

**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 ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL GENOMA  
MITOCONDRIAL DE LA TRUCHA ARCOÍRIS  
(*Oncorhynchus mykiss*) DE POBLACIONES NATURALES DE  
LA REGIÓN AMAZONAS”**

**Autor:**

**Bach. Fernando Chuquizuta Chavez**

**Asesora:**

**Ph.D. Martha Steffany Calderón Ríos**

**Asesor:**

**Ph.D. Danilo Edson Bustamante Mostajo**

**Registro: N° 0204-2022**

**CHACHAPOYAS – PERÚ**

**2023**

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



## 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): Chuguzguta Chavez Fernando  
DNI N°: 73656222  
Correo electrónico: 7365622271@untrm.edu.pe  
Facultad: Ingeniería Zootécnica, Agropecuarias y Biotecnología  
Escuela Profesional: Ingeniería Zootécnica

#### 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 estructural y funcional del genoma mitocondrial de la trucha arcoiris (Oncorhynchus mykiss) de poblaciones naturales de la región amazónica

#### 3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Calderón Ríos Martha Steffany (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

#### Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: Bustamante Montaña Danilo Edison (Ph.D)  
DNI, Pasaporte, C.E N°: 43496105  
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) https://orcid.org/0000-0002-5979-6493



#### 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](https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html)  
4.00.00 Ciencias agrícolas, 4.01.00 Agricultura, Silvicultura, Pecuaria - 4.01.08 Acuicultura

#### 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, 29 / Septiembre / 2023

  
Firma del autor 1  
  
Firma del Asesor 1

\_\_\_\_\_  
Firma del autor 2  
  
Firma del Asesor 2

## **DEDICATORIA**

A Dios por acompañarme en cada prueba. A mi padre, Victorino Chuquizuta y madre Teodocia Chavez que siempre me incentivaron al camino de superación y el servir a los demás, a mis hermanos Jarley y Lizeth que me acompañaron y apoyaron fraternalmente. Así también, a mis hermanos José y Marino por su fe y aprecio.

A mis asesores por compartirme su amistad y apoyo.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por guiarme en cada etapa de mi vida.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas por contribuir en mi formación profesional.

Al proyecto “*GENTRUCHA*” por darme la oportunidad de poder forjar este proyecto de investigación que permita contribuir al progreso acuícola de la región Amazonas.

A mis asesores Ph.D. Martha Calderón y Ph.D. Danilo Bustamante por compartirme su apoyo, dedicación, compromiso y amistad.

Al laboratorio de FISIOVEG y al “Team de Biología Molecular” INDES-CES, por permitirme desarrollar este proyecto con su apoyo y compañía.

A todas las personas y amigos que dieron su apoyo directa e indirectamente para poder hacer este proyecto realidad.

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

**Ph.D. Jorge Luis Maicelo Quintana**  
Rector

**Dr. Oscar Andrés Gamarra Torres**  
Vicerrector Académico

**Dra. María Nelly Luján Espinoza**  
Vicerrectora de Investigación

**Dr. Héctor Vladimir Vásquez Pérez**  
Decano de la Facultad de  
Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología

## VISTO BUENO DE LA ASESORA 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 (  )/Profesional externo (  ), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Análisis estructural y funcional del genoma mitocondrial de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de poblaciones naturales de la región amazónica del egresado Fernando Chuquizuta Chavez de la Facultad de Ingeniería Forestal, Agronegocios y Biotecnología Escuela Profesional de Ingeniería Forestal 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, 27 de Junio de 2023



Firma y nombre completo del Asesor

Ph.D. Martha Steffany Calderón Ríos

## 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 estructural y funcional del genoma mitocondrial de la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de poblaciones naturales de la región Amazónica del egresado Fernando Chuquiguta Charay 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.

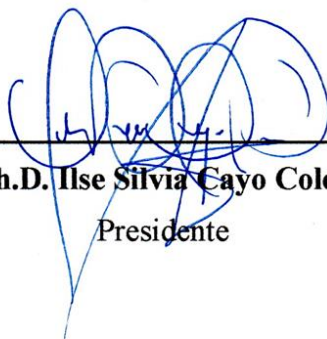
Chachapoyas, 27 de Junio de 2023



Firma y nombre completo del Asesor

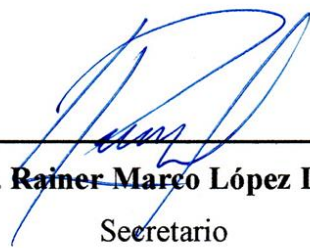
Ph.D. Danilo Edson Bustamante Morstajo

**JURADO EVALUADOR**



---

**Ph.D. Ilse Silvia Cayo Colca**  
Presidente



---

**Dr. Rainer Marco López Lapa**  
Secretario



---

**M.Sc. Yander Mavila Briceño Mendoza**  
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 Estructural y Funcional del Genoma Mitochondrial de la Trucha Arcoiris (Oncorhynchus mykiss) de Poblaciones Naturales de la Región Amazonas"

presentada por el estudiante ( )/egresado (x) Fernando Choquizota Chavez

de la Escuela Profesional de Ingeniería Zootecnista

con correo electrónico institucional 7365622271@untrm.edu.pe


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


- a) La citada Tesis tiene 18 % 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, 26 de junio del 2023

  
SECRETARIO

  
PRESIDENTE

  
VOCAL

OBSERVACIONES:

.....  
.....

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



UNTRM

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

## ANEXO 3-S

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 14 de julio del año 2023, siendo las 14:00 horas, el aspirante: Bach. Fernando Chuquizuta Chavez, asesorado por Ph.D. Martha Steffany Calderón Ríos; Ph.D. Danilo Edson Bustamante Mostajo, defiende en sesión pública presencial () / a distancia () la Tesis titulada: Análisis Estructural y Funcional del Genoma Mitocondrial de la Trucha Arcoiris (Oncorhynchus mykiss) de Poblaciones Naturales 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. Ise Silvia Cayo Colca

Secretario: Ph.D. Marco López Lara

Vocal: M.Sc. Yander Navila Briceño Mendoza

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 15:00 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

SECRETARIO

PRESIDENTE

VOCAL

OBSERVACIONES:

## ÍNDICE

RESUMEN .....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
I. INTRODUCCIÓN .....	19
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
2.1. Población, muestra y muestreo .....	22
2.1.1. Población.....	22
2.1.2. Muestra .....	22
2.1.3. Muestreo .....	22
2.2. Recolección y preparación de muestras. ....	23
2.3. Toma de medidas morfométricas. ....	25
2.4. Análisis de individuos y selección de individuos .....	28
2.5. Preparación y extracción de ADN .....	28
2.5.1. Incubación.....	28
2.5.2. Lavado.....	28
2.5.3. Obtención de ADN .....	29
2.6. Evaluación de la calidad y cantidad de ADN .....	30
2.6.1. Cuantificación por Fluorómetro.....	30
2.6.2. Cuantificación por Nanodrop.....	31
2.6.3. Electroforesis .....	32
2.7. Secuenciamiento del genoma mitocondrial completo. ....	33
2.8. Análisis de datos .....	34
2.8.1. Ensamblaje y anotación de genes.....	34
2.8.2. Análisis filogenómico .....	35

2.8.3. Análisis del genoma mitocondrial de trucha arcoíris.....	35
III. RESULTADOS .....	37
3.1. Análisis morfométrico por PCA .....	37
3.2. Análisis por calidad de ADN .....	40
3.3. Ensamblaje y anotación de genes mitocondriales de trucha arcoíris .....	43
3.4. Análisis filogenómico .....	51
3.5. Análisis de relación de genes .....	54
3.6. Identificación de SNPs en el genoma mitocondrial de trucha arcoíris .....	57
IV. DISCUSIÓN .....	62
V. CONCLUSIONES .....	66
VI. RECOMENDACIONES.....	67
VII. REFERENCIAS.....	68
VIII. ANEXOS .....	81

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Datos geográficos sobre las poblaciones naturales de trucha arcoíris de la región Amazonas.....	24
<b>Tabla 2.</b> Parámetros morfométricos utilizados en este estudio, descritos por Villegas et al (2020).....	27
<b>Tabla 3.</b> Resultados de cuantificación de ADN de las poblaciones de trucha arcoíris. ....	41
<b>Tabla 4.</b> Resultados de cuantificación de un representante de los grupos morfométricos de la región Amazonas por Fluorómetro y Nanodrop. ....	41
<b>Tabla 5.</b> Acciones de Genbank NCBI asignadas a cada individuo de los grupos morfométricos de la región Amazonas. ....	44
<b>Tabla 6.</b> Anotación, longitud y índice mutacional en genes del genoma mitocondrial de trucha arcoíris en la región Amazonas.....	49
<b>Tabla 7.</b> Numero de SNPs presentes en cada gen el genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la región Amazonas.....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa de localización de los sitios de colecta de truchas naturalizadas en la Región Amazonas. ....	23
<b>Figura 2.</b> Colecta de truchas y preparación de muestras. ....	24
<b>Figura 3.</b> Proceso de toma de imágenes y procesamiento de medidas morfométricas. ....	25
<b>Figura 4.</b> Protocolo de cerchas basado en box truss para medir la morfología en trucha arcoíris (Strauss & Bookstein, 1982). ....	26
<b>Figura 5.</b> Ubicación y organización de los principales Landmarks usados en trucha arcoíris. ....	26
<b>Figura 6.</b> Protocolo de extracción de ADN en aleta de trucha. ....	29
<b>Figura 7.</b> Protocolo de cuantificación de ADN por Fluorómetro. ....	31
<b>Figura 8.</b> Protocolo de cuantificación de ADN por Nanodrop ....	32
<b>Figura 9.</b> Protocolo de electroforesis en ADN de trucha. ....	33
<b>Figura 10.</b> Preparado de muestras para envío de secuenciamiento. ....	34
<b>Figura 11.</b> Gráfica resumen de los procesos metodológicos. ....	36
<b>Figura 12.</b> Gráfico de sedimentación del impacto en los componentes principales de las variables morfométricas de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas. ....	38
<b>Figura 13.</b> Gráfica del grado de contribución de variables morfométricas de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas. ....	38
<b>Figura 14.</b> Gráfica del grado de contribución de los individuos de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas. ....	39
<b>Figura 15.</b> Agrupamiento de individuos de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas. ....	39
<b>Figura 16.</b> Gráfica Biplot de relación de contribución de variables e individuos de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas. ....	40
<b>Figura 17.</b> Resultados de electroforesis de ADN de las poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas ....	42
<b>Figura 18.</b> Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Alto Imaza (OP588110). ....	45

<b>Figura 19.</b> Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Huamanpata (OP588111). .....	45
<b>Figura 20.</b> Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Huamanpata (OP588112). .....	46
<b>Figura 21.</b> Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Jucusbamba (OP588113). .....	46
<b>Figura 22.</b> Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de San José de Lauman (OP588114). .....	47
<b>Figura 23.</b> Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Santo Tomás de Cupuy (OP588115). .....	47
<b>Figura 24.</b> Representación del alineamiento de los 37 genes del genoma mitocondrial de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas. ....	48
<b>Figura 25.</b> Filograma de máxima verosimilitud del género <i>Oncorhynchus</i> . Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de RaxML basados en 1000 repeticiones y de Inferencia Bayesiana de Mr. Bayes basados en 10,000,000 de repeticiones. ....	52
<b>Figura 26.</b> Filograma de máxima verosimilitud de la especie <i>Oncorhynchus mykiss</i> . Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de RaxML basados en 1000 repeticiones y de Inferencia Bayesiana de Mr. Bayes basados en 10,000,000 de repeticiones. ....	53
<b>Figura 27.</b> Heatmap de los porcentajes de identidad entre individuos de <i>O. mykiss</i> y <i>O. clarkii</i> . ....	54
<b>Figura 28.</b> Filograma de máxima verosimilitud basados en la concatenación de los genes <i>ND4</i> , <i>ND5</i> y <i>Región Control</i> de <i>Oncorhynchus mykiss</i> . Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones. ....	55
<b>Figura 29.</b> Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes <i>ND4</i> , <i>ND5</i> y <i>Región Control</i> de <i>Oncorhynchus mykiss</i> . Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones. ....	56
<b>Figura 30.</b> Mapa de localización de SNPs en 33 genomas mitocondriales de trucha arcoíris. Números están asociados a las accesiones de Genbank. (1) MF621750, (2) MT4108879, (3) <b>OP588113</b> , (4) <b>OP588114</b> , (5) <b>OP588110</b> , (6) <b>OP588115</b> , (7) MT667254, (8) DQ288270, (9) OK623662, (10) KP013084, (11) DQ288268, (12) DQ288269, (13) OK583899, (14)	

OK637252, (15) OK637248, (16) **OP588111**, (17) **OP588112**, (18) OK328115, (19) OK623679, (20) OK040162, (21) OK623665, (22) DQ288271, (23) LC050735, (24) MW300342, (25) MW300335, (26) MW300336, (27) NC056957, (28) KP085590, (29) KP218514, (30) OK336457, (31) OL339390, (32) OL339391, (33) NC001717.....59

**Figura 31.** Mapa de localización de SNPs en genomas mitocondriales de trucha arcoíris en poblaciones naturalizadas de la región Amazonas. Letras están asociados a las accesiones de Genbank. (A) OP588113, (B) OP588114, (C) OP588110, (D) OP588115, (E) OP588111, (F) OP588112. ....60

**Figura 32.** Localización de SNPs a lo largo del genoma mitocondrial de truchas arcoíris (75 posiciones).....61



## RESUMEN

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es una especie acuícola de gran interés comercial y productiva, que cuenta con información muy limitada respecto a factores de interés comercial validados por data morfológica, genética y genómica, especialmente en la región Amazonas, Perú. En este sentido, la presente investigación caracterizó fenotípica y genómicamente los principales grupos de poblaciones naturalizadas de trucha arcoíris evaluando 39 parámetros morfológicos y determinando la estructura y función de sus genomas mitocondriales. Se identificaron fenotípicamente ocho poblaciones naturalizadas en las provincias de Chachapoyas, Luya y Rodríguez de Mendoza; sin embargo, éstas corresponden solamente a tres grupos genómicos compartiendo relaciones evolutivas con linajes de EE.UU, Dinamarca, China y España con grados de divergencia entre 0.1% a 0.6%. Esto resalta la importancia de confirmar los resultados fenotípicos con análisis moleculares. El genoma mitocondrial de trucha arcoíris está compuesto con 37 genes codificantes y dos regiones no codificantes con una longitud de 16655-16660 pb. La *Región Control*, *ND4* y *ND5* son genes óptimos para futuros estudios de evaluación de conectividad genética en trucha arcoíris. También se identificaron un total de 75 SNPs (Polimorfismo de nucleótido simple) que probablemente explicarían la naturalización de la trucha arcoíris en la Región Amazonas. Este es el primer estudio integrado de caracterización fenotípica y genómica relevante para entender el parentesco y diversidad de poblaciones naturalizadas de trucha arcoíris.

**Palabras claves:** ADN mitocondrial, anotación genómica, ensamblaje genómico, filogenia, genoma mitocondrial, morfometría, población naturalizada, SNP, trucha arcoíris.

## ABSTRACT

The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is an aquaculture species of great commercial and productive interest, which has very limited information regarding factors of commercial interest validated by morphological, genetic and genomic data, especially in the Amazonas region, Peru. In this sense, the present research characterized phenotypically and genomically the main groups of naturalized populations of rainbow trout evaluating 39 morphological parameters and determining the structure and function of their mitochondrial genomes. Eight naturalized populations were phenotypically identified in the provinces of Chachapoyas, Luya and Rodríguez de Mendoza; however, these correspond to only three genomic groups sharing evolutionary relationships with lineages from the USA, Denmark, China and Spain with degrees of divergence between 0.1% to 0.6%. This highlights the importance of confirming phenotypic results with molecular analyses. The mitochondrial genome of rainbow trout is composed of 37 coding genes and two non-coding regions with a length of 16 65 5-16660 bp. The *Control Region*, *ND4* and *ND5* are optimal genes for future genetic connectivity evaluation studies in rainbow trout. A total of 75 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) were also identified that would probably explain the naturalization of rainbow trout in the Amazon Region. This is the first integrated study of phenotypic and genomic characterization relevant to understanding the kinship and diversity of naturalized rainbow trout populations.

**Keywords:** Mitochondrial DNA, genomic annotation, genomic assembly, phylogeny, mitochondrial genome, naturalized population, morphometry, SNP, rainbow trout.

## I. INTRODUCCIÓN

En la producción acuícola, la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es la especie de mayor explotación a nivel nacional en peces de origen continental (66.5%), mientras que la región Amazonas contribuye al 0.59% de extracción en peso fresco (PRODUCE, 2022). La trucha arcoíris es originaria de las cuencas que drenan al Pacífico en Norteamérica, y fueron distribuidas desde 1874 en diversas partes del mundo a excepción de la Antártida (FAO, 2022). En el Perú, fue introducida en 1925 y actualmente se encuentra distribuida en casi todos los hábitats de agua dulce de la sierra con una gran adaptación en lagunas, ríos y lagos altoandinos (Coela, 2020; MINAM, 2021). De aquí se puede considerar a la trucha arcoíris como una especie naturalizada al haberse establecido en hábitats que solo llegarían a ser habitadas por especies endémicas de la zona (Cossíos, 2010). Debido a su gran proceso de naturalización, impulsa la necesidad de evaluar los impactos que tiene en la biodiversidad acuática y el estado de sus poblaciones causada por la naturalización que ha experimentado (Stanković et al., 2015). En base a que la variabilidad genética es el resultado de años de evolución, la alteración de su hábitat y su estructura genética provocan una pérdida de variabilidad genética generando que las poblaciones tiendan a reducir y tener una tasa de adaptación más baja en otros hábitats (Doadrio, 2001). En este sentido, es vital entender la variabilidad y estructura genética de la trucha arcoíris luego de los procesos de adaptación de sus poblaciones en las diversas zonas de producción acuícola de trucha de la región Amazonas.

El uso de diversas herramientas moleculares permite obtener una adecuada información de la diversidad genética para el planteamiento de estrategias de conservación zoogenética (FAO, 2010). Para ello, la información presente en el genoma de trucha, específicamente en el mitocondrial, es fundamental para los diversos análisis filogenéticos y de genética de poblaciones (Kivisild, 2015; Satoh et al., 2016). Esto se debe a que el ADN mitocondrial posee una tasa de mutación mayor que el ADN nuclear (Allio et al., 2017) y la ausencia de recombinación brinda la oportunidad de analizar las relaciones genéticas (Kivisild, 2015) y variaciones (Alaqueely et al., 2021) entre y dentro de las poblaciones.

El genoma mitocondrial se encuentra en las organelas conocidas como mitocondrias y se caracteriza por ser pequeño, contener una cantidad limitada de genes y carecer de intrones; teniendo una expresión compleja, pero importante en la supervivencia de organismos vertebrados (Mileshina et al., 2015; Basu et al., 2020). Generalmente, los genomas mitocondriales en los vertebrados se caracterizan por ser circulares con una longitud promedio de 16 kb, los cuales están compuestos de genes codificantes de proteínas, genes de ARN de transferencia y genes de ARN ribosómico (Boore, 1999; Iwasaki et al., 2013; Friedman & Nunnari, 2014). Este patrón ha sido observado mucho en peces, pero con diferencias mínimas en la distribución de los genes (Brown, 2008).

La genómica es una rama eficaz que permite mejorar las inferencias genéticas en la conservación tradicional con conocimientos cualitativos más novedosos (Shafer et al., 2015). La secuenciación en la investigación genómica es impulsada con plataformas de secuenciación de segunda (lecturas cortas) y tercera generación (lecturas largas), las cuales permiten obtener datos masivos más eficientes para genomas completos (López de Heredia, 2016). En este sentido, la práctica de secuenciación genómica y genotipado conceden el entendimiento de la estructura y función de genes de especies acuícolas más rigurosa, rápida y eficazmente (López et al., 2003). Asimismo, estas técnicas permiten el desarrollo de estudios comparativos de genomas completos en la conservación y selección de especies en la acuicultura (Kenechukwu et al., 2019). Estos estudios se vienen aplicando en especies de interés comercial como la trucha arcoíris, mediante el uso de marcadores moleculares (Zardoya et al., 1995) y datos genómicos (Berthelot et al., 2014). Sin embargo, se resalta la ausencia de información genética y genómica de trucha arcoíris de poblaciones naturales en la región Amazonas.

A la actualidad, el campo del secuenciamiento genético ha presentado grandes avances puesto que permiten decodificar ADN en menor tiempo, mayor rendimiento y menores costos facilitando los análisis de investigación biológica (Mardis, 2017; Gómez et al., 2022). Las tecnologías de segunda generación se caracterizan por tener una amplificación clonal masivamente paralela, a su vez de secuenciar y alinear lecturas cortas (Pareek et al., 2011); mientras que las tecnologías de tercera generación, por

tener una intervención directa en las moléculas individuales, obtienen la secuencia de una sola molécula (Schadt et al., 2010), como se puede apreciar en el secuenciamiento con el uso de nanoporos (Feng et al., 2015). Las tecnologías de secuenciamiento también permiten un mapeo retrospectivo de las lecturas mediante coordenadas espaciales en las secuencias de ADN y ARN (Ke et al., 2016). Todas estas tecnologías asumen su importancia en tener una secuenciación masiva donde se puede leer millones de secuencias de ADN en paralelo (Hernández et al., 2020; Rubio et al., 2020). Esto permite que las secuencias de alto rendimiento del genoma mitocondrial identifiquen las mutaciones puntuales y deleciones con mayor precisión (Palculict et al., 2016). Actualmente, entre las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento destacan las plataformas Illumina, Ion Torrent, Pacific Biosciences y Oxford Nanopore Technologies (Pradhan et al., 2019); siendo Illumina la tecnología que más dominio tiene en el mercado (Reuter et al., 2015).

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es considerada como una de las especies de mayor impacto en la acuicultura mundial (Stanković et al., 2015), generando rentabilidad debido a los altos índices de crecimiento y producción que posee (Hernandez & Aquino, 2008). En la actualidad, las bases de datos de genomas mitocondriales de trucha arcoíris cuentan con información limitada generando dependencia en marcadores moleculares como COI (citocromo oxidasa 1) o la región control para entender la estructuración genética de las poblaciones de trucha arcoíris (Schroeter et al., 2019). Hasta el momento, en el Perú no se han realizado estudios genéticos y/o genómicos para caracterizar a las poblaciones de truchas y evaluar sus adaptaciones, probando que existe un desconocimiento en la biodiversidad acuífera (Ordinola, 2020). Esto limita el conocimiento de la conformación estructural y funcional y diversidad genómica de las poblaciones naturales de trucha arcoíris y el entendimiento de su adaptación en la Región Amazonas (Véliz, 2015).

En base a los fundamentos presentados, se valora la importancia del estudio de la genómica mitocondrial de especies acuícolas de interés económico y productivo como la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en poblaciones naturales de la región Amazonas. Este estudio permitirá obtener información de datos genéticos y genómicos

para el desarrollo de estrategias de conservación y selección de mejores reproductores aspirando a un mayor porcentaje de heterocigosis en su descendencia (Martínez & Huerta, 2007). De esta manera, investigar la genómica estructural y funcional de genomas mitocondriales y el potencial evolutivo de las poblaciones que llegarían a ser claves para la preservación de peces en sus diversos hábitats es vital para la región (Torres & Artoni, 2019). Comprender la funcionabilidad genómica permitirá analizar la expresión de genes implicados en diversos procesos asociados a la supervivencia de truchas arcoíris. Esto indirectamente impactará de manera positiva en los rasgos de interés comercial que exigen para especies acuícolas como la tasa de crecimiento, la madurez sexual, la calidad de carne, entre otros (López et al., 2015).

En base a lo planteado, la presente investigación buscó analizar estructural y funcionalmente el genoma mitocondrial. Asimismo, se busca identificar las relaciones evolutivas de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de poblaciones naturales de la Región Amazonas.

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Población, muestra y muestreo**

#### **2.1.1. Población**

La población fue conformada por un total de 103 truchas, las cuales provinieron de ocho poblaciones naturalizadas de la región Amazonas.

#### **2.1.2. Muestra**

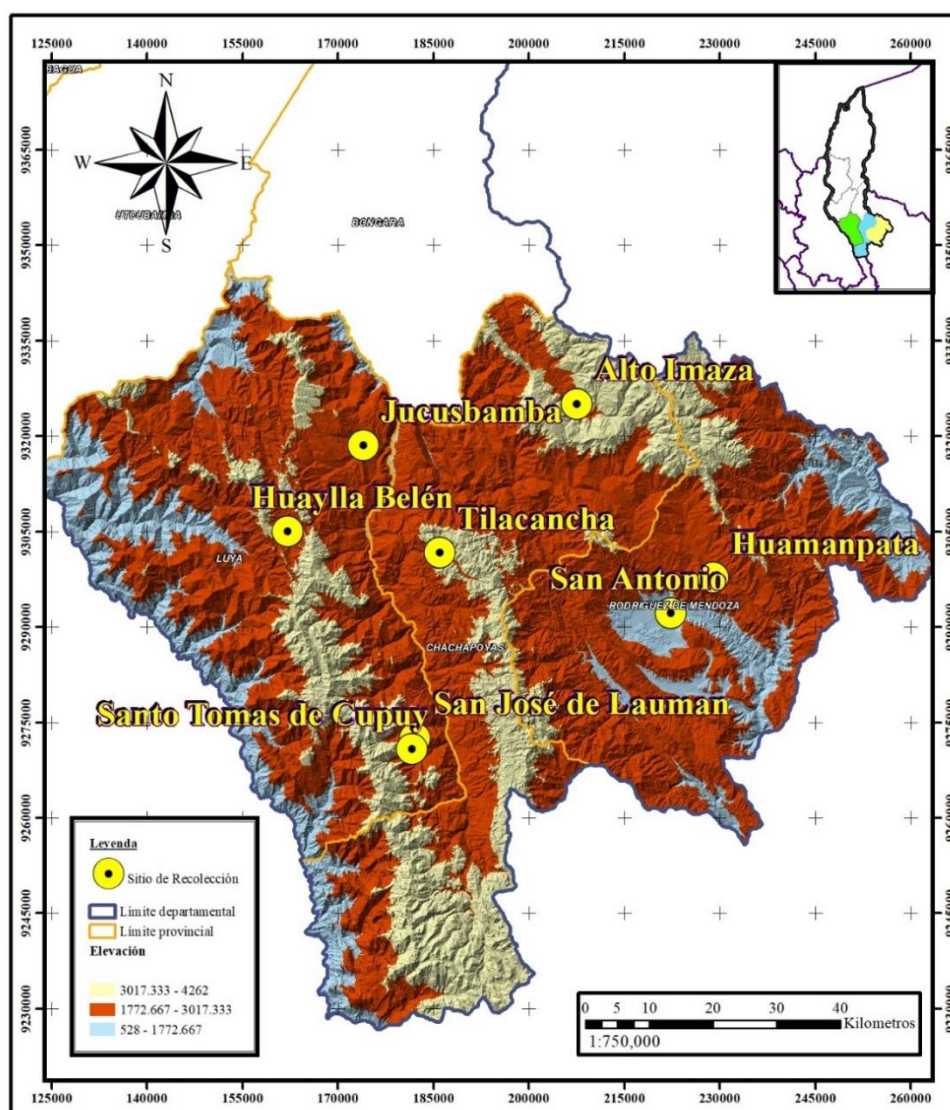
En base a un análisis estadístico de agrupamiento utilizando variables morfométricas, se seleccionó un espécimen representativo por cada grupo generado morfométrico.

