

**UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE
MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA, AGRONEGOCIOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
ZOOTECNISTA**

**ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA EN
POBLACIONES DE TRUCHAS ARCOÍRIS (*Oncorhynchus
mykiss*) DE LA REGIÓN AMAZONAS**

Autora: Bach. Yadhira Milagros Olano Camán

Asesor: Ph.D. Danilo E. Bustamante Mostajo

Asesora: Ph.D. Martha S. Calderón Ríos

Registro: N° 0132-2022

CHACHAPOYAS -PERÚ

2022

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-H

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Olano Camán Yadhira Milagros
DNI N°: 71024313
Correo electrónico: 7102431371@untrm.edu.pe
Facultad: Facultad de Ingeniería Zootecnista Agonegocios y Biotecnología
Escuela Profesional: E.P. de Ingeniería Zootecnista

Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): _____
DNI N°: _____
Correo electrónico: _____
Facultad: _____
Escuela Profesional: _____

2. Título de la tesis para obtener el Título Profesional

"Análisis de la Estructura genética en poblaciones de truchas Arcaicis (Oncorhynchus mykiss) de la Región Amazonas"

3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Bustamante Mostajo Danilo E. (Ph.D)
DNI, Pasaporte, C.E N°: 43496105
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) <https://orcid.org/0000-0002-5979-6993>

Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: Calderón Ríos Martha S. (Ph.D)
DNI, Pasaporte, C.E N°: 44890495
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) <https://orcid.org/0000-0003-3611-140x>

4. Campo del conocimiento según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias

médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Inmunología)
https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html

5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 27 / Febrero / 2023

Firma del autor 1

Firma del autor 2

Firma del Asesor 1

Firma del Asesor 2

DEDICATORIA

*A Dios que me dio la vida, salud y
fortaleza para sobrellevar
momentos de dificultad.*

*A mis padres Sadith M. Camán
Torres y José G. López Vega, por su
apoyo incondicional, sus consejos y
por inculcarme valores que tengo
presentes siempre.*

*A mi fiel amigo N.N. que entregó 17
años de su vida a acompañarme y
ser el motor y motivo para alcanzar
todos mis metas.*

AGRADECIMIENTO

Quiero dar gracias a Dios por guiarme en todo momento y permitirme adquirir conocimientos nuevos de la mano de excelentes personas y profesionales que más que tutores demostraron también su amistad, compañerismo y compromiso por enseñar y seguir aprendiendo.

A mis asesores Ph.D. Danilo E. Bustamante Mostajo y Ph.D. Martha S. Calderón Ríos por su dedicación, paciencia, consejos y aportes constructivos en cada paso para que el proyecto de tesis se desarrolle de la mejor manera posible.

Al Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura (PNIPA) por el financiamiento del subproyecto con CONTRATO N° 259-2018-PNIPA-SUBPROYECTOS “Selección de reproductores ELITES, para la obtención de semillas mejoradas de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) utilizando paneles de genotipificación (SNPs) de ADN en el distrito de Molinopampa, Amazonas” – GENTRUCHA que hizo posible la realización de la presente investigación.

Al Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) y en especial al Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOVEG) y al laboratorio de Biología Molecular por las facilidades brindadas en todo momento.

A mi compañero Fernando Chuquizuta por su apoyo, sugerencias y paciencia a lo largo del desarrollo del proyecto de tesis.

A todas las personas que han confiado en mí, que de una u otra forma me han apoyado con sus palabras y acciones, que de manera directa e indirecta aportaron a mi desarrollo personal y profesional, y sobre todo al desarrollo de esta investigación.

Agradezco a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza- Amazonas por ser mi alma mater que me ha brindado educación, conocimiento, amigos y experiencias, entre muchas cosas más.

Finalmente, agradezco a todos aquellos que se tomen el tiempo de leer el presente trabajo.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE
MENDOZA DE AMAZONAS**

Ph.D. Jorge Luis Maicelo Quintana

RECTOR

Dr. Oscar Andrés Gamarra Torres

VICERRECTOR ACÁDEMICO

Dra. María Nelly Luján Espinoza

VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

Dr. Elías Alberto Torres Armas

DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA, AGRONEGOCIOS Y
BIOTECNOLOGÍA

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS



ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Análisis de la Estructura Genética en Poblaciones de Truchas Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de la Región Amazonas. del egresado Yadhira Milagros Olano Camán de la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología Escuela Profesional de Ingeniería Zootecnista de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 04 de Octubre de 2022.



Firma y nombre completo del Asesor

Daniilo E. Bustamante Morayo

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Análisis de la Estructura Genética en Poblaciones de truchas Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de la región Amazonas. del egresado Jadhira Milagros Olano Camán de la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología. Escuela Profesional de Ingeniería Zootecnista de esta Casa Superior de Estudios.



El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 04 de Octubre de 2022


Firma y nombre completo del Asesor

Ph.D. Martha Steffany Calderón Ríos

JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



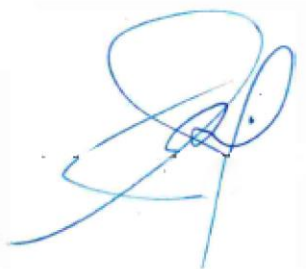
Ph.D. Ilse Silvia Cayo Colca

PRESIDENTE



M.Sc. Yander Mavila Briceño Mendoza

SECRETARIA



Dr. Raúl Rabanal Oyarce

VOCAL

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



ANEXO 3-Q

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

Análisis de la Estructura Genética en Poblaciones de truchas Arcoiris
(Oncorhynchus mykiss) de la Región Amazonas.

presentada por el estudiante ()/egresado (x) Yachira Milagros Olano Camán

de la Escuela Profesional de Ingeniería Zootecnista

con correo electrónico institucional 710241337L@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- a) La citada Tesis tiene 16 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (x) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- b) La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 10 de octubre del 2022


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



ANEXO 3-5

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 25 de octubre del año 2022, siendo las 11:00 horas, el aspirante: Yoshua Milagros Olano Camán, asesorado por Ph.D. Danilo Bustamante Mastaja y Ph.D. Martha Calderón Ríos defiende en sesión pública presencial () / a distancia () la Tesis titulada: Análisis de la Estructura Genética en Poblaciones de Truchas Arcoiris (Oncorhynchus mykiss) de la Región Amazonas, para obtener el Título Profesional de Ingeniero Zootecnista, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Ph.D. Ilse Silvia Cayo Colca

Secretario: M.Sc. Yander Mavila Briceño Mendoza

Vocal: Dr. Raúl Rabanal Qvarce

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría ()

Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:26 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ÍNDICE

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS.....	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS.....	vi
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS.....	vii
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS.....	viii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS.....	ix
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS.....	x
ÍNDICE	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
Resumen.....	xv
Abstract.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN	17
II. MATERIAL Y MÉTODOS	22
2.1. Colecta y procesamiento de muestras de trucha arcoíris.....	22
a. Procedencia de las muestras.....	22
b. Preparación de muestras de trucha arcoíris	24
c. Medición parámetros morfométricos de trucha arcoíris	24
d. Análisis moleculares.	27
e. Extracción de ADN	28
f. Valoración cuantitativa	30
g. Valoración cualitativa	31
2.2. Análisis de genética de poblaciones.....	31
2.3. Amplificación de ADN por PCR	33
2.4. Purificación de amplicones	34
2.5. Secuenciamiento de ADN	35

2.6.	Análisis filogenético.....	35
2.7.	Delimitación de especies basadas en ADN	36
2.8.	Heatmap y análisis de componentes principales (PCA) basado en pairwise distance ...	37
2.9.	Análisis de diversidad genética	37
2.10.	Análisis de red de haplotipos (Networks) y conectividad genética	37
III.	RESULTADOS	38
3.1.	Análisis de la estructura genética en poblaciones de truchas arcoíris	38
3.1.1.	Análisis morfométrico basado en el truss protocol.....	38
3.1.2.	Análisis filogenético y delimitación de taxa de truchas arcoíris.....	40
3.1.3.	Divergencia genética de la región control de truchas arcoíris	44
3.1.4.	Diversidad genética.....	46
3.1.5.	Estructura genética de las poblaciones	48
3.1.6.	Análisis de red de haplotipos	49
IV.	DISCUSIÓN	53
4.1.	Análisis morfométrico de la trucha arcoíris	53
4.2.	Análisis filogenético y delimitación de taxa de truchas arcoíris	54
4.3.	Diversidad genética de la región control de truchas arcoíris	55
4.4.	Estructura genética de las poblaciones trucha arcoíris.....	56
4.5.	Análisis de red de haplotipos	57
V.	CONCLUSIONES.....	59
VI.	RECOMENDACIONES.....	60
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
VIII.	ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Información de los Lugares de Colecta de Trucha Arcoíris.	22
Tabla 2. Parámetros morfométricos basado en el truss protocol.	26
Tabla 3. Parámetros del protocolo de PCR para amplificación de región control del genoma mitocondrial de trucha arcoíris.	33
Tabla 4. Resumen de resultados del análisis morfométrico a 103 truchas arcoíris de la región Amazonas.....	39
Tabla 5. Tabla de diversidad genética de truchas arcoíris recolectadas de la región Amazonas.	47
Tabla 6. Posiciones variables de los diferentes haplotipos de la región de control y distribución de haplotipos en poblaciones de trucha arcoíris de la Región Amazonas.	47
Tabla 7. Pairwise Fst de la región control de las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas.....	48
Tabla 8. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) global aplicado a grupos de individuos de trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).	49
Tabla 9. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) regional aplicado a grupos de individuos de trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) procedentes de la región Amazonas.	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de las provincias y recursos hídricos donde se colectó las muestras de truchas arcoíris de la Región Amazonas.	23
Figura 2. Estructura de etiquetado para las muestras colectadas de truchas arcoíris.....	24
Figura 3. Puntos morfométricos laterales en la trucha arcoíris.....	25
Figura 4. Puntos morfométricos laterales en la trucha arcoíris.....	25
Figura 5. Puntos morfométricos ventrales en la trucha arcoíris.	25
Figura 6. Recepción y procesamiento de muestras trucha arco iris para su almacenamiento.	27
Figura 7. Protocolo de extracción de ADN de trucha arcoíris utilizando el kit Wizard® SV Genomic DNA Purification System de Promega.....	29
Figura 8. Protocolo de cuantificación de ADN de trucha arcoíris con fluorómetro y kit Promega.	30
Figura 9. Protocolo de cuantificación de ADN de trucha arcoíris con nanodrop.....	31
Figura 10. Actividades, métodos y softwares utilizados en los apartados del análisis de genética de poblaciones.....	32
Figura 11. Protocolo de amplificación de ADN de trucha arcoíris por PCR.....	34
Figura 12. Proceso de purificación de amplicones de la región control del genoma mitocondrial de trucha arcoíris.....	35
Figura 13. Árbol filogenético basado en la máxima verosimilitud. Valores por encima de las ramas son valores de Bootstrap de máxima verosimilitud y probabilidad bayesiana.	42
Figura 13. Árbol filogenético basado en la máxima verosimilitud. Valores por encima de las ramas son valores de Bootstrap de máxima verosimilitud y probabilidad bayesiana (<i>continuación</i>). 4243	4243
Figura 14. Mapa de calor (heatmap) basado en las distancias pairwise de la región control del genoma mitocondrial de poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas.	44
Figura 15. Gráfico de análisis de componentes principales (PCA) basado en distancias por pares de truchas arcoíris de la región Amazonas.	45
Figura 16. Red de haplotipos de las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas.....	50
Figura 17. Distribución de haplotipos en las poblaciones de truchas arcoíris en la región Amazonas.....	51
Figura 18. Red de haplotipos de las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas, sur de Chile y oeste de EEUU.	52

Resumen

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es un pez originario de las costas del Pacífico de América del norte. La fuga de material genético de truchas arcoíris a medios naturales puede generar variaciones genotípicas y así la alteración del flujo genético de estas comunidades naturales. La escasa investigación en el ámbito acuícola sobre la variación genética de esta especie en la región Amazonas limita el entendimiento de los posibles efectos sobre las prácticas acuícolas. En este sentido, el presente estudio busca analizar la estructura genética en poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas. Por ello, se amplificó la región control del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de ocho poblaciones naturales. Se identificó 5 de los 8 haplotipos de trucha, principalmente provenientes de cuencas de California. También se encontró alto nivel de estructuración ($F_{st}=0.40044$), diversidad haplotípica ($H=0.723 \pm 0.018$) y diversidad genética (0.2-0.9%) consecuencia de la importación continua de numerosas ovas de trucha y procesos de naturalización de las cuencas restringidas en la región Amazonas. Las poblaciones de truchas arcoíris de Jucusbamba y Huaylla Belén pueden ser usadas en programas de selección de potenciales reproductores. Esta línea de investigación podría ayudar en la creación de estrategias de manejo más efectivas para el mantenimiento de las poblaciones de truchas arcoíris naturalizadas.

Palabras clave: análisis filogenético, diversidad genética, especies introducidas, genética de poblaciones, región de control del mtDNA, trucha arcoíris.

Abstract

The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is a fish native to the Pacific coast of North America. The escape of genetic material from rainbow trout to natural environments can generate genotypic variations and thus the alteration of the genetic flow of these naturalized communities. The lack of research in the aquaculture field on the genetic variation of this species in the Amazonas region limits the understanding of the possible effects on aquaculture practices. In this sense, the present study seeks to analyze the genetic structure in rainbow trout populations in the Amazonas region. Therefore, the control region of the mitochondrial genome of rainbow trout from eight natural populations was amplified. Five of the eight trout haplotypes were identified, mainly coming from the California basins. A high level of structuring ($F_{st}=0.40044$), haplotypic diversity ($H=0.723 \pm 0.018$) and genetic diversity (0.2-0.9%) were also found as a consequence of the continuous importation of numerous trout eggs and naturalization processes of the restricted basins in the Amazonas region. The rainbow trout populations of Jucusbamba and Huaylla Belén can be used in selection programs for potential breeders. This line of research could help in the creation of more effective management strategies for the maintenance of naturalized rainbow trout populations.

Keywords: Genetic diversity, introduced species, mtDNA control region, phylogenetic analysis, population genetics, rainbow trout.

I. INTRODUCCIÓN

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es un pez originario de las costas del Pacífico de América del norte. Esta especie pertenece al grupo de los salmónidos, cuyo ambiente de desarrollo comprende cuerpos de agua frías y cristalinas de zonas montañosas situadas a más de 1500 msnm (Ministerio del Ambiente, 2021). La trucha arcoíris es un pez resistente y de fácil desove cuyo crecimiento es rápido y se aclimata a una amplia variedad de ambientes. Estas características hacen de la trucha arcoíris una de las especies piscícolas más importante en países con cuencas altiplánicas y andinas como el Perú (Portocarrero, 2018). Regiones como, Huancavelica, Junín, Pasco y Puno destacan por sus altas producciones acuícolas (PRODUCE, 2020).

Al igual que en otros países latinoamericanos la trucha arcoíris fue introducida en el Perú en el siglo XX (Loubens, 1983). La primera introducción de la trucha arcoíris se da en 1928 por parte de J.R. Mitchell y B.T. Colleg, trabajadores de la compañía minera “Cerro de Pasco”, actualmente denominada “Volcán compañía minera” (Loubens, 1983). Para ello importaron 50,000 ovas desde Estados Unidos, los cuales se lograron desarrollar hasta alcanzar un promedio de 10 centímetros en estanques hechos en la mina. Posteriormente, se estableció un criadero a orillas del río Tishgo, adyacente al lago Chinchaycoya ubicado en el distrito de La Oroya (MacCrimmon, 1971). Desde ahí se daba la posterior distribución a los lagos, ríos y estanques de Junín y Pasco, con el establecimiento de 50 truchas arcoíris en el Centro piscícola “El Ingenio” en la provincia de Concepción en Junín (MacCrimmon, 1971). Por otra parte, se formó una comisión mixta entre Perú y Bolivia para dar inicio a los estudios y posteriores planes de introducción y poblamiento del lago Titicaca con otros salmónidos (Ministerio del Ambiente, 2015). De esta forma, fue hasta 1939 cuando se logró introducir las siguientes cuatro especies: la trucha marrón (*Salmo truttafario*), la trucha de lago (*Salvelinus namaycush*), la trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*) y la trucha arcoíris (*Salmo gairdneri* actualmente *Oncorhynchus mykiss*), siendo la última, la que más se aclimató y aún persiste en la actualidad (MacCrimmon, 1971). Esto generó que en la década de 1950 se produjera el mayor desarrollo y distribución de la trucha arcoíris en el Perú (MacCrimmon, 1971; MINAM, 2015).

La trucha arcoíris se caracteriza por tener un cuerpo en forma alargada, cuenta con la aleta adiposa la cual usualmente cuenta con un borde oscuro, en su cabeza presenta cambios mínimos en la boca y el color de los machos desovantes, cabe destacar que no presenta tubérculos nupciales (FAO, 2019). Su coloración oscila en la gama de azul a verde oliva en la cual destaca la banda rosada a lo largo de la línea lateral y plateada. Así mismo, en todo el lomo, cabeza y parte de los costados se cubre con puntos negros (Ministerio del Ambiente, 2015). No obstante, la coloración de la trucha arcoíris varía de acuerdo con el habitat y etapa fisiológica del individuo (FAO, 2019). La citogenética de la trucha arcoíris revela que un organismo haploide está compuesto por $n= 29-32$, triploide $3n= 87-94$ y tetraploide $4n= 116-126$ cromosomas (Pineda et al., 2004).

La alimentación de poblaciones de truchas arco iris adaptadas a los ríos y lagos se compone sobre todo de insectos acuáticos (62 %) y peces (14 %) (Loubens, 1983). En las aguas peruanas del lago Mayor, los ejemplares de menos de 27 cm se alimentan particularmente de anfípodos (62 %), de insectos (18 %) y de peces (17 %) (Loubens, 1983). Aquéllos de 27 a 46 cm se alimentan esencialmente de peces (76 %). Laba (1979) concluye que existe competencias tróficas entre la trucha arcoíris y peces nativos (por ejem., *Orestias cuvieri*, *Orestias pentlandii* y *Trichomycterus rivulatus*), las cuales son reducidas en número en presencia trucha (Loubens, 1983). Por otra parte, se puede mencionar que esta consecuencia fue por la nula existencia de políticas orientadas a la gestión de recursos pesqueros y biodiversidad (Ministerio del Ambiente, 2021). No obstante, el 100% de pobladores de zonas altoandinas y aledaños a lagos y ríos de Huánuco y Huancayo donde se desarrolla la trucha arcoíris, a mayor escala, concluyeron que la presencia de la trucha arcoíris no genera ningún efecto negativo en especies nativas (Ministerio del Ambiente, 2015, 2021).

