33(2): 149-171.

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

McMeel, O. M., Hoey E. M. and Ferguson A., 2001: Partial nucleotide sequences, and routine typing by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, of the brown trout (*Salmo trutta*) lactate dehydrogenase, LDH-C1*90 and *100 alleles. Molecular Ecology, 10, 29-34.

Miller, R. R., 1950: Notes on the cutthroat and rainbow trouts with the description of a new species from the Gila River, New Mexico. Occasional Papers of Museum of Zoology. University of Michigan. 529: 1- 43.

- Needham, P. R.**, 1938: Notes on the introduction of *Salmo nelsoni* Evermann into California from Mexico. Transactions of the American Fisheries Society. 67: 139-146.
- Nei, M.**, 1978: Estimation of the average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. Genetics 89:553-590.
- Nelson, E. W.**, 1921: Lower California and its natural resources. Mem. of the Nat. Acad. of Sciences. 16: 1-194.
- Nielsen, J. L., Gan C. A., Wright J. M., Morris D. B., Thomas W. K.**, 1994: Biogeographic distribution of mitochondrial and nuclear markers for southern steelhead. Mol. Mar. Biol. Biotech. 3:281-293.
- Nielsen, J. L., Fountan M. C., Wright J. M.**, 1996: Biogeographic analysis of Pacific trout (*Oncorhynchus mykiss*) in California and Mexico based on mtDNA and nuclear microsatellites. In: T Kocher & C. Stepien (cd) Molecular Systematics of Fishes, Academic Press, San Diego, CA. pp. 53 – 73.
- Nielsen, J. L.**, 1998: Threatened fishes of the world *Oncorhynchus mykiss nelsoni* Evermann 1908 (Salmonidae). Environmental Biology of Fishes 51: 376.
- Nielsen, J. L., Sage G. K.**, 2001: Microsatellite analyses of the trout of northwest Mexico. Genetica 111:269-278.
- Osinov, A. G. y Lebedev, V. S.**, 2000: Genetic divergente and phylogeny of the Salmoninae based on allozyme data. Journal of Fish Biology 57, 354-381.

- Paz García, D. A., Correa Sandoval F., Chávez Romo H. E., Reyes Bonilla H., López Pérez A., Medina Rosas P., Hernández Cortés M. P.,** 2009: Genetic structure of the massive coral *Porites panamensis* (Anthozoa:Scleractinia) from the Mexican Pacific. Proc 11th Int Coral Reef Symp, Ft.Lauderdale:449-453.
- Raymond, M., and Rousset, F.,** 1994, GENEPOP version 1.1 Laboratoire de Genetique et Environment, URACNRS 327, Institut des Sciences del' Evolution, CC065, USTL.
- Ruiz-Campos. G.,** 1993: Bionomía y ecología poblacional de la trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (Evermann), de la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. México.
- Ruiz-Campos, G. y Pister E. P.,** 1995: Distribution, habitat, and current status of the San Pedro Martir rainbown trout, *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (Evermann). Bulletin of the Southern California Academy of Sciences. 94: 13 1-148.
- Ruiz-Campos, G., Contreras-Balderas S., Lozano-Vilano M. y De la Cruz-Agüero J.,** 2000: Catálogo sinóptico de los Peces Continentales del Noroeste de Baja California; México, CONABIO. Ensenada, B.C., México, 25 – 28 p.p.
- Ruiz-Campos, G., Camarena-Rosales F., Varela-Romero A., Sánchez-González S., De la Rosa-Vélez J.,** 2003: Morphometric variation of wild trout populations from northwestern Mexico (Pisces:Salmonidae). Rev. Fish Biol. Fish 13:91-110.

Schreiber, A., Diefenbach G., 2005: Population genetics of the European trout (*Salmo trutta* L.) migration system in the river Rhine: recolonisation by sea trout, Ecology of Freshwater Fish 14:1-13.

SEMARNAT [*Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales*], 2010: Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental Especies Nativas de Mexico de flora y fauna silvestre-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio –lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, jueves 30 de diciembre de 2010, Segunda Sección, 78 pp.

Shaklee, J. B., Alleford F. W., Morizot D. C. y Whitt G. S., 1990: Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. Transactions of the American Fisheries Society. 119: 2-15.

Smith, R. H., 1991: Rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss*. In: Stolz. J. y J. Scheneil (eds.), The wildlife series trout. Stackpole books. Harrisburg. PA. pp. 304-322.

Snowdon, R. J., Adam K. D., 1992: Allozyme variation in rainbow trout from central North Island, New Zealand. Transactions of the American Fisheries Society 121, 810-814.

Snyder, J. O., 1926: The trout of the Sierra San Pedro Martir. Lower California. U. Calif. Publ. in Zoology. 21: 419-426.

Swofford, D. L. y Selander R.B., 1981: BIOSYS – 1 : A fortran program for the comprehensive analysis of electroforetic data in population genetics and Systematics. Journal of Heredity. 72: 281 – 283.

- Thompson, D.**, 1985: Genetic Identification of trout Strain. *Aquaculture*, 46, 341-351.
- Utter, F. M., Allendorf F. W. y Hodgins, H.**, 1973: Genetic variability and relationships in Pacific salmon and related trout based on protein variation. *Systematic zoology* 22,257-270.
- Utter, F. M. y Hodgins H. O.**, 1972: Biochemical genetic variation at six loci in four stocks of rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*. 101 (3): 494-502.
- Utter, F. M., Stahl, G. B. y Teel, D. J.**, 1989: Genetic population structure of Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, in the Pacific Northwest. *Fish.Bull. U.S.* 87, 239-264.
- Van der Bank F. H., Swart M. K. J, Ferreira J. T.**, 1992: Genetic variation at six loci in four stock of rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 101, 494-502.
- Verspoor, E., Beardmore, J. A., Consuegra, S., García de Leaníz, C., Hindar, K., Jordan, W. C., Koljonen M. L., Mahkrov A. A., Paaver, T., Sanchez J. A., Skaala, O., Titov S. y Cross T. F.**, 2005: Population structure in the Atlantic salmon: insights from 40 years of research into genetic protein variation, *Journal of Fish Biology* 67(Supplement A), 3-54.
- Verspoor, E. y Moyes, C. D.**, 2005: Evidence for co-dominant allelic expresión of a phosphoglucosmutase regulatory locus polymorphism in the Atlantic Salmon, *Journal of Fish Biology*, 67,213-218.
- Wilson, I. F. y Verspoor, E.**, 1996: a bibliography of electrophoretic studies relating to genetic protein variation in the Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Scottish Fishries Reasearch Report*

Number 59, 1996. The Scottish Office Agriculture, Environment and Fisheries Department.

Wright, S. 1965: The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 19:395-420.

Wright, S. 1978: *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 4 Variability Within and Among Natural Populations.* Univ. Chicago Press. Chicago, IL.