#### **2.1.3. Muestreo**

Muestreo no probabilístico.

## 2.2. Recolección y preparación de muestras.

Se recolectaron 103 muestras de truchas de ocho localidades de la región Amazonas con reportes de presencia de poblaciones naturales de truchas (Alto Imaza y Tilacancha en la provincia de Chachapoyas; Jucusbamba, Santo Tomás de Cupuy, San José de Lauman y Huaylla Belén en la provincia de Luya; Huamanpata y San Antonio en la provincia de Rodríguez de Mendoza (Figura 1, Tabla 1).



**Figura 1.** Mapa de localización de los sitios de colecta de truchas naturalizadas en la Región Amazonas.

**Tabla 1.** Datos geográficos sobre las poblaciones naturales de trucha arcoíris de la región Amazonas.

ID	N°	Población	Recurso Hídrico	Distrito	Provincia
JSB	13	Jucusbamba	Río Sucusbamba	Luya	Luya
AI	17	Alto Imaza	Río Imaza	Quinjalca	Chachapoyas
HMP	8	Huamanpata	Laguna Huamanpata - Río Huamanpata	San Nicolás	Rodríguez de Mendoza
SJL	11	San José de Lauman	Quebrada San José	Santo Tomás	Luya
MSA	15	Microcuenca San Antonio	Río San Antonio	Longar	Rodríguez de Mendoza
ST	15	Santo Tomás de Cupuy	Quebrada San José	Santo Tomás	Luya
TL	12	Tilacancha	Río Osmal	Levanto	Chachapoyas
HB	12	Huaylla Belén	Río Huaylla	Colcamar	Luya



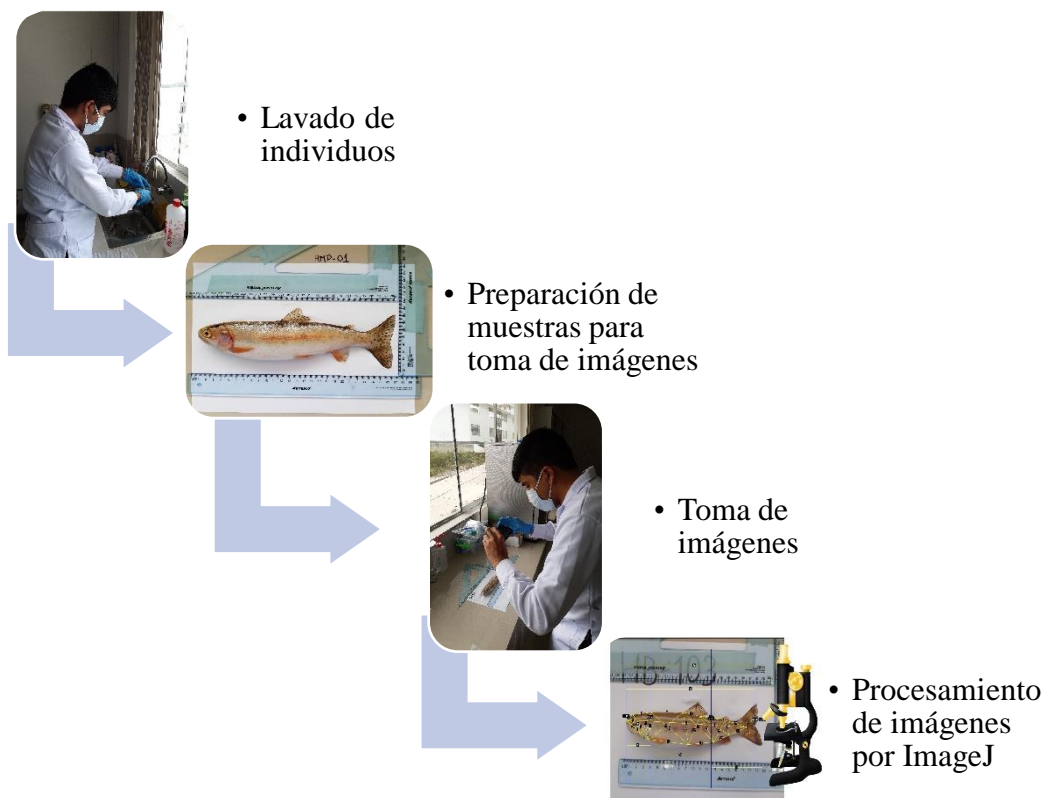
**Figura 2.** Colecta de truchas y preparación de muestras.



Cada muestra recolectada fue extraída de ríos y colocadas en un cooler con hielo para su traslado al laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOVEG) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, donde fueron lavadas y preparadas.

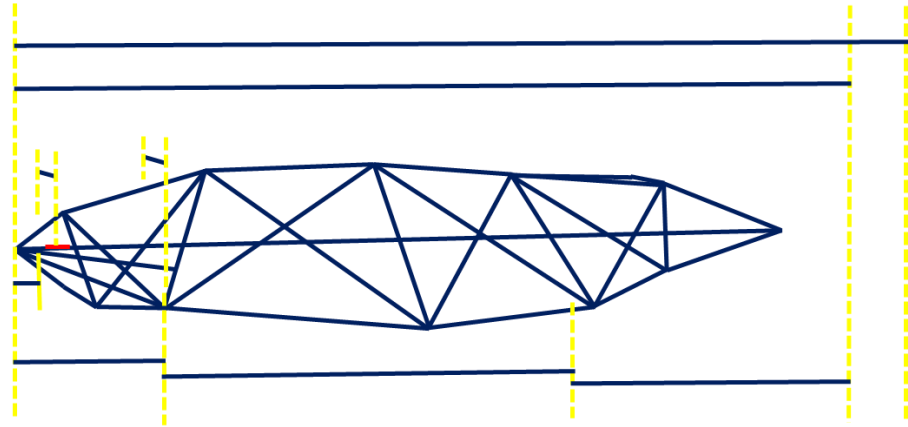
### 2.3. Toma de medidas morfométricas.

Antes de proceder a la extracción de ADN, se realizó una toma de imágenes a cada uno de los individuos colectados con la finalidad de poder obtener medidas morfométricas de cada individuo mediante el software ImageJ (Schneider et al., 2012).

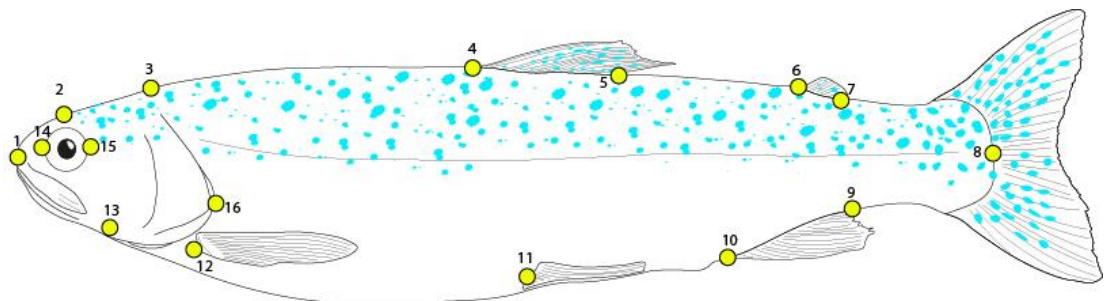


**Figura 3.** Proceso de toma de imágenes y procesamiento de medidas morfométricas.

El método para las medidas morfológicas a utilizar fue el “Truss protocol” o método de cerchas (basado en el método Landmarks Box Truss) (Figura 4) (Strauss & Bookstein, 1982; Villegas et al. 2020). Este método consiste en identificar puntos anatómicos característicos de una estructura en un organismo (Tabla 2, Figura 5) y formar un entramado de caja (González & Díaz, 2017).



**Figura 4.** Protocolo de cerchas basado en box truss para medir la morfología en trucha arcoíris (Strauss & Bookstein, 1982).



**Figura 5.** Ubicación y organización de los principales Landmarks usados en trucha arcoíris.

**Tabla 2.** Parámetros morfométricos utilizados en este estudio, descritos por Villegas et al (2020).

<b>ID</b>	<b>Parámetros</b>
A	Largo estándar
B	Distancia hocico a la epifíseal
C	Distancia hocico a la aleta pectoral
D	Distancia epifíseal a la supraoccipital
E	Distancia epifíseal a la aleta pectoral
F	Distancia epifíseal a la articular
G	Distancia articular al origen aleta pectoral
H	Distancia supraoccipital al origen aleta dorsal
I	Distancia supraoccipital al origen aleta pélvica
J	Distancia supraoccipital al origen aleta pectoral
K	Distancia supraoccipital al articular
M	Distancia aleta pectoral a la aleta pélvica
N	Base aleta dorsal
Ñ	Distancia origen aleta dorsal al origen aleta anal
O	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pélvica
P	Distancia origen aleta dorsal a la aleta pectoral
Q	Distancia aleta pélvica al origen aleta anal
R	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta adiposa
S	Distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta anal
T	Distancia posterior aleta dorsal a origen de la aleta adiposa
U	Distancia posterior aleta dorsal al origen aleta anal
V	Distancia posterior aleta dorsal a la aleta pélvica
W	Base aleta anal
X	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta caudal
Y	Distancia posterior aleta adiposa a la posterior aleta anal
Z	Distancia posterior aleta adiposa al origen aleta anal
AA	Distancia posterior aleta anal a la aleta caudal
AB	Largo maxilar
AC	Diámetro ojo
AD	Largo cabeza
AE	Base aleta adiposa
AF	Ancho interorbitario
AG	Ancho pectoral (cabeza)
AH	Longitud de hocico
AI	Región cefálica
AJ	Región trocal
AK	Región caudal
AM	Longitud de horquilla
AN	Longitud total

## **2.4. Análisis de individuos y selección de individuos**

Todos los parámetros morfológicos obtenidos fueron sometidos al Análisis de componentes principales (PCA) mediante el Software estadístico Rstudio (RStudio Team, 2022), utilizando el paquete FactoMineR (Le et al., 2008). La formación de grupos en base a similitudes morfométricas fue evaluada, y se seleccionó un individuo representativo por cada grupo formado para su posterior secuenciamiento.

## **2.5. Preparación y extracción de ADN**

Para la preparación de las muestras para el proceso de extracción de ADN genómico, se extirparon las aletas pectorales y ventrales de cada una de las muestras recolectadas y fueron colocadas en tubos de 2ml para su posterior almacenamiento en un ultracongelador a temperatura de -80 °C. Luego se realizó la extracción de ADN mediante el uso del Kit Quick protocol Wizard®SV Genomic DNA Purification System (Promega, EE.UU.) siguiendo las indicaciones del fabricante (Figura 6).

### **2.5.1. Incubación**

Para la extracción del ADN de trucha arcoíris, se colocó 20 mg de muestras de aleta en tubos ámbar de 1.5 ml y se agregaron 300µl de Nuclei Lysis Solution, 100µl de 0.5M EDTA (pH 8.0), 20µl de Proteinase K, 20mg/ml y 10µl de RNase A Solution, 4mg/ml. Estos fueron homogenizados en un vortex mixer LabNet modelo S0200, para después ser incubados en un termoblock Labnet Digital Dry modelo D-1301 con una duración de 24 horas a 55 °C de temperatura constante (Figura 6).

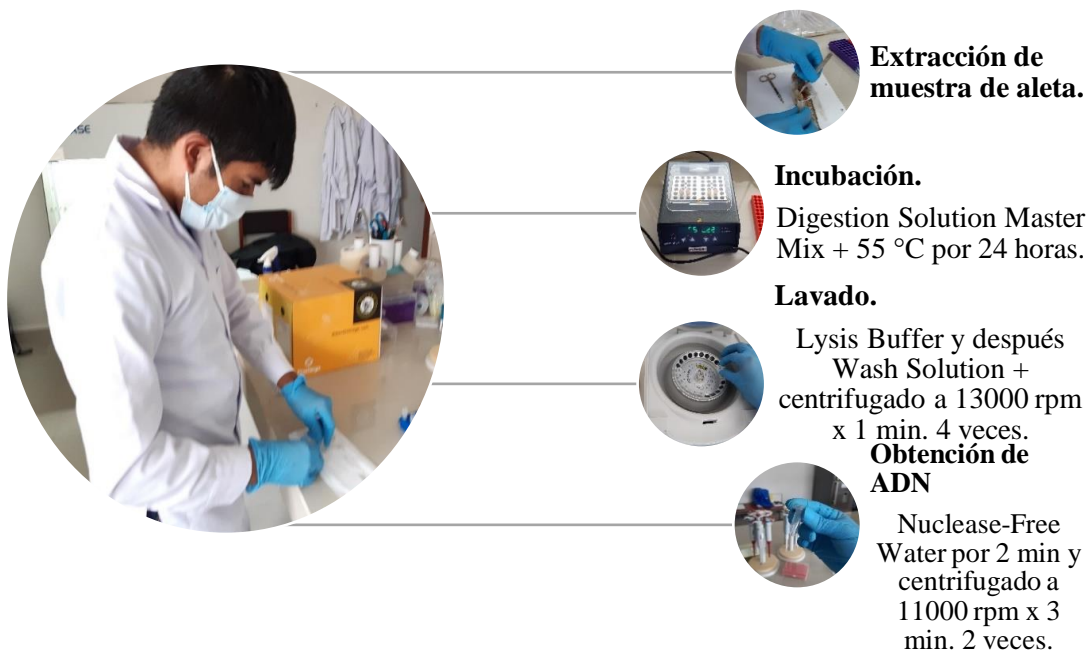
### **2.5.2. Lavado**

Luego del proceso de incubación, se procedió a agregar 250µl Wizard® SV Lysis Buffer a todos los tubos con muestras y se dejó incubar a temperatura ambiente por 5 minutos con vórtex cada 2.5 minutos, para después ser centrifugados a 9000 rpm por 4 minutos. Luego, se procedió a ensamblar y rotular las minicolumnas y filtros SV para cada muestra. Posteriormente, el

contenido líquido de los tubos ámbar fueron transferidos a las minicolumnas para ser centrifugadas a 13000 rpm durante 3 minutos. Luego se desechó el contenido de las columnas de recolección y se procedió al proceso de lavado agregando 650µl de Column Wash Solution y centrifugación a 13000 rpm durante 1 minuto. Después se desechó el líquido de lavado depositado en la columna de recolección. Este último procedimiento se repitió 4 veces (Figura 6).

### 2.5.3. Obtención de ADN

Luego del cuarto lavado se secaron los tubos mediante un centrifugado adicional a 13000 rpm durante 2 minutos y se transfirió el filtro a un tubo nuevo de 1.5ml previamente rotulado. Luego se agregó 50 µl de Nuclease-Free Water al interior de los filtros, se dejó incubando por 2 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 11000 rpm durante 3 minutos sin desechar el contenido del tubo. Este proceso se repitió 2 veces, para finalmente desechar el filtro y almacenar el producto de ADN genómico en una refrigeradora a -20 °C de temperatura (Figura 6).



**Figura 6.** Protocolo de extracción de ADN en aleta de trucha.

## **2.6. Evaluación de la calidad y cantidad de ADN**

Para determinar la calidad y pureza del ADN extraído, las muestras de ADN fueron evaluadas mediante cuantificación con el Kit de cuantificación Qubit™ dsDNA HS Assay Kit Q32854 (Invitrogen, EE.UU.) y el equipo cuantificador Quantus Fluorometer (Promega, EE.UU.). Asimismo, se realizó un análisis de cuantificación mediante el equipo Nanodrop Eppendorf BioSpectrometer® basic (Eppendorf, Alemania) y un análisis electroforético mediante gel de Agarosa 1%.

### **2.6.1. Cuantificación por Fluorómetro**

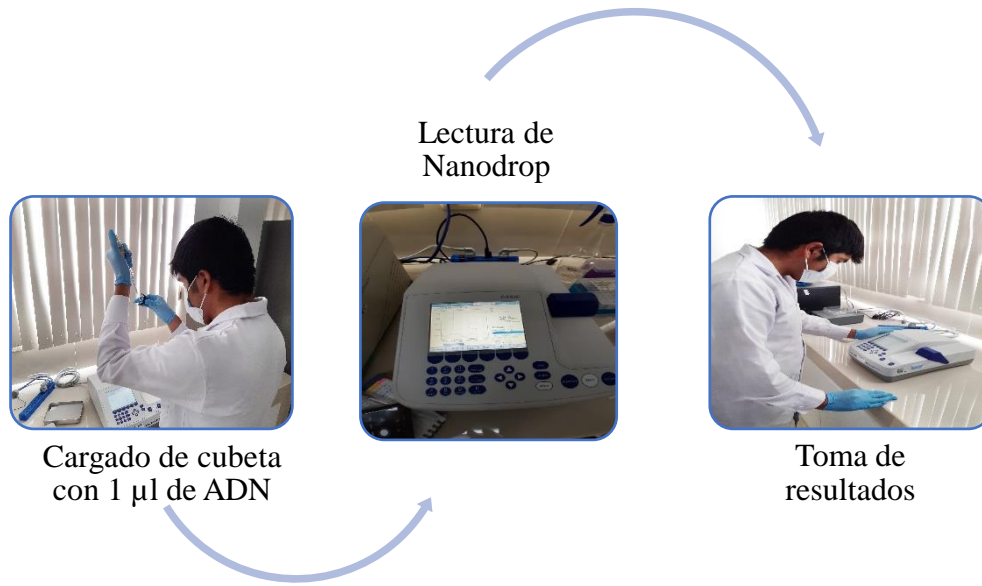
La cuantificación se realizó con el uso de la espectrofotometría, el cual determina la cantidad de una molécula en una solución mediante la absorción de luz en las moléculas (Velázquez et al., 2014). Con el uso del Kit de cuantificación Qubit™ dsDNA HS Assay Kit Q32854 (Invitrogen, EE.UU.), se utilizó un total de 200 µl para cada muestra por tubo. Para ello, se preparó una mezcla de 1 µl Qubit® dsDNA HS Reagent por muestra y 199 µl Qubit® dsDNA HS Buffer por muestra y se mezcló mediante vórtex. Para la preparación de las muestras a evaluar, se tomaron 199 µl de la mezcla lista y se mezcló con 1 µl de ADN en tubos PCR de 0.5 ml rotulados. A su vez se prepararon las mezclas Qubit® dsDNA HS Standard 1 y 2, donde se utilizó 190 µl de la primera mezcla hecha y se agregó 10 µl de Standard 1. Este proceso se repitió para el Standard 2 y se mezclaron mediante vórtex. La principal función de estos Standards es poder calibrar el equipo antes de realizar las lecturas con las muestras. Una vez terminadas todas las preparaciones de las muestras y Standards, estas se pasaron en un equipo MiniSpin para que todo el contenido sea precipitado. Finalizado todos los preparados fueron incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 5 minutos para su lectura en el equipo cuantificador Quantus Fluorometer (Promega, EE.UU.), donde se calibró, con el Standard 1 y Standard 2. Posteriormente, se realizaron las lecturas de todas las muestras en ng/µl en el equipo (Figura 7).



**Figura 7.** Protocolo de cuantificación de ADN por Fluorómetro.

### 2.6.2. Cuantificación por Nanodrop

La cuantificación por nanodrop no solo se caracteriza por la cuantificación de las moléculas sino también por la detección de contaminantes como proteínas u otros en las muestras productos de los pasos de extracción, además de verificar la pureza e integridad de las muestras (Hughes et al., 2012). Para el proceso de cuantificación por nanodrop se utilizó un equipo Nanodrop Eppendorf BioSpectrometer® basic (Eppendorf, Alemania), donde se agregó 1  $\mu$ l de muestra de ADN en una cubeta marca Eppendorf de 1mm. Al cerrar se aseguró la formación de una columna de la muestra dentro de la cubeta para después colocar la misma en el equipo y realizar las lecturas respectivas, así mismo para calibrar el equipo y limpiar la cubeta se utilizó 1.5  $\mu$ l de Nuclease-Free Water (Figura 8).



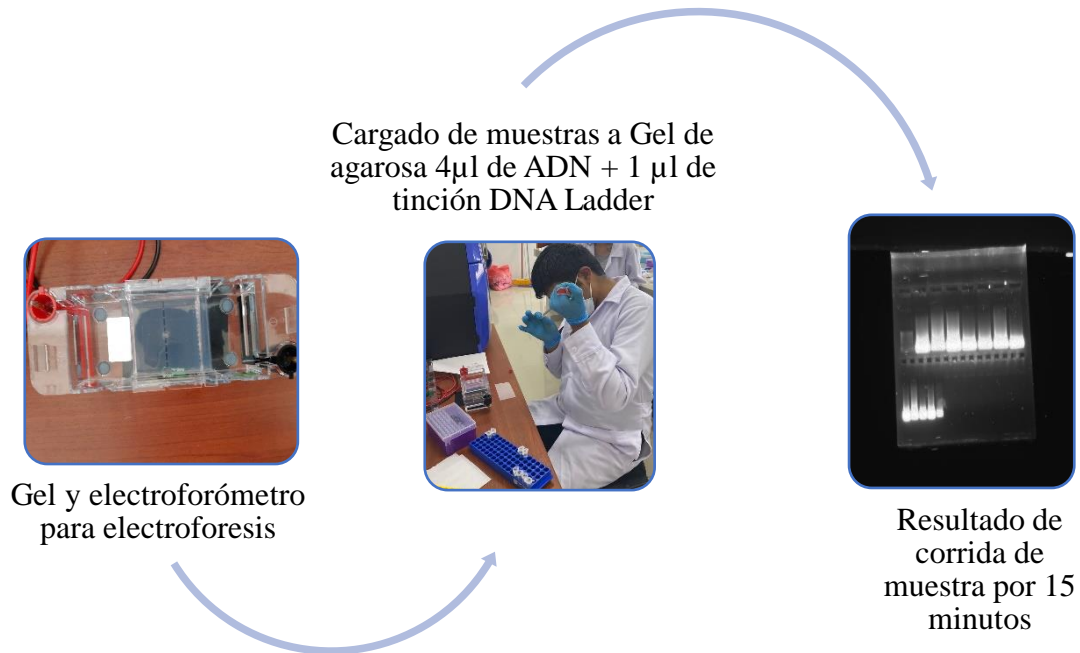
**Figura 8.** Protocolo de cuantificación de ADN por Nanodrop.

### 2.6.3. Electroforesis

Los principios de electroforesis se basan en la separación electroforética de moléculas con carga en un campo eléctrico y en el ámbito de biología molecular se utiliza para determinar el peso molecular, aislamiento de moléculas, la detección estructural e incluso en el control de pureza en muestras de ADN (Drabik et al., 2016). El proceso de electroforesis se realizó mediante el gel de agarosa al 1%, donde se mezclaron 150ml del reactivo Buffer TAE (Tris-acetate-EDTA) al 1X y 1.44gr de agarosa en polvo. Luego fueron calentadas en un matraz con la finalidad de obtener una mezcla homogénea, al obtenerlas se dejó enfriar hasta los 50 °C donde se agregó 4 µl de reactivo SYBR™ Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, EE.UU.) y se homogenizó la mezcla. Posteriormente, se agregó a un molde para gel de electroforesis homogéneamente y se colocaron los pocillos, para dejar enfriar durante 15 minutos. Se colocaron 4 µl de muestra de ADN mezclado con 1 µl de tinción en cada pocillo. Además, se agregó 3 µl de gene ruler 1 kb mezclado con 1 µl de tinción para un pocillo que sirvió de tamaño control. Una vez realizado esto, se corrió el gel de agarosa cargado con las



muestras durante 15 minutos a un voltaje de 100 V en un equipo de electroforesis. Terminado el tiempo, se colocó el gel en un transiluminador modelo UVCI-1100 (Mayor Science, EE.UU) y se visualizaron los resultados mediante el software SmartView Pro (Figura 9).



**Figura 9.** Protocolo de electroforesis en ADN de trucha.

### **2.7. Secuenciamiento del genoma mitocondrial completo.**

Obtenido el ADN y luego de analizar su calidad, se seleccionaron muestras de ADN óptimo y se enviaron 45 µl del ADN genómico de los individuos seleccionados para su secuenciamiento comercial por DNA-Link (DNA-link Inc, Corea del Sur). Para ello, el ADN genómico se fragmentó y se ligó a adaptadores únicos utilizando el kit de preparación de biblioteca de ADN Swift 2S Turbo (Swift Bioscience, Ann Harbor, MI, EE. UU.). Luego, las bibliotecas se secuenciaron en la plataforma Illumina Nova Seq 6000 (Illumina, San Diego, CA) de acuerdo con la operación estándar. Se generaron lecturas de 150 nucleótidos (nt) de extremos emparejados.