En el anuario estadístico pesquero y acuícola del Perú para el año 2020, hubo una caída de -10.8% en la producción (Quispe et al., 2021). Sin embargo, la trucha se posicionó como la principal especie cosechada en el territorio peruano con un total del 37.7% (2,793.41 TM) de la cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad acuícola, produciéndose 352 TM en Amazonas (Quispe et al., 2021). La producción de trucha arcoíris en la región Amazonas se ha incrementado en los últimos años debido a incentivos por medio de proyectos para la crianza y producción de trucha arcoíris, generando diversas utilidades en su cadena

productiva (Quispe et al., 2021). Esta práctica ha demostrado ser rentable principalmente debido a las condiciones climáticas, predominantes en las zonas montañosas y las condiciones hidrográficas de la región (Ministerio del Ambiente, 2019). La clasificación según el tipo de categoría productiva vigente al año 2020 para Amazonas fue de acuicultura de micro y pequeña empresa (AMYPE) y Acuicultura de recursos limitados (AREL) (Quispe et al., 2021). Para ello, el Ministerio de la Producción (PRODUCE) otorgó un total de 4.8 hectáreas para el cultivo de trucha arcoíris (Quispe et al., 2021). En la región Amazonas, la acuicultura de trucha arcoíris es una actividad reciente y en desarrollo cuya base de producción se concentra en las provincias de Chachapoyas (Molinopampa, Soloco, Sonche), Luya (Lamud y Cohechan), Rodríguez de Mendoza (San Nicolas) y Bongará (La Florida) (DIREPRO-Amazonas, 2010). Sin embargo, esta actividad ha generado la fuga de material genético de truchas arcoíris a medios naturales como ríos, riachuelos y lagos aledaños de estos distritos. Adicionalmente, la falta de infraestructura y tecnologías óptimas para el cultivo de truchas incentivan la fuga de este material genético (Ministerio del Ambiente, 2021).

La diversidad genética es un tipo de biodiversidad que comprende las diversas características genéticas dentro de cada especie (Begon et al., 2006; Chanchay, 2017). Estas características pueden ser netamente de carácter evolutivas acorde al ambiente de desarrollo de la especie permitiendo la posibilidad de sobrevivencia de los individuos (Chanchay, 2017). La diversidad genética permite comprender los procesos de estructuración genética de la población. Esta estructura genética, en un medio natural, se ve influenciada por factores como la selección natural, mutaciones, deriva genética, mutaciones y flujo genético (Begon et al., 2006). Este último confirma los niveles de migración que ocasiona la transferencia de alelos de genes de una población a otra dentro de la misma especie (Begon et al., 2006).

Actualmente la diversidad genética ha adquirido una importancia en la verificación de las diferencias adaptativas entre poblaciones de especies (Chanchay, 2017). Para ello, el uso de herramientas moleculares son fundamentales, ya que permiten la determinación de parámetros de diversidad dentro y entre especies para evaluar el nivel del flujo genético de las comunidades de estas especies (Leyva, 2003). Técnicas adicionales como la Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD) y los marcadores microsatélites de secuencias simples repetidas (SSR) han sido ampliamente utilizadas en la caracterización de la diversidad

genética (Afzali et al., 2013). Sin embargo, actualmente han pasado al desuso por técnicas de mayor resolución y de menores costos tales como genotipación y DNA-barcoding. En la primera se busca identificar polimorfismos de nucleótido simple (SNP) basada en las variaciones de nucleótidos únicos (FAO, 2008). Los SNPs son abundantes en el genoma, la mayoría se ubican en regiones no codificantes por consecuencia no generan un impacto directo en el fenotipo, al contrario solo unos pocos son los que introducen mutaciones puntuales y directas que causan expresiones que pueden inducir a cambios de la estructura y regulación de ciertas proteínas (Hahn-von-Hessberg et al., 2015). Otra técnica es el secuenciamiento de marcadores moleculares de regiones codificantes o no codificantes (DNA-barcoding), como es el caso de la región control en peces. Este marcador es ideal para la caracterización de patrones geográficos de variación genética tanto dentro y entre poblaciones en poblaciones de peces continentales (Ballesteros et al., 2019; Colihueque et al., 2019). Este marcador también llamado también D-Loop (bucle de desplazamiento), en vertebrados contiene el origen de la replicación y transcripción de la molécula de DNA mitocondrial (Hoelzel et al., 1991). Esta región incluye los más altos niveles de variación en su longitud y secuencia, cuenta también con mayor concentración de adenina y timina (A-T) (Vega, 2007). Además, en ésta se encuentra los elementos de control necesarios para la replicación y transcripción (Wolstenholme, 1992).

En la actualidad, se diferencian cinco subespecies principales de truchas, donde se encuentran rainbow trout, steelhead trout o trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), redband trout (*Oncorhynchus mykissgairdneri*), golden trout (*Oncorhynchus aguabonita*), trucha toro (*Salvelinus confluentus*) y cutthroat trout (*Oncorhynchus clarkii*), sin embargo la denominación que reciben varía según el lugar donde se encuentran, teniendo en cuenta ello se estimaría la existencia de 14 subespecies de truchas (Bagley & Gall, 1998; Colihueque et al., 2019). Dentro de *Oncorhynchus mykiss* se han identificado inicialmente dos grupos genéticos (grupo A y grupo B). El grupo genético A (representado por el haplotipo MYS01K-1-EU) tiene una alta frecuencia en poblaciones en el noreste del Pacífico; mientras que el grupo genético B (representado por el haplotipo RTDL20) se encuentra relacionado con las poblaciones steelhead trout y redband trout distribuidas al norte del cabo Mendocino y la cuenca del río Columbia, respectivamente. Recientemente, se determinaron la presencia de cinco grupos genéticos (A, B C, D y E) en las regiones del sur de Chile (Biobío, Araucanía,

Los Ríos y Los Lagos) (Colihueque et al., 2019), que corresponden a haplotipos de poblaciones nativas de truchas identificadas por Bagley & Gall (1998).

La fuga de material genético de truchas arco iris a medios naturales puede generar variaciones fenotípicas y genotípicas que permitan la adaptación de estas especies y así la alteración del flujo genético de estas comunidades naturalizadas de truchas arco iris de la región Amazonas (Povh et al., 2008). La escasa investigación en el ámbito acuícola sobre la variación genética dentro de esta especie limita el entendimiento de los posibles efectos sobre las prácticas acuícolas. Por ello, el presente estudio busca analizar la estructura genética en poblaciones de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de la región Amazonas para identificar la diversidad de haplotipos genéticos, determinar el grado de conectividad y el flujo genético entre sus comunidades naturalizadas y establecer las bases de programas de conservación de material genético con potencial acuícola.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Colecta y procesamiento de muestras de trucha arcoíris

a. Procedencia de las muestras

Se colectaron individuos provenientes de poblaciones naturales de truchas arcoíris de ríos y lagos de las provincias del sur de la región Amazonas. Se obtuvieron un total de 103 individuos de truchas arcoíris.

Los individuos de truchas arcoíris fueron muestreados de ríos y lagos con prácticas como la pesca artesanal con carnada o pesca con red. La colecta de estas muestras en campo buscó obtener individuos con la mayor variabilidad morfológica para asegurar la mayor presencia de grupos diferenciados (Colihueque et al., 2019).

Los individuos de trucha arcoíris fueron obtenidos de recursos hidrográficos de ambientes lénticos y lóticos ubicados a altitudes superiores a los 1500 msnm de la Región Amazonas. Las provincias de colecta de truchas arcoíris se encuentran listadas en la **Tabla 1** y representadas en la **Figura 1**. Estos ambientes son hábitats óptimos para el desarrollo de la trucha arcoíris.

Tabla 1. Información de los Lugares de Colecta de Trucha Arcoíris.

Recurso Hidrográfico	Individuos recolectados	Código	Distrito	Provincia	Altitud (m.s.n.m.)	Coordenadas		
						Este	Sur	Zona UTM
Río Imaza	17	AI015-AI030	Alto Imaza	Chachapoyas	2 700	207500	9325100	18M
Río San Antonio	15	MSA041-MSA064	Molinopampa	Chachapoyas	2 514	222307	9292232	18M
Río Tilacancha	12	TL080-TL091	Levanto	Chachapoyas	3 095	185437	9301836	18M
Río Jucusbamba	13	JSB001-JSB013	Santo Tomas	Luya	2 583	173967	9318558	18M
Río San José de Lauman	11	SJL039-SJL040	Santo Tomas	Luya	2 585	182110	9272613	18M
Río Santo Tomas- Cupuy	15	ST065-ST079	Santo Tomas	Luya	3 115	181604	9270872	18M
Valle Huaylla Belén	12	HB092-HB103	Colcamar	Luya	2 750	826050	9305101	18M
Laguna Huamanpata	8	HMP031-HMP038	San Nicolas	Rodríguez de Mendoza	2 100	228942	9297801	18M

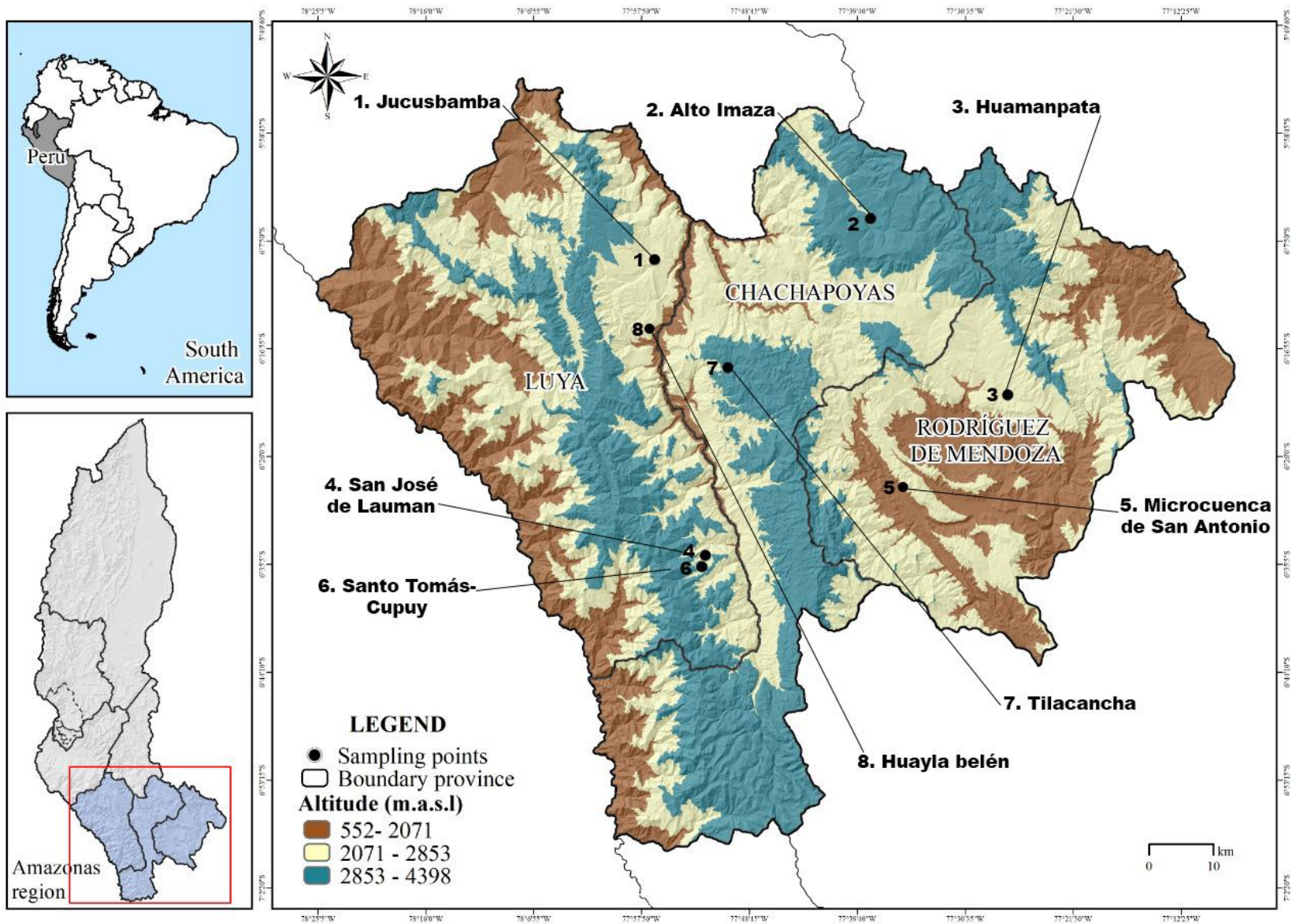


Figura 1. Mapa de las provincias y recursos hídricos donde se colectó las muestras de truchas arcoíris de la Región Amazonas.

b. Preparación de muestras de trucha arcoíris

Las muestras colectadas se procesaron en el área de Biología Molecular y Genómica del Laboratorio de Fisiología Vegetal (FISIOVEG) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM-A). Los individuos fueron lavados con agua filtrada para extraer contaminantes que puedan interferir con el proceso de extracción de ADN. Cada individuo se codificó de acuerdo a la etiqueta de la **Figura 2**.

Muestra: xxxxxx	
Lugar de procedencia: (siglas del lugar)	
Fecha: xx/xx/xx	Número de muestra-tipo
Iniciales del tesista	

Figura 2. Estructura de etiquetado para las muestras colectadas de truchas arcoíris.

c. Medición parámetros morfométricos de trucha arcoíris

Cada individuo de trucha arcoíris fue registrado mediante fotografías laterales y ventrales para que mediante el software ImageJ se obtengan mediciones de los 38 parámetros morfométricos detallados en la **Tabla 2**. Así mismo, se incluyó el registro de peso de cada individuo. Lo antes mencionado se hizo mediante la revisión de estudios morfométricos relacionados a la trucha arco iris como estudios de Ruizcampos et al. (2003) y Gonzáles & Días (2020).

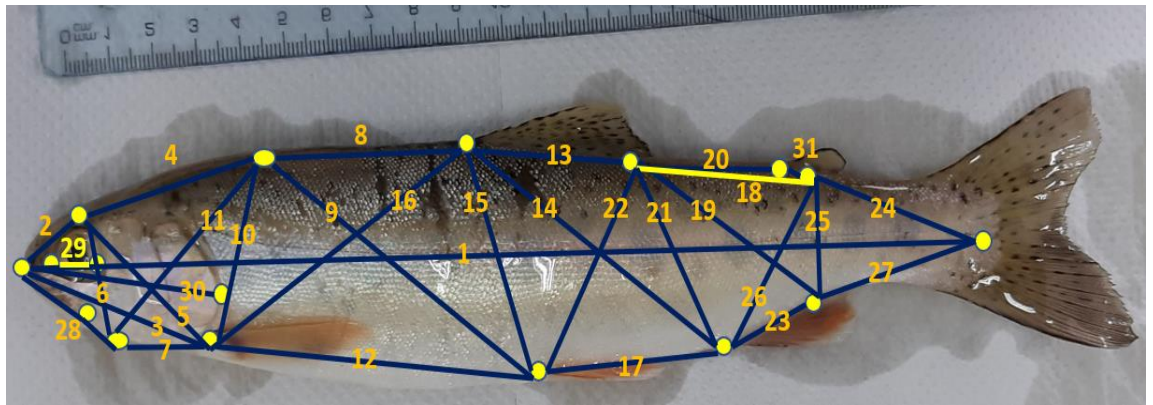


Figura 3. Puntos morfométricos laterales en la trucha arcoíris.

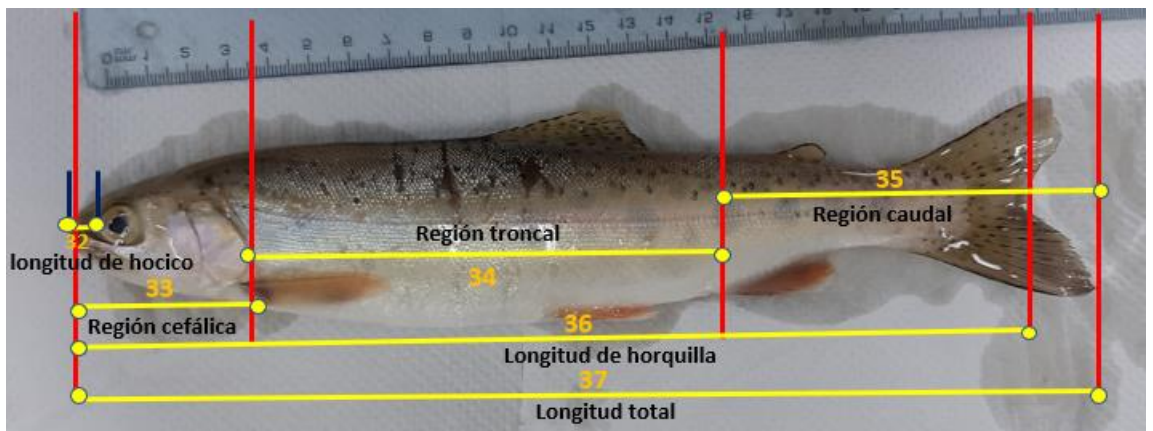


Figura 4. Puntos morfométricos laterales en la trucha arcoíris.



Figura 5. Puntos morfométricos ventrales en la trucha arcoíris.

Tabla 2. Parámetros morfométricos basado en el truss protocol.

Longitud (cm)	Parámetro
1	Largo estándar
2	Distancia hocico a la epifiseal
3	Distancia hocico a la aleta pectoral
4	Distancia epifiseal a la supraoccipital
5	Distancia epifiseal a la aleta pectoral
6	Distancia epifiseal a la articular
7	Distancia articular al origen aleta pectoral
8	Distancia supraoccipital al origen aleta dorsal
9	Distancia supraoccipital al origen aleta pélvica
10	Distancia supraoccipital al origen aleta pectoral
11	Distancia supraoccipital al articular
12	Distancia aleta pectoral a la aleta pélvica
13	Base aleta dorsal
14	Distancia origen aleta dorsal al origen aleta anal
15	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pélvica
16	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pectoral
17	Distancia aleta pélvica al origen aleta anal
18	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta adiposa
19	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta anal
20	Distancia posterior aleta dorsal a origen de la aleta adiposa
21	Distancia posterior aleta dorsal al origen aleta anal
22	Distancia posterior aleta dorsal a la aleta pélvica
23	Base aleta anal
24	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta caudal
25	Distancia posterior aleta adiposa a la posterior aleta anal
26	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta anal
27	Distancia posterior aleta anal a la aleta caudal
28	Largo maxilar
29	Diámetro de ojo a ojo
30	Ancho de cabeza
31	Base aleta adiposa
32	Longitud de hocico
33	Región cefálica
34	Región trocal
35	Región caudal
36	Longitud de horquilla
37	Longitud total
38	Peso total (g)

d. Análisis moleculares.

Se tomaron muestras de las aletas pectorales y ventrales de cada uno de los individuos, con el uso de tijera, pinzas y bisturí en condiciones asépticas y, de la misma manera, se cortó un trozo del músculo lateral. Estas muestras fueron colocadas en tubos para microcentrífuga de 2ml para ser conservados en racks a -77°C . Cabe destacar que las muestras se tomaron de tres tipos de tejidos con la finalidad de guardar respaldos de las muestras y evaluar con qué tejido (aleta pectoral, aleta ventral y músculo) se obtenían mayor concentración y calidad de ADN. Las muestras del tipo A que incluyó la aleta pectoral y ventral izquierda; las muestras del tipo B incluyó la aleta pectoral y ventral derecha y las muestras del tipo C fueron de músculo de aproximadamente $1\text{cm} \times 1\text{cm}$ (**Figura 6**).