**Figura 10.** Preparado de muestras para envío de secuenciamiento.

## 2.8. Análisis de datos

### 2.8.1. Ensamblaje y anotación de genes

Para el ensamblaje de los genomas, las lecturas de baja calidad fueron eliminados mediante el software Trimmomatic (Bolger et al., 2014) y el software FastQC (Andrews, 2010), para posteriormente utilizar el ensamblador Flye (Dierckxsens et al. 2017; Kolmogorov et al., 2019). Los genomas articulados fueron comparados en el software Geneious prime 2022.1 (<https://www.geneious.com>) y corregidos mediante el software Pilon (Walker et al., 2014).

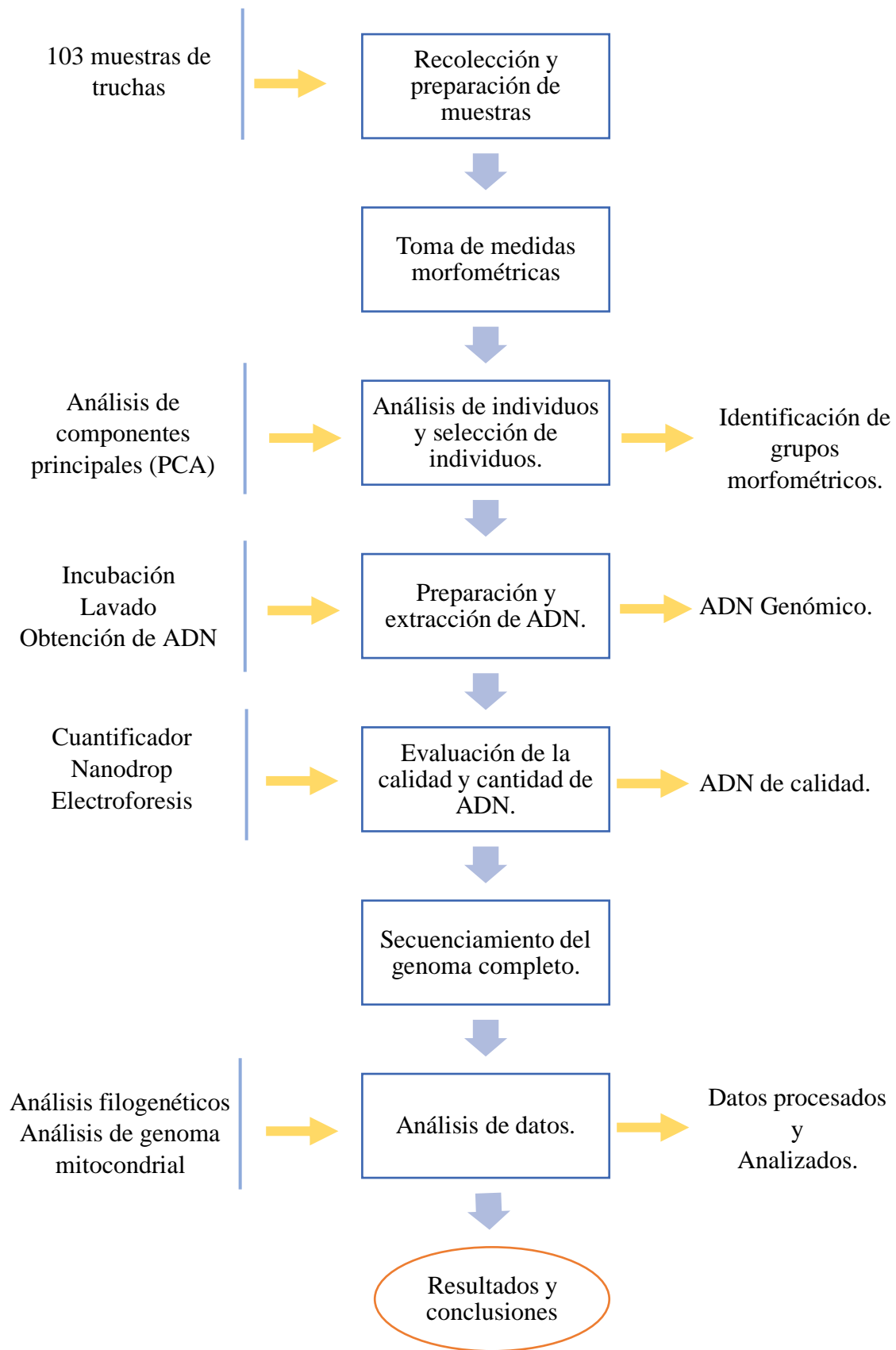
La anotación de los genes primarios se realizaron a través el servidor GeSeq (Tillich et al., 2017). Los genes codificadores de proteínas (CDS) se verificaron mediante los blasting de CDS publicados en NCBI y comparados con los CDS del genoma mitocondrial (LC050735.1) de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) publicados. Los ARNt se verificaron en el portal online ARAGORN (Laslett & Canback, 2004). Los rRNA en el portal web de RNAmmer 1.2 (Lagesen et al., 2007).

### **2.8.2. Análisis filogenómico**

Para la reconstrucción de la filogenómica se utilizó el genoma mitocondrial completo del género *Oncorhynchus*, así como los genomas mitocondriales de grupos externos obtenidos de NCBI (Sayers et al., 2022), posteriormente cada secuencia se alineó mediante el software MAFFT v7.490 (Kato & Standley, 2013), donde se construyó el árbol filogenético de Maximum Likelihood e Inferencia Bayesiana mediante el software RaxmlGUI 2.0 (Edler et al., 2020) con 1000 repeticiones de arranque ultrarrápidas y el modelo de prueba (-m TEST), así como el software MrBayes v.3.2.7 (Ronquist et al., 2012) con 10,000,000 repeticiones ultrarrápidas. Para evaluar la tipología evolutiva de cada gen se realizó el aislamiento de cada gen mediante el software estadístico Rstudio (RStudio Team, 2022), utilizando el paquete Ape 5.0 (Paradis & Schliep, 2019). Con los archivos generados se crearon bootstrap y ufboot file en IQ-TREE v.2.2.0 (Minh et al., 2020) con 1500 repeticiones ultrarrápidas y se generó tipologías de cada gen con 1000 repeticiones con uso del software ASTRAL-III (Zhang et al., 2018).

### **2.8.3. Análisis del genoma mitocondrial de trucha arcoíris**

Con la finalidad de esquematizar los datos se crearon mapas del genoma mitocondrial con el uso del portal web OGDRAW v1.3.1 (Greiner et al., 2019), y se visualizaron los archivos backbone y del árbol filogenético por medio del software Genoplots v 0.8.11 (Guy et al., 2010). Asimismo, para analizar las repeticiones tándem se usó el servidor web REPuter (Kurtz et al., 2001) y para visualizarlos de manera esquemática se utilizó el software CIRCOS v0.69-9 (Krzywinski et al., 2009) y el software DNAPlotter v.18.0 (Carver et al., 2009).



**Figura 11.** Gráfica resumen de los procesos metodológicos.

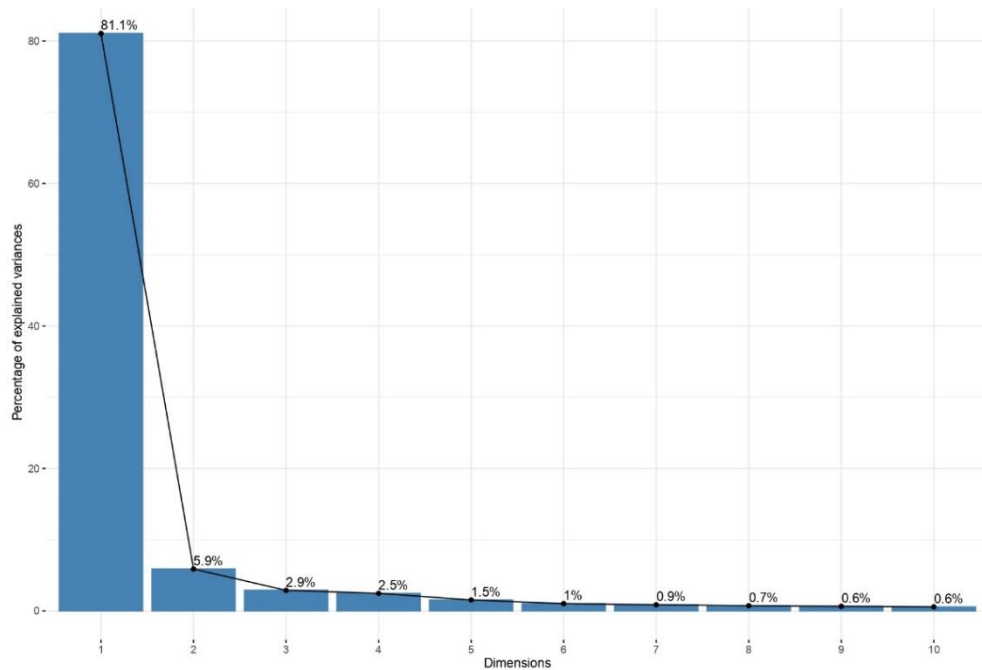
### III. RESULTADOS

#### 3.1. Análisis morfométrico por PCA

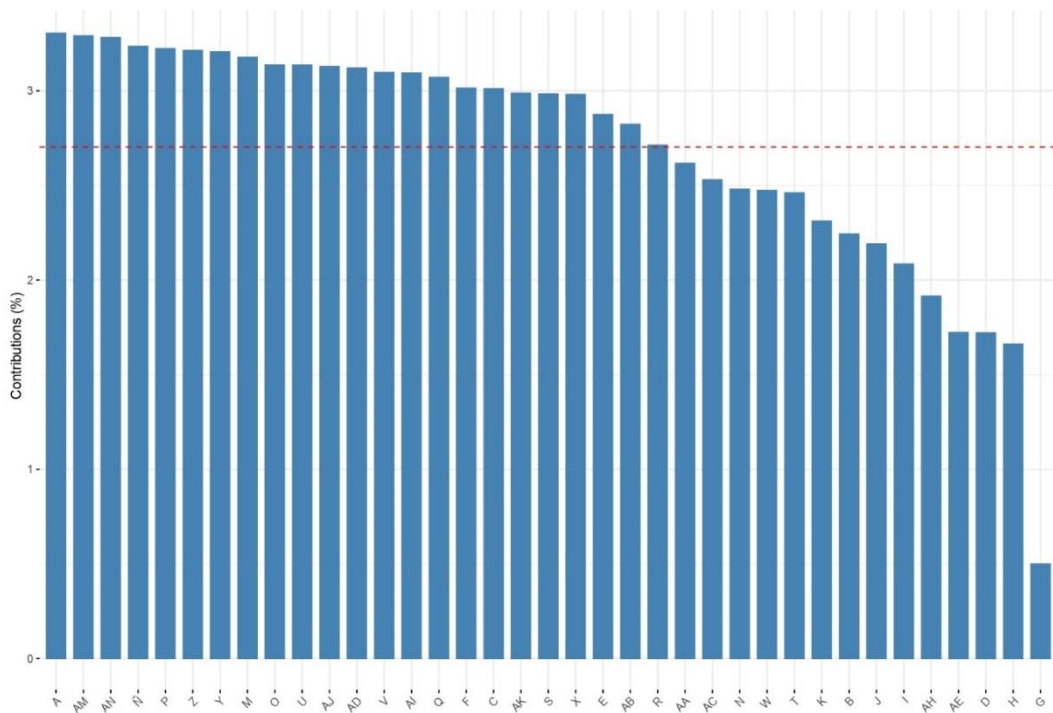
Se utilizaron 39 variables morfométricas en el proceso de análisis de componentes principales donde la participación de la varianza tiene al componente uno (81.1%) y al componente 2 (5.9%) como componentes principales que representan el 87% de varianza en los datos analizados (Figura 12).

Las 23 variables más contribuyentes en el análisis PCA fueron largo estándar (A), longitud de horquilla (AM), longitud total (AN), distancia origen aleta dorsal al origen aleta anal (Ñ), distancia origen aleta dorsal a la aleta pectoral (P), distancia posterior aleta adiposa al origen aleta anal (Z), distancia posterior aleta adiposa a la posterior aleta anal (Y), distancia aleta pectoral a la aleta pélvica (M), distancia origen aleta dorsal a la aleta pélvica (O), distancia posterior aleta dorsal al origen aleta anal (U), región trocal (AJ), largo de cabeza (AD), distancia posterior aleta dorsal a la aleta pélvica (V), región cefálica (AI), distancia aleta pélvica al origen aleta anal (Q), distancia epifiseal a la articular (F), distancia hocico a la aleta pectoral (C), región caudal (AK), distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta anal (S), distancia posterior aleta adiposa al origen aleta caudal (X), distancia epifiseal a la aleta pectoral (E), largo maxilar (AB) y distancia posterior aleta dorsal a la posterior aleta adiposa (R). De esta manera, estas 23 variables integran el 81.1% del primer componente, mientras que las 14 variables restantes integran el 5.9% del segundo componente (Figura 13).

En la contribución de individuos se encontraron con mayor variabilidad a 37 individuos de Huamanpata (8), Tilacancha (8), Alto Imaza (7), San José de Lauman (4), Santo Tomás de Cupuy (8), San Antonio (1) y Jucusbamba (1) que aportan al primer componente (81.1%) (Figuras 12, 13). Asimismo, los 66 individuos restantes aportan al segundo componente (5.9%) (Figura 14). Esto resultó en la formación de ocho grupos morfométricos de las poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas (Figura 15).

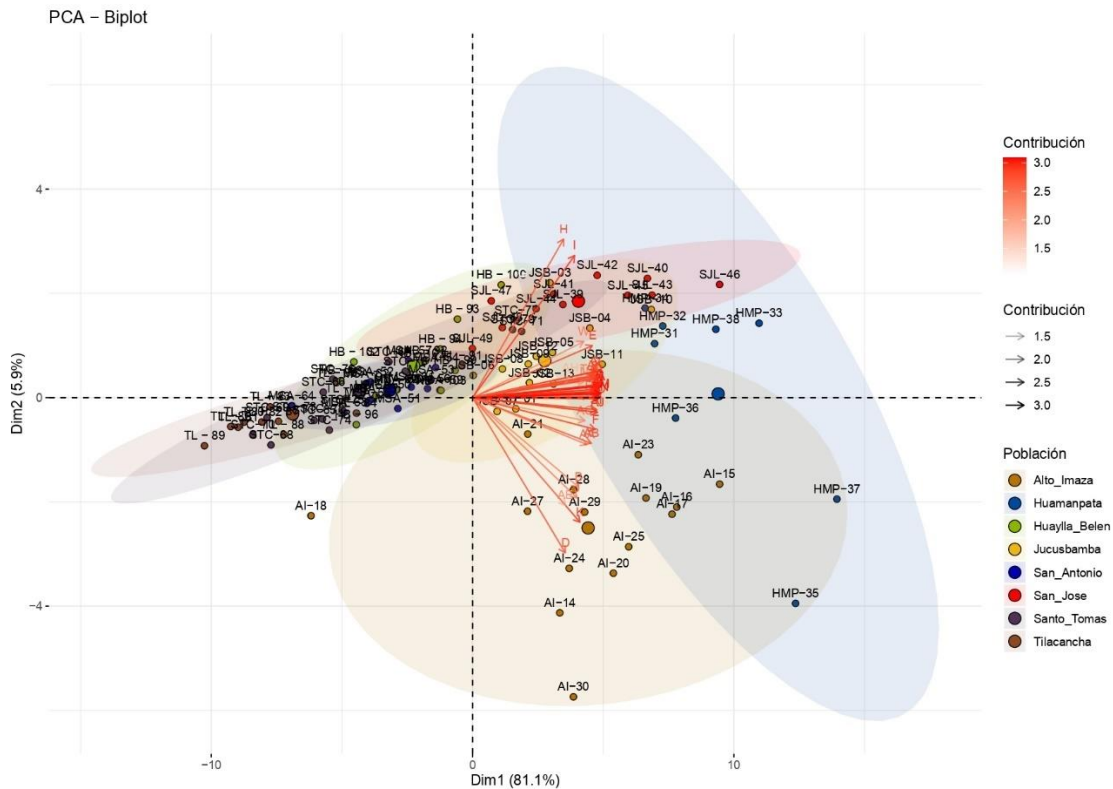


**Figura 12.** Gráfico de sedimentación del impacto en los componentes principales de las variables morfométricas de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas.



**Figura 13.** Gráfica del grado de contribución de variables morfométricas de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas.





**Figura 16.** Gráfica Biplot de relación de contribución de variables e individuos de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas.

### 3.2. Análisis por calidad de ADN

Los valores de cuantificación de ADN por fluorómetro resultaron entre 24.0-108.0 ng/ $\mu$ l para las poblaciones de Jucusbamba, 5.5-179.0 ng/ $\mu$ l para Alto Imaza, 11.0-83.0 ng/ $\mu$ l para Huamanpata, 5.1-38.0 ng/ $\mu$ l para San José de Lauman, 38.0-151.0 ng/ $\mu$ l para San Antonio, 15.0-93.0 ng/ $\mu$ l para Santo Tomás de Cupuy, 16.0-168.0 ng/ $\mu$ l para Tilacancha y 66.0-170.0 ng/ $\mu$ l para Huaylla Belén. Las relaciones de absorbancia obtenidas por nanodrop fueron entre 0.85-2.36 (260/280) y 0.13-2.29 (260/230) para Jucusbamba; 1.72-1.85 (260/280) y 1.25-91.8 (260/230) para Alto Imaza; 0.9-1.74 (260/280) y 0.11-2.12 (260/230) Huamanpata; 0.82-1.77 (260/280) y 0.09-13.9 (260/230) para San José de Lauman; 1.36-1.79 (260/280) y 0.24-1.52 (260/230) para San Antonio; 1.72-1.85 (260/280) y 0.56-1.73 (260/230) para Santo Tomás; 1.65-1.82 (260/280) y 0.33-1.12 (260/230) para Tilacancha y 1.73-1.80 (260/280) y 0.93-1.22 (260/230) para Huaylla Belén (Tabla 3). Por otro



lado, los resultados de electroforesis revelaron el nivel de integridad de ADN con la formación de bandas (Figura 17).

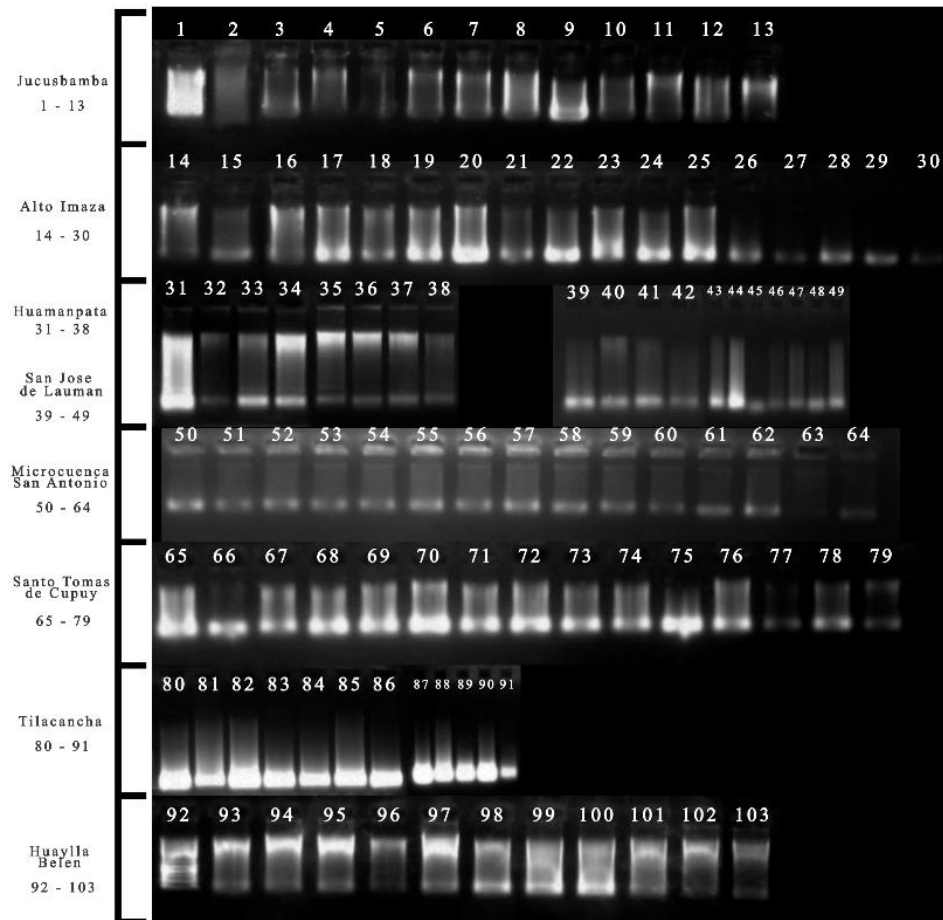
**Tabla 3.** Resultados de cuantificación de ADN de las poblaciones de trucha arcoíris.

ID	Fluorómetro				Nanodrop							
	Conc. (ng/ul)				Conc. (ng/ ul)				260/280		260/230	
	$\bar{x}$	$\sigma^2$	Min	Max	$\bar{x}$	$\sigma^2$	Min	Max	Min	Max	Min	Max
<b>JSB</b>	56.3	31.7	24.0	108.0	263.6	316.5	3.5	1001.1	0.9	2.4	0.1	2.3
<b>AI</b>	49.6	47.7	5.5	179.0	112.2	62.9	35.2	260.0	1.7	1.9	1.3	91.8
<b>HMP</b>	40.4	19.7	11.0	83.0	61.5	32.5	23.5	151.2	0.9	1.7	0.1	2.1
<b>SJL</b>	14.1	8.7	5.1	38.0	52.2	46.7	19.9	246.8	0.8	1.8	0.1	13.9
<b>MSA</b>	70.5	33.2	38.0	151.0	82.8	23.0	46.7	141.3	1.4	1.8	0.2	1.5
<b>ST</b>	53.3	24.4	15.0	93.0	11.3	4.5	5.0	22.2	1.7	1.9	0.6	1.7
<b>TL</b>	86.6	45.6	16.0	168.0	110.4	38.9	37.2	164.0	1.7	1.8	0.3	1.1
<b>HB</b>	106.4	106.4	66.0	170.0	90.8	32.4	56.2	167.9	1.7	1.8	0.9	1.2

Nota.  $\bar{x}$ : Promedio,  $\sigma^2$ : Varianza, Min: Mínimo, Max: Máximo y Conc: Concentración.

**Tabla 4.** Resultados de cuantificación de un representante de los grupos morfométricos de la región Amazonas por Fluorómetro y Nanodrop.

Individuo	Fluorómetro		Nanodrop	
	Conc. (ng/ul)	Conc. (ng/ ul)	260/280	260/230
<b>JSB-013</b>	45	109.3	1.82	2.04
<b>AI-025</b>	179.0	260	1.85	2.89
<b>HMP-031</b>	69.0	151.2	1.73	1.07
<b>HMP-037</b>	61.0	85.3	1.68	0.76
<b>SJL-042</b>	8.6	31.9	1.71	1.60
<b>ST-075</b>	86.0	22.2	1.84	1.40



**Figura 17.** Resultados de electroforesis de ADN de las poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas.

En base a los ocho grupos morfométricos obtenidos del PCA (Figura 12,13,15,16), se seleccionó un individuo de trucha arcoíris de cada grupo morfométrico y que presentó un nivel mínimo de degradación de ADN (Figura 17) y altos valores de cuantificación (Tabla 4). Cada uno de estos individuos (Jucusbamba 013, Alto Imaza 025, Huamanpata 031, Huamanpata 037, San José de Lauman 042 y Santo Tomás de Cupuy 075) fueron secuenciados comercialmente por DNA-Link (Seúl, Corea del Sur) usando la plataforma Illumina WGS y TruSeq DNA Library. Como parámetros adicionales de secuenciación se solicitó 50 millones de reads pareados y 7.5 Gb por muestra.

### 3.3. Ensamblaje y anotación de genes mitocondriales de trucha arcoíris

La data cruda posterior al secuenciamiento Illumina fue procesada y los genomas mitocondriales fueron ensamblados utilizando configuraciones predeterminadas de novo en MEGAHIT (Li et al., 2016) y Geneious Prime para cerrar los gaps (Biomatters, Ltd, Auckland, Nueva Zelanda). Los genomas mitocondriales de trucha arcoíris de las poblaciones de Alto Imaza (Figura 18), Jucusbamba (Figura 21), San José de Lauman (Figura 22), y Santo Tomás de Cupuy (Figura 23) tuvieron 16660 nucleótidos; mientras que la población de Huamanpata (Figura 19, 20) tuvo 16655 nucleótidos.

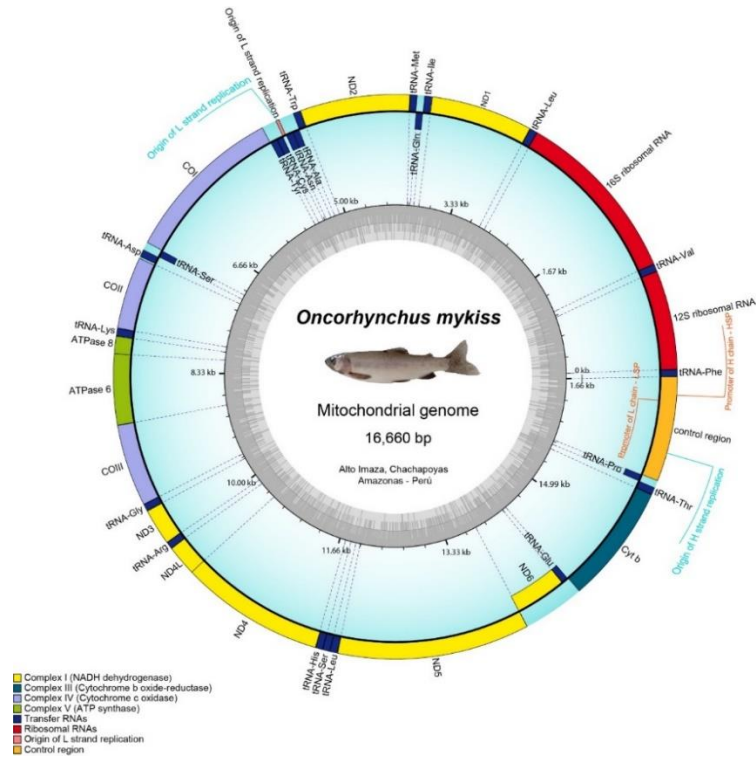
Estos genomas están compuestos por 37 genes codificantes y dos regiones no codificantes (*Región control* y *ORL*). Dentro de los genes codificantes se encontraron 2 ARN ribosomales (*12S*, *16S*), 22 ARN de transferencia, 1 complejo citocromo c-oxidasa (*COI*, *COII*, *COIII*), 1 complejo citocromo b-oxido reductasa (*Cyt b*), 1 complejo NADH deshidrogenasa (*ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4L*, *ND4*, *ND5*, *ND6*) y 1 complejo ATP sintetasa (*ATPase 6*, *ATPase 8*).

La ubicación de los 37 genes para las poblaciones de Alto Imaza, Jucusbamba, San José Lauman y Santo Tomás de Cupuy fueron *tRNA-Phe* (1-68), *12S rRNA* (69-1015), *tRNA-Val* (1016-1087), *16S rRNA* (1088-2767), *tRNA-Leu* (2768-2842), *ND1* (2843-3814), *tRNA-Ile* (3818-3889), *tRNA-Gln* (3957-3887), *tRNA-Met* (3957-4025), *ND2* (4026-5075), *tRNA-Trp* (5077-5148), *tRNA-Ala* (5217-5149), *tRNA-Asn* (5291-5219), *ORL* (5292-5329), *tRNA-Cys* (5396-5330), *tRNA-Tyr* (5467-5397), *COI* (5469-7019), *tRNA-Ser* (7090-7020), *tRNA-Asp* (7095-7168), *COII* (7183-7873), *tRNA-Lys* (7874-7947), *ATPasa 8* (7949-8116), *ATPasa 6* (8107-8790), *COIII* (8790-9575), *tRNA-Gly* (9575-9644), *ND3* (9645-9995), *tRNA-Arg* (9995-10063), *ND4L* (10064-10360), *ND4* (103554-11734), *tRNA-His* (11735-11803), *tRNA-Ser* (11804-11872), *tRNA-Leu* (11874-11946), *ND5* (11947-13785), *ND6* (14303-13782), *tRNA-Glu* (14372-14304), *Cyt B* (14376-15516), *tRNA-Thr* (15517-15588), *tRNA-Pro* (15657-15588) y *Región Control* (15658-16600). Estos genes tienen diferencias de ubicación para la población de Huamanpata las cuales fueron *Origen de replicación de la cadena L* (5292-5325),

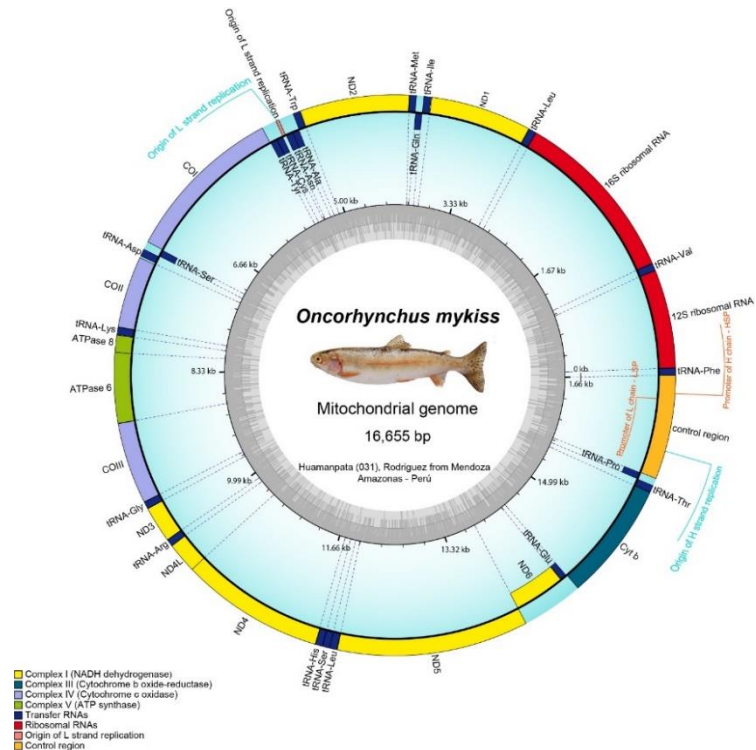
*tRNA-Cys* (5392-5326), *tRNA-Tyr* (5463-5393), *COI* (5465-7015), *tRNA-Ser* (7086-7016), *tRNA-Asp* (7091-7164), *COII* (7179-7869), *tRNA-Lys* (7870-7943), *ATPasa 8* (7945-8112), *ATPasa 6* (8103-8786), *COIII* (8786-9571), *tRNA-Gly* (9571-9640), *ND3* (9641-9991), *tRNA-Arg* (9990-10059), *ND4L* (10060-10356), *ND4* (103550-11730), *tRNA-His* (11731-11799), *tRNA-Ser* (11800-11868), *tRNA-Leu* (11870-11942), *ND5* (11943-13781), *ND6* (14299-13778), *tRNA-Glu* (14368-14300), *Cyt B* (14372-15512), *tRNA-Thr* (15513-15584), *tRNA-Pro* (15653-15584) y *Región Control* (15654-16655) (Figura 24, Tabla 6). Los genomas ensamblados y anotados fueron depositadas en Genbank NCBI bajo las siguientes accesiones OP588110-OP588115 (Tabla 5).

**Tabla 5.** Accesiones de Genbank NCBI asignadas a cada individuo de los grupos morfométricos de la región Amazonas.

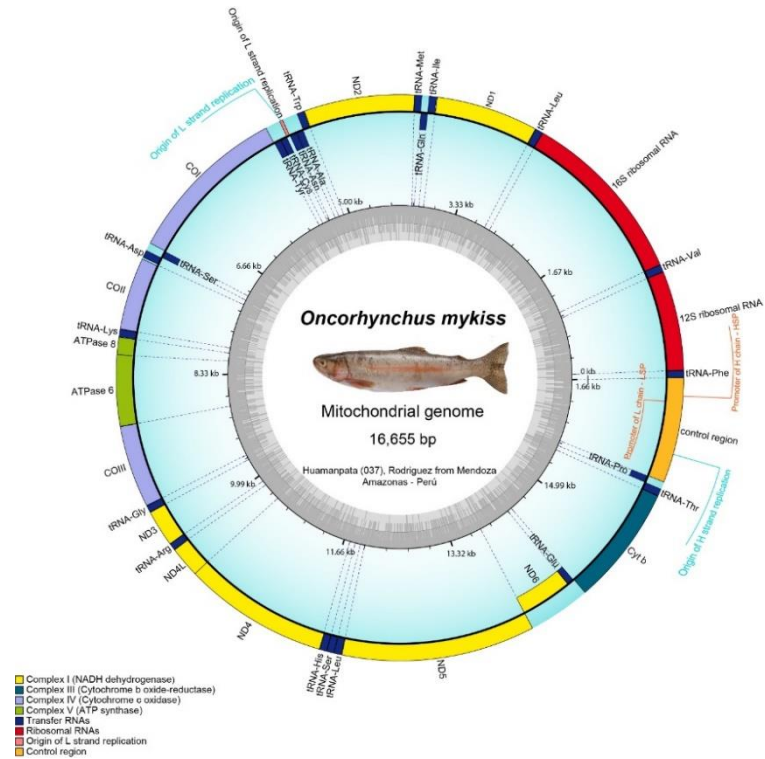
<b>ID</b>	<b>Individuo</b>	<b>Genbank Accesion</b>	<b>Longitud del genoma (bp)</b>
BankIt2629633	AI-025	OP588110	16660
BankIt2629671	HMP-031	OP588111	16655
BankIt2629672	HMP-037	OP588112	16655
BankIt2629674	JSB-013	OP588113	16660
BankIt2629676	SJL-042	OP588114	16660
BankIt2629679	ST-075	OP588115	16660



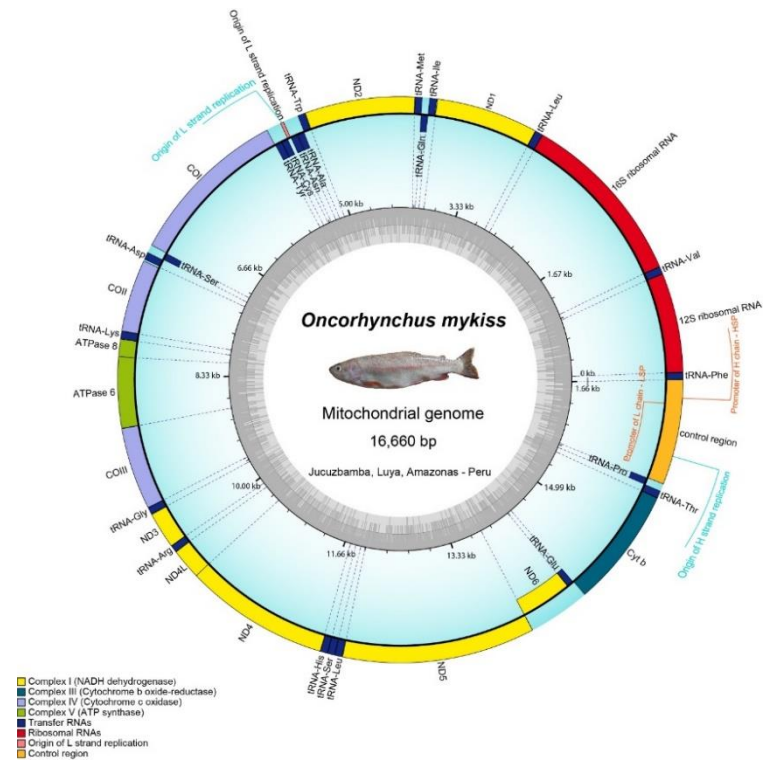
**Figura 18.** Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Alto Imaza (OP588110).

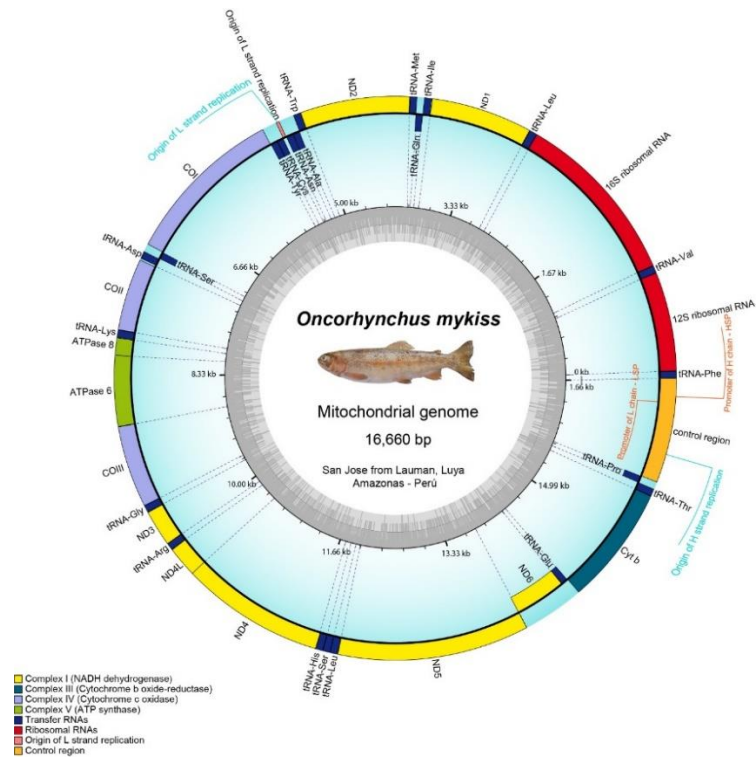


**Figura 19.** Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Huamanpata (OP588111).

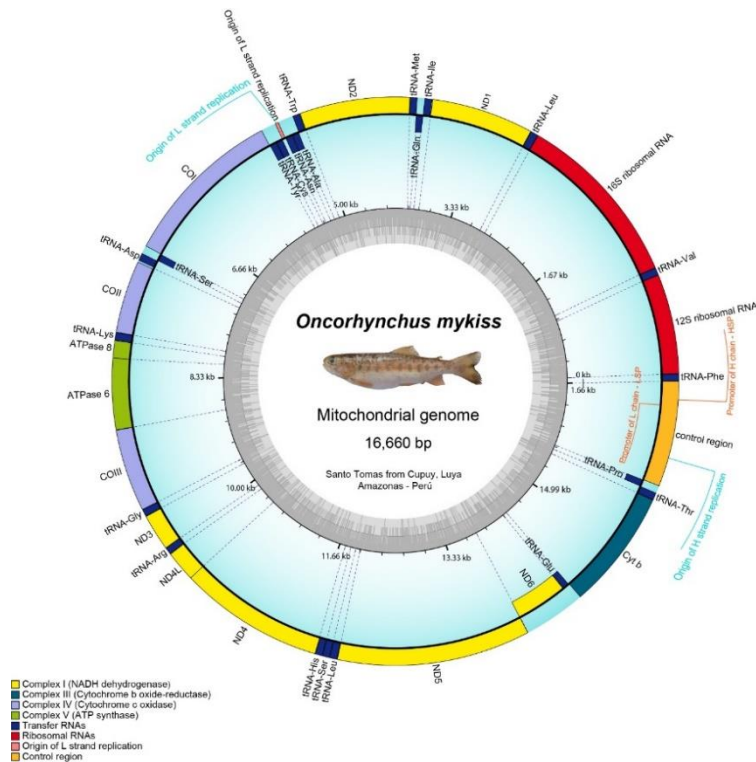


**Figura 20.** Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de Huamanpata (OP588112).

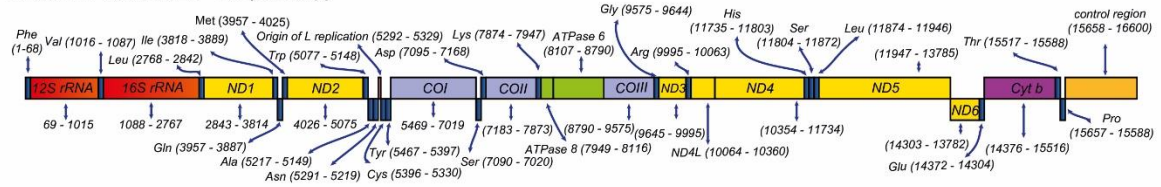




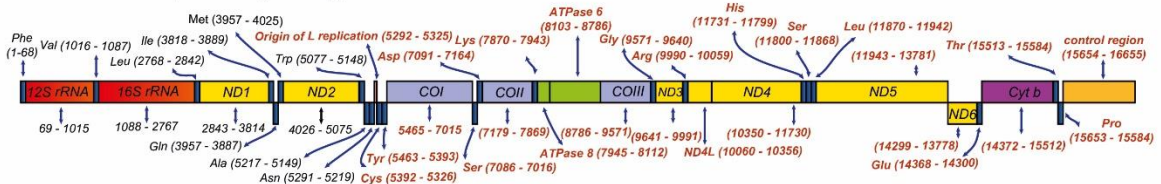
**Figura 22.** Mapa esquemático de las características generales del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la población de San José de Lauman (OP588114).



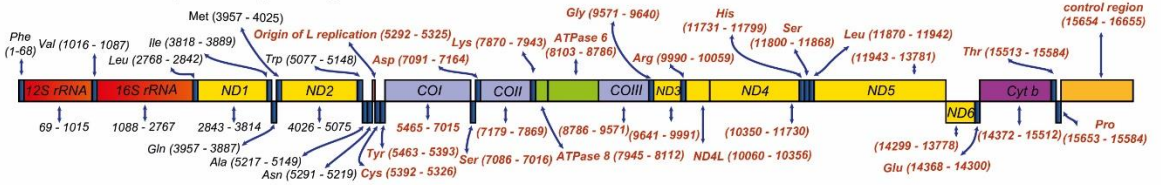
**OP588110 - Alto Imaza - 025 (16660bp)**



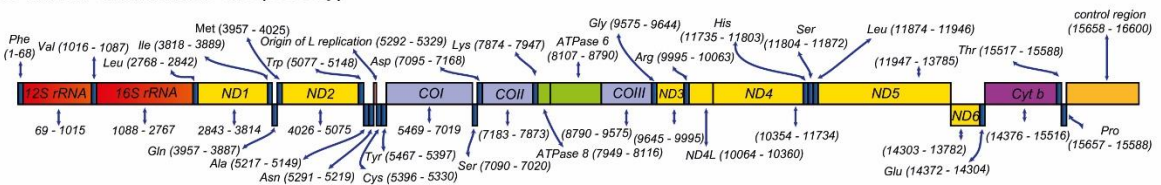
**OP588111 - Huamanpata - 031 (16655bp)**



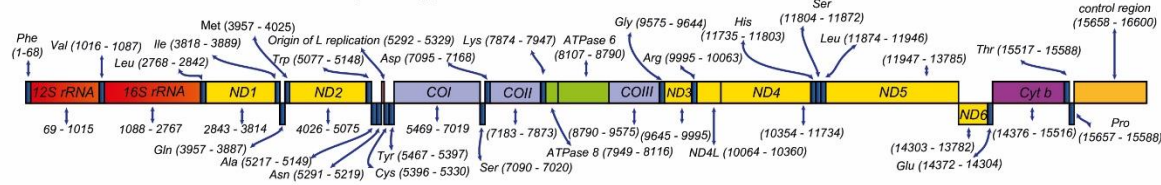
**OP588112 - Huamanpata - 037 (16655bp)**



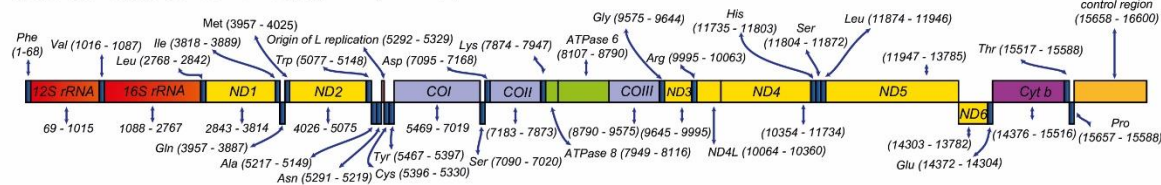
**OP588113 - Jucusbamba - 013 (16660bp)**



**OP588114 - San Jose from Lauman - 042 (16660bp)**



**OP588115 - Santo Tomas from Cupuy - 075 (16660bp)**



**Figura 24.** Representación del alineamiento de los 37 genes del genoma mitocondrial de poblaciones naturalizadas de truchas arcoíris de la región Amazonas. Letras en rojo y negro representan diferentes posiciones de los genes.



**Tabla 6.** Anotación, longitud e índice mutacional en genes del genoma mitocondrial de trucha arcoíris en la región Amazonas.

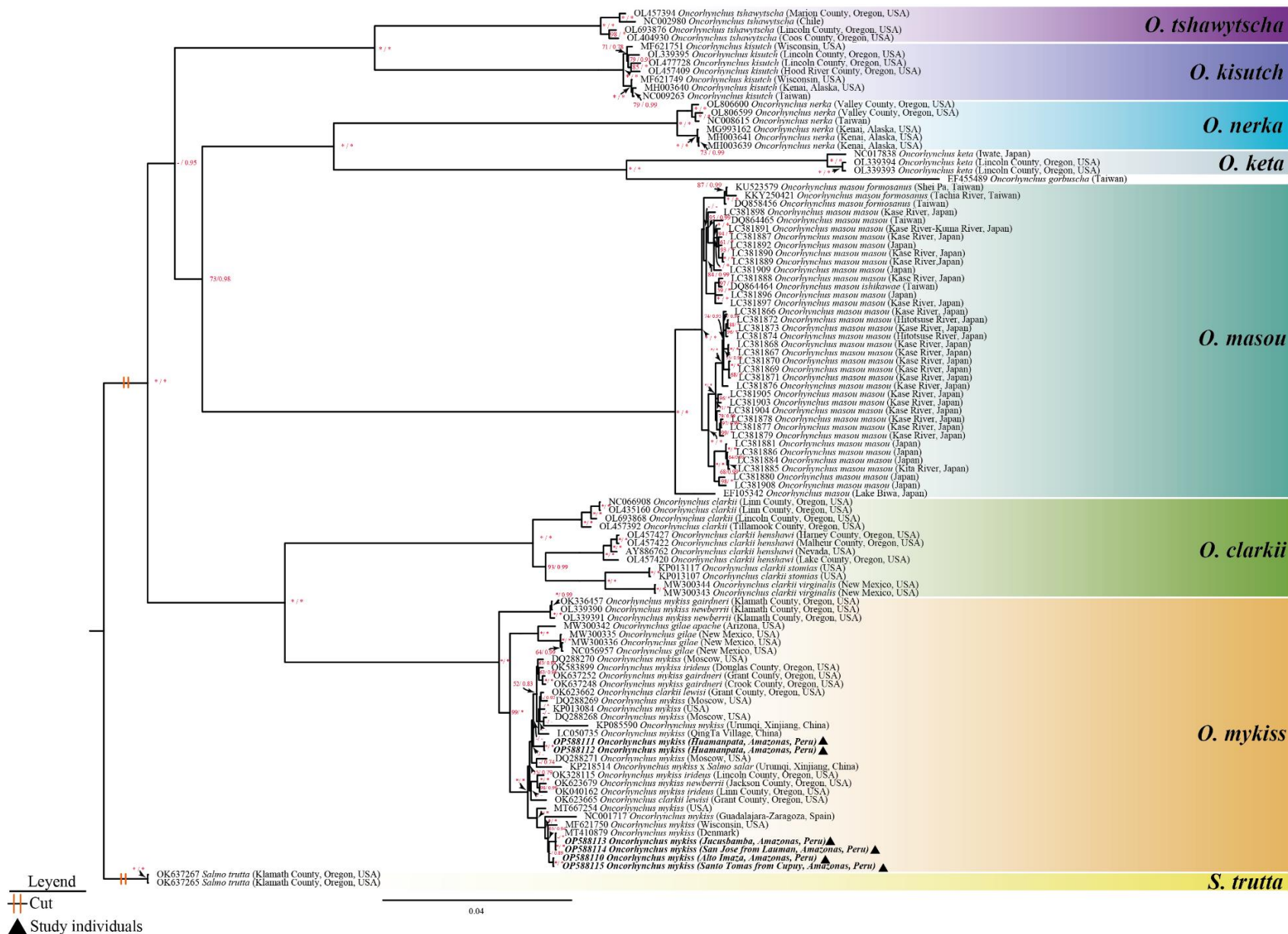
Gen	AI-025, JSB-013, SJL-042, ST-075		HMP-031, HMP-037		Índice de mutación
	Anotación	pb	Anotación	pb	%
<i>tRNA-Phe</i>	1-68	68	1-68	68	2.9
<i>12S ribosomal RNA</i>	69-1015	947	69-1015	947	3.4
<i>tRNA-Val</i>	1016-1087	72	1016-1087	72	2.8
<i>16S ribosomal RNA</i>	1088-2767	1680	1088-2767	1680	2.9
<i>tRNA-Leu</i>	2768-2842	75	2768-2842	75	1.3
<i>ND1</i>	2843-3814	972	2843-3814	972	4.6
<i>tRNA-Ile</i>	3818-3889	72	3818-3889	72	1.4
<i>tRNA-Gln</i>	3957-3887	71	3957-3887	71	1.4
<i>tRNA-Met</i>	3957-4025	69	3957-4025	69	1.4
<i>ND2</i>	4026-5075	1050	4026-5075	1050	5.2
<i>tRNA-Trp</i>	5077-5148	72	5077-5148	72	2.8
<i>tRNA-Ala</i>	5217-5149	69	5217-5149	69	2.9
<i>tRNA-Asn</i>	5291-5219	73	5291-5219	73	0
<b><i>ORL</i></b>	<b>5292-5329</b>	<b>38</b>	<b>5292-5325</b>	<b>34</b>	<b>21.1</b>
<i>TRNA-Cys</i>	5396-5330	67	5392-5326	67	3.0
<i>tRNA-Tyr</i>	5467-5397	71	5463-5393	71	2.8
<i>COI</i>	5469-7019	1551	5465-7015	1551	3.2
<i>tRNA-Ser</i>	7090-7020	71	7086-7016	71	1.4

<i>tRNA-Asp</i>	7095-7168	74	7091-7164	74	2.7
<i>COII</i>	7183-7873	691	7179-7869	691	2.3
<i>tRNA-Lys</i>	7874-7947	74	7870-7943	74	1.4
<i>ATPase 8</i>	7949-8116	168	7945-8112	168	4.2
<i>ATPase 6</i>	8107-8790	683	8103-8786	683	6.4
<i>COIII</i>	8790-9575	785	8786-9571	785	3.2
<i>tRNA-Gly</i>	9575-9644	70	9571-9640	70	0
<i>ND3</i>	9645-9995	349	9641-9991	349	6.0
<i>tRNA-Arg</i>	9995-10063	70	9990-10059	70	5.7
<i>ND4L</i>	10064-10360	297	10060-10356	297	2.0
<i>ND4</i>	103554-11734	1381	103550-11730	1381	4.1
<i>tRNA-His</i>	11735-11803	69	11731-11799	69	1.4
<i>tRNA-Ser</i>	11804-11872	69	11800-11868	69	1.4
<i>tRNA-Leu</i>	11874-11946	73	11870-11942	73	1.4
<i>ND5</i>	11947-13785	1839	11943-13781	1839	4.3
<i>ND6</i>	14303-13782	522	14299-13778	522	4.6
<i>tRNA-Glu</i>	14372-14304	69	14368-14300	69	1.4
<i>Cyt b</i>	14376-15516	1141	14372-15512	1141	3.9
<i>tRNA-Thr</i>	15517-15588	72	15513-15584	72	0
<i>tRNA-Pro</i>	15657-15588	70	15653-15584	70	2.9
<b>Control Región</b>	<b>15658-16600</b>	<b>1003</b>	<b>15654-16655</b>	<b>1002</b>	<b>4.1</b>