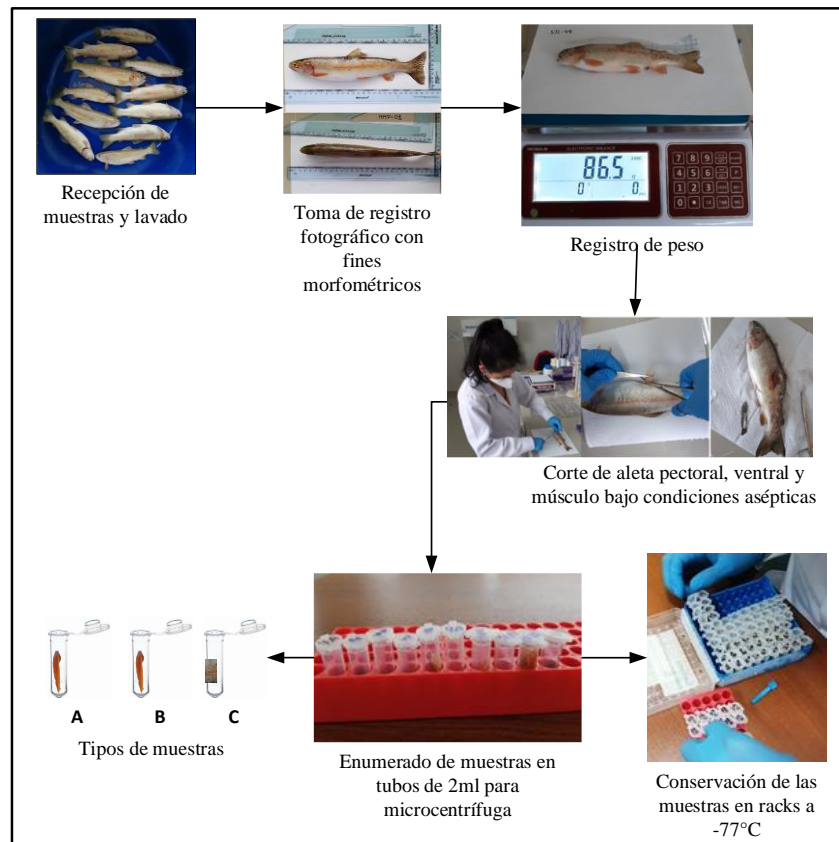


Figura 6. *Recepción y procesamiento de muestras trucha arco iris para su almacenamiento.*

e. Extracción de ADN

Para la extracción del ADN de cada muestra se empleó el kit de extracción Wizard® SV Genomic DNA Purification System de Promega (Madison, EE.UU.), el cual certifica su uso en el aislamiento de ADN genómico a partir de tejidos animales mediante una microcentrífuga (**Figura 7** en la siguiente pagina). Adicionalmente, se analizaron protocolos de extracción de ADN a partir de aleta y larva de peces para adaptar el protocolo y maximizar la calidad y cantidad de ADN (Lopera et al., 2008; Nam et al., 2003 Armijos, 2020).

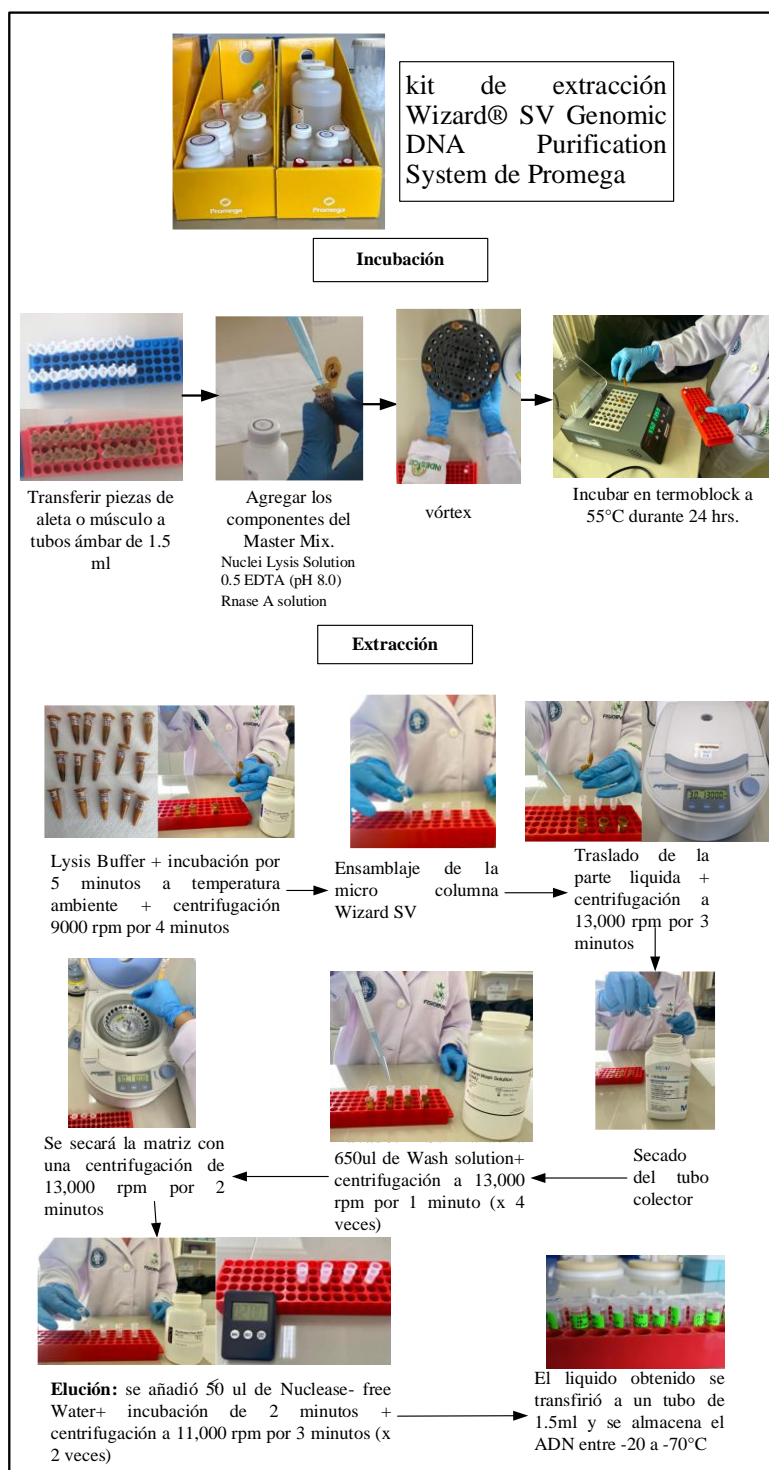


Figura 7. Protocolo de extracción de ADN de trucha arcoíris utilizando el kit Wizard® SV Genomic DNA Purification System de Promega.

f. Valoración cuantitativa

➤ Cuantificación con fluorómetro

Se empleó el kit de cuantificación Promega QuantiFlour dsDNA system y el equipo cuantificador Quantus Fluorometer de Promega (Madison, EE. UU) según las indicaciones del fabricante. Este cuantificador se caracteriza por tener un tinte fluorescente de unión al ADN que permite la cuantificación de cantidades pequeñas de ADN.

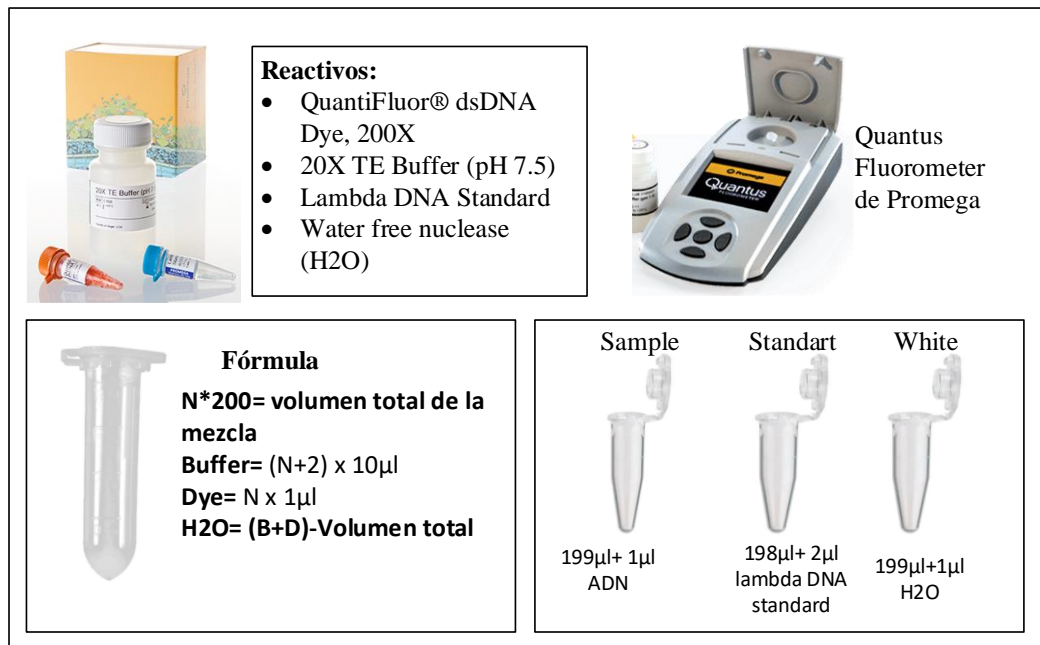


Figura 8. Protocolo de cuantificación de ADN de trucha arcoíris con fluorómetro y kit Promega.

➤ Cuantificación con nanodrop

Con el fin de garantizar la integridad y la pureza de las cadenas de ADN se realizó la cuantificación con el Eppendorf bio Spectrofotometer® basic. Esta lectura se dio mediante el uso de la cubeta de 1mm. Para ello, se colocó 1 µl de cada muestra para conseguir la cuantificación del ADN en ng/ µl y se obtuvo también valores de absorbancia cuyos parámetros oscilan de ratio A260/A280 y ratio A260/A230.

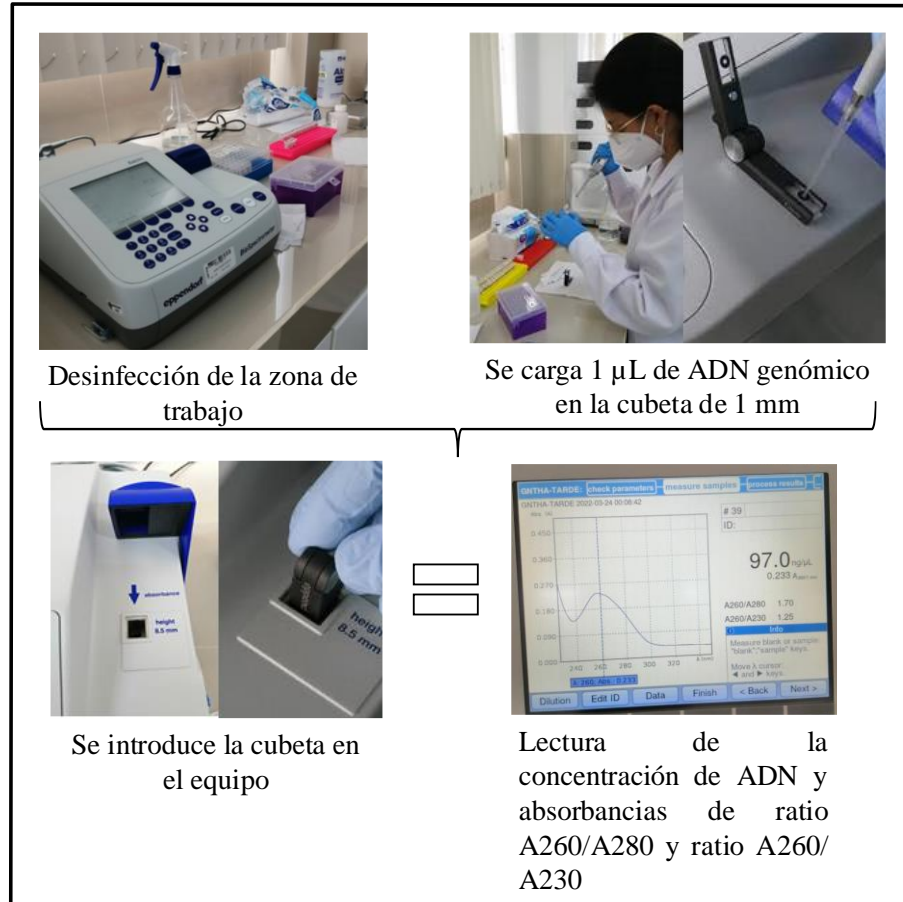


Figura 9. Protocolo de cuantificación de ADN de trucha arcoíris con nanodrop.

g. Valoración cualitativa

➤ Electroforesis

Para realizar la electroforesis se empleó gel de agarosa al 1%, preparado con 20 ml de TAE, 0.22 g de Agarosa y 2µl de SYBR Green. Este último actuó como agente intercalante en la tinción de ADN, de esta manera permitió la visualización de ácidos nucleicos en forma de bandas en dicho gel de agarosa (Jegasothy et al., 2000).

2.2. Análisis de genética de poblaciones

El análisis de genética de poblaciones involucró múltiples actividades y métodos de análisis mediante el uso de distintos softwares para entender la estructuración, diversidad genética y filogenia de la trucha arcoíris en la región Amazonas. Dichas actividades y métodos de análisis se resumen en la **Figura 10**.

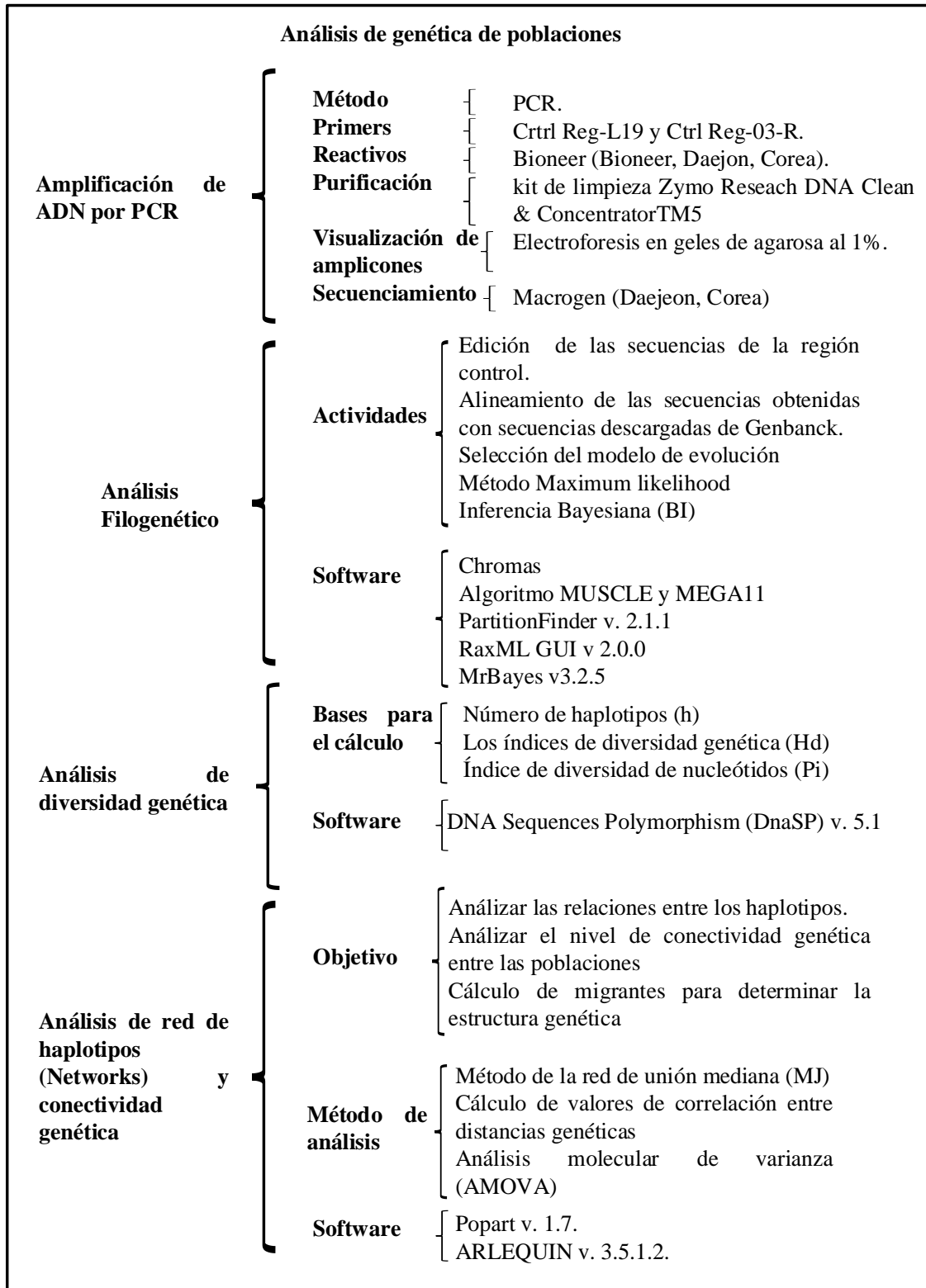


Figura 10. Actividades, métodos y softwares utilizados en los apartados del análisis de genética de poblaciones

2.3. Amplificación de ADN por PCR

Se amplificó la región control del genoma mitocondrial de 103 individuos de trucha arcoíris utilizando los primers Ctrl Reg-L19 (5'-CCACTAGCTCCCAAAGCTA-3') y Ctrl Reg-03-R (5'-GTGGGTAACGGGCAATAAGA-3') (Colihueque et al., 2019) mediante reacción en cadena de Polimerasa (PCR) con el uso de reactivos Bioneer (Bioneer, Daejon, Corea). La reacción de amplificación tuvo una mezcla total de 10 µL conteniendo 5 µL de Master mix, 2.6 µL de agua destilada, 0.2 µL de Primers directo y reverso de 5–10 µL y 2 µL de ADN genómico (Zhang et al., 2019; Zhan et al., 2021). El protocolo del PCR utilizado se muestra en la **Tabla 3**:

Tabla 3. Parámetros del protocolo de PCR para amplificación de región control del genoma mitocondrial de trucha arcoíris.

Marcador	Fases	Condiciones de PCR	
		Temperatura	Tiempo
Region control	Pre-desnaturalización	95 C°	1'
	Desnaturalización	94 C°	30''
	Annealing	48 C°	30''
	Extensión	68 C°	45''
	Extensión final	72 C°	5'

Los amplicones obtenidos durante la PCR se visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% en un tampón (Tris-borato 0.045M; EDTA 0.001M) durante el tiempo de 15 minutos a 100V (Pathirage et al., 2021; Ponce et al., 2021). Los amplicones con bandas claras fueron purificados.