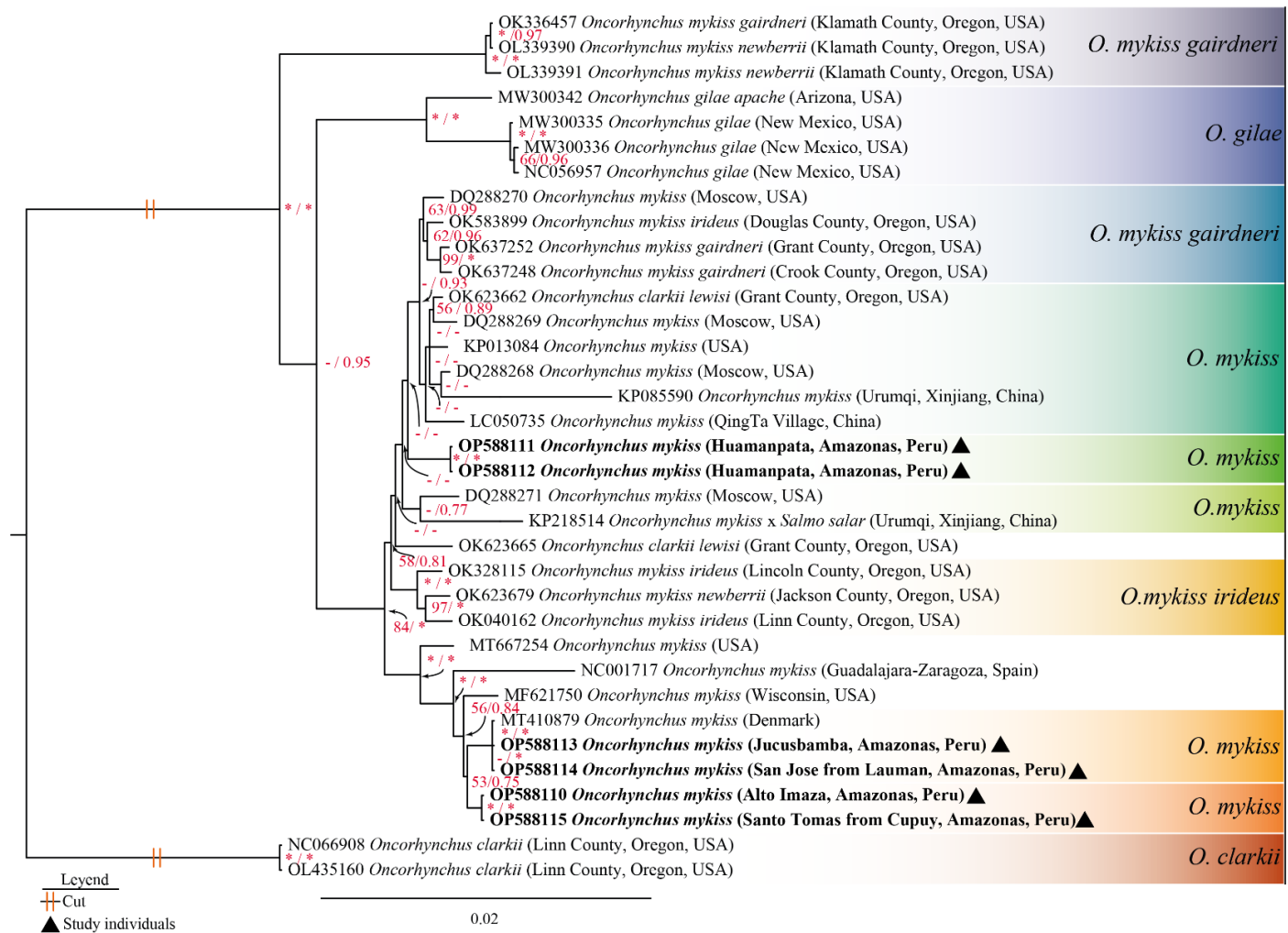
### 3.4. Análisis filogenómico

Adicionalmente, los genomas mitocondriales ensamblados de trucha arcoíris de poblaciones naturalizadas de la Región Amazonas, se obtuvieron otras 100 secuencias de Genbank con porcentajes de similitud superiores a 90.41% como grupo interno y *Salmo trutta* como grupo externo. Se obtuvo un alineamiento total de 106 secuencias conformada de las siguientes especies, *O. clarkii* (12 individuos), *O. gorbuscha* (1 individuo), *O. keta* (3 individuos), *O. kisutch* (7 individuos), *O. masou* (38 individuos), *O. mykiss* (33 individuos), *O. nerka* (6 individuos), *O. tshawytscha* (4 individuos) y *Salmo trutta* (2 individuos). Este análisis filogenómico revela que *O. mykiss* es una especie hermana de *O. clarkii* con alto soporte (ML/IB = 100/1.0) (Figura 25).

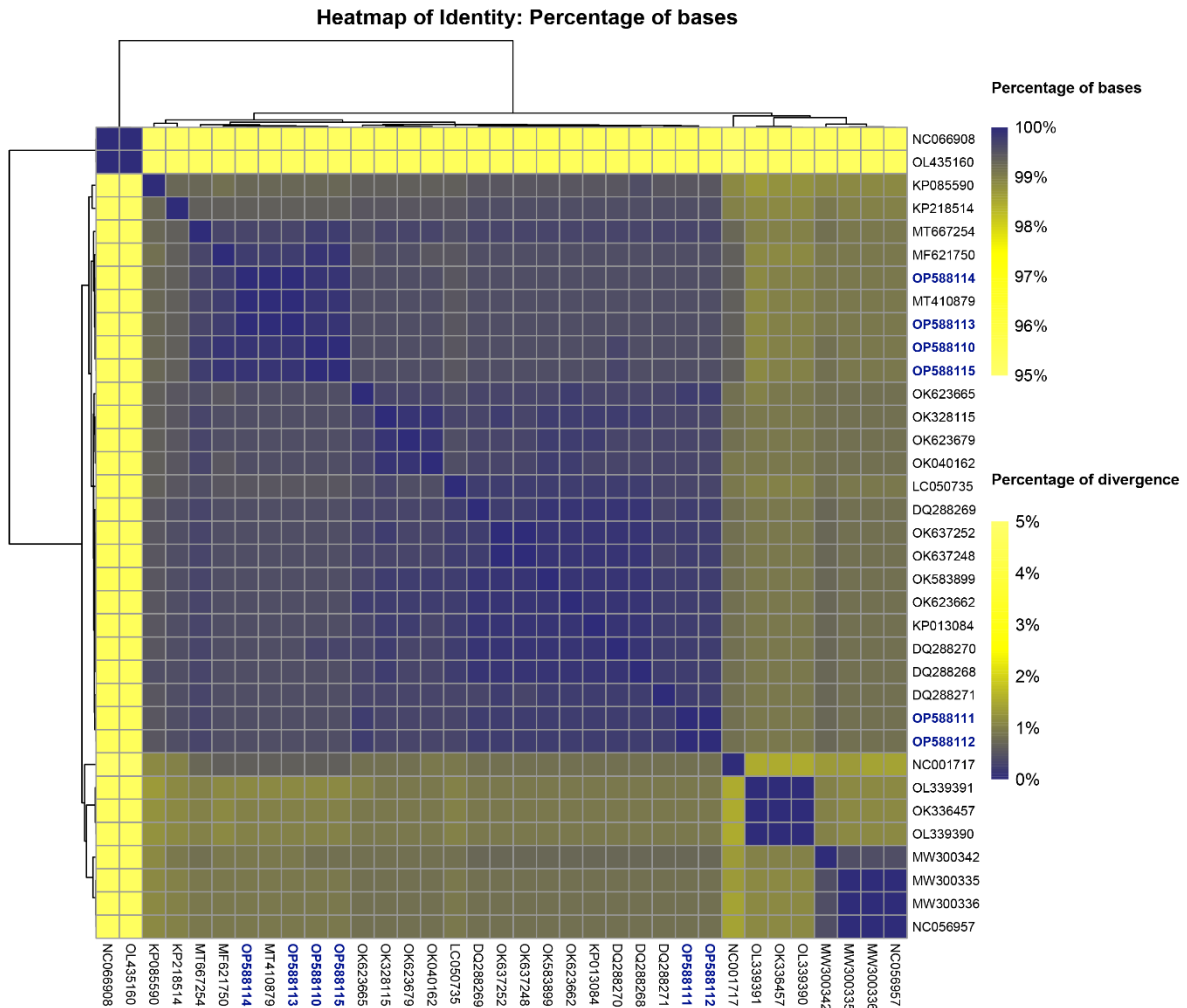
Para confirmar la relación evolutiva de *O. mykiss* y *O. clarkii* y determinar la ubicación de los genomas de trucha arcoíris de la región Amazonas se descargaron 27 secuencias adicionales de *O. mykiss* con un porcentaje de similitud superior a 95,38% y se utilizó como grupo externo a *O. clarkii*. Las truchas arcoíris de la región Amazonas se ubicaron en 3 grupos genéticos diferentes (Grupo Huamanpata, Grupo Jucusbamba - San José de Lauman, Grupo Alto Imaza - Santo Tomás de Cupuy). El grupo genético de Huamanpata (HMP-031, HMP-037) es único y asociado evolutivamente a poblaciones de Oregon, USA. El segundo grupo genético Jucusbamba - San José de Lauman (JSB-013, SJL-042) es conspecífico a poblaciones de Dinamarca (MT410879). El tercer grupo genético Alto Imaza - Santo Tomás de Cupuy (AI-025, ST-072) es un linaje único y hermano al grupo genético Jucusbamba - San José de Lauman (Figura 26). La divergencia genética basado en el genoma mitocondrial entre *O. mykiss* y *O. clarkii* osciló 4.5-5.0%. Por otro lado, las divergencias genéticas entre las poblaciones de Jucusbamba, San José de Lauman, Alto Imaza y Santo Tomás de Cupuy fueron 0.1%, mientras que para las poblaciones de Huamanpata fueron 0.4% (Figura 27).



**Figura 25.** Filograma de máxima verosimilitud del género *Oncorhynchus*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de RaxML basados en 1000 repeticiones y de Inferencia Bayesiana de Mr. Bayes basados en 10,000,000 de repeticiones.



**Figura 26.** Filograma de máxima verosimilitud de la especie *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de RaxML basados en 1000 repeticiones y de Inferencia Bayesiana de Mr. Bayes basados en 10,000,000 de repeticiones.



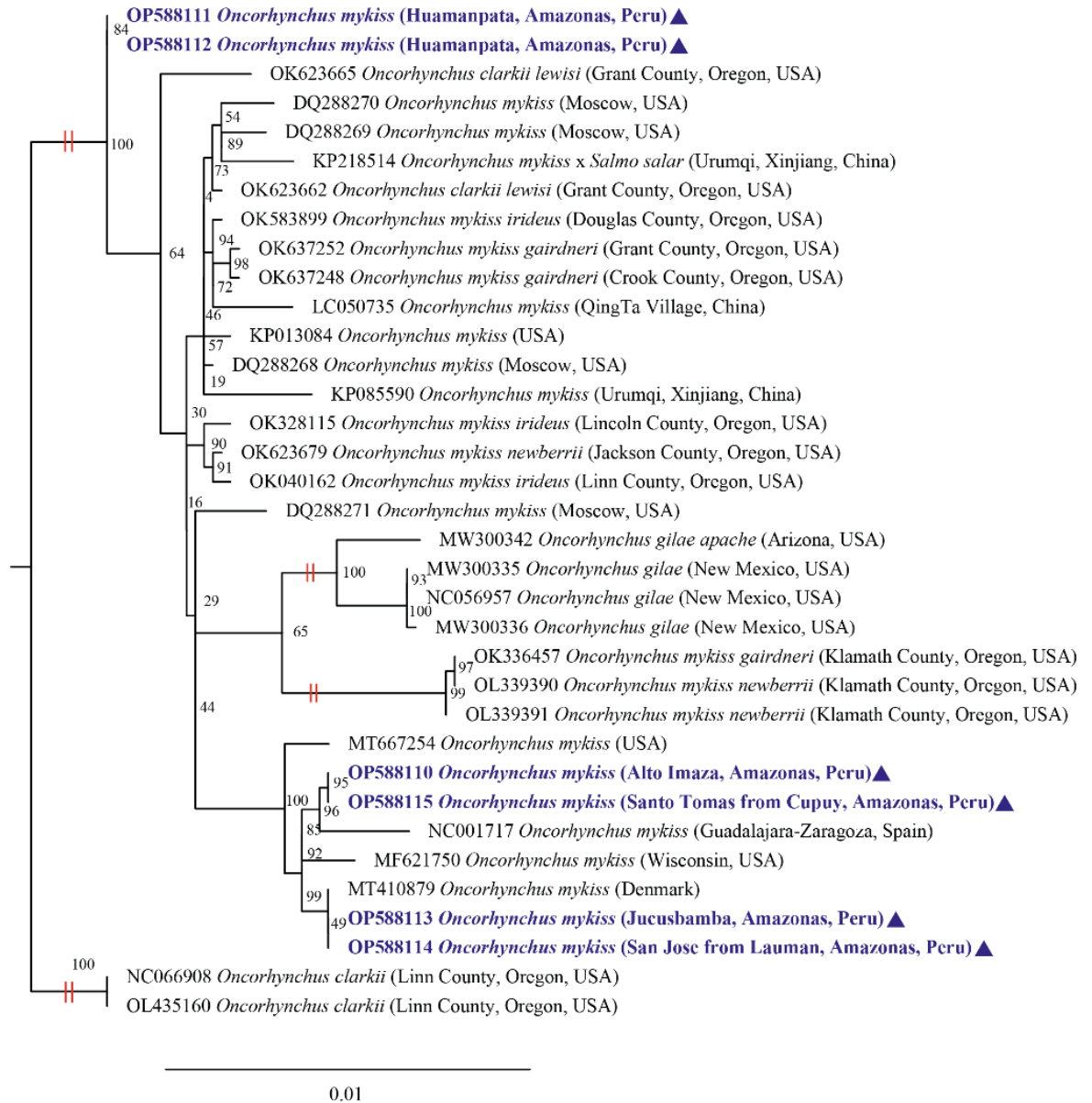
**Figura 27.** Heatmap de los porcentajes de identidad entre individuos de *O. mykiss* y *O. clarkii*.

### 3.5. Análisis de relación de genes

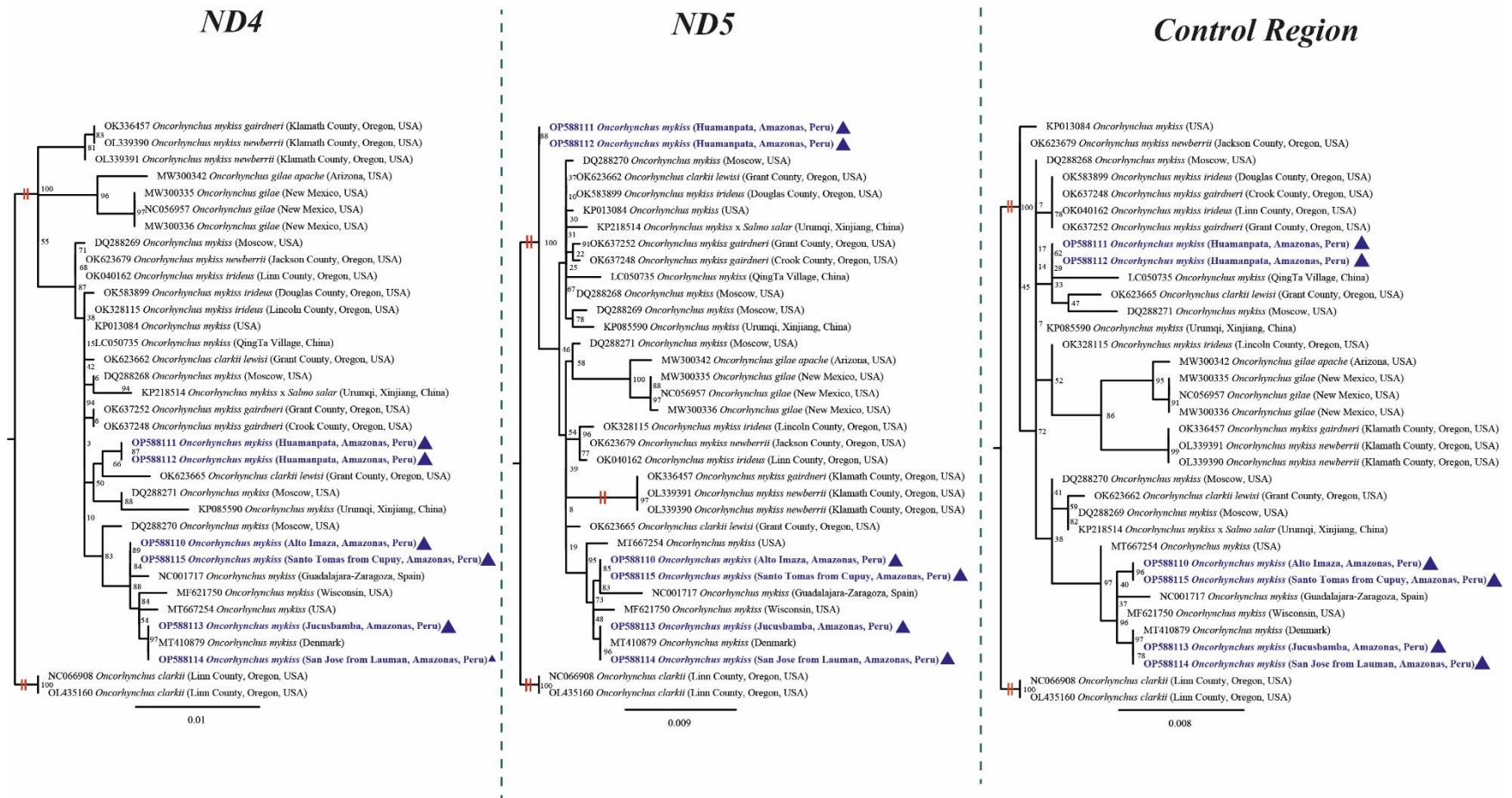
La tipología evolutiva de cada uno de los genes se analizó individualmente. Las tipologías más conservadoras fueron la de los genes *tRNA Asn* (73 nucleótidos), *tRNA Glu* (69 nucleótidos), *tRNA Leu* (75 nucleótidos) y *tRNA Thr* (72 nucleótidos) debido a la ausencia de mutaciones en sus secuencias y su longitud corta. Las tipologías con alta politomía fueron todos los genes de tRNA (Figura A6, A7, A8, A9, A10, A11), rRNA (Figura A4), *ORL* (Figura A12), *Cytb* (Figura A12), complejo citocromo oxidasa (Figura A2) y NADH (Figura A3, A4, A5); mientras que, los genes *ND4* (4.1%), *ND5* (4.3%) y *región control* (4.1%)

revelaron la mayor resolución por sus altos índices de mutación (Figura 29). Adicionalmente, el análisis filogenético de la concatenación de estos tres últimos genes reveló una tipología muy similar a la del análisis filogenómico (Figura 28).

### *ND4-ND5-Control region*



**Figura 28.** Filograma de máxima verosimilitud basados en la concatenación de los genes *ND4*, *ND5* y *Región Control* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.



**Figura 29.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *ND4*, *ND5* y *Región Control* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.



### 3.6. Identificación de SNPs en el genoma mitocondrial de trucha arcoíris

Se detectaron un total de 630 SNPs a lo largo de la alineación de 33 genomas de *Oncorhynchus mykiss*. También se identificaron 1793 mutaciones conformado por 444 mutaciones de adenina, 332 de tiamina, 344 de citocina, 604 de guanina y 69 deleciones. Detalladamente, los SNPs fueron localizados en *tRNA-Phe* (2 SNPs), *rRNA 12S* (32 SNPs), *tRNA-Val* (2 SNPs), *rRNA 16S* (48 SNPs), *tRNA-Leu* (1 SNP), *ND1* (45 SNPs), *tRNA-Ile* (1 SNPs), *tRNA-Gln* (1 SNPs), *tRNA-Met* (1 SNPs), *ND2* (55 SNPs), *tRNA-Trp* (2 SNPs), *tRNA-Ala* (2 SNPs), *Origen de replicación de la cadena L* (8 SNPs), *tRNA-Cys* (2 SNPs), *tRNA-Tyr* (2 SNPs), *COI* (49 SNPs), *tRNA-Ser* (1 SNPs), *tRNA-Asp* (2 SNPs), *COII* (16 SNPs), *tRNA-Lys* (1 SNPs), *ATPasa 8* (7 SNPs), *ATPasa 6* (44 SNPs), *COIII* (25 SNPs), *ND3* (21 SNPs), *tRNA-Arg* (4 SNPs), *ND4L* (6 SNPs), *ND4* (56 SNPs), *tRNA-His* (1 SNPs), *tRNA-Ser* (1 SNPs), *tRNA-Leu* (1 SNPs), *ND5* (79 SNPs), *ND6* (24 SNPs), *tRNA-Glu* (1 SNPs), *Cyt b* (44 SNPs), *tRNA-Pro* (2 SNPs) y *Región Control* (41 SNPs) (Figura 30). Por el contrario, no se encontró ningún SNP en los siguientes genes *tRNA-Asn*, *tRNA-Gly* y *tRNA-Thr*.

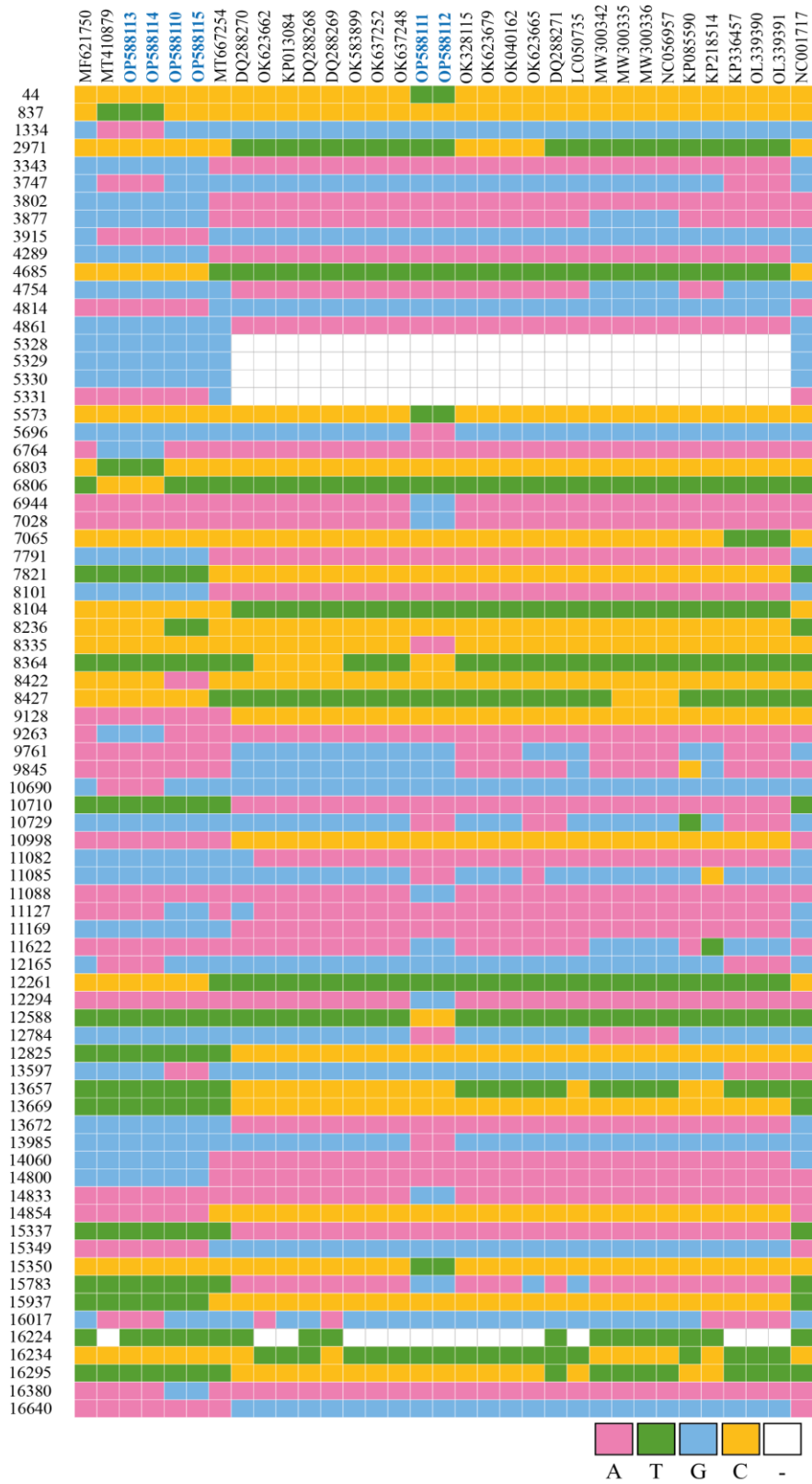
En el alineamiento de los genomas mitocondriales de trucha arcoíris de la región Amazonas se detectaron 75 SNPs compuestos de 228 mutaciones, 58 de adenina, 44 tiamina, 34 citocina, 90 guanina y 2 deleciones (Figura 32). Detalladamente, los SNPs se presentaron en *tRNA-Phe* (1 SNP), *rRNA 12S* (1 SNP), *rRNA 16S* (1 SNPs), *ND1* (4 SNPs), *tRNA-Ile* (1 SNP), *tRNA-Gln* (1 SNP), *ND2* (5 SNPs), *Origen de replicación de la cadena L* (4 SNPs), *COI* (7 SNPs), *COII* (2 SNPs), *ATPasa 8* (2 SNPs), *ATPasa 6* (5 SNPs), *COIII* (2 SNPs), *ND3* (2 SNPs), *ND4* (10 SNPs), *ND5* (10 SNPs), *ND6* (3 SNPs), *Cyt b* (6 SNPs) y *Región control* (8 SNPs) (Figura 31, Tabla 7).

**Tabla 7.** Número de SNPs presentes en cada gen del genoma mitocondrial de trucha arcoíris de la región Amazonas.

<b>Gen</b>	<b>JSB-013</b>	<b>SJL-042</b>	<b>AI-025</b>	<b>ST-075</b>	<b>HMP-031</b>	<b>HMP-037</b>
<i>tRNA-Phe</i>	0	0	0	0	1	1
<i>12S ribosomal RNA</i>	1	1	0	0	0	0
<i>16S ribosomal RNA</i>	1	1	0	0	0	0
<i>ND1</i>	4	4	3	3	0	0
<i>tRNA-Ile</i>	1	1	1	1	0	0
<i>tRNA-Gln</i>	1	1	1	1	0	0
<i>ND2</i>	5	5	5	5	0	0
<i>ORL</i>	4	4	4	4	0	0
<i>COI</i>	3	3	0	0	4	4
<i>COII</i>	2	2	2	2	0	0
<i>ATPase 8</i>	2	2	2	2	0	0
<i>ATPase 6</i>	1	1	3	3	2	2
<i>COIII</i>	2	2	1	1	0	0
<i>ND3</i>	0	0	0	0	2	2
<i>ND4</i>	5	5	5	5	4	4
<i>ND5</i>	5	5	5	5	4	4
<i>ND6</i>	1	1	2	2	1	1
<i>Cyt b</i>	4	4	4	4	2	2
<i>Región Control</i>	6	6	6	6	2	2







**Figura 32.** Localización de SNPs a lo largo del genoma mitocondrial de truchas arcoíris (75 posiciones).

#### **IV. DISCUSIÓN**

Actualmente, el Perú cuenta con escasa información tanto morfométrica como genética y/o genómica de muchas especies acuícolas de interés económico, incluyendo a la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Rojas et al., 2018; Ordinola, 2020). Esto limita el acceso a información académica y objetiva que permita maximizar el aprovechamiento de la acuicultura de estos organismos en la región Amazonas. En este sentido, el presente estudio determinó el impacto que tienen las caracterizaciones morfométricas y el uso de herramientas moleculares para entender la diversidad de poblaciones naturalizadas de trucha arcoíris.

##### **Análisis morfométrico**

En la región Amazonas se identificaron ocho grupos morfométricos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), donde se destacó a 23 variables (81.1% de contribución) y 14 variables (5.9% de contribución) como las variables morfométricas que contribuyen a este agrupamiento (Figura 14, 15, 16). Estos ocho grupos no fueron confirmados a nivel genómico puesto que solo se obtuvieron tres linajes (Figura 26). Esto limita el potencial de los análisis morfométricos, puesto que en organismos con abundante plasticidad fenotípica como la trucha arcoíris la selección de organismos superiores en base a morfometría podría conllevar a singularidades sin una carga genética superior que lo sustente (Chavarie et al., 2015; Zaccara et al., 2015). Sin embargo, esta plasticidad fenotípica podría ser consecuencia de la naturalización de estas truchas al ambiente al generar ecotipos específicos (Stanković et al., 2015). Es importante resaltar que los análisis morfométricos son óptimos para revelar el nivel de variación fenotípica en especies acuícolas (Luna, 2020); sin embargo, no deben ser utilizados sin el soporte de estudios genéticos y genómicos para la correcta selección de individuos con cierto potencial fisiológico superior (Bashir et al., 2016).

##### **Análisis por calidad de ADN**

La calidad del ADN de poblaciones naturalizadas de trucha arcoíris de la Región Amazonas fue la apropiada para el secuenciamiento masivo al alcanzar valores máximos de 179.0 ng/μl con fluorómetro. Lopera et al., (2008) y Rafaela et al., (2015)

confirmaron que valores entre 40-100 ng/ $\mu$ l son los óptimos para secuenciamiento masivo (NGS). Este mismo ADN evaluado por nanodrop alcanzó niveles máximos de hasta 260 ng/ $\mu$ l con niveles de pureza adecuada (Desjardins & Conklin, 2010) y sin contaminación por ARN (1.68-1.85 a 260/280) u otras moléculas (0.76-2.89 a 260/230) (Pinto et al., 2009). Estos resultados confirman que nuestros protocolos modificados de extracción y de purificación de ADN adaptados a truchas arcoíris son los óptimos para el uso de herramientas moleculares.

### **Ensamblaje y anotación de genes mitocondriales de trucha arcoíris**

La estructura del genoma mitocondrial de peces presenta 37 genes codificantes (13 CDS, 2 de rRNA y 22 de tRNA) y usualmente dos regiones no codificantes (región control y región de origen de replicación L) (Satoh et al., 2016). Estos 37 genes fueron encontrados en los genomas mitocondriales de los ocho grupos morfométricos de trucha arcoíris de la región Amazonas. Esto confirmaría la estabilidad cromosómica de la mitocondria por sus funciones esenciales de respiración celular y transferencia de electrones en vertebrados (Zardoya et al., 1995; Brown et al., 2006; Brown, 2008). Adicionalmente, estos 37 genes, dos regiones no codificantes y las regiones intergénicas ocupan una longitud total de 16660 pb en peces (Zardoya et al., 1995; Satoh et al., 2016). Escenario confirmado para todas las poblaciones a excepción de la población de Huamanpata (Figura 19, 20). Esta población tiene una longitud de 16655 pb diferencia debido a deleciones en la región control e inserciones en ORL (Figura 30, 31, 32). Las regiones no codificantes *Región control* tiene la función de contener a los promotores responsables de la transcripción de las cadenas Heavy y Light, y replicación de la cadena Heavy en el ADN de genoma mitocondrial (Falkenberg et al., 2007; Yasukawa & Kang, 2018), mientras que ORL es responsable de la replicación de la cadena Light (Yasukawa & Kang, 2018). Estas deleciones e inserciones pueden ser un efecto de respuesta al ambiente característico de la zona (Chauhan & Rajiv, 2010; Bernatchez, 2016) en la naturaleza de alta mutación de las regiones no codificantes (Sebastian et al., 2021) o a algún proceso de cuello de botella genética (Brown et al., 2006; Chauhan & Rajiv, 2010; Hare et al., 2011). Es importante resaltar que estas mutaciones no afectan en las funciones vitales de la mitocondria puesto que la región

control y ORL no son regiones codificantes (Jamandre et al., 2014). Sin embargo, el secuenciamiento de genomas adicionales de la población Huamanpata podrían evidenciar las posibles consecuencias de esta pérdida de información genética (Yáñez et al., 2015).

### **Análisis filogenómico**

La filogenia construida usando el genoma mitocondrial permite la identificación de diversas relaciones evolutivas a nivel interespecífico e intraespecífico (Brown et al., 2006; Pearse et al., 2016). Este estudio confirma que la trucha arcoíris *O. mykiss* es una especie hermana de *O. clarkii* (ML/IB = 100/1.0) con un grado de divergencia de 4.5-5.0% (Crespi & Fulton, 2004) y se propuso que estos linajes interespecíficos se generaron en el periodo Pleistoceno Tardío (Behnke, 1994). Asimismo, nuestros resultados revelaron la presencia de numerosas variedades genéticas de *O. mykiss* a nivel intraespecífico (nueve linajes). Tres de éstas se encuentran en la región Amazonas con afinidad a poblaciones tanto de Dinamarca, USA, España y China (Figura 26) y divergiendo genéticamente en Dinamarca (0%), Wisconsin (USA) (0.1%-0.2%), Guadalajara (España) (0.6%), QingTa Village (China) (0.3%), Urumpi, Xinjiang (China) (0.5%), Moscow (USA) (0.2%) y Oregón (USA) (0.2%) (Figura 27). Estos valores reflejan conespecificidad entre estas poblaciones y otras de *O. mykiss* (Colihueque et al., 2019; Weitemier et al., 2021) y confirman su origen en el hemisferio norte y su naturalización a la zonas altoandinas de la Región Amazonas (Behnke, 1994; Cossíos, 2010). Cabe mencionar que las poblaciones de trucha arcoíris de Alto Imaza, Santo Tomas y Huamanpata no son idénticas a poblaciones foráneas, como si lo confirmó Olano (2022), al asociarlas genéticamente a poblaciones de California (USA) y Chile utilizando el marcador *Región Control*. Esto sería consecuencia de la mayor información evolutiva presente en datos genómicos (~16660 bp) comparado al de marcadores moleculares independientes (~600 bp) (Nielsen et al., 1998; Consuegra et al., 2015; Colihueque et al., 2019).



## **Análisis de relación de genes**

La filogenia de los genes permite identificar la evolución y cambios que han tenido los distintos genes del genoma (Snel et al., 1999). En este estudio, el árbol de todos los genes concatenados (Figura A1) presenta topología similar al del árbol de especies de trucha arcoíris (Figura 26). Sin embargo, las topologías de los genes individuales son diferentes al del genoma total (Page & Charleston, 1997). Esto se debe a que el nivel de mutación de cada gen es distinto y como consecuencia evoluciona de manera independiente (Liu & Pearl, 2007). Por lo tanto, cada gen del genoma mitocondrial presentará porcentajes de divergencias genéticas distintivas. Estas características, permiten determinar cuáles son los marcadores moleculares óptimos para delimitar taxa a nivel interespecífico e intraespecífico (Zardoya et al., 1995). Tradicionalmente, se han propuesto los marcadores rRNA 12S, Citocromo b, Citocromo oxidasa subunidad I (*COI*) y *Región control* (Zardoya et al., 1995; Nielsen et al., 1998; Véliz, 2015; Colihueque et al., 2019) como óptimos para estos estudios. Sin embargo, los análisis bioinformáticos del presente estudio revelan que para delimitar especies se pueden usar los genes más conservados tales como los genes tRNA (Figura A6, A7, A8, A9, A10, A11). Por otro lado, para delimitar poblaciones genéticas dentro de una misma especie se puede usar los marcadores con alta tasa de mutación como *región control*, *ND4* o *ND5* (Figura 28) (Brown et al., 2006). Futuros estudios de caracterización de poblaciones naturalizadas de trucha a lo largo del Perú podrían maximizar el uso de recursos solamente amplificando los tres genes en mención (*Región control*, *ND4*, *ND5*) en vez de secuenciar genomas completos para obtener resultados similares.

## **Identificación de SNPs en el genoma mitocondrial de trucha arcoíris**

Los SNPs permiten revelar el 90% de las diferencias entre individuos, además de brindar información relevante de cambios en la función biológica de un gen codificante (Salem et al., 2012). En nuestro estudio, el mayor número de SNPs (64 de 75 total de SNPs) estuvo en los genes CDS de los genomas mitocondriales de trucha arcoíris de la

región Amazonas (Figura 30). Estos hallazgos sugieren una abundancia de mutaciones silenciosas en los genes codificantes que no afectaron la expresión de estos genes (Mondal et al., 2020), pero que podría estar asociado a mutaciones neutras que permiten un adecuado funcionamiento de los complejos proteínicos para la respiración celular sosteniendo el equilibrio fisiológico (Castañeda et al., 2022). Estas mutaciones podrían ser producto de derivas génicas o efectos fundadores que se produjeron (Consuegra et al., 2015; Mondal et al., 2020) o sencillamente a la adaptación de condiciones ecológicas específicas (Shen et al., 2019). Esto manifestaría que la naturalización de la trucha arcoíris podría generar cambios notables (mutaciones silenciosas) en el genoma mitocondrial para su diversificación genética en las diversas zonas de la región Amazonas. Las mutaciones del genoma mitocondrial en trucha arcoíris fueron entre 22, 44 y 48 en las poblaciones de la región Amazonas (Tabla 5). Estas diferencias pueden deberse a la variación geográfica de cada población (Schroeter et al., 2019), así como también el proceso evolutivo que sostuvieron para su adaptación a la zona frente a posibles ambientes de características ecológicas distintas (Chen et al., 2018; Shen et al., 2019; Ruan et al., 2020).

## V. CONCLUSIONES

- La región Amazonas cuenta morfológicamente con ocho poblaciones de trucha arcoíris, distribuidos entre las provincias de Chachapoyas, Luya y Rodríguez de Mendoza, pero filogenómicamente se encuentran agrupadas en 3 linajes o grupos genéticos. Es necesario que los análisis morfométricos tengan como soporte el uso de herramientas moleculares por la gran plasticidad fenotípica de truchas arcoíris.
- El genoma mitocondrial de trucha arcoíris en poblaciones en la región Amazonas cuenta con 37 genes codificantes y dos regiones no codificantes con una longitud total de 16660 pb, a excepción de la población de Huamanpata que cuenta con 16655 pb de la longitud debido a deleciones en *Región Control* e inserciones *ORL*.
- Las mutaciones en los genomas mitocondriales de trucha arcoíris de la región Amazonas oscilaron entre 22 a 48 mutaciones, producto de la naturalización de la trucha arcoíris en la región, siendo Huamanpata la de menor número de mutaciones

(22 mutaciones), seguido de Alto Imaza - Santo Tomás de Cupuy (44 mutaciones) y Jucusbamba - San José de Lauman (48 mutaciones). Estas mutaciones fueron silenciosas ya que no afectan a las funciones de la mitocondria.

- La trucha arcoíris tiene conespecificidad con *O. clarkii* divergiendo en 4.5-5.0%. Las poblaciones de trucha arcoíris de la región Amazonas se encuentran emparentadas a linajes de países del hemisferio norte como Dinamarca, España, China y EE.UU con divergencias mínimas (0.1-0.6%).
- Los marcadores moleculares que presentan mejor resolución para estudios de genética de poblaciones de trucha arcoíris son *Región Control*, *ND4* y *ND5*. Asimismo, análisis concatenados de estos tres genes permitirían confirmar topologías de alta resolución para delimitación de taxa en futuros estudios. Los protocolos utilizados para la extracción y purificación de ADN de muestras de trucha arcoíris fueron los óptimos principalmente por las modificaciones en los tiempos prolongados de incubación (24h) para el uso de exitoso en herramientas moleculares de secuenciamiento masivo.

## VI. RECOMENDACIONES

- Estudios futuros de genética de poblaciones de trucha arcoíris deberían utilizar primariamente los marcadores Región control, ND4 y ND5 para evitar secuenciar genomas completos y así maximizar el uso de recursos de secuenciamiento.
- Se recomienda tomar en cuenta los resultados de los análisis morfológicos siempre que se encuentre soportados por análisis moleculares para evitar que efectos como la plasticidad fenotípica puedan generar resultados inapropiados.
- Adecuar los protocolos de extracción y cuantificación de ADN, hacia mejores condiciones para la preparación adecuada en procesos de secuenciamiento masivo.

## VII. REFERENCIAS

- Alaqeely, R., Alhajeri, B. H., Almathen, F., & Alhaddad, H. (2021). Mitochondrial Sequence Variation, Haplotype Diversity, and Relationships Among Dromedary Camel-Types. *Frontiers in Genetics, 12*, 723964. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.723964>
- Allio, R., Donega, S., Galtier, N., & Nabholz, B. (2017). Large Variation in the Ratio of Mitochondrial to Nuclear Mutation Rate across Animals: Implications for Genetic Diversity and the Use of Mitochondrial DNA as a Molecular Marker. *Molecular Biology and Evolution, 34*(11), 2762–2772. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx197>
- Andrews, S. (2010). *FASTQC. A quality control tool for high throughput sequence data.* <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Bashir, A., Bisht, B. S., Mir, J. I., Patiyal, R. S., & Kumar, R. (2016). Morphometric variation and molecular characterization of snow trout species from Kashmir valley, India. *Mitochondrial DNA Part A, 27*(6), 4492–4497. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1101537>
- Basu, U., Bostwick, A. M., Das, K., Dittenhafer-Reed, K. E., & Patel, S. S. (2020). Structure, mechanism, and regulation of mitochondrial DNA transcription initiation. *Journal of Biological Chemistry, 295*(52), 18406–18425. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.011202>
- Behnke, R. (1994). Native trout of western North America. *Reviews in Fish Biology and Fisheries, 4*(4), 488–489. <https://doi.org/10.1007/BF00042892>
- Bernatchez, L. (2016). On the maintenance of genetic variation and adaptation to environmental change: considerations from population genomics in fishes. *Journal of Fish Biology, 89*(6), 2519–2556. <https://doi.org/10.1111/jfb.13145>
- Berthelot, C., Brunet, F., Chalopin, D., Juanchich, A., Bernard, M., Noël, B., Bento, P., Da Silva, C., Labadie, K., Alberti, A., Aury, J.-M., Louis, A., Dehais, P., Bardou, P., Montfort, J., Klopp, C., Cabau, C., Gaspin, C., Thorgaard, G. H., ... Guiguen, Y. (2014). The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole-

- genome duplication in vertebrates. *Nature Communications*, 5(1), 3657.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms4657>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 30(15), 2114–2120.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Boore, J. (1999). Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*, 27(8), 1767–1780. <https://doi.org/10.1093/nar/27.8.1767>
- Brown, K. (2008). Fish mitochondrial genomics: sequence, inheritance and functional variation. *Journal of Fish Biology*, 72(2), 355–374. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01690.x>
- Brown, K., Drew, R., Weber, L., & Thorgaard, G. (2006). Intraspecific variation in the rainbow trout mitochondrial DNA genome. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part D, Genomics & Proteomics*, 1(2), 219–226.  
<https://doi.org/10.1016/j.cbd.2005.11.004>
- Carver, T., Thomson, N., Bleasby, A., Berriman, M., & Parkhill, J. (2009). DNAPlotter: circular and linear interactive genome visualization. *Bioinformatics*, 25(1), 119–120.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn578>
- Castañeda, V., Haro-Vinueza, A., Salinas, I., Caicedo, A., & Méndez, M. Á. (2022). The MitoAging Project: Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in mitochondrial genes and their association to longevity. *Mitochondrion*, 66, 13–26.  
<https://doi.org/10.1016/j.mito.2022.06.008>
- Chauhan, T., & Rajiv, K. (2010). Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. *Scientific Research*, 1, 281–291. <https://doi.org/10.4236/abb.2010.14037>
- Chavarie, L., Howland, K., Harris, L., & Tonn, W. (2015). Polymorphism in lake trout in Great Bear Lake: Intra-lake morphological diversification at two spatial scales. *Biological Journal of the Linnean Society*, 114(1), 109–125.  
<https://doi.org/10.1111/bij.12398>
- Chen, Z., Farrell, A. P., Matala, A., & Narum, S. R. (2018). Mechanisms of thermal

- adaptation and evolutionary potential of conspecific populations to changing environments. *Molecular Ecology*, 27(3), 659–674. <https://doi.org/10.1111/mec.14475>
- Coela, E. (2020). Cultivo y crecimiento de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentada con dos marcas de alimento extruido: estudio en laguna altoandina de Perú. *Revista de Investigación Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, 6(1), 38–44. <https://doi.org/10.17162/rictd.v6i1.1403>
- 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, 1212. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01212>
- Consuegra, S., John, E., Verspoor, E., & Leaniz, C. (2015). Patterns of natural selection acting on the mitochondrial genome of a locally adapted fish species. *Genetics Selection Evolution*, 47(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0138-0>
- Cossíos, D. (2010). Vertebrados naturalizados en el Perú : historia y estado del conocimiento. *Revista Peruana de Biología*, 17(2), 179–189. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332010000200007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332010000200007&lng=es&tlng=es).
- Crespi, B., & Fulton, M. (2004). Molecular systematics of Salmonidae: combined nuclear data yields a robust phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31(2), 658–679. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2003.08.012>
- Desjardins, P., & Conklin, D. (2010). NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *Journal of Visualised Experiments*, 45, 2565. <https://doi.org/doi:10.3791/2565>
- Doadrio, I. (2001). *Atlas y Libro Rojo de los Peces Continentales de España* (I. Doadrio (ed.)). [https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/temas/inventarios-nacionales/atlas\\_libro\\_rojo\\_peces\\_tcm30-98786.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/temas/inventarios-nacionales/atlas_libro_rojo_peces_tcm30-98786.pdf)
- Drabik, A., Bodzoń, A., & Silberring, J. (2016). Gel Electrophoresis. In P. Ciborowski & J. Silberring (Eds.), *Proteomic Profiling and Analytical Chemistry* (2° ed, pp. 115–143). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63688-1.00007-0>

- Edler, D., Klein, J., Antonelli, A., & Silvestro, D. (2020). raxmlGUI 2.0: A graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. *Methods in Ecology and Evolution*, *12*, 1–5. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13512>
- Falkenberg, M., Larsson, N.-G., & Gustafsson, C. (2007). DNA replication and transcription in mammalian mitochondria. *Annu. Rev. Biochem.*, *76*, 679–699. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.060305.152028>
- FAO. (2010). Marcadores moleculares: una herramienta para explorar la diversidad genética. In B. Rischkowsky & D. Pilling (Eds.), *La situación de los recursos zoológicos mundiales para la alimentación y la agricultura* (pp. 393–416). <https://www.fao.org/3/a1250s/a1250s17.pdf>
- FAO. (2022). *Programa de información de especies acuáticas *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)*. [https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/oncorhynchus\\_mykiss/en](https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/oncorhynchus_mykiss/en)
- Feng, Y., Zhang, Y., Ying, C., Wang, D., & Du, C. (2015). Nanopore-based Fourth-generation DNA Sequencing Technology. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, *13*(1), 4–16. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.01.009>
- Friedman, J., & Nunnari, J. (2014). Mitochondrial form and function. *Nature*, *505*(7483), 335–343. <https://doi.org/10.1038/nature12985>
- Gómez, L., Calvillo, F., Khoury, C., & Diaz, M. (2022). Herramientas informáticas para el estudio de los recursos genéticos. In E. Anaya (Ed.), *La conservación de recursos genéticos a 10 años de la creación del Centro Nacional de Recursos Genéticos de México* (pp. 164–190). INIFAP. <https://hdl.handle.net/10568/117605>
- González, M., & Diaz, J. (2017). Metodologías morfométricas aplicadas a la Taxonomía Integrativa de peces. In *Morfología de vertebrados* (pp. 161–179). <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/136964>
- Greiner, S., Lehwark, P., & Bock, R. (2019). OrganellarGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3.1: expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes. *Nucleic Acids Research*, *47*(W1), W59–W64. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz238>

- Guy, L., Roat Kultima, J., & Andersson, S. G. E. (2010). genoPlotR: comparative gene and genome visualization in R. *Bioinformatics*, 26(18), 2334–2335.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq413>
- Hare, M. P., Nunney, L., Schwartz, M. K., Ruzzante, D. E., Burford, M., Waples, R. S., Ruegg, K., & Palstra, F. (2011). Understanding and Estimating Effective Population Size for Practical Application in Marine Species Management. *Conservation Biology*, 25(3), 438–449. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2010.01637.x>
- Hernandez, M., & Aquino, G. (2008). *Manual básico para el cultivo de trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss)*. GEM, TIES Cuencas Sanas y Modos de Vida Sustentable Series de Manuales de Capacitación.
- Hernández, M., Quijada, N., Rodríguez, D., & Eiros, J. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150–161.  
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.06.003>
- Hughes, A., Stewart, T., & Mann, V. (2012). Extraction of nucleic acids from bone. In *Bone Research Protocols* (pp. 249–259). Humana Press, Totowa, NJ.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-61779-415-5\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-415-5_17)
- Iwasaki, W., Fukunaga, T., Isagozawa, R., Yamada, K., Maeda, Y., Satoh, T. P., Sado, T., Mabuchi, K., Takeshima, H., Miya, M., & Nishida, M. (2013). MitoFish and MitoAnnotator: A Mitochondrial Genome Database of Fish with an Accurate and Automatic Annotation Pipeline. *Molecular Biology and Evolution*, 30(11), 2531–2540. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst141>
- Jamandre, B., Durand, J., & Tzeng, W. (2014). High Sequence Variations in Mitochondrial DNA Control Region among Worldwide Populations of Flathead Mullet *Mugil cephalus*. *International Journal of Zoology*, 2014, 564105.  
<https://doi.org/10.1155/2014/564105>
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>



- Ke, R., Mignardi, M., Hauling, T., & Nilsson, M. (2016). Fourth generation of next-generation sequencing technologies: Promise and consequences. *Human Mutation*, 37(12), 1363–1367. <https://doi.org/10.1002/humu.23051>
- Kenechukwu, A., Li, M., An, L., Cui, M., Wang, C., Wang, A., Chen, Y., Du, S., Feng, C., Zhong, S., Gao, Y., Cao, X., Wang, L., Obinna, E. M., Mei, X., Song, Y., Li, Z., & Qi, D. (2019). Comparative Analysis of the Complete Mitochondrial Genomes for Development Application. In *Frontiers in Genetics* (Vol. 9, p. 651). <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.0065>
- Kivisild, T. (2015). Maternal ancestry and population history from whole mitochondrial genomes. *Investigative Genetics*, 6(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13323-015-0022-2>
- Kolmogorov, M., Yuan, J., Lin, Y., & Pevzner, P. A. (2019). Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nature Biotechnology*, 37(5), 540–546. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0072-8>
- Krzywinski, M., Schein, J., Birol, I., Connors, J., Gascoyne, R., Horsman, D., Jones, S. J., & Marra, M. A. (2009). Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Research*, 19(9), 1639–1645. <https://doi.org/10.1101/gr.092759.109>
- Kurtz, S., Choudhuri, J. V, Ohlebusch, E., Schleiermacher, C., Stoye, J., & Giegerich, R. (2001). REPuter: the manifold applications of repeat analysis on a genomic scale. *Nucleic Acids Research*, 29(22), 4633–4642. <https://doi.org/10.1093/nar/29.22.4633>
- Lagesen, K., Hallin, P., Rødland, E. A., Stærfeldt, H.-H., Rognes, T., & Ussery, D. W. (2007). RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes. *Nucleic Acids Research*, 35(9), 3100–3108. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm160>
- Laslett, D., & Canback, B. (2004). ARAGORN, a program to detect tRNA genes and tmRNA genes in nucleotide sequences. *Nucleic Acids Research*, 32(1), 11–16. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh152>
- Le, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: A Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Li, D., Luo, R., Liu, C.-M., Leung, C.-M., Ting, H.-F., Sadakane, K., Yamashita, H., &