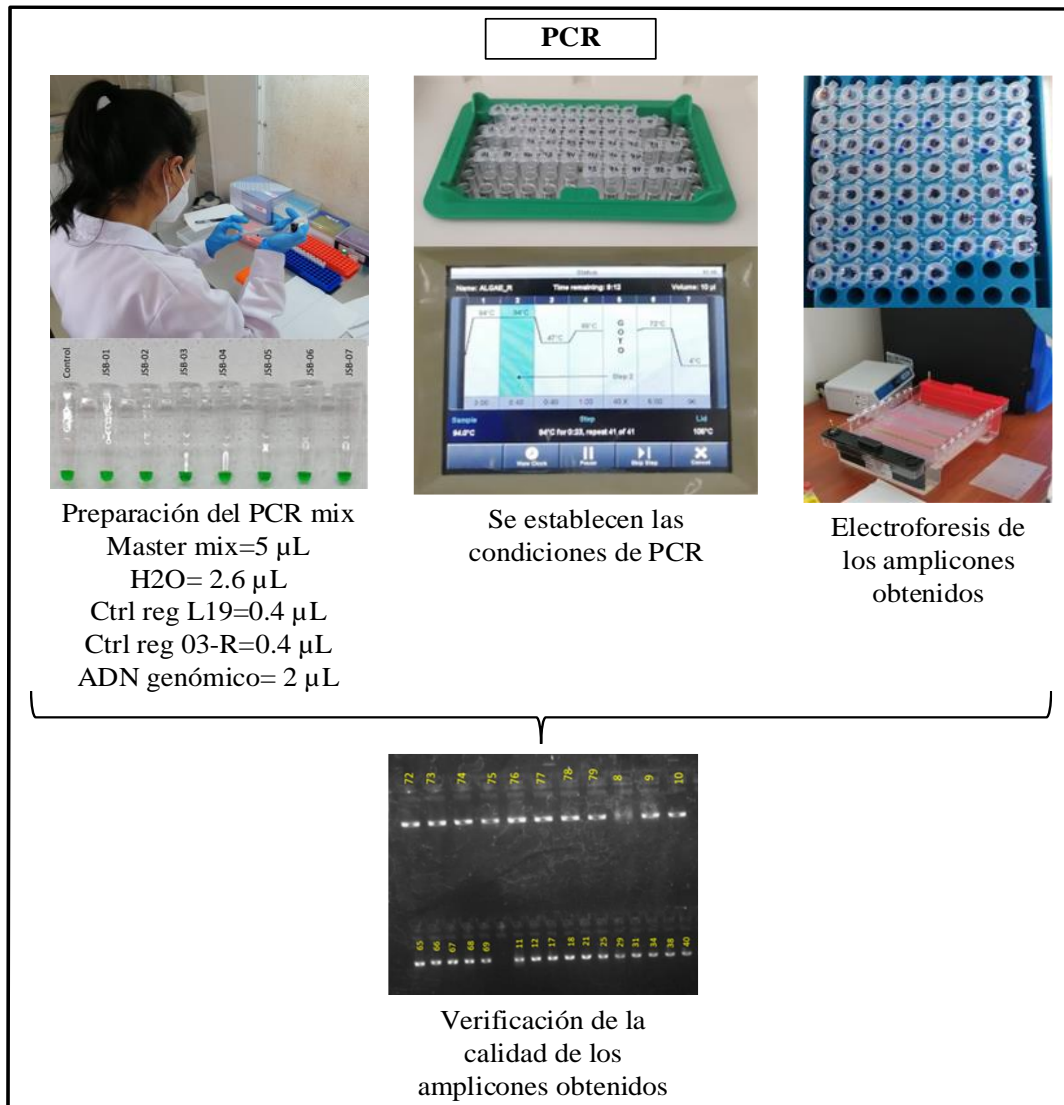


Figura 11. Protocolo de amplificación de ADN de trucha arcoíris por PCR.

2.4. Purificación de amplicones

La purificación se realizó con el kit de limpieza “High Pure PCR Product Purification Kit” de laboratorios Roche siguiendo las instrucciones del fabricante. Para ello:

- Se agregó 50 μ L de Binding Buffer (tampón de unión) en los tubos de PCR y se sometió a vórtex para mezclar los componentes, posteriormente se centrifugó para precipitar toda la mezcla.
- Se ensambló la columna y el filtro de alta pureza y se transfirió la mezcla de Binding buffer + solución de PCR

- Se añadió 500 μL de wash buffer para el primer lavado y 200 μL para el segundo lavado, después de agregar cada uno de estos se centrifugó a 13 000 rpm x 1 minuto.
- Finalmente, para la elución se cambió el tubo de colecta y se añadió 20 μL de elution buffer y se centrifugó a 13 000 rpm x 1 minuto para obtener amplicones altamente purificados, los cual para corroborar dicha calidad se empleó electroforesis.

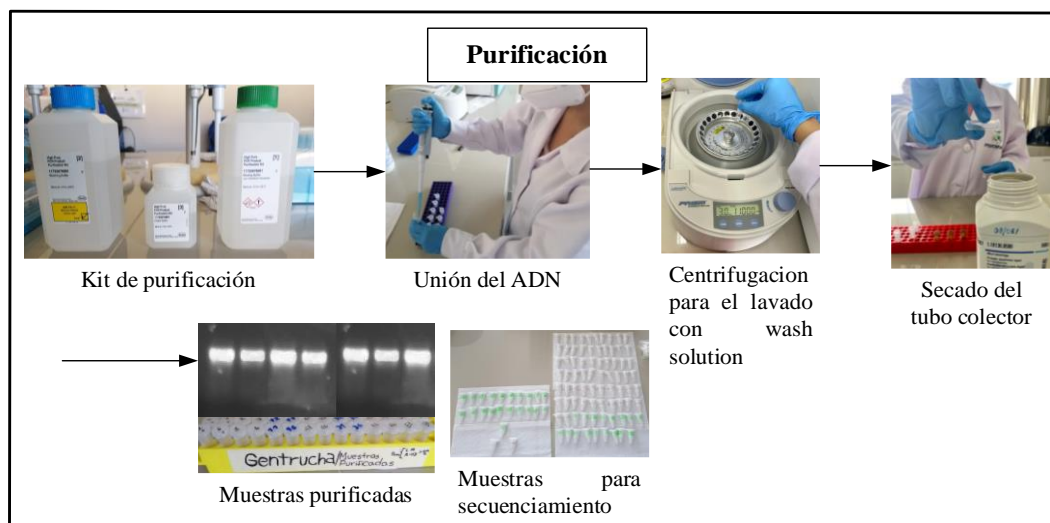


Figura 12. *Proceso de purificación de amplicones de la región control del genoma mitocondrial de trucha arcoíris.*

2.5. Secuenciamiento de ADN

Los amplicones purificados de la región control del genoma mitocondrial de trucha arcoíris se secuenciaron comercialmente por MacroGen (Daejeon, Corea del Sur) utilizando los mismos primers del proceso de amplificación (Tineo et al., 2020).

2.6. Análisis filogenético

Las secuencias de la región control se editaron utilizando el programa Chromas (Technelysium DNA sequencing software). Las secuencias generadas se alinearon con otras secuencias descargadas de GenBank utilizando el algoritmo MUSCLE y se ajustaron manualmente con el software MEGA11 (Zhan et al., 2021). El análisis filogenético se realizó con un total de 212 secuencias de la región control con una longitud de 444 pares de bases (pb), donde 103 secuencias pertenecen a las muestras

recolectadas en la región Amazonas y 109 secuencias fueron descargadas de Genbank. El modelo de evolución se seleccionó utilizando PartitionFinder v. 2.1.1 (Lanfear et al., 2017). Además, se empleó el método Maximum likelihood (Bustamante et al., 2019; Ilinsky et al., 2022) mediante el programa RaxML GUI v. 2.0.0 beta 10 con un análisis de Bootstrap con 1000 réplicas. La inferencia Bayesiana (BI) se realizó con el software MrBayes v. 3.2.5 para 10,000,000 de generaciones (Escobar et al., 2017; Ronquist et al., 2012; Zhang et al., 2019). Lo antes mencionado permitió la construcción del árbol filogenético y la obtención de grupos genéticos bien diferenciados.

2.7. Delimitación de especies basadas en ADN

La delimitación de especies fue evaluada mediante métodos de distancia genética, como Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) (Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, 2012) y parsimonia estadística (SNP) (Hart MW, 2007). Además, también se utilizó el método de delimitación por coalescencia denominado Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC).

El método ABGD fue determinado mediante la prueba de los datos en la interfase web (<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>). Para ello, los parámetros para el análisis se establecieron de la siguiente manera: 0.001 Pmin, y 0.1 Pmax, X (relative gap width) de 0.5, y modelo Kimura (K80) TS/TV (D. Bustamante et al., 2019). Para el análisis SNP se empleó el software TCS 1.21 (Clement et al., 2000) con una probabilidad de conexión máxima establecida en 95% de confianza estadística (Tineo et al., 2020). La delimitación de taxa usando GMYC se ejecutó mediante la construcción de un árbol ultramérico con el paquete de softwares de BEAST 2.0.2 (Drummond et al., 2012). Para ello, se establecieron las siguientes variables lognormal relaxed clock, modelo GTR+I+G y la construcción del árbol coalescente. Además, se ejecutó la simulación bayesiana Markov Chain Monte Carlo (MCMC) con 50 millones de generaciones con parámetros muestreados cada 1,000 generaciones. El archivo .log fue visualizado en Tracer 1.6 (Rambaut et al., 2014) para evaluar la veracidad y calidad de los datos obtenidos, posteriormente se empleó TreeAnnotator 2.0.2 para remover el 25% de los árboles defectuosos. Finalmente, el archivo creado con extensión Tree fue sometido a análisis en R (R Development Core Team 3.6.3; <http://www.R-project.org>)

mediante el paquete SPLITS y la función gmyc (R-Forge, <http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>) (Calderon et al., 2022). Los datos obtenidos de los tres métodos de análisis para delimitación de especies fueron comparados para delimitar el número de taxa presentes.

2.8. Heatmap y análisis de componentes principales (PCA) basado en pairwise distance

Las distancias genéticas por pares (pairwise distance) se calcularon para evaluar las divergencias genéticas entre los individuos de trucha arcoíris. Se obtuvieron los valores de distancia genética mediante MEGA11 luego fueron exportados al software R (R Development Core Team 3.6.3; <http://www.R-project.org>) para la construcción de un heatmap y un PCA usando los paquetes pheatmap y ggplot2 respectivamente (Kolde, 2019; Wickham, 2016). El heatmap presenta escalas y asignación de colores para la relación de las divergencias genéticas de los individuos en las coordenadas x e y. El PCA presentará la contribución de estas divergencias genéticas para el agrupamiento en base a sus similitudes genéticas (Bustamante et al. 2022).

2.9. Análisis de diversidad genética

El análisis de diversidad genética se basó en el cálculo del número de haplotipos (h), índices de diversidad genética (H_d) e índice de diversidad de nucleótidos (P_i) determinados mediante el software DNA Sequences Polymorphism (DnaSP) v. 5.1 (Garipey et al., 2021; Pathirage et al., 2021; Zhan et al., 2021).

2.10. Análisis de red de haplotipos (Networks) y conectividad genética

El análisis de las relaciones entre los haplotipos se realizó con el método de la red de unión mediana (MJ) mediante PopArt v1.7 (Bandelt et al., 1999; Leigh & Bryant, 2015) para las poblaciones de la Región Amazonas y las depositas en el Genbank. El análisis del nivel de conectividad genética entre las poblaciones de trucha arcoíris se determinó calculando los valores de correlación entre distancias genéticas mediante el índice de fijación (F_{ST}) con el uso de ARLEQUIN v. 3.5.1.2 (Ponce et al., 2021; Zhang et al., 2019). Además, se determinó la estructura genética de las poblaciones con el uso del análisis molecular de varianza (AMOVA) (Guernaoui et al., 2020).

III. RESULTADOS

3.1. Análisis de la estructura genética en poblaciones de truchas arcoíris

3.1.1. Análisis morfométrico basado en el truss protocol

Se obtuvieron un total de 38 parámetros a partir de medidas tomadas con el programa Image J. Los datos se exportaron y trataron en Excel obteniendo medidas de cada uno de los parámetros de los individuos de trucha arcoíris recolectados. Los promedios de cada parámetro de las distintas poblaciones de trucha arcoíris se presentan en el Anexo 1 y se resumen en la Tabla 4. En los mismos, se presentan valores mínimos (V_{\min}), valores máximos (V_{\max}) y promedios (\bar{x}) de estos parámetros. Los parámetros más resaltantes fueron largo estándar ($V_{\min}=12.5$ cm, $V_{\max}=25.4$ cm, $\bar{x}=18.9$ cm), distancia de la aleta pectoral a la aleta pélvica ($V_{\min}=4.1$ cm, $V_{\max}=12.0$ cm, $\bar{x}=8.1$ cm), base de la aleta dorsal ($V_{\min}=1.9$ cm, $V_{\max}=13.0$ cm, $\bar{x}=7.4$ cm), distancia de la región cefálica ($V_{\min}=2.7$ cm, $V_{\max}=33.0$ cm, $\bar{x}=17.9$ cm), distancia de la región troncal ($V_{\min}=5.9$ cm, $V_{\max}=34.0$ cm, $\bar{x}=19.9$ cm), distancia de la región caudal ($V_{\min}=5.6$ cm, $V_{\max}=35.0$ cm, $\bar{x}=20.8$ cm), longitud total ($V_{\min}=14.2$ cm, $V_{\max}=37.0$ cm, $\bar{x}=25.6$ cm) y peso total ($V_{\min}=28.8$ g, $V_{\max}=203.9$ g, $\bar{x}=116.4$ g).

Tabla 4. Resumen de resultados del análisis morfométrico a 103 truchas arcoíris de la región Amazonas.

N	Parámetro (cm)	Valor mínimo (Vmin)	Valor máximo (Vmax)	Promedio (\bar{X})
1	Largo estándar	12.481	25.388	18.934
2	Distancia hocico a la epifiseal	0.990	2.000	1.495
3	Distancia hocico a la aleta pectoral	2.788	5.320	4.054
4	Distancia epifiseal a la supraoccipital	1.419	4.929	3.174
5	Distancia epifiseal a la aleta pectoral	2.578	5.000	3.789
6	Distancia epifiseal a la articular	1.811	6.000	3.905
7	Distancia articular al origen aleta pectoral	1.043	7.000	4.021
8	Distancia supraoccipital al origen aleta dorsal	3.857	8.000	5.929
9	Distancia supraoccipital al origen aleta pélvica	5.218	9.523	7.371
10	Distancia supraoccipital al origen aleta pectoral	2.347	10.000	6.173
11	Distancia supraoccipital al articular	2.161	11.000	6.581
12	Distancia aleta pectoral a la aleta pélvica	4.122	12.000	8.061
13	Base aleta dorsal	1.882	13.000	7.441
14	Distancia origen aleta dorsal al origen aleta anal	4.117	14.000	9.059
15	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pélvica	3.100	15.000	9.050
16	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pectoral	4.378	16.000	10.189
17	Distancia aleta pélvica al origen aleta anal	2.533	17.000	9.767
18	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta adiposa	2.450	18.000	10.225
19	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta anal	3.380	19.000	11.190
20	Distancia posterior aleta dorsal a origen de la aleta adiposa	2.048	20.000	11.024
21	Distancia posterior aleta dorsal al origen aleta anal	2.715	21.000	11.858
22	Distancia posterior aleta dorsal a la aleta pélvica	3.028	22.000	12.514
23	Base aleta anal	1.693	23.000	12.347
24	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta caudal	2.380	24.000	13.190
25	Distancia posterior aleta adiposa a la posterior aleta anal	1.522	25.000	13.261
26	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta anal	2.352	26.000	14.176
27	Distancia posterior aleta anal a la aleta caudal	1.955	27.000	14.478
28	Largo maxilar	1.790	28.000	14.895
29	Diámetro ojo	0.679	29.000	14.839
30	Largo cabeza	2.825	30.000	16.412
31	Base aleta adiposa	0.413	31.000	15.706
32	Longitud de hocico	0.435	32.000	16.218
33	Región cefálica	2.705	33.000	17.853
34	Región trocal	5.934	34.000	19.967
35	Región caudal	5.564	35.000	20.282
36	Longitud de horquilla	13.449	36.000	24.725
37	Longitud total	14.197	37.000	25.599
38	Peso total (g)	28.833	203.980	116.407

3.1.2. Análisis filogenético y delimitación de taxa de truchas arcoíris

El análisis filogenético se construyó con análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana incluyendo 103 secuencias generadas para la región Amazonas y otras obtenidas de Genbank, de las cuales 68 son de origen chileno (Colihueque et al., 2019), y 41 pertenecen a truchas de los estados de Nevada, Idaho, Oregón y el norte de California, en Estados Unidos (Bagley & Gall, 1998; Colihueque et al., 2019). Además, se incluyó *Oncorhynchus clarki* de Utah (AF044167_OCL) como grupo externo enraizante del análisis filogenético.

Este árbol filogenético reveló la presencia de ocho grupos o clados, que fueron confirmados mediante los métodos de delimitación de taxa ABGD y SNP (**Figura 13**). Sin embargo, el método de delimitación por coalescencia GMYC demostró no ser muy preciso debido a la sobreestimación del número de individuos de trucha arcoíris.

En el grupo 1 están presentes 54 individuos de trucha arcoíris principalmente provenientes de poblaciones de Luya (ríos Jucusbamba, San José de Lauman, Santo Tomas- Cupuy y el valle de Huaylla Belén), Chachapoyas (río Alto Imaza, tilacancha y Microcuenca San Antonio), Chile (Biobio, Araucania, Los Ríos y Los Lagos) y del norte de California (Kern River Basin, Sacramento River coastal y California central: RTDL16, RTDL17, RTDL18, RTDL19 y RTDL21) (Figura 11). El grupo 2 está conformado por 53 individuos que en su mayoría son procedentes de la región Amazonas de la provincia de Luya (Jucusbamba, San José de Lauman, Santo Tomas- Cupuy y el valle de Huaylla Belén) y Rodríguez de Mendoza (Laguna de Humanpata), seguido por poblaciones chilenas y un individuo (RTDL20) de Rainbow trout (trucha arcoíris) procedente del norte de California (Figura 11). El grupo 6 está compuesto por 26 individuos, de los cuales 25 son procedentes de Amazonas específicamente de las provincias Chachapoyas (río Alto Imaza, Tilacancha y Microcuenca de San Antonio) y Rodríguez de Mendoza (Laguna de Huamanpata). Adicionalmente, solo se presenta un individuo de California (RTDL28). El grupo 5 está formado únicamente por 3 individuos de la Región Amazonas (071ST071) y dos haplotipos estadounidenses de truchas arcoíris

(AF044155_RTDL26, AF044156_RTDL27). Por último, el grupo 7 conformado por 27 individuos incluyendo truchas de Huaylla Belén, Alto Imaza, Chile y Estados Unidos (RTDL01, KP668864-MYS03C) pertenecientes a los Redband Trout **(Figura 13)**.

Los grupos 3, 4 y 8 no presentan individuos provenientes de la región Amazonas. El grupo 3 conformado por 3 individuos estadounidenses relacionados al haplotipo de Golden Trout. El grupo 4 agrupa individuos procedentes de Chile (KP668855-MYS01K) y Estados Unidos (RTDL29, RTDL32) que representan los haplotipos de Steelhead Trout y Rainbow Trout, respectivamente. Finalmente, el grupo 8 está conformado por individuos de Estados Unidos (RTDL10) mediante el haplotipo Redband Trout.