- Lam, T.-W. (2016). MEGAHIT v1.0: A fast and scalable metagenome assembler driven by advanced methodologies and community practices. *Methods (San Diego, Calif.)*, *102*, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2016.02.020>
- Liu, L., & Pearl, D. K. (2007). Species Trees from Gene Trees: Reconstructing Bayesian Posterior Distributions of a Species Phylogeny Using Estimated Gene Tree Distributions. *Systematic Biology*, *56*(3), 504–514. <https://doi.org/10.1080/10635150701429982>
- Lopera, N., Povh, J., Ribeiro, R., Gomes, P., & Jacometo, C. (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>
- López de Heredia, U. (2016). Las técnicas de secuenciación masiva en el estudio de la diversidad biológica. *Munibe Ciencias Naturales*, *64*, 7–31. <https://doi.org/10.21630/mcn.2016.64.07>
- López, M. E., Neira, R., & Yáñez, J. M. (2015). Applications in the search for genomic selection signatures in fish. *Frontiers in Genetics*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00128>
- López, M., Mallorquín, P., & Vega, M. (2003). *Genómica de especies piscícolas*. [https://icono.fecyt.es/sites/default/files/filepublicaciones/2003-genomica\\_de\\_especies\\_piscicolas-document\\_13032609885.pdf](https://icono.fecyt.es/sites/default/files/filepublicaciones/2003-genomica_de_especies_piscicolas-document_13032609885.pdf)
- Luna, E. (2020). Integrando análisis morfométricos y filogenéticos: De la sistemática fenética a la morfometría filogenética Integrating morphometric and phylogenetic analyses : from phenetic systematics to phylogenetic morphometrics. *Acta Botanica Mexicana*, *127*, e1640. <https://doi.org/10.21829/abm127.2020.1640>
- Mardis, E. R. (2017). DNA sequencing technologies: 2006–2016. *Nature Protocols*, *12*(2), 213–218. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.182>
- Martínez, P., & Huerta, A. (2007). *Genética y Genómica en Acuicultura* (J. Monteros (ed.)). Observatorio Español de Acuicultura : Consejo Superior de Investigaciones

- Científicas. [http://libros.csic.es/product\\_info.php?products\\_id=867](http://libros.csic.es/product_info.php?products_id=867)
- Mileshina, D., Niazi, A. K., Weber, F., Gualberto, J., & Dietrich, A. (2015). Mitochondrial genetic manipulation. In *Somatic Genome Manipulation* (pp. 275–321). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2389-2\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2389-2_13)
- MINAM. (2021). *Linea de Base de Trucha Arcoíris con Fines de Bioseguridad* (Ministerio del Ambiente (ed.)). [https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2021/07/libro\\_ldb\\_trucha.pdf](https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2021/07/libro_ldb_trucha.pdf)
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., von Haeseler, A., & Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Molecular Biology and Evolution*, 37(5), 1530–1534. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>
- Mondal, D., Dutta, S., Mallik, A., & Mandal, N. (2020). Mitochondrial DNA diversity: Insight into population diversity, structure and demographic history of *Penaeus monodon* along the entire coastal region of India. *Aquaculture Research*, 51(11), 4649–4680. <https://doi.org/10.1111/are.14812>
- Nielsen, J. L., Fountain, M. C., Favela, J. C., Cobble, K., & Jensen, B. L. (1998). *Oncorhynchus* at the southern extent of their range: a study of mtDNA control-region sequence with special reference to an undescribed subspecies of *O. mykiss* from Mexico. *Environmental Biology of Fishes*, 51(1), 7–23. <https://doi.org/10.1023/A:1007456529627>
- Olano, Y. (2022). *Análisis de la estructura genética en poblaciones de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de la región Amazonas* [Tesis de titulación, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas]. <https://hdl.handle.net/20.500.14077/3197>
- Ordinola, A. (2020). *Identificación mediante la técnica de DNA barcode de los peces de manglar de la región Tumbes. 2016 – 2018* [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Tumbes]. <https://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/1628>
- Page, R., & Charleston, M. (1997). From Gene to Organismal Phylogeny: Reconciled Trees

- and the Gene Tree/Species Tree Problem. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 7(2), 231–240. <https://doi.org/10.1006/mpev.1996.0390>
- Palculict, M. E., Zhang, V. W., Wong, L.-J., & Wang, J. (2016). Comprehensive Mitochondrial Genome Analysis by Massively Parallel Sequencing. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1351, 3–17. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3040-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3040-1_1)
- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). Ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in (R). *Bioinformatics*, 35, 526–528. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633>
- Pareek, C. S., Smoczynski, R., & Tretyn, A. (2011). Sequencing technologies and genome sequencing. *Journal of Applied Genetics*, 52(4), 413–435. <https://doi.org/10.1007/s13353-011-0057-x>
- Pearse, D. E., Jacobson, S., Abadi, A., Marshall, J., Dalrymple, D., Kawasaki, F., & Garza, J. C. (2016). *Population genetic structure and ancestry of steelhead / rainbow trout ( Oncorhynchus mykiss ) at the extreme southern edge of their range in North America*. <https://doi.org/10.1007/s10592-016-0814-9>
- Pradhan, D., Kumar, A., Singh, H., & Agrawal, U. (2019). High-throughput sequencing. In *Data Processing Handbook for Complex Biological Data Sources* (pp. 39–52). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816548-5.00004-6>
- PRODUCE. (2022). *Anuario Estadístico Pesquero y Acuicola 2021*. Ministerio de la Producción. <https://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/en/shortcode/oee-documentos-publicaciones/publicaciones-anuales/item/1080-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2021>
- Rafaela, B., Nunes, C., Selvaraj, J., & Marmolejo, D. (2015). Una metodología no invasiva para la extracción de adn de *Coryphaena hippurus*. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 44(2), 395–399. <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2015.44.2.33>
- Reuter, J. A., Spacek, D. V., & Snyder, M. P. (2015). High-Throughput Sequencing Technologies. *Molecular Cell*, 58(4), 586–597.

<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>

Rojas, R., Castro, J., & Garcia, C. (2018). Situación actual de la base de datos genéticos de vertebrados de la región Loreto, Perú. *Folia Amazónica*, 27(2), 151–162.

<https://doi.org/10.24841/fa.v27i2.442>

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>

RStudio Team. (2022). *RStudio: Integrated Development Environment for R*.

<http://www.rstudio.com/>

Ruan, H., Li, M., Li, Z., Huang, J., Chen, W., Sun, J., Liu, L., & Zou, K. (2020).

Comparative Analysis of Complete Mitochondrial Genomes of Three Gerres Fishes (Perciformes: Gerreidae) and Primary Exploration of Their Evolution History. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 5).

<https://doi.org/10.3390/ijms21051874>

Rubio, S., Pacheco, R., Milena, A., Perdomo, S., & García, R. (2020). Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica. *Universitas Medica*, 61(2), 49–63. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed61-2.sngs>

Salem, M., Vallejo, R. L., Leeds, T. D., Palti, Y., Liu, S., Sabbagh, A., Rexroad III, C. E., & Yao, J. (2012). RNA-Seq Identifies SNP Markers for Growth Traits in Rainbow Trout. *PLOS ONE*, 7(5), e36264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036264>

Satoh, T. P., Miya, M., Mabuchi, K., & Nishida, M. (2016). Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes. *BMC Genomics*, 17(1), 1–20.

<https://doi.org/10.1186/s12864-016-3054-y>

Sayers, E., Bolton, E., Brister, R., Canese, K., Chan, J., Comeau, D., Connor, R., Funk, K., Kelly, C., Kim, S., Madej, T., Marchler-Bauer, A., Lanczycki, C., Lathrop, S., Lu, Z., Thibaud, F., Murphy, T., Phan, L., Skripchenko, Y., ... Sherry, S. (2022). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids*

- Research*, 50(D1), D20–D26. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112>
- Schadt, E. E., Turner, S., & Kasarskis, A. (2010). A window into third-generation sequencing. *Human Molecular Genetics*, 19(R2), R227–R240. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq416>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Schroeter, J. C., Maloy, A. P., Rees, C. B., & Bartron, M. L. (2019). Fish mitochondrial genome sequencing: expanding genetic resources to support species detection and biodiversity monitoring using environmental DNA. *Conservation Genetics Resources*, 12(3), 433–446. <https://doi.org/10.1007/s12686-019-01111-0>
- Sebastian, W., Sukumaran, S., & Gopalakrishnan, A. (2021). The signals of selective constraints on the mitochondrial non-coding control region: insights from comparative mitogenomics of Clupeoid fishes. *Genetica*, 149(3), 191–201. <https://doi.org/10.1007/s10709-021-00121-x>
- Shafer, A., Wolf, J., Alves, P., Bergström, L., Bruford, M., Brännström, I., Colling, G., Dalén, L., De Meester, L., Ekblom, R., Fawcett, K., Fior, S., Hajibabaei, M., Hill, J. A., Hoebel, A. R., Höglund, J., Jensen, E., Krause, J., Kristensen, T., ... Zielinski, P. (2015). Genomics and the challenging translation into conservation practice. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(2), 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.11.009>
- Shen, X., Pu, Z., Chen, X., Murphy, R. W., & Shen, Y. (2019). Convergent Evolution of Mitochondrial Genes in Deep-Sea Fishes. *Frontiers in Genetics*, 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.0092>
- Snel, B., Bork, P., & Huynen, M. (1999). Genome phylogeny based on gene content. *Nature Genetics*, 21(1), 108–110. <https://doi.org/10.1038/5052>
- Stanković, D., Crivelli, A. J., & Snoj, A. (2015). Rainbow Trout in Europe: Introduction, Naturalization, and Impacts. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 23(1), 39–71. <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1024825>

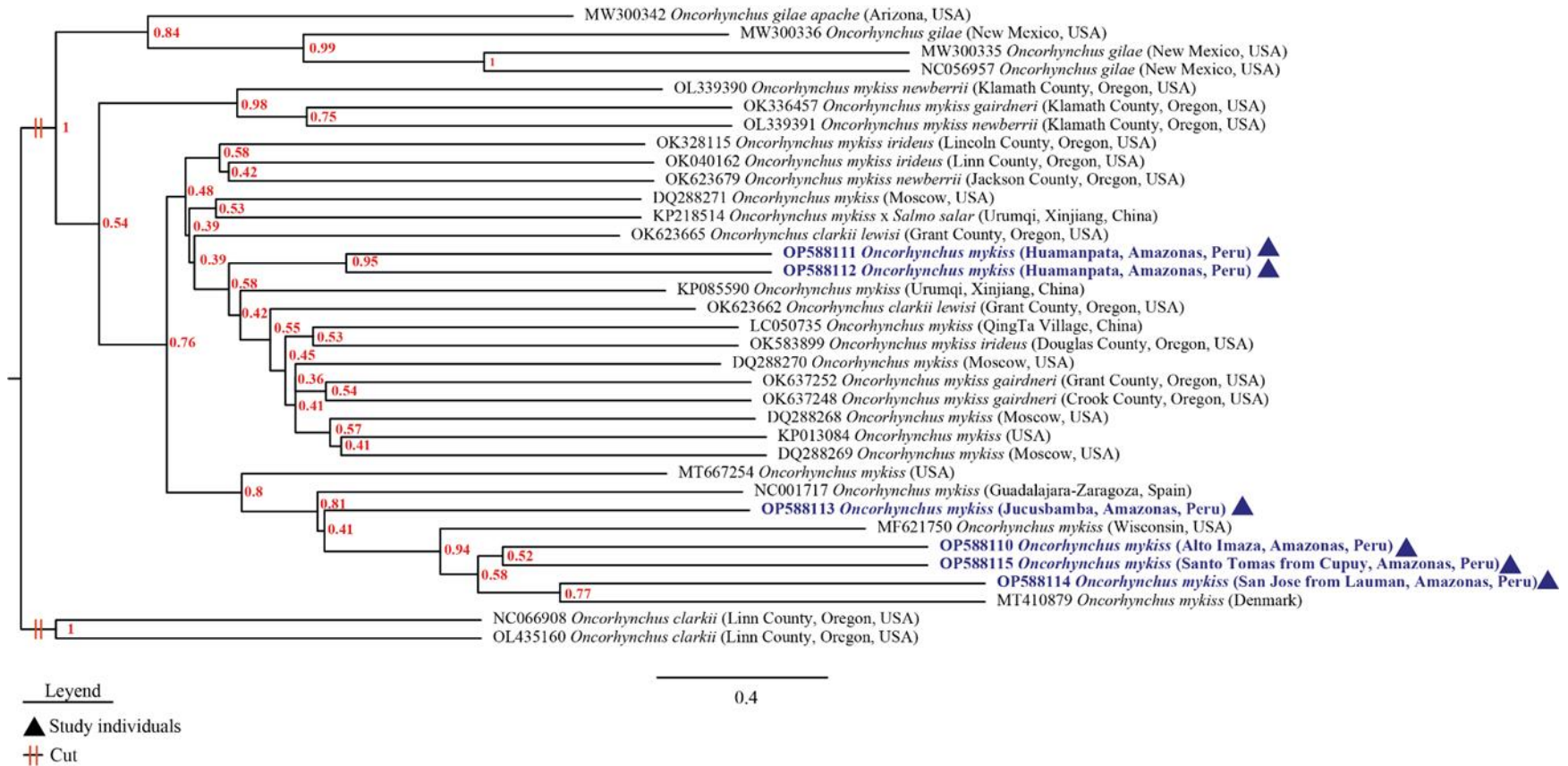
- Strauss, R., & Bookstein, F. (1982). The Truss: Body Form Reconstructions in Morphometrics. *Systematic Zoology*, *31*, 113–135.  
<https://doi.org/10.1093/sysbio/31.2.113>
- Tillich, M., Lehwark, P., Pellizzer, T., Ulbricht-Jones, E. S., Fischer, A., Bock, R., & Greiner, S. (2017). GeSeq – versatile and accurate annotation of organelle genomes. *Nucleic Acids Research*, *45*(W1), W6–W11. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx391>
- Torres, R., & Artoni, R. (2019). Editorial: Genetics, Evolution, and Conservation of Neotropical Fishes. In *Frontiers in Genetics* (Vol. 10).  
<https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01124>
- Velázquez, L., Martínez, M., & Romero, A. (2014). Extracción y purificación de ADN. In *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos* (Vol. 1, pp. 1–26). INECC-SEMARNAT México DF.  
<https://www.researchgate.net/publication/280731680>
- Véliz, P. (2015). *Caracterización genética de poblaciones naturalizadas de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) en ríos y lagos de las regiones de los ríos y Aysén, Chile*. [Título profesional, Universidad Austral de Chile].  
<https://www.lavaguada.cl/reportajes/arcoiris-trout-chile/fcv437c.pdf>
- Villegas, D. A., Milla, M. E., Castillo, O., & Durant, K. (2020). Análisis multivariado en la comparación morfométrica del híbrido (♂*Colossoma macropomum* X ♀*Piaractus brachypomus*) y sus parentales. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, *4*(1), 73. <https://doi.org/10.25127/aps.20201.546>
- Walker, B. J., Abeel, T., Shea, T., Priest, M., Abouelliel, A., Sakthikumar, S., Cuomo, C. A., Zeng, Q., Wortman, J., Young, S. K., & Earl, A. M. (2014). Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PloS One*, *9*(11), e112963.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112963>
- Weitemier, K., Penaluna, B. E., Hauck, L. L., Longway, L. J., Garcia, T., & Cronn, R. (2021). Estimating the genetic diversity of Pacific salmon and trout using multigene eDNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, *30*(20), 4970–4990.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/mec.15811>

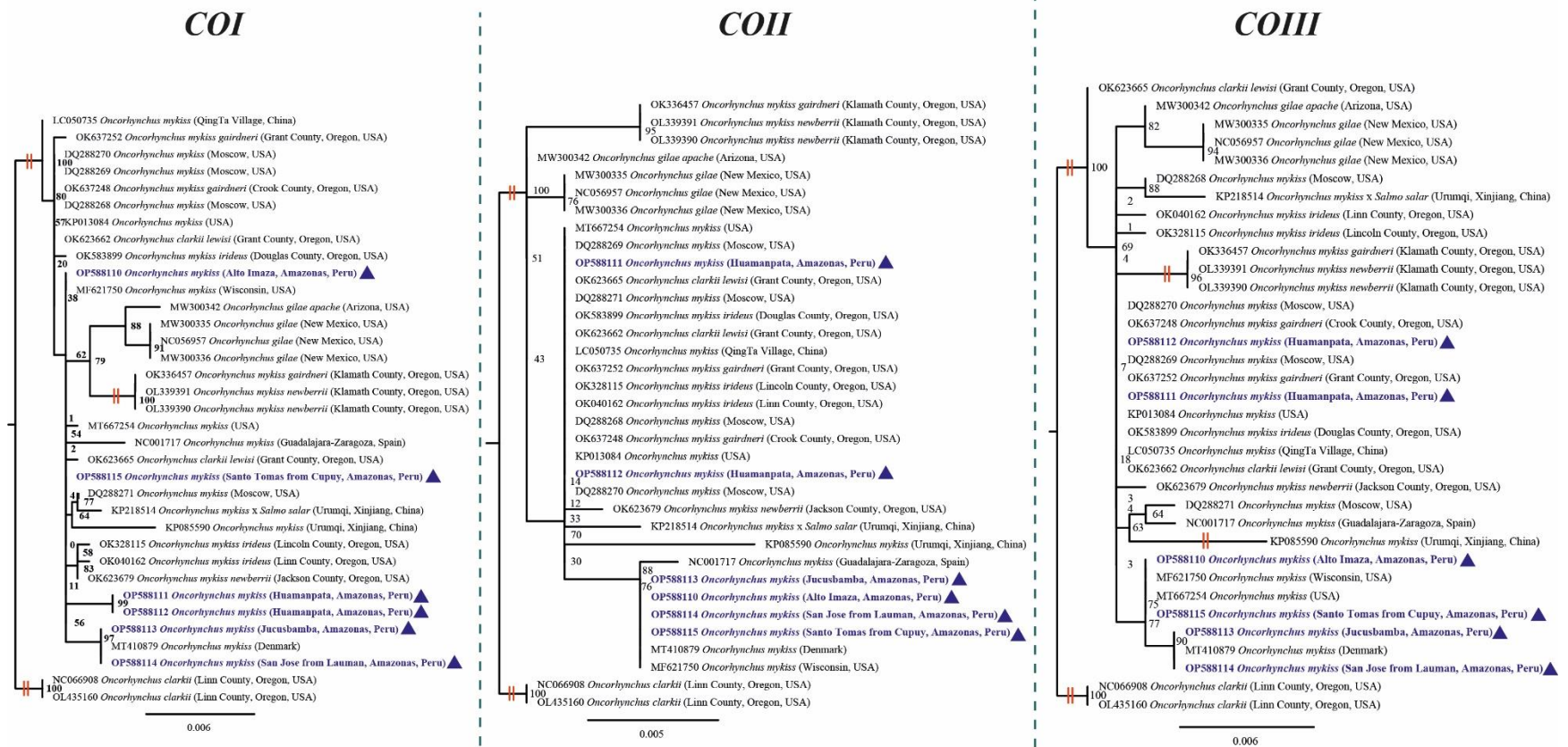
- Yáñez, J. M., Newman, S., & Houston, R. (2015). Genomics in aquaculture to better understand species biology and accelerate genetic progress. In *Frontiers in genetics* (Vol. 6, p. 128). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00128>
- Yasukawa, T., & Kang, D. (2018). An overview of mammalian mitochondrial DNA replication mechanisms. *The Journal of Biochemistry*, *164*(3), 183–193. <https://doi.org/10.1093/jb/mvy058>
- Zaccara, S., Trasforini, S., Antognazza, C. M., Puzzi, C., Britton, J. R., & Crosa, G. (2015). Morphological and genetic characterization of Sardinian trout *Salmo cettii* Rafinesque, 1810 and their conservation implications. *Hydrobiologia*, *760*(1), 205–223. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2322-1>
- Zardoya, R., Garrido-Pertierra, A., & Bautista, J. M. (1995). The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA genome of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Molecular Evolution*, *41*(6), 942–951. <https://doi.org/10.1007/BF00173174>
- Zhang, C., Rabiee, M., Sayyari, E., & Mirarab, S. (2018). ASTRAL-III: polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees. *BMC Bioinformatics*, *19*(Suppl 6), 153. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2129-y>



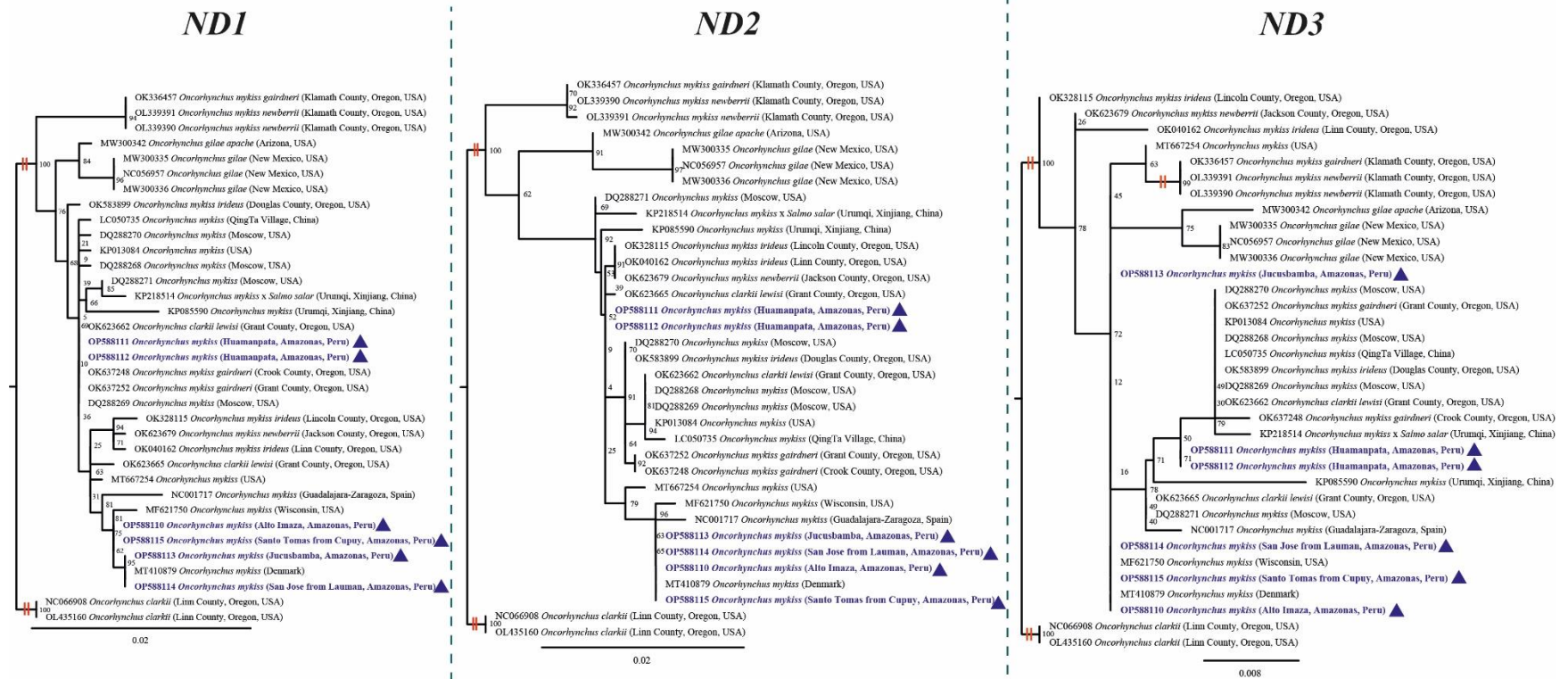
## VIII. ANEXOS



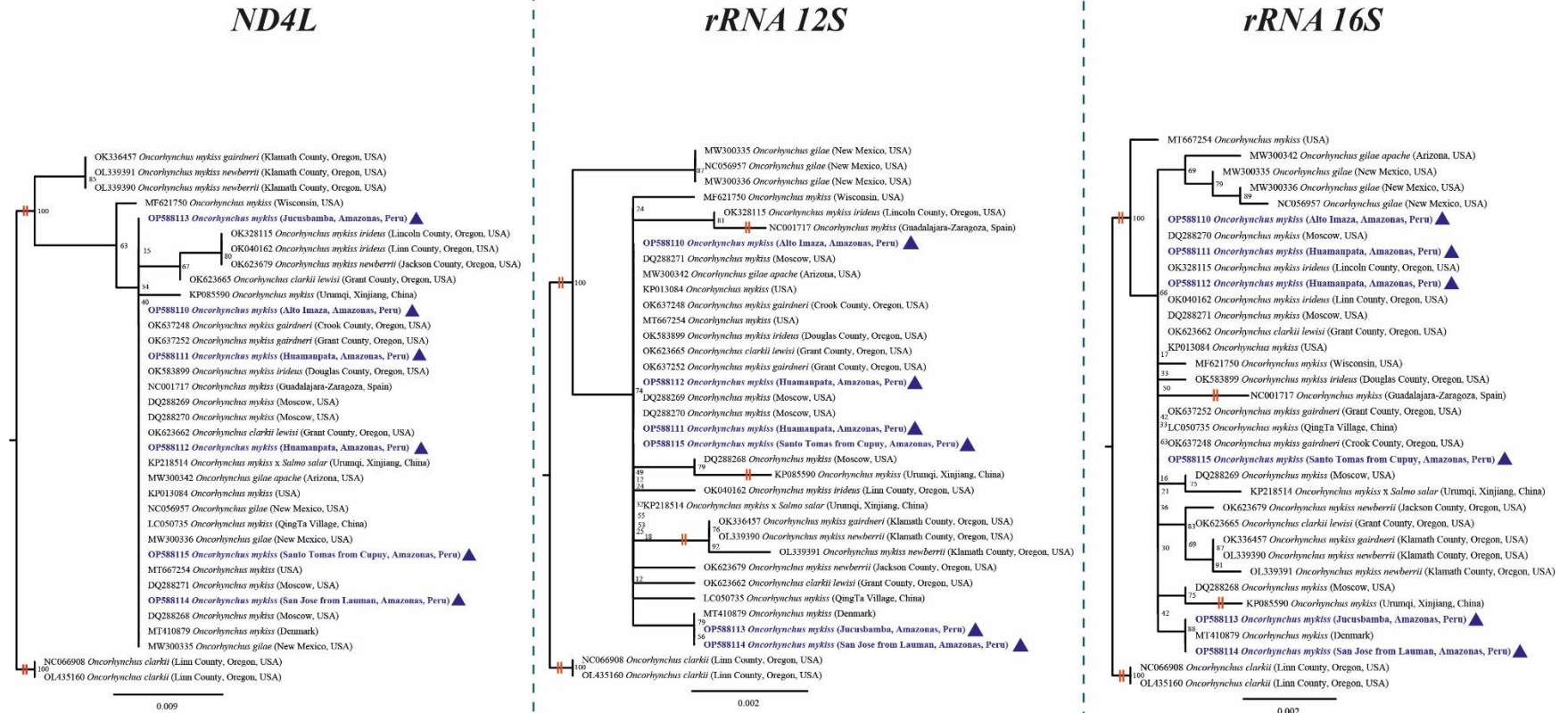
**Figura A1.** Filograma de máxima verosimilitud basados en relación de genes de las especies de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de ASTRAL-III basados en 1000 repeticiones.