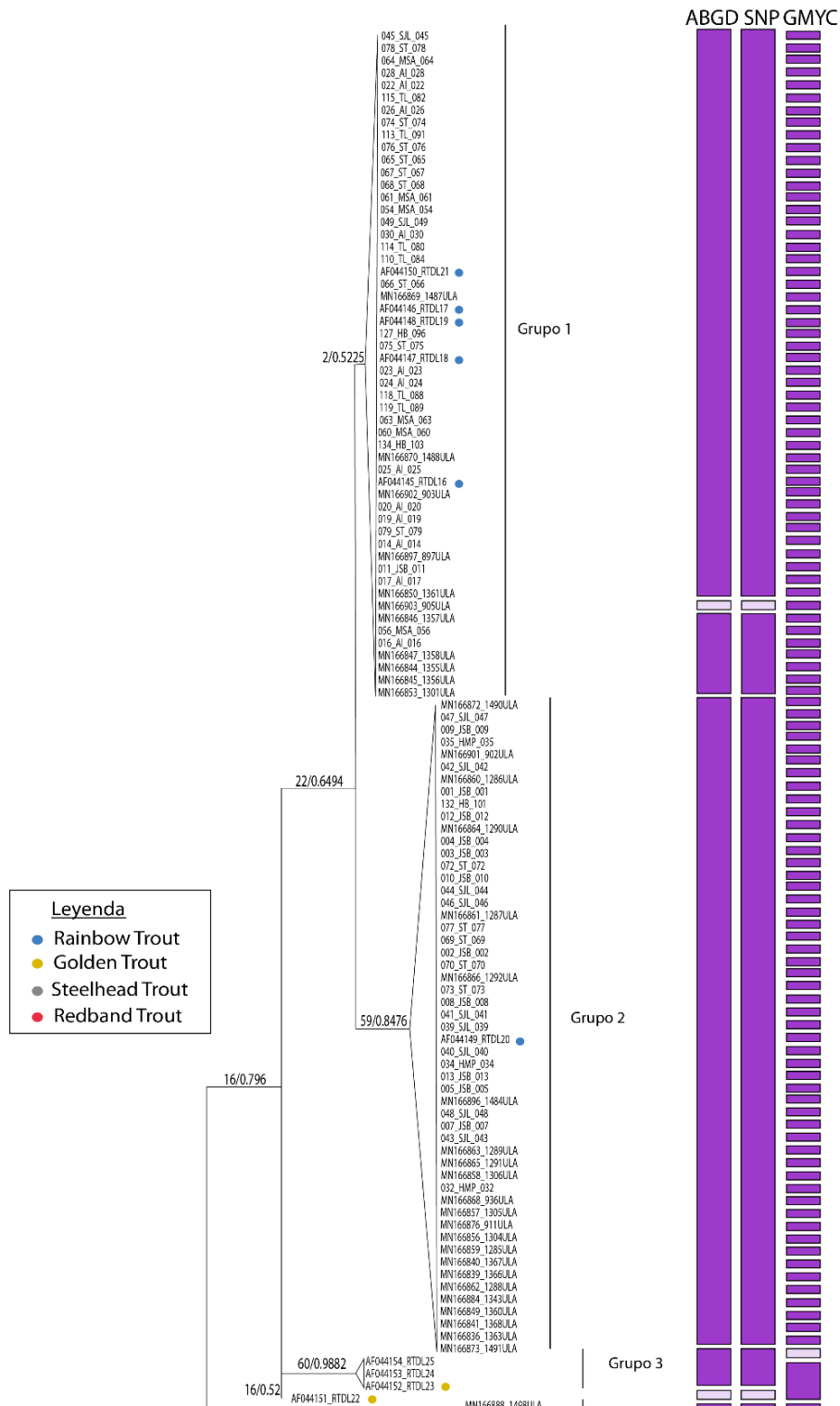


Figura 13. Árbol filogenético basado en la máxima verosimilitud. Valores por encima de las ramas son valores de Bootstrap de máxima verosimilitud y probabilidad bayesiana.

Las barras representan los resultados de los métodos de delimitación de taxa basados en ABGD, SNP y GMYC.

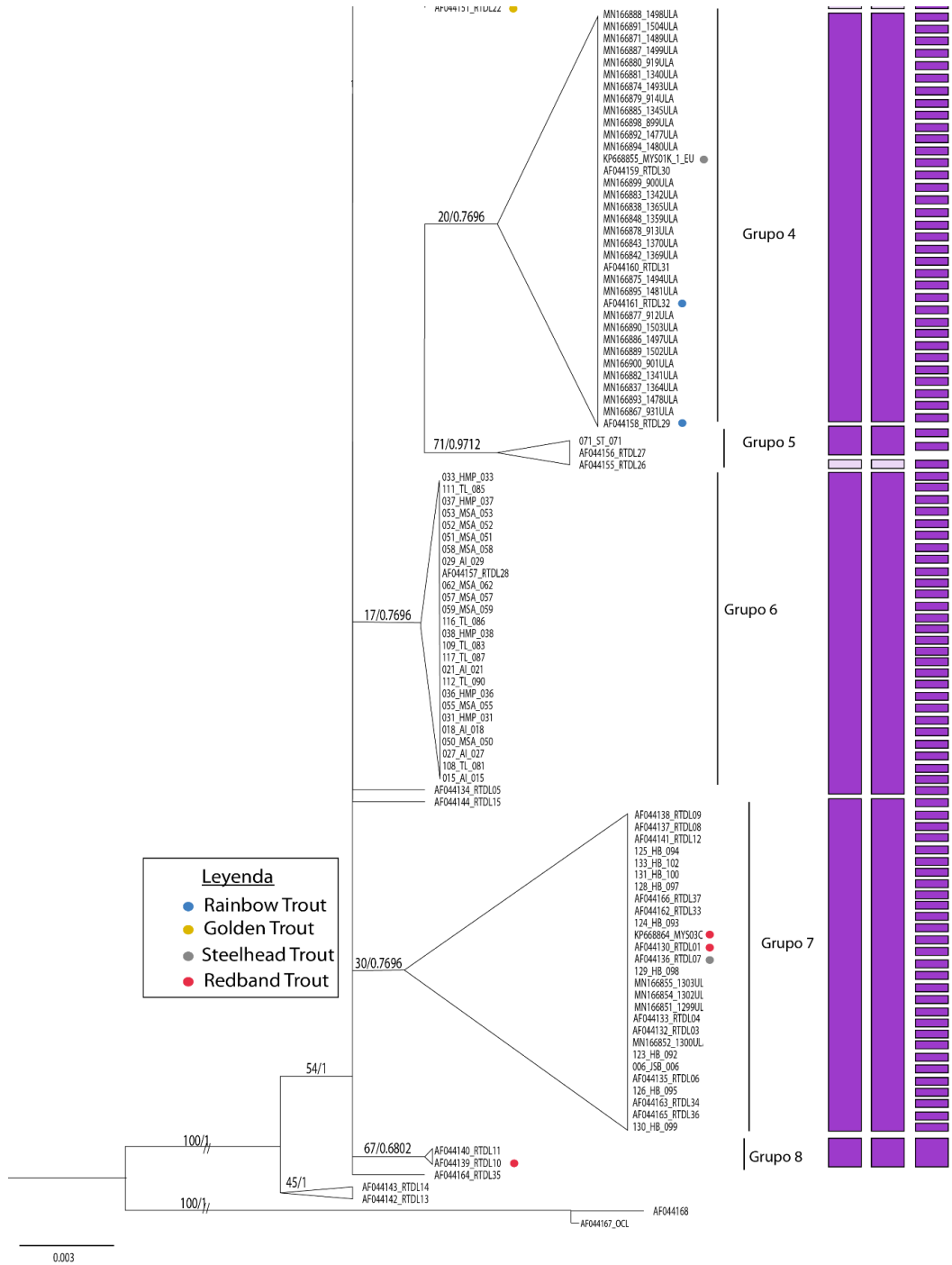


Figura 13. Árbol filogenético basado en la máxima verosimilitud. Valores por encima de las ramas son valores de Bootstrap de máxima verosimilitud y probabilidad bayesiana (Continuación).

3.1.3. Divergencia genética de la región control de truchas arcoíris

Las divergencias genéticas basadas en las distancias por pares de los 103 individuos de truchas colectadas de la región Amazonas y 7 haplotipos adicionales (AF044145_RTDL16, AF044149_RTDL20, AF044156_RTDL27, AF044157_RTDL28, KP668855_MYS01K, KP668864_MYS03C y AF044136_RTDL07) (Bagley & Gall, 1998; Rambaut et al., 2014) oscilaron entre 0.2-0.9% (**Figura 14**). Las divergencias genéticas de las poblaciones de Jucusbamba, Huamanpata, San José de Lauman y Santo Tomas-Cupuy frente a los haplotipos AF044157_RTDL28 y KP668855_MYS01K fueron las más divergentes (0.9%) (color azul en la **Figura 14**). Por otro lado, las poblaciones Jucusbamba; San José de Luman, Microcuenca de San Antonio y Santo Tomas-Cupuy fueron las menos divergentes (0.2- 0.3%) (color rojo en la **Figura 14**).

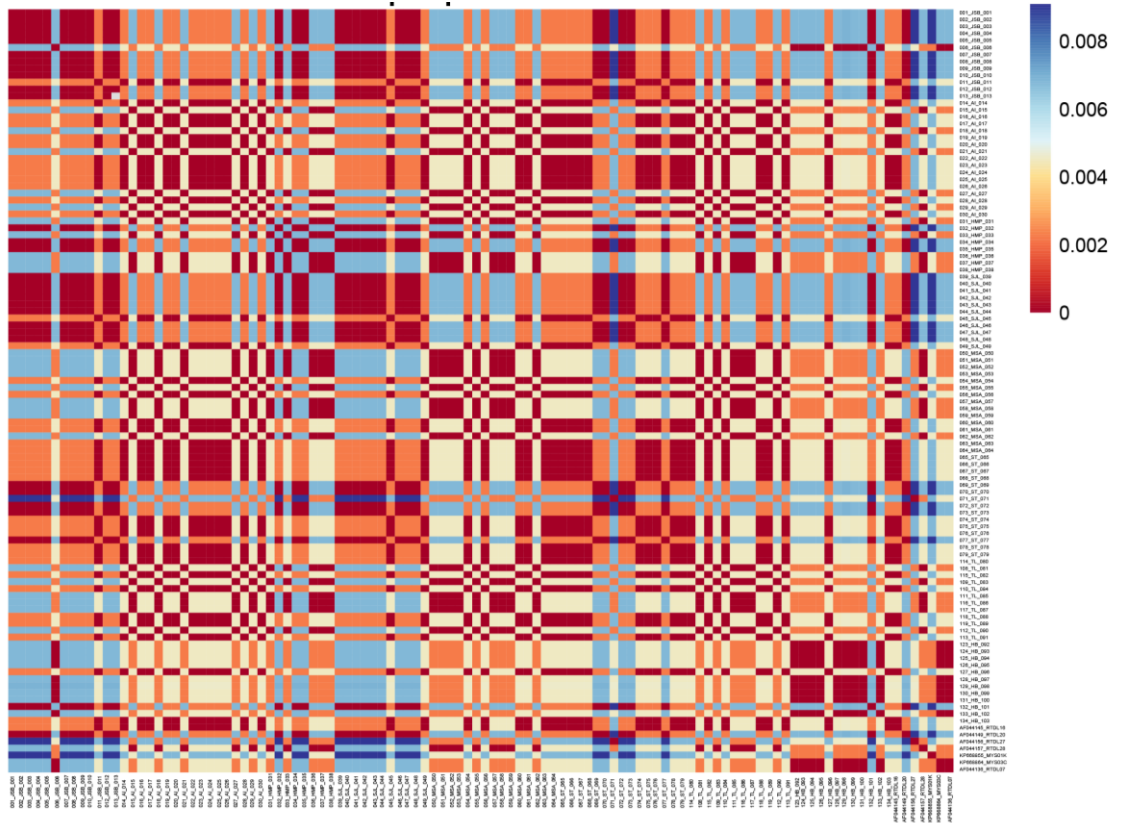


Figura 14. Mapa de calor (heatmap) basado en las distancias pairwise de la región control del genoma mitocondrial de poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas.

El análisis de componentes principales (PCA) basado en las distancias por pares de los 103 individuos de truchas colectadas de la región Amazonas y 7 haplotipos adicionales (AF044145_RTDL16, AF044149_RTDL20, AF044156_RTDL27, AF044157_RTDL28, KP668855_MYS01K, KP668864_MYS03C y AF044136_RTDL07) (Bagley & Gall, 1998; Rambaut et al., 2014) demuestran que los agrupamientos de los individuos evaluados se encuentran solapados debido a las divergencias genéticas mínimas (0.2-0.9%), de manera que son similares entre pares como se muestra en la **Figura 15**.

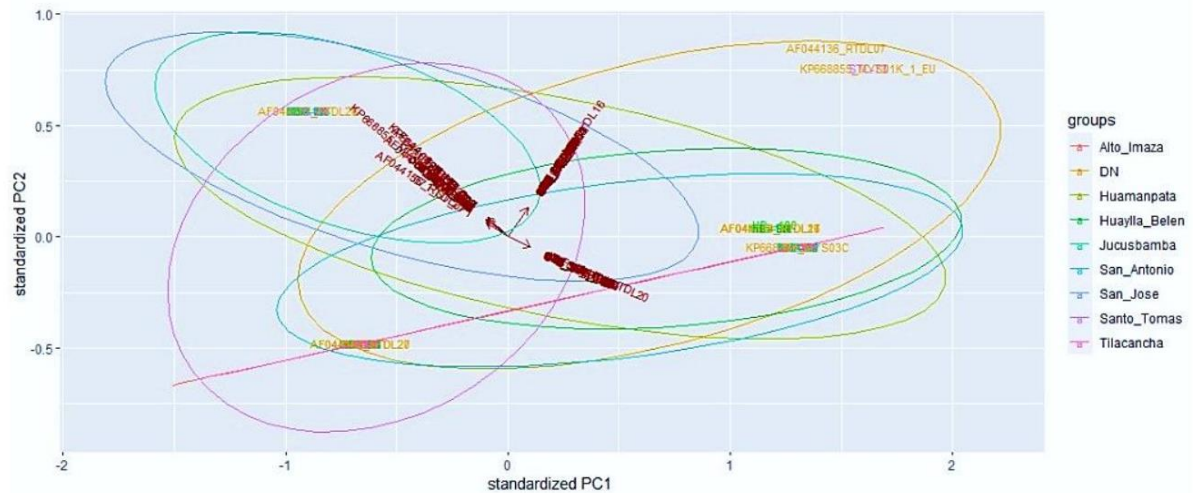


Figura 15. Gráfico de análisis de componentes principales (PCA) basado en distancias por pares de truchas arcoíris de la región Amazonas.

3.1.4. Diversidad genética

Las 103 secuencias generadas de ADN mitocondrial de la región control tuvieron una longitud de 444 pares de bases (pb). La composición de los nucleótidos fue A=32.29 %, T=31.60%, C=21.03% y G=15.09%. La data total de ADN mitocondrial de la región control de truchas arcoíris muestran diversidad de haplotipos elevada ($H=0.723 \pm 0.018$) y diversidad de nucleótidos relativamente baja ($P_i=0.00319 \pm 0.00016$), como se detalla en la Tabla 5. Las poblaciones con el mayor número de haplotipos fue Jucusbamba, Santo Tomas-Cupuy y Huaylla Belén ($h=3$). La población con el mayor número de sitios polimórficos ($s=4$) y más alta diversidad de haplotipos ($H =0.5619 \pm 0.095$) fue Santo Tomas-Cupuy. La población con más alta diversidad de nucleótidos ($P_i=0.00362 \pm 0.00083$) y mayor número promedio de diferencias de nucleótidos por pares ($k=1.60714$) fue Huamanpata.

El ratio de transición/transversión para todas las secuencias de los individuos recolectados de la región Amazonas fue de 0.95. En la región Amazonas, se encontraron un total de cinco haplotipos detallados en la **Tabla 6**. Dentro de los cinco haplotipos, 38, 29, 25, 10 y 1 individuos de trucha arcoíris fueron identificados. Adicionalmente, en relación a los grupos filogenéticos, los haplotipos definidos por Bagley & Gall (1998) fueron encontrados principalmente en los grupos 1 y 2, los cuales representaron aproximadamente 65.1% de los individuos recolectados (grupo 1=38.9% y grupo 2=28.2%). Los haplotipos restantes representaron el 34.9% de individuos recolectados (grupo 3=0.97%, grupo 4=24.3% y grupo 5=9.71%).

Tabla 5. Tabla de diversidad genética de truchas arcoíris recolectadas de la región Amazonas.

Poblaciones	Intervalo	n	h	s	H	Pi	k
Jucusbamba (JSB)	001 - 013	13	3	3	0.2949 ± 0.156	0.00133 ± 0.00082	0.58974
Alto Imaza (AI)	014 - 030	17	2	2	0.4412 ± 0.098	0.00199 ± 0.00044	0.88235
Huamanpata (HMP)	031 - 038	8	2	3	0.5357 ± 0.123	0.00362 ± 0.00083	1.60714
San José de Lauman (SJL)	039 -049	11	2	1	0.3273 ± 0.153	0.00074 ± 0.00035	0.32727
Microcuenca San Antonio (MSA)	050 - 064	15	2	2	0.5143 ± 0.060	0.00232 ± 0.00031	1.02857
Santo Tomas- Cupuy (ST)	065 - 079	15	3	4	0.5619 ± 0.095	0.00197 ± 0.00075	0.87619
Tilacancha (TL)	080 - 091	12	2	2	0.5455 ± 0.062	0.00246 ± 0.00028	1.09091
Huaylla Belén (HB)	092 -103	12	3	3	0.4394 ± 0.158	0.00225 ± 0.00081	0.98485
Total	103	103	5	4	0.723 ± 0.0180	0.00319 ± 0.00016	1.39577

n: número de muestras; h: número de haplotipos; s: número de sitios polimórficos; H: diversidad de haplotipos; Pi: diversidad de nucleótidos; K: número promedio de diferencias de nucleótidos por pares.

Tabla 6. Posiciones variables de los diferentes haplotipos de la región de control y distribución de haplotipos en poblaciones de trucha arcoíris de la Región Amazonas.

Grupos	Haplotipos representativos	Sitios variables				Localidades									Total	%
		22	97	250	330	JSB	AI	HMP	SJL	MSA	ST	TL	HB			
Grupo 1	RTDL16	.	T	.	G	1	12	0	2	6	9	6	2	38	36.89	
Grupo 2	RTDL20	.	T	.	A	11	0	3	9	0	5	0	1	29	28.16	
Grupo 3	RTDL27	G	G	C	G	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.97	
Grupo 4	RTDL28	.	G	C	G	0	5	5	0	9	0	6	0	25	24.27	
Grupo 5	KP668864	.	A	C	G	1	0	0	0	0	0	0	9	10	9.71	

JSB: Jucusbamaba; AI: Alto Imaza; HMP: Huamanpata; SJL: San José de Lauman; MSA: Microcuenca de San Antonio; ST: Santo Tomas- Cupuy; TL: Tilacancha; HB: Huaylla Belén.

3.1.5. Estructura genética de las poblaciones

El índice de fijación global (F_{st}) fue 0.263340, mientras que el índice de fijación para Amazonas fue 0.40044. Estos valores representan una alta estructuración en las poblaciones, por tal sentido demuestra una gran diferenciación genética en base a la frecuencia de alelos de las poblaciones evaluadas (**Tabla 7**). El análisis de diferenciación de poblaciones se realizó mediante el agrupamiento de las poblaciones acorde al número de individuos que conforman las poblaciones. Esto resultó en grupo A (AI, MSA y TL), grupo B (JSB, ST y HB), grupo C (HMP y SJL) y grupo D (Chile y EE.UU.) para el AMOVA global. Este se basó en la frecuencia de haplotipos global y mostraron variaciones que se deben a las diferencias que hay entre las poblaciones (73.66%) ($F_{st}=0.26340$, $P<0.05$) y entre grupos (9.38%) ($F_{ct}=0.09378$, $P<0.05$). Finalmente, solo el 16.96% de variación se atribuyó a las diferencias entre poblaciones con grupos ($F_{sc}=0.18717$) (**Tabla 8**). Por otro lado, el AMOVA para la región Amazonas basado también en la frecuencia de haplotipos mostró variaciones que se obedecen a las diferencias existentes entre las poblaciones (59.96%) ($F_{st}=0.40044$, $P<0.05$) y entre grupos (7.67%) ($F_{ct}=0.07672$, $P<0.05$). El 32.37% de variación corresponde a las diferencias entre poblaciones con grupos ($F_{sc}=0.35062$) (**Tabla 9**).

Tabla 7. Pairwise F_{st} de la región control de las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas.

Población	Grupo A			Grupo B			Grupo C		Grupo D	
	AI	MSA	TL	JSB	ST	HB	HMP	SJL	CHL	USA
A	AI	0.0000								
	MSA	0.11825	0.0000							
	TL	-0.05939	0.01629	0.0000						
B	JSB	0.60212	0.508	0.55773	0.0000					
	ST	0.39467	0.15704	0.30116	0.2277	0.0000				
	HB	0.29691	0.38459	0.28831	0.64673	0.5151	0.0000			
C	HMP	0.01992	0.1897	0.02809	0.44502	0.31807	0.27152	0.0000		
	SJL	0.64388	0.54226	0.60331	-0.06055	0.23364	0.70515	0.50896	0.0000	
D	CHL	0.12176	0.18875	0.11697	0.36897	0.28722	-0.02076	0.10588	0.3908	0.0000
	USA	0.57143	0.67391	0.56364	0.84028	0.73714	0.37799	0.41558	0.91429	-0.22315

Tabla 8. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) global aplicado a grupos de individuos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Índices de fijación
Entre grupos	3	28.882	0.10756 Va	9.38 %	F _{ct} =0.09378
Entre poblaciones dentro de grupos	7	28.625	0.19453Vb	16.96 %	F _{sc} = 0.18717
Dentro de poblaciones	201	169.804	0.8448 Vc	73.66 %	F _{st} =0.26340
Total	211	227.311	1.14689		

Tabla 9. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) regional aplicado a grupos de individuos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) procedentes de la región Amazonas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Índices de fijación
Entre grupos	2	10.627	0.05740 Va	7.67%	F _{ct} =0.07672
Entre poblaciones dentro de grupos	5	17.949	0.24216Vb	32.37%	F _{sc} = 0.35062
Dentro de poblaciones	95	42.609	0.44851 Vc	59.96%	F _{st} =0.40044
Total	102	71.184	0.74807		

3.1.6. Análisis de red de haplotipos

El análisis de red de haplotipos basado en Median Joining Network (Red de unión mediana) para las **poblaciones de truchas de Amazonas** reveló 4 grupos y un singleton que figura con la secuencia 071ST071 (**Figura 16**). El grupo 1, representado por el código 011JSB011, es el más diverso y está conformado por 38 individuos procedentes de las 7 localidades recolectadas, exceptuando a individuos de Huamanpata. El grupo 2, representado por el código 001JSB001, está compuesto por 29 individuos de las poblaciones de Jucusbamba (11), Huamanpata (3), San José de Lauman (9), Santo Tomas-Cupy (5) y Huaylla Belén (1). El grupo 7, representado con el código 006JSB006, cuenta con 10 individuos principalmente de la población de Huaylla Belén (9) y 1 individuo de Jucusbamba. El grupo 6,

representado por el código 015AI015, está conformado por 25 individuos de las poblaciones de Alto Imaza (5), Huamanpata (5), Microcuenca de San Antonio (9) y Tilacancha (6).

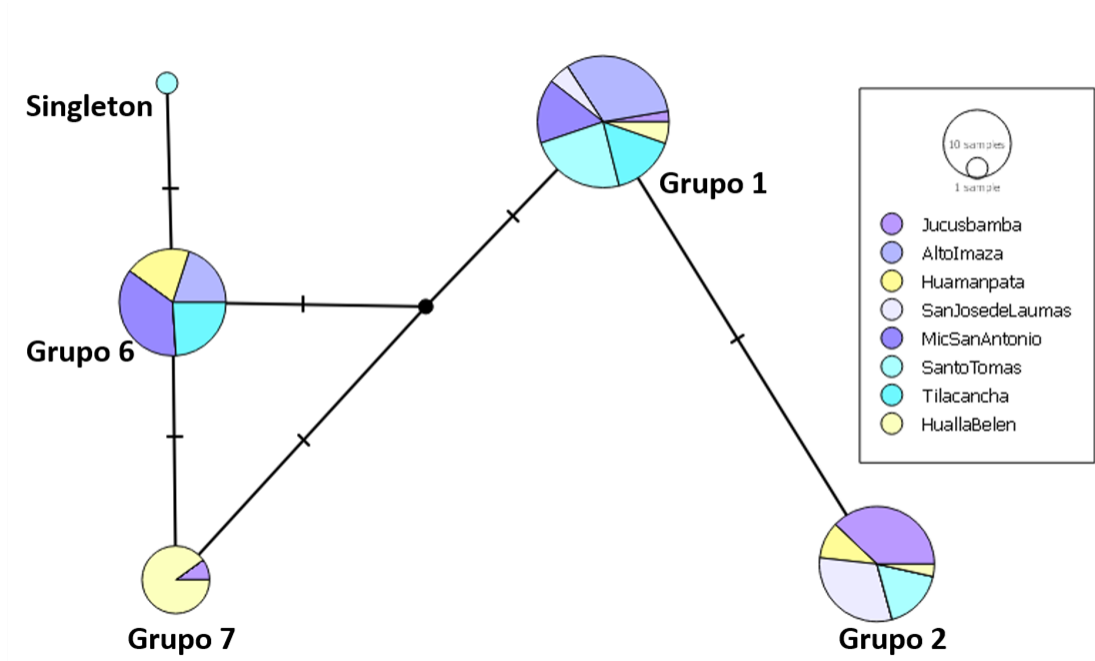


Figura 16. Red de haplotipos de las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas.

Los colores representan las diferentes poblaciones. Puntos mutacionales están representadas por líneas perpendiculares a las ramas.

Adicionalmente, se obtuvo una red de haplotipos basado en Median Joining Network (Red de unión mediana) con secuencias de la región control de individuos de truchas arcoíris de la región Amazonas, sur de Chile y oeste de EEUU (**Figura 18**). Esta red se conforma por 8 haplotipos, los cuales corresponden con los 8 grupos presentes en los análisis filogenéticos (Figuras 11, 15). Los haplotipos más abundantes son los grupos 1 y 2, encabezados por los códigos 001JSB001 y 011JSB011, respectivamente. Mientras que los haplotipos menos predominantes son los del grupo 3, 5 y 8.

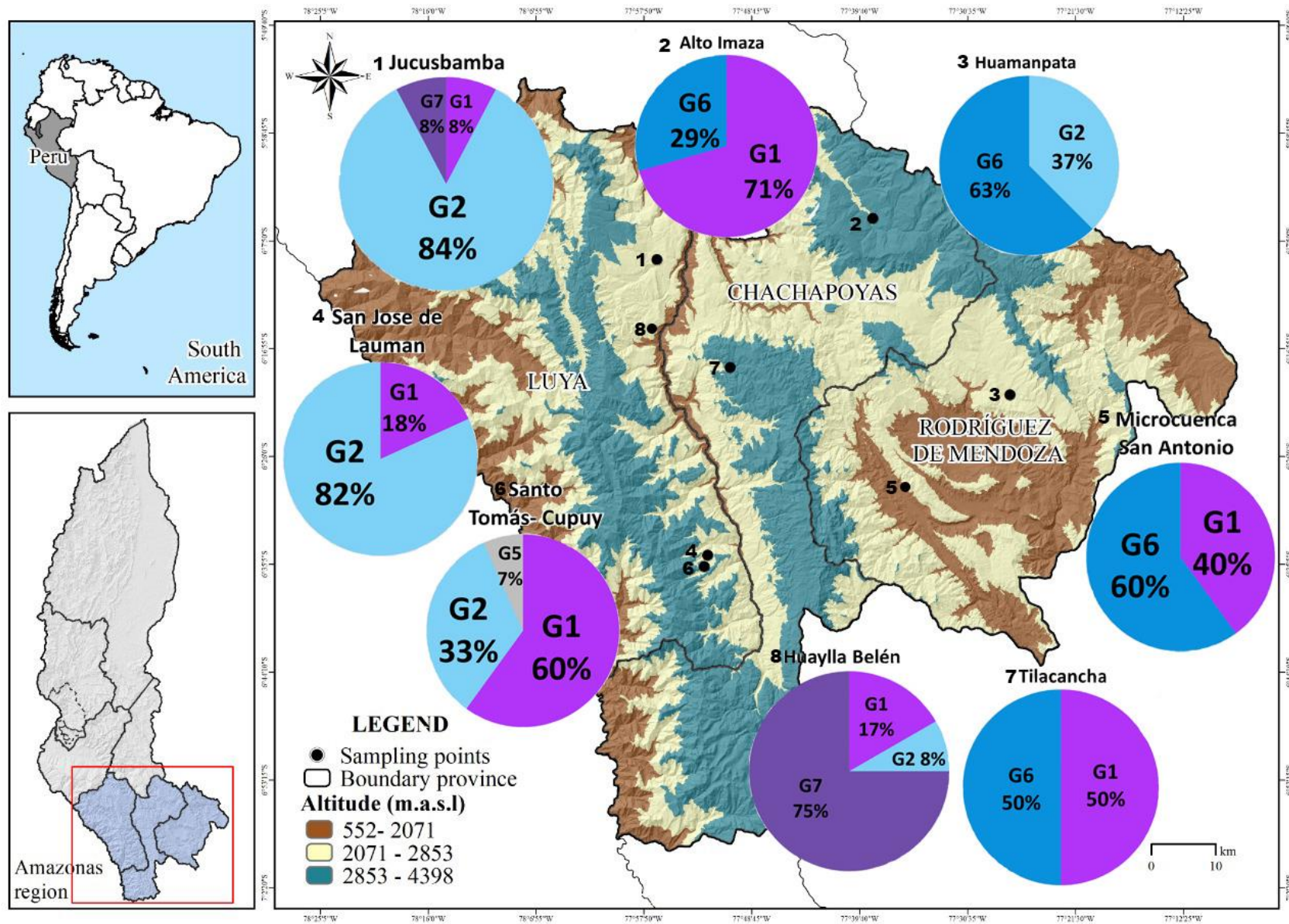


Figura 17. Distribución de haplotipos en las poblaciones de truchas arcoíris en la región Amazonas.

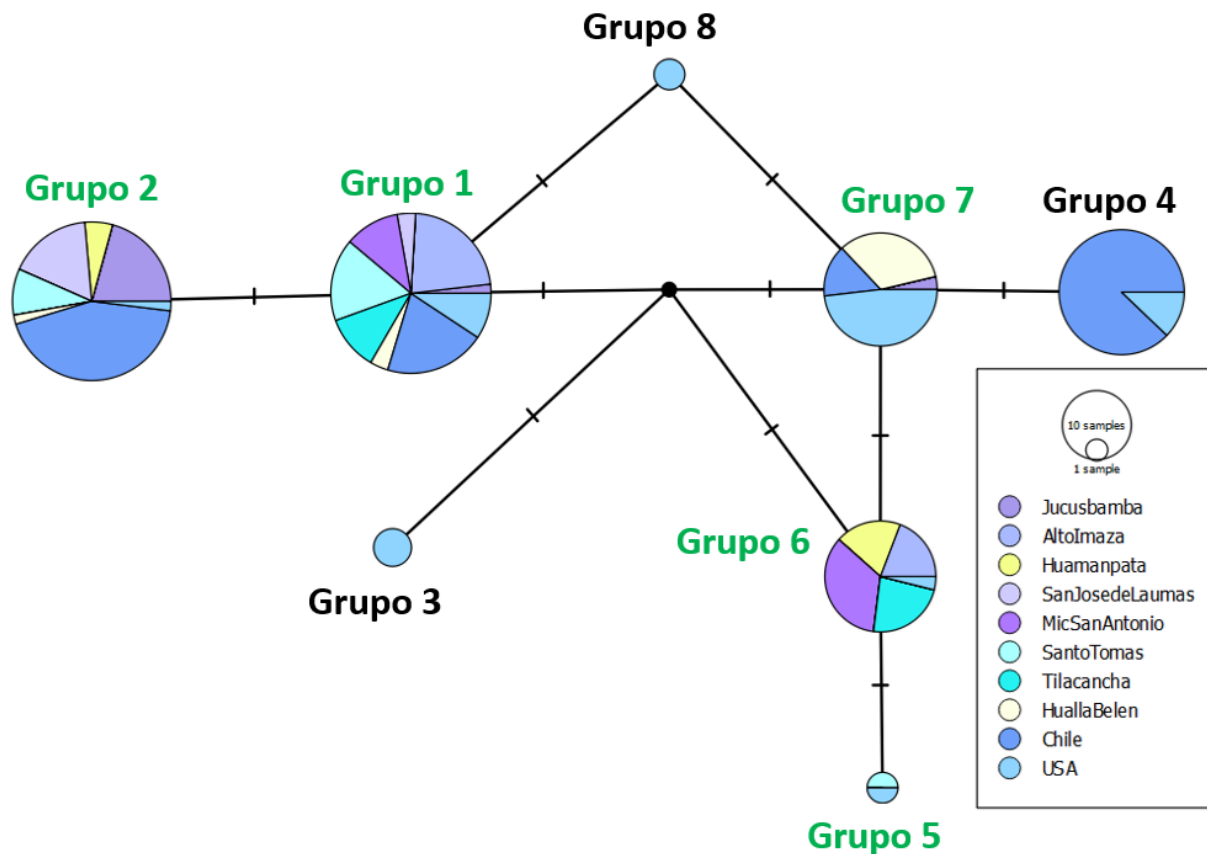


Figura 18. Red de haplotipos de las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas, sur de Chile y oeste de EEUU.

Los colores representan las diferentes poblaciones. Puntos mutacionales están representadas por líneas perpendiculares a las ramas. Grupos en verde son los presentes en la región Amazonas.

Tabla 10. Grupos genéticos presentes en cada una de las poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas.

Poblaciones	Haplotipos	Número de haplotipos	Longitud (cm)	Etapa reproductiva
Alto Imaza (AI)	G1; G6	2	24.073 ± 9.974	Engorde
Huaylla Belén (HB)	G1; G2; G7	3	18.102 ± 2.275	Juveniles
Huamapata (HMP)	G2; G6	2	28.851 ± 6.877	Acabado
Jucusbamba (JSB)	G1; G2; G7	3	23.397 ± 3.483	Engorde
Microcunenca San Antonio (MSA)	G1; G6	2	17.338 ± 1.640	Juveniles
San José de Laumas (SJL)	G1; G6	2	23.582 ± 5.058	Engorde
Santo Tomas- Cupuy (ST)	G1; G2; G5	3	16.527 ± 9.481	Juveniles
Tilacancha (TL)	G1; G6	2	14.197 ± 5.303	Juveniles

IV. DISCUSIÓN

4.1. Análisis morfométrico de la trucha arcoíris

Uno de los parámetros más importantes dentro del análisis morfométrico fue la longitud total de los individuos de trucha, debido a que con este parámetro se puede designar la etapa de desarrollo que se encuentran los individuos (AQUATECH 2022). De esta manera, se evidencia que las poblaciones de la microcuenca de San Antonio (17.3 cm), Santo Tomas-Cupuy (16.5 cm), Tilacancha (14.2 cm) y Huaylla Belén (18.1 cm) se sitúan en etapa de juveniles (9.5-19.0 cm); mientras que las poblaciones de Jucusbamba (23.4 cm), Alto Imaza (24.0 cm) y San José de Lauman (23.6) se encuentran en la etapa de engorde (19.0- 25.0 cm) (AQUATECH 2022). La única población que se encuentra por encima del promedio (\bar{x} =25.6 cm) es Huamanpata (28.9 cm), la cual le otorga la categoría de truchas en acabado (25.0 cm a más) (AQUATECH 2022). Adicionalmente, según los pesos obtenidos, los individuos de la microcuenca de San Antonio (59.3 g), Santo Tomas- Cupuy (48.0 g), Tilacancha (28.8 g) y Huaylla Belén (60.4 g) se encuentran en la etapa de juveniles; mientras que las poblaciones de San José de Lauman (135.5 g) y de Huamanpata (203.9 g) se encuentran en etapa de engorde y acabado, respectivamente (Mache, 2015; AQUATECH, 2022). Las poblaciones colectadas presentan pesos promedios que están acorde a los promedios de longitud total (Tabla 4). Es importante considerar que las truchas recolectadas son de cuencas hídricas y mantienen una alimentación rudimentaria en base a insectos o algas disponibles en su medio sin acceso a formulas o piensos balanceados. Una dieta básica de truchas debe tener porcentajes mínimos de proteínas (dieta baja calidad=28-35%; dieta de alta calidad=45-50%) (Orna, 2010). A pesar que las truchas de poblaciones naturalizadas podrían carecer de un equilibrio proteico, su alimentación natural estaría impactando positivamente en el desarrollo fisiológico de estas poblaciones. Esto se confirma con la predominancia de 4 poblaciones en estadio juvenil, 3 poblaciones en etapa de engorde y una en etapa de acabado.

4.2. Análisis filogenético y delimitación de taxa de truchas arcoíris

Los análisis filogenéticos confirman la presencia de ocho grupos. Los clados hermanos emparentados son los grupos 1 y 2 y los grupos 4 y 5; mientras que los grupos 3, 6, 7 y 8 son parafiléticos (Figura 12). La delimitación de taxa por métodos de distancia genética (ABGD y SNP) confirmaron los ocho grupos filogenéticos, mientras que el método por coalescencia (GMYC) sobrevaloró el número de taxa. Los modelos coalescentes suelen producir falsos positivos y falsos positivos complejos al delimitar diferentes taxones que muestran magnitudes bajas o altas de flujo de genes, respectivamente (Zhang et al. 2011).

Los grupos 1 y 2 son los de mayor predominancia tanto en la región Amazonas, sur de Chile y California (Stanković et al., 2016; Colihueque et al., 2019). Los individuos de trucha de estos grupos se encuentran emparentadas a los especímenes de criaderos estadounidenses y europeos (Stanković et al., 2016). Las truchas de poblaciones naturales de Amazonas ubicadas en el grupo 5 se encuentran asociadas a poblaciones del sur de California (Stanković et al., 2016). La gran mayoría de individuos procedentes de Amazonas se agruparon en el grupo 6 asociados a truchas nativas procedentes de cuencas hidrográficas de Estados Unidos y Canadá (Bagley & Gall, 1998; Stanković et al., 2016). Por otro lado, individuos únicamente de las poblaciones Huaylla Belén y Jucusbamba se ubicaron en el grupo 7, los cuales están emparentados con individuos estadounidenses del tipo Redband Trout (trucha de banda roja) (Bagley & Gall, 1998; Brunelli et al., 2010). Esto confirmaría que los individuos de poblaciones naturales de la región Amazonas son truchas principalmente provenientes de fuga de centros piscícolas y adaptadas a ambientes naturales. Los grupos con mayor adaptación son los individuos de los grupos 1 y 2, seguidos de las truchas del grupo 6. Las poblaciones de truchas ubicadas en los grupos 5 y 7, serían recientes incorporaciones por el número menor de individuos. Se resalta la ausencia de los grupos 3, 4 y 8 en las poblaciones amazonenses. Estos grupos se encuentran asociados a subespecies como Golden Trout y Redband trout predominantemente provenientes Estados Unidos. La ausencia de éstos podría ser explicada por la falta de adaptabilidad de estos grupos a las condiciones hidrográficas de las cuencas de la Región Amazonas (Colihueque et al., 2019).