**Figura A2.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *COI*, *COII* y *COIII* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son los soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

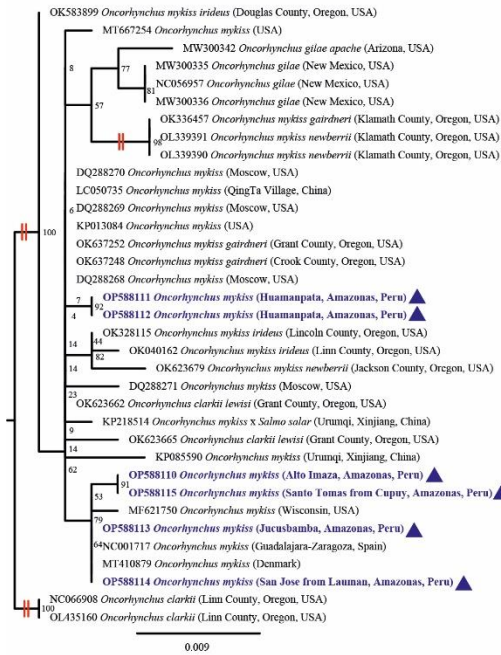


**Figura A3.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *ND1*, *ND2* y *ND3* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.



**Figura A4.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *ND4L*, *rRNA 12S* y *rRNA 16S* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

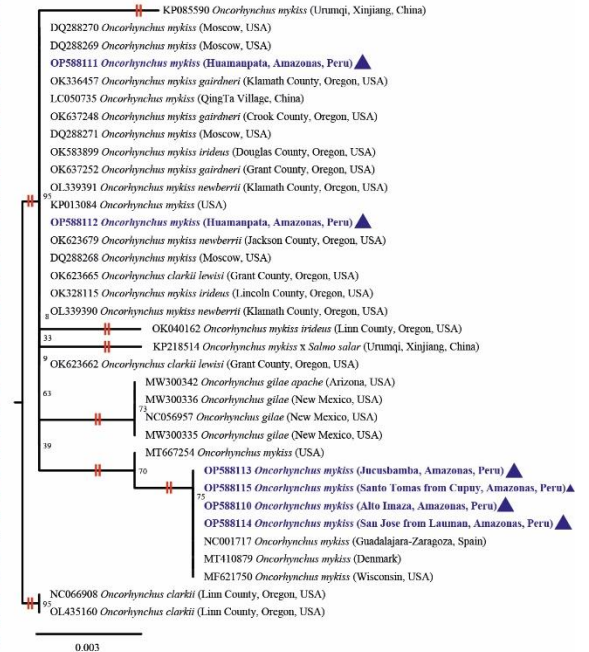
### ND6



### ATPase6



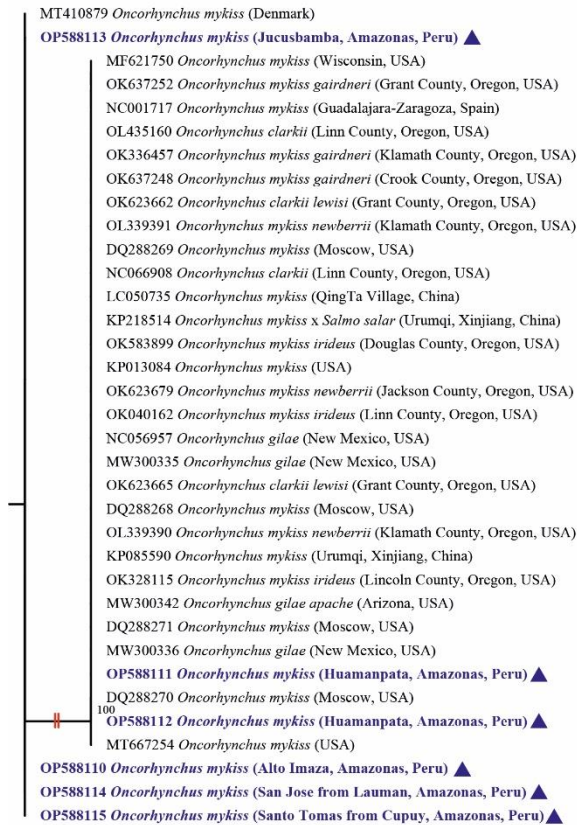
### ATPase8



**Figura A5.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *ND6*, *ATPase6* y *ATPase8* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

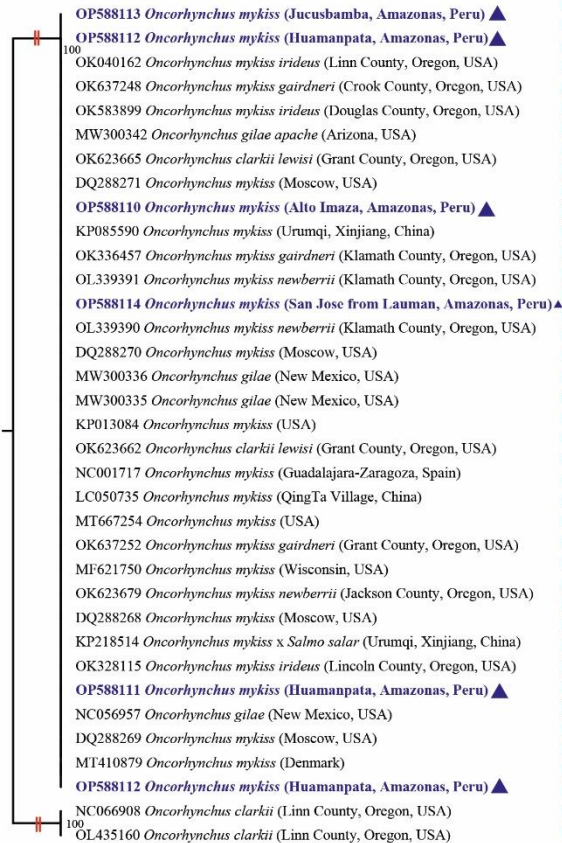


### *tRNA Gln*



0.002

### *tRNA Gly*



0.002

### *tRNA His*



0.002

**Figura A7.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *tRNA Gln*, *tRNA Gly* y *tRNA His* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

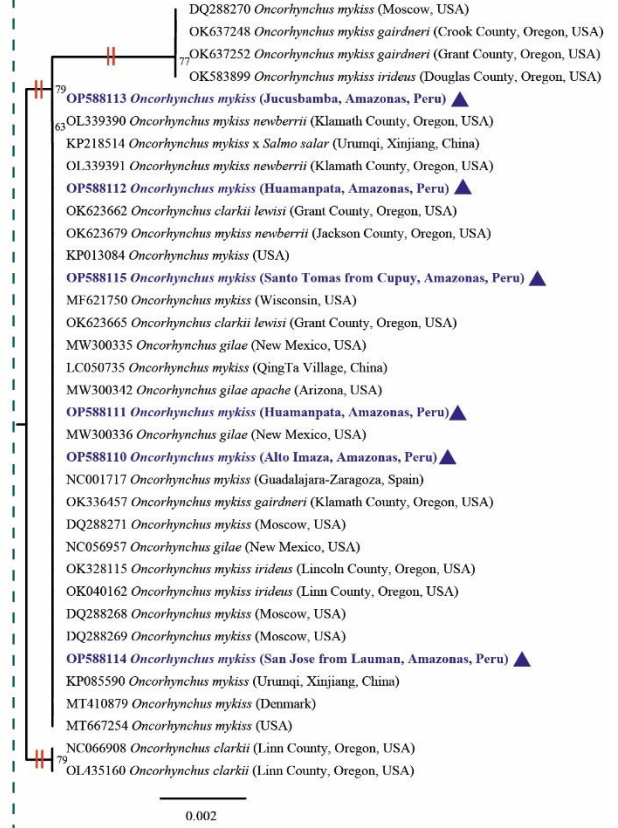
### *tRNA Leu II*



### *tRNA Lys*

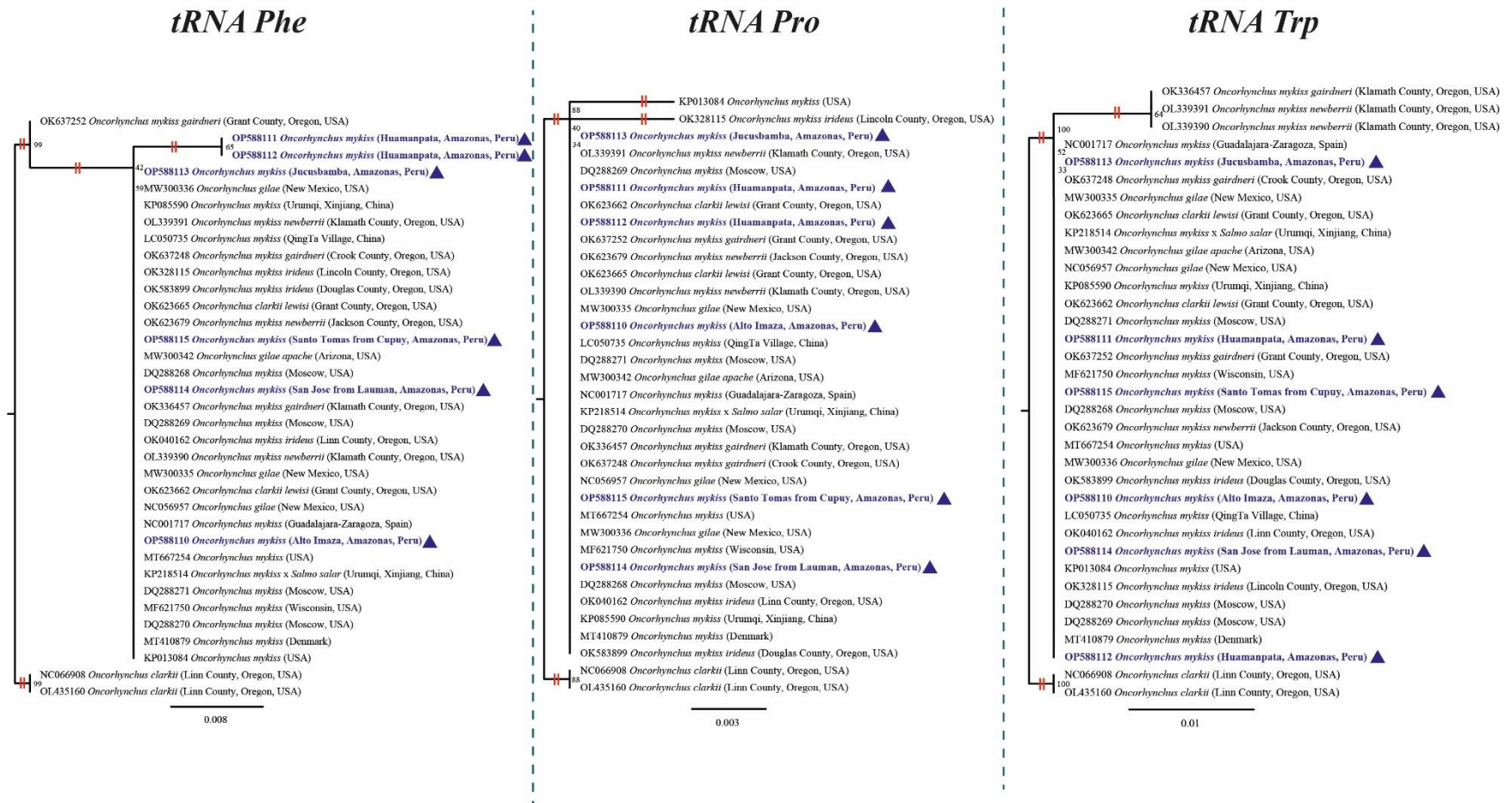


### *tRNA Met*



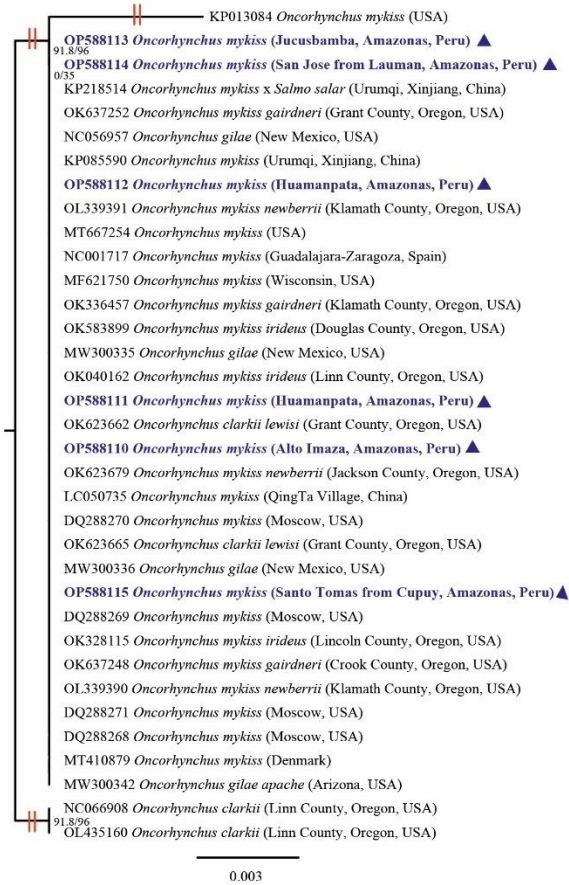
**Figura A8.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *tRNA Leu II*, *tRNA Lys* y *tRNA Met* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.



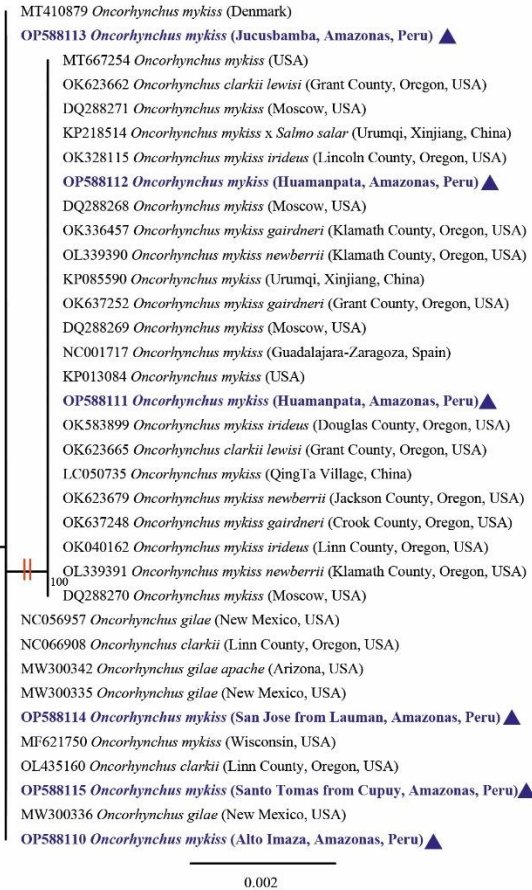


**Figura A9.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *tRNA Phe*, *tRNA Pro* y *tRNA Trp* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

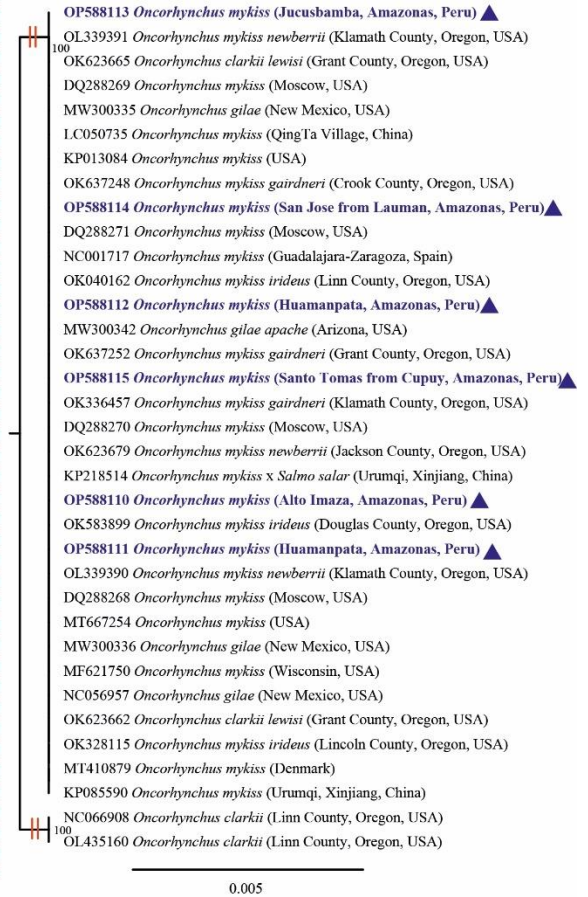
### *tRNA Ser II*



### *tRNA Ile*



### *tRNA Tyr*



**Figura A10.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *tRNA Ser II*, *tRNA Ile* y *tRNA Tyr* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

### *tRNA Val*



0.002

### *tRNA Ala*



0.004

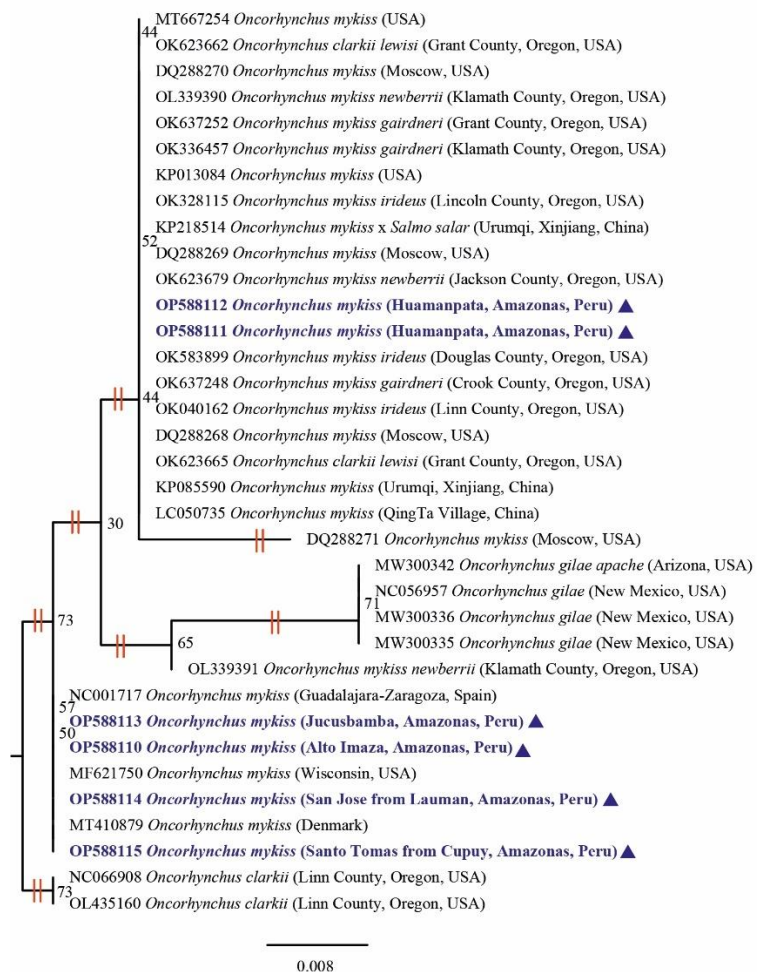
### *tRNA Ser*



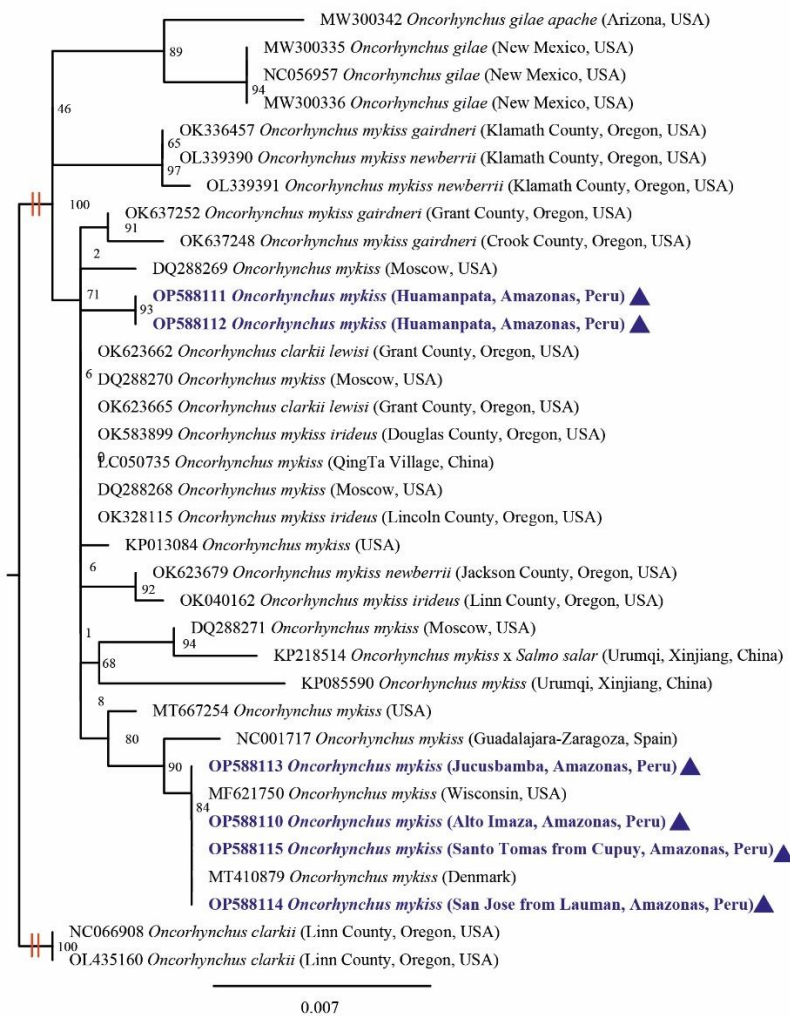
2.0

**Figura A11.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *tRNA Val*, *tRNA Ala* y *tRNA Ser* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

## Origin of L strand replication



## Cytb



**Figura A12.** Filograma de máxima verosimilitud basados en los genes *Origen de replicación de la cadena L* y *Cyt b* de *Oncorhynchus mykiss*. Los números a lo largo de las ramas son soportes de bootstrap de IQ-Tree basados en 1500 repeticiones.

**Tabla A13.** Glosario de términos

<b>Glosario de términos</b>			
<b>Sigla</b>	<b>Nombre</b>	<b>Sigla</b>	<b>Nombre</b>
<i>CDS</i>	Coding Sequence	<i>tRNA-Tyr</i>	ARN de transferencia de Tirosina
<i>tRNA</i>	ARN ribosomal	<i>COI</i>	Subunidad 1 del citocromo c oxidasa
<i>rRNA</i>	ARN de transferencia	<i>tRNA-Ser</i>	ARN de transferencia de Serina
<i>tRNA-Phe</i>	ARN de transferencia de Fenilalanina	<i>tRNA-Asp</i>	ARN de transferencia de ácido Aspártico
<i>12S rRNA</i>	ARN ribosomal 12S	<i>COII</i>	Subunidad 2 del citocromo c oxidasa
<i>16S rRNA</i>	ARN ribosomal 16S	<i>tRNA-Lys</i>	ARN de transferencia de Lisina
<i>NADH</i>	Dinucleótido de nicotinamida y adenina	<i>COIII</i>	Subunidad 3 del citocromo c oxidasa
<i>tRNA-Val</i>	ARN de transferencia de Valina	<i>tRNA-Gly</i>	ARN de transferencia de Glicina
<i>tRNA-Ile</i>	ARN de transferencia de Isoleucina	<i>tRNA-Arg</i>	ARN de transferencia de Arginina
<i>tRNA-Gln</i>	ARN de transferencia de Glutamina	<i>tRNA-His</i>	ARN de transferencia de Histidina
<i>tRNA-Met</i>	ARN de transferencia de Metionina	<i>tRNA-Leu</i>	ARN de transferencia de Leucina
<i>tRNA-Trp</i>	ARN de transferencia de Triptófano	<i>tRNA-Glu</i>	ARN de transferencia de ácido Glutámico
<i>tRNA-Ala</i>	ARN de transferencia de Alanina	<i>Cyt b</i>	Citocromo b-oxido reductasa
<i>tRNA-Asn</i>	ARN de transferencia de Asparragina	<i>tRNA-Thr</i>	ARN de transferencia de Treonina
<i>ORL</i>	Origen de replicación de la cadena L	<i>tRNA-Pro</i>	ARN de transferencia de Prolina
<i>tRNA-Cys</i>	ARN de transferencia de Cisteína		