4.3. Diversidad genética de la región control de truchas arcoíris

La diversidad genética medida por distancia entre pares oscila entre los 0.2-1.2% en todas las poblaciones de trucha a nivel mundial (Figura 18) y 0.2-0.9% en truchas arcoíris de la región Amazonas (Figuras 13, 14). En la región Amazonas, la población más divergente frente a otras poblaciones fue la de Huaylla Belén ($>0.67\%$) y la menos divergente fue Huamanpata (0.22%). Esto puede ser consecuencia de la geografía y el aislamiento o conectividad de ciertas cuencas hidrográficas de la región Amazonas (Povh et al., 2008; Colihueque et al., 2019). Por ejemplo, la población de truchas del valle de Huaylla Belén tiene acceso a la cuenca del río Utcubamba, que es tributario a la cuenca del río Marañón (ANA, 2015; SUNASS, 2022). Esto permite que truchas se puedan conectar naturalmente de una cuenca a otra e incrementar el flujo genético (Washburn et al., 2020). Por el contrario, las poblaciones de Huamanpata, Microcuenca de San Antonio y Alto Imaza tiene un acceso limitado y no se conectan fácilmente con otras cuencas, limitando el desplazamiento de truchas y así disminuyendo el flujo genético (Roman et al., 2018; Washburn et al., 2020).

Los resultados de diversidad genética en las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas indicaron una alta diversidad de haplotipos ($H=0.723 \pm 0.018$) comparado a las poblaciones del sur de Chile ($H=0.684 \pm 0.122$) y del oeste de norte América ($H=0.35 \pm 0.825$), a pesar que nuestro estudio se desarrolló en pocas cuencas y dentro de un área geográfica muy restringida (Stanković et al., 2016; Colihueque et al., 2019). La existencia de esta fuerte diferenciación genética dentro de las poblaciones de la Región Amazonas podría interpretarse como la ocurrencia de una mezcla de individuos de diferentes fuentes u orígenes genéticos dentro de las poblaciones (Colihueque et al., 2019). En este contexto, las poblaciones naturalizadas de trucha arcoíris tienen un origen múltiple, consecuencia de la importación continua de numerosas ovas de trucha para en la región. Asimismo, esta diversidad de haplotipos también se puede deber a la gran diversidad de cuencas hidrográficas en la región Amazonas tales como la cuenca del Utcubamba y parte de la cuenca del río Mayo en la cuenca Huayabamba. La primera tributa al río Marañón y la última drena sus aguas en territorios de la región San Martín (SUNASS, 2022) Estas cuencas poseen variación altitudinal (2,000 - 5,800 msnm), longitudinal (237.3 - 6,596.80 km²) y de caudal (11.0 - 825.3 m³/s) que podrían estar

afectando al desplazamiento, asentamiento y consecuentemente generando la naturalización de poblaciones de trucha en la región Amazonas (García, 2010; ANA, 2015). Este proceso de naturalización, también es conocido como deriva genética por el efecto fundador que podría llevar a la predominancia de haplotipos específicos (Ramstad et al., 2004). Por otro lado, la diversidad de nucleótidos fue relativamente baja en comparación con la encontrada en truchas naturalizadas del sur de Chile ($P_i=0.00319$ en Amazonas vs $P_i=0.00460$ en Chile). Esto se puede explicar como una ausencia de cruce entre los diferentes haplotipos o incremento del flujo genético entre individuos de los mismos haplotipos (Washburn et al., 2020). El mayor número de haplotipos ($h=3$) observados en poblaciones de Jucusbamba y Santo Tomás-Cupuy y la mayor diversidad de haplotipos ($H=0.5619$) en Santo Tomás-Cupuy, podrían deberse a que son áreas geográficas muy restringidas, lo que se contrasta fuertemente a las poblaciones de truchas nativas del sur de Chile (Colihueque et al., 2019).

4.4. Estructura genética de las poblaciones trucha arcoíris

El nivel de estructuración genética global ($F_{ST} = 0.263340$) y para la región Amazonas ($F_{ST} = 0.40044$) observado en este estudio fueron superiores a lo reportado en otro estudio de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de Chile ($F_{ST} = 0.169$) (Colihueque et al., 2019). Las cuencas de la región Amazonas son áreas geográficas muy restringidas, esto sumado a la variabilidad ambiental podría explicar la elevada estructuración genética entre las poblaciones. Además, estos altos niveles de estructuración se pueden deber a que la Región de Control mtDNA es un marcador genético muy variable debido a su mayor tasa de mutación y menor tamaño poblacional efectiva (Liu y Cordes, 2004). Sin embargo, la F_{ST} global está por debajo a los obtenidos en poblaciones introducidas de Europa ($F_{ST} = 0.383$), lo que revela que las poblaciones de trucha de la región Amazonas presentan un nivel de estructuración alto (Colihueque et al., 2019). La estimación de la variación genética entre las poblaciones debe considerarse con precaución debido que los tamaños de muestra por población fueron variables y en algunos casos limitados. Sin embargo, el resultado global manifiesta un mayor porcentaje de diferenciación dentro de las poblaciones (0.8448).

4.5. Análisis de red de haplotipos

La red de haplotipos incluyendo poblaciones de truchas arcoiris amazonences, chilenas y estadounidenses muestra una predominancia de los grupos 1 (representado por RTDL16), 2 (representado por RTDL20), 4 (representados por RTDL29 y RTDL32), 6 (representados por RTDL28) y 7 (representados por RTDL07). Los grupos, 3 (representados por RTDL23), 5 (representados por RTDL26), y 8 (representados por RTDL10) no superan los tres individuos por grupo. Los grupos están conectados por 1 a 6 pasos mutacionales reflejando la gran reticulación presente entre los haplotipos de truchas. Los haplotipos pertenecientes a la región Amazonas son de los grupos 1, 2, 5, 6 y 7. Esto confirma la procedencia de las truchas colectadas de Amazonas: del río Kern en California para el grupo 1; de la cuenca del río Sacramento en California para el grupo 2; de solo un individuo con el haplotipo representativo de las poblaciones del río McCloud en California para el grupo 5; y de la población de Coralitos Creek en California para el grupo 7 (Bagley & Gall, 1998; Colihueque et al., 2019; Stanković et al., 2016).

Los resultados confirman que las truchas de la región Amazonas tienen una estrecha conexión con individuos del oeste de Estados Unidos, principalmente de las cuencas hidrográficas de California (Bagley & Gall, 1998), ya que los haplotipos de rainbow trout y Steelhead trout fueron los más frecuentes en estos lugares (Brunelli et al., 2010; Colihueque et al., 2019). Por el contrario, los individuos de la población de Huaylla Belén están relacionados únicamente con truchas de banda roja (haplotipo redband trout). La ausencia de este haplotipo en las otras poblaciones estaría reflejando algún tipo de aislamiento geográfico o alopatría con las poblaciones provenientes de cuencas del Utcubamba y Mayo. Sin embargo, un mayor número de estos individuos deben ser evaluados para determinar el grado de ruptura genética con las otras poblaciones (Brunelli et al., 2010, Washburn et al., 2020). Cabe resaltar que no se debe descartar el hecho de alguna intervención humana en la instalación de este haplotipo (Taylor et al., 2010; Taillebois et al., 2013). En este sentido, las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas que pueden ser usadas en programas acuícolas, e inclusive de selección de potenciales reproductores son las provenientes de Jucusbamba y Huaylla

Belén debido al número de haplotipos, índices de diversidad genética y de nucleótidos presentes.

La diferenciación entre poblaciones puede ser relevante en un contexto evolutivo porque pueden restringir el flujo de genes. Este tipo de estructura biogeográfica encontrada en la región Amazonas puede estar fundamentada en efectos fundadores, el limitado tamaño de la población efectiva o la deriva genética (Ramstad et al., 2004). Independientemente de dónde y cómo se originaron las rupturas de haplotipos, este problema presenta un área intrigante para una mayor investigación con la finalidad de comprender la importancia evolutiva de la fuga de individuos de trucha arcoíris en la Región Amazonas. Con énfasis en la preservación de posibles patrones biogeográficos y diversidad genética, esta línea de investigación podría ayudar en la creación de estrategias de manejo más efectivas para el mantenimiento de las poblaciones de truchas arcoíris naturalizadas (Colihueque et al., 2019).

V. CONCLUSIONES

- Las truchas analizadas de la región Amazonas se encuentran principalmente en etapas juveniles (San Antonio, Santo Tomas-Cupuy, Tilacancha, Huaylla Belén) y con menor incidencia en etapa de engorde (San José de Lauman) y de acabado (Huamanpata) en base a los parámetros morfométricos de longitud y peso de cada individuo.
- De los 8 grupos filogenéticos existentes de trucha arcoíris en el mundo, 5 grupos filogenéticos están presentes en región Amazonas (grupos 1, 2, 5, 6, 7), los cuales son originarios de las cuencas de los ríos Kern, Sacramento y McCloud de California. Los grupos predominantes en la región Amazonas son 1, 2 y 6. Asimismo, los grupos 5 y 7 serían recientes. Todos estos grupos son consecuencia de fuga de material de centros piscícolas.
- La elevada diversidad genética y de haplotipos y alto nivel de estructuración genética de truchas arcoíris en la región Amazonas está asociada a la ocurrencia de diferentes orígenes genéticos consecuencia de la importación continua de numerosas ovas de trucha y los procesos de naturalización de truchas debido a las características específicas de las cuencas hidrográficas en la región Amazonas. Esta gran riqueza genética también se puede deber a la alta tasa mutacional de la región control del mtADN en relación a un menor tamaño poblacional.
- Las poblaciones de truchas arcoíris de la región Amazonas que pueden ser usadas en programas de selección de potenciales reproductores debido al mayor número de haplotipos y elevada diversidad genética son las de Jucusbamba, Santo Tomas-Cupuy y las de Huaylla Belén.

VI. RECOMENDACIONES

A pesar que nuestro estudio es el primero en utilizar genética de poblaciones para analizar la diversidad genética de truchas en el Perú, solamente se caracterizaron 8 poblaciones de trucha arcoíris en la región Amazonas. Sería de suma importancia expandir nuestro estudio abarcando un mayor número de poblaciones a lo largo de cuencas hidrográficas de la cordillera peruana con la finalidad de comprender la dinámica evolutiva, patrones biogeográficos, impacto biológico y potencialidad acuícola generados por la fuga de individuos de trucha arcoíris.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afzali, M., Rahimi Mianji, G., & Gholizadeh, M. (2013). Genetic variability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Iran using molecular RAPD markers. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, *12*(3), 511–521.
- AQUATECH. (2022). *AQUATECH*. <https://aquatech.pe/truchas/>
- Armijos, C. V. (2020). *Estudio preliminar de la diversidad genética de posibles especies de rayas presentes en Galápagos*. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/8740/1/146057.pdf>
- Autoridad Nacional del Agua. (2015). *Evaluación de los Recursos Hídricos de la Cuenca del Marañon*. *511*, 1–9. https://repositorio.ana.gob.pe/bitstream/handle/20.500.12543/39/ANA0000053_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bagley, M. J., & Gall, G. A. E. (1998). Mitochondrial and nuclear DNA sequence variability among populations of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Ecology*, *7*, 945–961.
- Ballesteros, C. A., Varela, A. V., Grijalva, J. M., Castillo, R. A., Camarena, F., & Ruiz, G. (2019). Variabilidad genética poblacional de la trucha Yaqui (*Oncorhynchus* sp.) en la región de Mesa Tres Ríos, Sonora, México. *Biotechnia*, *21*(3), 134–142. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v21i3.1045>
- Bandelt, H., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median Joining or Minimum Spanning Networks. *Molecular Biology Evolution*, *16*(1), 37–38. <http://popart.otago.ac.nz/howtocite.shtml>
- Begon, M., Townsend, C., & Harper, J. (2006). Ecology from individuals to ecosystems. In *Blackwell publishing: Vol. four (four)*. Blackwell. http://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo_thumb/Ecology-From-Individuals-to-Ecosystems-by-Michael-Begon--2006-.pdf
- Brunelli, J. P., Steele, C. A., & Thorgaard, G. H. (2010). Deep divergence and apparent sex-biased dispersal revealed by a Y-linked marker in rainbow trout. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *56*(3), 983–990. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.05.016>

- Bustamante, D. E., Hughey, J. R., Mendoza, J. E., Tineo, D., Perez, J., Oliva, M., Leiva, S., & Calderon, M. S. (2019). The complete mitochondrial genome of the national bird of Peru: *Rupicola peruvianus* (Aves, Passeriformes, Cotingidae) . *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2), 3975–3976. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1688721>
- Bustamante, D., Oliva, M., Leiva, S., Mendoza, J., Bobadilla, L., Angulo, G., & Calderon, M. (2019). Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. peruviansis* sp. nov. *MycKeys*. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.58.35764>
- Calderon, M. S., Bustamante, D. e, Oliva, M., Motilal, L. A., & Mahabir, A. (2022). Genetic diversity and population structure of fine aroma cacao (*Theobroma cacao* L .) from north Peru revealed by single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Frontiers*, July, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.895056>
- Chanchay, J. R. (2017). Relación entre diversidad genética y diversidad de especies de peces en la cuenca del Paraná III. In *Universidad federal de integració latino America*.
- Clement, M., Posada, D., & Crandall, K. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9(10), 1657–1660.
- Colihueque, N., Estay, F. J., Crespo, J. E., Arriagada, A., Baessolo, L., Canales-Aguirre, C. B., Marín, J., & Carrasco, R. (2019). Genetic Differentiation and Origin of Naturalized Rainbow Trout Populations From Southern Chile, Revealed by the mtDNA Control Region Marker. *Frontiers in Genetics*, 10, 34. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01212>
- Dirección regional de la producción Amazonas. (2010). *Avances realizados dentro del marco del PNDA -Dirección regional de la producción Amazonas*. <http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/-1/I-taller/20> Avances realizados en el marco de la implementación del PNDA (Amazonas).pdf
- Drummond, A., Suchard, M., Xie, D., & Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *National Library of Medicine*. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>
- Escobar, S., Huanca, W., & Vargas, H. A. (2017). Genetic divergence of a newly documented

- population of the cecidogenous micromoth *Eugnosta azapaensis* Vargas & Moreira (Lepidoptera: Tortricidae) in the Atacama Desert of northern Chile. *Revista Brasileira de Entomologia*, 61(3), 266–270. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.05.004>
- FAO. (2008). Marcadores moleculares : una herramienta para explorar la diversidad genética. *Sección C*, 393–416.
- FAO. (2019). Programa de información sobre especies acuáticas cultivadas *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) [SALMONIDAE]. *Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific*. https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/oncorhynchus_mykiss/en
- García, J. (2010). Zonificación Ecológica y Económica del Departamento de Amazonas. *Hidrografía*, 53(9), 58. <http://iiap.org.pe/Archivos/publicaciones/PUBL511.pdf>
- Gariépy, T. D., Musolin, D. L., Konjević, A., Karpun, N. N., Zakharchenko, V. Y., Zhuravleva, E. N., Tavella, L., Bruin, A., & Haye, T. (2021). Diversity and distribution of cytochrome oxidase I (COI) haplotypes of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* Stål (Hemiptera, Pentatomidae), along the eastern front of its invasive range in Eurasia. *NeoBiota*, 68, 53–77. <https://doi.org/10.3897/neobiota.68.68915>
- González, M., & Días, J. (2020). Morfología de Vertebrados aplicadas a la Taxonomía integrativa de peces. *ResearchGate*, 26. https://www.researchgate.net/publication/313421142_Metodologias_morfometricas_aplicadas_a_la_Taxonomia_Integrativa_de_peces
- Guernaoui, S., Hamarsheh, O., García, D., Fontenille, D., & Sereno, D. (2020). Population genetics of *Phlebotomus papatasi* from endemic and nonendemic areas for zoonotic cutaneous leishmaniasis in Morocco, as revealed by cytochrome oxidase gene subunit I sequencing. *Microorganisms*, 8(7), 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071010>
- Hahn-von-Hessberg, C. M., Vélez-Marín, M., & Quintero, A. G. (2015). Utilización de la biología molecular como medio para optimizar la producción piscícola y repoblamiento de medios naturales. *Boletín Científico Del Centro de Museos*, 19(1), 85–102. <https://doi.org/10.17151/bccm.2015.19.1.6>

- Hart MW, S. J. (2007). Things fall apart: biological species form unconnected parsimony networks. *National Library of Medicine*. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0307>
- Hoelzel, A. R., Hancock, J. M., & Dover, G. A. (1991). Evolution of the cetacean mitochondrial D-loop region. *Molecular Biology and Evolution*, 8(4), 475–493. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040662>
- Ilinsky, Y., Demenkova, M., Bykov, R., & Bugrov, A. (2022). Narrow Genetic Diversity of Wolbachia Symbionts in Acrididae Grasshopper Hosts (Insecta, Orthoptera). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2). <https://doi.org/10.3390/ijms23020853>
- Jegasothy, H., Wootton, M., & Fairclough, R. J. (2000). Agarose gel electrophoresis of wheat starch. *Journal of Cereal Science*, 31(1), 75–78. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1999.0287>
- Kolde, R. (2019). *pheatmap: Pretty Heatmaps R package version 1.0.12*. <https://cran.r-project.org/package=pheatmap>
- Lanfear, R., Frandsen, P. B., Wright, A. M., Senfeld, T., & Calcott, B. (2017). Partitionfinder 2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 34(3), 772–773. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw260>
- Leigh, J., & Bryant, D. (2015). *PopART* (v. 1.7; p. Full-feature software for haplotype network constr). *Methods Ecol Evol* 6(9). <http://popart.otago.ac.nz/howtocite.shtml>
- Leyva, I. (2003). “ *Marcadores moleculares para la identificación de la sardina del Pacífico (Sardinops sagax caeruleus)*” [CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S.C.]. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/379/1/leyva_i.pdf
- Lopera, N. M., Povh, J. A., Ribeiro, R. P., Gomes, P. C., Jacometo, C. B., & Silva Lopes, T. da. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(1), 77–86. <https://doi.org/10.4067/s0718-16202008000100008>
- Loubens, G. (1983). Especies introducidas *Salmo gairdneri* (trucha arco iris). *Rev. Hydrobiol. Trop*, 2, 425–430.

- MacCrimmon, H. R. (1971). World Distribution of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*): Further Observations. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29(12), 1788–1791. <https://doi.org/10.1139/f72-287>
- Mache, C. R. (2015). *Incremento de Biomasa de trucha Juveniles Arco Iris 8Oncorhynchus mykiss) alimentadas con Alimento Comercial Crecimiento 3 por 49,76,103,y 130 dias en la psigranja “La cabaña.”* 064, 1–47. <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/1845/TesisMache.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ministerio de la producción. (2020). La cadena de valor de la trucha. In *Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura-PNIPA* (Vol. 1, p. 66).
- Ministerio del Ambiente. (2015). Servicio de exploración de la distribución de la trucha naturalizada en zonas priorizadas de Junín y Húanuco. In *MINAM*. <https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/02/INFORME-FINAL-MINAM-Trucha-2015.pdf>
- Ministerio del Ambiente. (2019). Servicio de sistematización de información temática para la elaboración del documento de la línea base de la trucha con fines de bioseduridad. *Dirección General de Diversidad Biológica*, 10–27.
- Ministerio del Ambiente. (2021). Línea de base de la trucha arcoíris con fines de bioseguridad en el Perú. In C. Palomino, D. Castro, V. Cañedo, T. Medina, J. Amanzo, & J. Álvarez (Eds.), *Ministerio del Ambiente* (Viceminist). www.minam.gob.pe
- Nam, Y. K., Park, J. E., Kim, K. K., & Kim, D. S. (2003). A rapid and simple PCR-based method for analysis of transgenic fish using a restricted amount of fin tissue. *Transgenic Research*, 12(4), 523–525. <https://doi.org/10.1023/A:1024274508052>
- Orna, E. (2010). Manual de alimento balanceado para truchas. *Dirección Regional de La Producción de Puno*, 1–30. <http://docplayer.es/6836244-Manual-de-alimento-balanceado-para-truchas.html>
- Pathirage, D. R. K., Weeraratne, T. C., Senanayake, S. C., Parakrama Karunaratne, S. H. P., & Karunaweera, N. D. (2021). Genetic diversity and population structure of *Phlebotomus*

- argentipes: Vector of *Leishmania donovani* in Sri Lanka. *PLoS ONE*, *16*(9 September), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256819>
- Pineda, H., Jaramillo, J., Echeverri, D., & Echeverri, M. (2004). Triploidía en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*): posibilidades en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *17*(40), 45–52. <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295025896006.pdf>
- Ponce, P., Muñoz-Tobar, S., Carrasco-Montalvo, A., Villota, S. D., Coloma, J., Wang, C., Holechek, S., & Cevallos, V. (2021). Two haplotypes of *Aedes aegypti* detected by *nd4* mitochondrial marker in three regions of Ecuador. *Insects*, *12*(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/insects12030200>
- Portocarrero, S. (2018). Evaluación de la influencia de la calidad del agua y el manejo en la condición sanitaria de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en piscigranjas de la región Amazonas. In *Tesis para optar por el grado de Ingeniero zootecnista*. Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza.
- Povh, J. A., Lopera Barrero, N. M., Ribeiro, R. P., Lupchinski Jr., E., Gomes, P. C., & Lopes, T. S. (2008). Monitoreo genético en programas de repoblamiento de peces mediante marcadores moleculares. *Ciencia e Investigación Agraria*, *35*(1), 5–15. <https://doi.org/10.4067/s0718-16202008000100001>
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, A. G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>.
- Quispe, J., Julca, L., Montoya, K., Gómez, H., Chamorro, H., Juárez, E., De Los Santos, R., & Aponte, A. (2021). *Anuario Estadístico pesquero y acuícola 2020*. http://www.dgeec.gov.py/Publicaciones/Biblioteca/Anuario2011/Anuario_2011.pdf
- Rambaut, A., Suchard, M., Xie, D., & Drummond, A. (2014). *Tracer v1.6*. (1.6). <http://beast.community/>
- Ramstad, K., Woody, C., Sage, G., & Allendorf, F. (2004). Founding events influence genetic population structure of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in Lake Clark, Alaska.

Molecular Ecology, 277–290. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.02062.x>

- Roman, I., Bourgeois, Y., Reyes-Velasco, J., Jensen, O. P., Waldman, J., & Boissinot, S. (2018). Contrasted patterns of divergence and gene flow among five fish species in a Mongolian rift lake following glaciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 125(1), 115–125. <https://doi.org/10.1093/BIOLINNEAN/BLY083>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Ruizcampos, G., Varela, A., Camarena, F., & Sanchez, S. (2003). Morphometric variation of wild trout populations from northwestern Mexico (Pisces: Salmonidae) Article. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 13(3), 91–110. <https://doi.org/10.1023/A>
- Stanković, D., Stephens, M. R., & Snoj, A. (2016). Origin and introduction history of self-sustaining rainbow trout populations in Europe as inferred from mitochondrial DNA and a Y-linked marker. *Hydrobiologia*, 770(1), 129–144. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2577-6>
- Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento. (2022). *Determinación del área de prestación de servicios del departamento de Lambayeque*. 1–271.
- Technelysium DNA sequencing software. (n.d.). *Cromas*. Retrieved April 4, 2022, from <http://technelysium.com.au/wp/chromas/>
- Tineo, D., Bustamante, D., Calderon, M., JE, M., Huaman, E., & Oliva, M. (2020). An integrative approach reveals five new species of highland papayas (Caricaceae, Vasconcellea) from northern Peru. *PLoS ONE*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242469>
- Vega, S. (2007). *Caracterización y Filogenia de la Región Control del Genoma Mitocondrial de Especies del Género Ictalurus (Pisces : Ictaluridae) en el Noroeste de México*. Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa.
- Washburn, B. A., Cashner, M. F., & Blanton, R. E. (2020). Small fish, large river: Surprisingly minimal genetic structure in a dispersal-limited, habitat specialist fish. *Ecology and*

Evolution, December 2019, 2253–2268. <https://doi.org/10.1002/ece3.6064>

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
<https://ggplot2.tidyverse.org>

Wolstenholme, D. R. (1992). Animal Mitochondrial DNA : Structure and Evolution. *International Review of Cytology*, 141, 173–216.

Zhan, H. X., Hao, Z. P., Tang, R., Zhu, L. N., Zhou, J. J., & Hou, S. M. (2021). High genetic diversity and strong genetic structure of *Strongyloides variegatus* populations in oilseed rape production areas of China. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1), 18.
<https://doi.org/10.1186/s12862-021-01752-6>

Zhang, L., Zhao, W., Wang, F., & Qin, D. (2019). Genetic diversity and population structure of natural *Lycorma delicatula* (white) (hemiptera: Fulgoroidea) populations in China as revealed by microsatellite and mitochondrial markers. *Insects*, 10(10), 1–13.
<https://doi.org/10.3390/insects10100312>

VIII. ANEXOS

Tabla A1. Promedios y Varianzas de los 38 parámetros Morfométricos tomas en cuenta en este estudio.

N	Parámetros (cm)	Jucusbamba	Alto Imaza	Huamanpata	San José de Lauman	Microcuenca San Antonio	Santo Tomas-Cupuy	Tilacancha	Huaylla Belén
1	Largo estandar	20.393 ± 2.442	21.218 ± 8.342	25.388 ± 3.681	21.232 ± 4.493	15.466 ± 1.451	14.749 ± 7.471	12.481 ± 4.338	16.318 ± 1.877
2	Distancia hocico a la epifiseal	1.493 ± 0.0719	1.882 ± 0.213	1.761 ± 0.118	1.454 ± 0.061	1.159 ± 0.014	1.033 ± 0.033	0.99 ± 0.024	1.111 ± 0.011
3	Distancia hocico a la aleta pectoral	4.228 ± 0.230	4.471 ± 0.4843	5.319 ± 0.372	4.74 ± 0.547	3.393 ± 0.09	3.44 ± 0.399	2.788 ± 0.271	3.906 ± 0.158
4	Distancia epifiseal a la supraoccipital	2.575 ± 0.089	4.929 ± 0.972	4.586 ± 8.869	2.544 ± 0.214	1.937 ± 0.091	1.954 ± 0.08	1.419 ± 0.1	2.12 ± 0.121
5	Distancia epifiseal a la aleta pectoral	3.733 ± 0.191	3.904 ± 0.3917	4.774 ± 0.248	4.344 ± 0.314	3.104 ± 0.075	3.179 ± 0.331	2.578 ± 0.225	3.613 ± 0.124
6	Distancia epifiseal a la articular	3.037 ± 0.095	3.332 ± 0.178	4.39 ± 0.399	2.878 ± 0.127	2.141 ± 0.045	2.157 ± 0.134	1.811 ± 0.1	2.29 ± 0.043
7	Distancia articular al origen aleta pectoral	1.181 ± 0.081	1.36 ± 0.223	1.138 ± 0.083	2.208 ± 0.171	1.234 ± 0.022	1.293 ± 0.084	1.043 ± 0.052	1.663 ± 0.106
8	Distancia supraoccipital al origen aleta dorsal	6.086 ± 0.785	4.123 ± 0.715	7.24 ± 1.062	6.567 ± 0.305	4.637 ± 0.196	4.338 ± 1.145	3.857 ± 0.366	4.627 ± 0.404
9	Distancia supraoccipital al origen aleta pélvica	8.556 ± 0.925	6.7186 ± 1.986	9.523 ± 3.654	8.948 ± 0.625	6.525 ± 0.261	6.119 ± 1.646	5.218 ± 0.681	6.711 ± 0.644
10	Distancia supraoccipital al origen aleta pectoral	3.391 ± 0.118	4.836 ± 1.482	4.32 ± 0.357	3.649 ± 0.143	2.76 ± 0.05	2.663 ± 0.256	2.347 ± 0.175	3.126 ± 0.105
11	Distancia supraoccipital al articular	3.541 ± 0.061	5.453 ± 1.495	4.708 ± 0.674	3.642 ± 0.241	2.588 ± 0.092	2.476 ± 0.181	2.161 ± 0.145	2.817 ± 0.078
12	Distancia aleta pectoral a la aleta pélvica	7.25 ± 0.445	7.408 ± 1.01	8.744 ± 0.497	7.218 ± 0.478	5.286 ± 0.221	5.018 ± 0.916	4.122 ± 0.474	5.526 ± 0.304
13	Base aleta dorsal	3.805 ± 0.201	3.463 ± 0.383	3.721 ± 0.204	3.602 ± 0.161	2.626 ± 0.066	2.468 ± 0.22	1.882 ± 0.072	2.474 ± 0.085
14	Distancia origen aleta dorsal al origen aleta anal	6.891 ± 0.357	7.045 ± 0.956	8.37 ± 0.636	7.121 ± 0.459	5.303 ± 0.183	4.866 ± 0.802	4.117 ± 0.438	5.407 ± 0.359
15	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pélvica	5.017 ± 0.132	4.956 ± 0.436	5.828 ± 0.371	5.153 ± 0.234	3.971 ± 0.136	3.478 ± 0.444	3.1 ± 0.267	3.942 ± 0.24
16	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pectoral	6.975 ± 0.480	7.276 ± 1.14	8.538 ± 0.581	7.246 ± 0.442	5.351 ± 0.265	4.976 ± 1.024	4.3778 ± 0.526	5.555 ± 0.28
17	Distancia aleta pélvica al origen aleta anal	3.964 ± 0.218	4.245 ± 0.552	5.219 ± 0.372	4.189 ± 0.2389	2.95 ± 0.075	2.835 ± 0.245	2.533 ± 0.17	3.258 ± 0.111
18	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta adiposa	3.666 ± 0.431	4.358 ± 0.405	5.332 ± 0.619	4.089 ± 0.31	3.037 ± 0.114	2.689 ± 0.354	2.45 ± 0.252	3.362 ± 0.189

19	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta anal	4.978 ± 0.206	5.403 ± 0.494	6.662 ± 0.661	5.478 ± 0.384	4.037 ± 0.138	3.687 ± 0.585	3.38 ± 0.44	4.449 ± 0.371
20	Distancia posterior aleta dorsal a origen de la aleta adiposa	3.068 ± 0.472	3.463 ± 0.377	4.711 ± 0.402	3.45 ± 0.222	2.527 ± 0.121	2.282 ± 0.28	2.048 ± 0.217	2.939 ± 0.179
21	Distancia posterior aleta dorsal al origen aleta anal	4.128 ± 0.163	4.533 ± 0.452	5.556 ± 0.291	4.477 ± 0.24	3.402 ± 0.112	2.998 ± 0.383	2.715 ± 0.232	3.475 ± 0.205
22	Distancia posterior aleta dorsal a la aleta pélvica	4.865 ± 0.106	4.72 ± 0.444	5.664 ± 0.342	5.007 ± 0.236	3.767 ± 0.113	3.309 ± 0.392	3.027 ± 0.232	3.71 ± 0.136
23	Base aleta anal	2.64 ± 0.160	2.551 ± 0.071	2.993 ± 0.2	2.941 ± 0.075	1.986 ± 0.04	1.889 ± 0.196	1.693 ± 0.115	2.195 ± 0.072
24	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta caudal	3.58 ± 0.206	3.629 ± 0.293	4.51 ± 0.107	3.679 ± 0.164	2.749 ± 0.087	2.717 ± 0.261	2.38 ± 0.17	3.014 ± 0.089
25	Distancia posterior aleta adiposa a la posterior aleta anal	2.393 ± 0.028	2.437 ± 0.138	2.881 ± 0.064	2.432 ± 0.047	1.848 ± 0.025	1.677 ± 0.107	1.522 ± 0.074	1.861 ± 0.043
26	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta anal	3.832 ± 0.042	4.007 ± 0.301	4.696 ± 0.115	4.073 ± 0.146	2.988 ± 0.071	2.653 ± 0.285	2.352 ± 0.157	2.963 ± 0.077
27	Distancia posterior aleta anal a la aleta caudal	3.187 ± 0.217	3.787 ± 0.805	4.275 ± 0.2	3.19 ± 0.211	2.495 ± 0.106	2.323 ± 0.177	1.955 ± 0.122	2.492 ± 0.06
28	Largo maxilar	3.2163 ± 0.162	3.486 ± 0.206	4.615 ± 0.428	2.741 ± 0.187	2.195 ± 0.058	2.197 ± 0.143	1.79 ± 0.117	2.308 ± 0.041
29	Diámetro ojo	0.900 ± 0.015	1.026 ± 0.034	1.105 ± 0.008	0.99 ± 0.014	0.745 ± 0.005	0.756 ± 0.01	0.679 ± 0.011	0.772 ± 0.003
30	Largo cabeza	4.32 ± 0.248	4.589 ± 0.563	5.433 ± 0.427	4.659 ± 0.476	3.438 ± 0.076	3.325 ± 0.328	2.825 ± 0.225	3.3642 ± 0.071
31	Base aleta adiposa	0.613 ± 0.026	0.943 ± 0.081	0.843 ± 0.117	0.671 ± 0.0161	0.535 ± 0.012	0.424 ± 0.009	0.413 ± 0.004	0.442 ± 0.002
32	Longitud de hocico	0.708 ± 0.026	0.6866 ± 0.048	0.841 ± 0.04	0.796 ± 0.05	0.564 ± 0.007	0.539 ± 0.02	0.435 ± 0.009	0.538 ± 0.003
33	Región cefalica	4.291 ± 0.250	4.554 ± 0.52	5.481 ± 0.594	4.568 ± 0.456	3.392 ± 0.079	3.206 ± 0.335	2.705 ± 0.197	3.158 ± 0.07
34	Región trocal	9.907 ± 1.653	11.155 ± 2.49	13.296 ± 2.615	10.544 ± 1.21	7.533 ± 0.466	7.155 ± 1.936	5.934 ± 1.007	8.31 ± 0.596
35	Región caudal	8.96 ± 0.624	8.34 ± 1.307	10.136 ± 0.344	8.466 ± 0.588	6.414 ± 0.208	6.17 ± 1.381	5.563 ± 0.855	6.63 ± 0.35
36	Longitud de horquilla	22.187 ± 3.535	22.874 ± 9.406	27.911 ± 7.026	22.716 ± 5.232	16.672 ± 1.632	15.818 ± 9.293	13.449 ± 5.12	17.429 ± 1.978
37	Longitud total	23.397 ± 3.483	23.073 ± 9.974	28.851 ± 6.877	23.582 ± 5.058	17.338 ± 1.64	16.527 ± 9.481	14.197 ± 5.303	18.102 ± 2.275
38	Peso total (gr)			203.98 ± 1599.464	135.455 ± 1129.247	59.3 ± 168.1	48.033 ± 718.445	28.83 ± 242.02	60.417 ± 355.17

Heatmap of pairwise distances

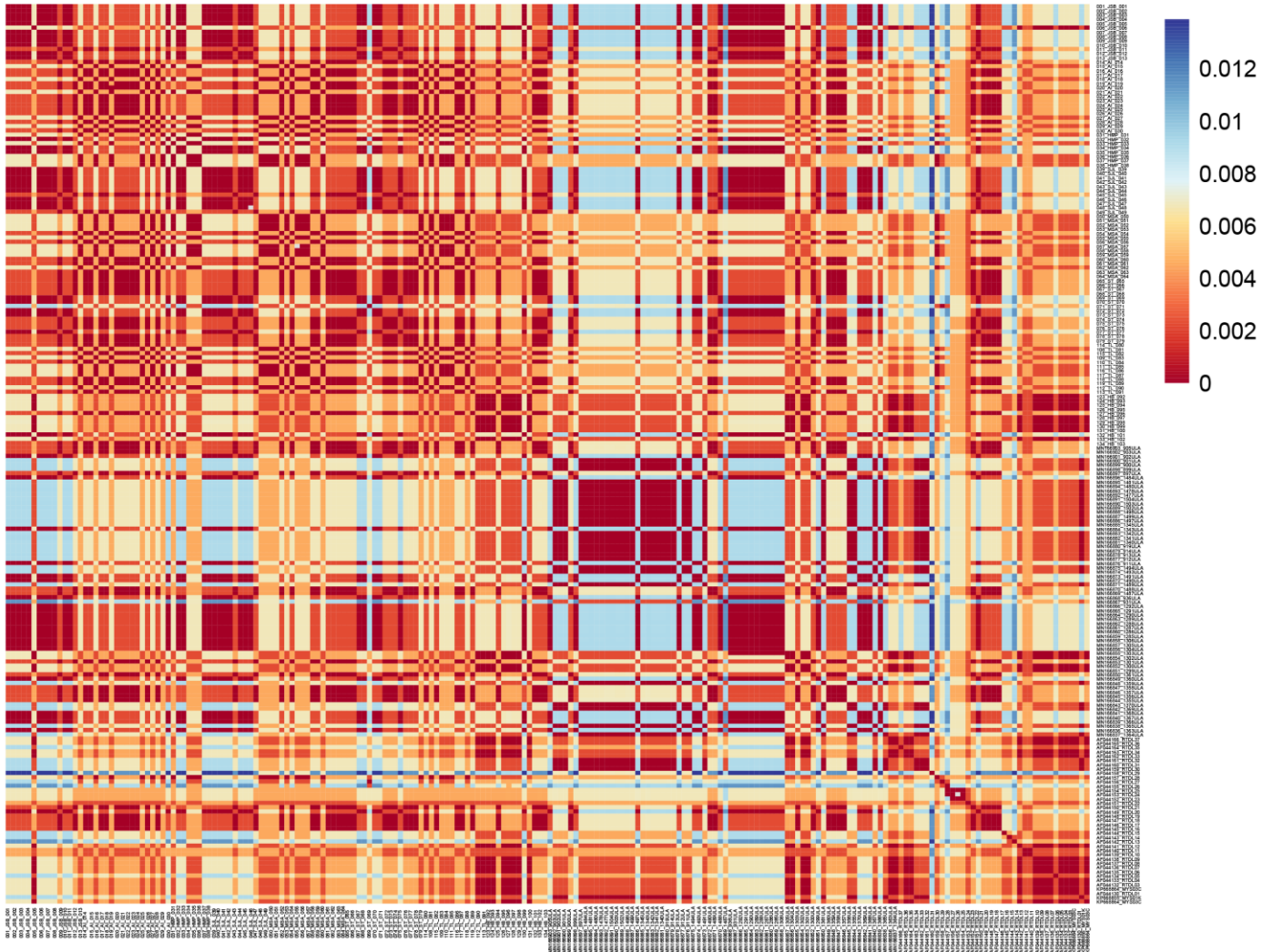


Figura A1. Mapa de calor (heatmap) basado en las distancias por pares de la región control del genoma mitocondrial de poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas.