

Títol del treball:

Estatus de les poblacions de truita comuna al Pirineu

Estudiant: Albert Amer Cid

Grau en Biologia

Correu electrònic: albert.amer.c@gmail.com

Tutor: Dr. José Luís García Marín

Cotutor*:

Empresa / institució: Universitat de Girona

Vistiplau tutor (i cotutor*):

Nom del tutor: Dr. José Luís García Marín

Nom del cotutor*:

Empresa / institució: Universitat de Girona

Correu(s) electrònic(s): joseluis.garcia@udg.edu

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació:

RESUM

Des de el segle passat, les poblacions de truita comuna (*Salmo trutta*) dels rius dels Pirineus catalans han patit grans repoblacions de truites, per tal de mantenir o millorar les poblacions dels rius i afavorir l'activitat de pesca esportiva, amb individus provinents d'Europa central criats en piscifactories. Aquests són genèticament diferents de les poblacions naturals mediterrànies, on els dos grups representen llinatges evolutius divergents. Tals mesures s'han convertit en una seria amenaça per a la conservació de la diversitat genètica nativa degut a processos d'introgressió genètica. Per tal de rectificar aquesta situació i millorar l'estat genètic i prevenir futures hibridacions es van crear refugis genètics en diversos trams dels rius de les diferent conques. Durant el període de 2014 - 2016 la Generalitat de Catalunya va reprendre el monitoratge de l'estat genètic de les poblacions salvatges de *S. trutta*, prèviament realitzat des de 1993 fins a 2006, per tal d'actualitzar la informació sobre el seu estat genètic. Es van utilitzar dos marcadors genètics, un conjunt de 5 microsatèl·lits i el locus LDH-C1*, per a avaluar el grau d'introgressió genètic mitjà en cada tram dels rius mostrejats. En aquest treball s'ha creat una base de dades (amb un total de 73 mostres) amb aquesta informació genètica recol·lectada durant aquest període 2014 – 2016 en les conques del Ter, Llobregat, Segre, Noguera Pallaresa i Noguera Ribagorçana, i s'ha revisat a l'ordre de vedes si els punts mostrejats si s'inclouen en una reserva genètica o no en el moment de la seva extracció. Després de l'anàlisi d'aquestes dades, s'han trobat diferències significatives per al grau d'introgressió genètica entre les diferents conques dels Pirineus catalans. No s'han trobat diferències en el grau d'introgressió dels punts analitzats entre dins i fora de les reserves genètiques. Recomanem l'ampliació i la creació de noves reserves genètiques per a una millora en la conservació de la genètica de les poblacions natives. Es proposa l'ampliació de la reserva genètica de la N. Pallaresa per a tots els punts mostrejats en aquest treball i l'ampliació de la reserva genètica de la conca del Segre per al riu d'Oden, degut a la seu excepcional baix nivell d'introgressió.

RESUMEN

Desde el siglo pasado, las poblaciones de trucha común (*Salmo trutta*) de los ríos de los Pirineos catalanes han sufrido grandes repoblaciones de truchas, para mantener o mejorar las poblaciones de los ríos y favorecer la actividad de pesca deportiva, con individuos provenientes de Europa central criados en piscifactorías. Estos son genéticamente diferentes de las poblaciones naturales mediterráneas, donde los dos grupos representan linajes evolutivos divergentes. Tales medidas se han convertido en una seria amenaza para la conservación de la diversidad genética nativa debido a procesos de introgresión genética. Para rectificar esta situación y mejorar el estado genético y prevenir futuras hibridaciones se crearon refugios genéticos en varios tramos de los ríos de las diferente cuencas. Durante el periodo de 2014 - 2016 la Generalitat de Catalunya retomó la monitorización del estado genético de las poblaciones salvajes de *S. trutta*, previamente realizado desde 1993 hasta 2006, para actualizar la información sobre su estado genético. Se utilizaron dos marcadores genéticos, un conjunto de 5 microsatélites y el locus LDH-C1*, para evaluar el grado de introgresión genética medio en cada tramo de los ríos analizados. En este trabajo se ha creado una base de datos (con un total de 73 muestras) con esta información genética recolectada durante este periodo 2014 - 2016 en las cuencas del Ter, Llobregat, Segre, Noguera Pallaresa y Noguera Ribagorzana, y se ha revisado en los documentos de orden de vedas si los puntos muestreados se incluyen en una reserva genética o no en el momento de su extracción. Después del análisis de estos datos, se han encontrado diferencias significativas en el grado de introgresión genética entre las diferentes cuencas de los Pirineo catalanes. No se han encontrado diferencias en el grado de introgresión de los puntos analizados entre dentro y fuera de las reservas genéticas. Recomendamos la ampliación y la creación de nuevas reservas genéticas para una mejora en la conservación de la genética de las poblaciones nativas. Se propone la ampliación de la reserva genética de la N. Pallaresa para todos los puntos muestreados en este trabajo y la ampliación de la reserva genética de la cuenca del Segre para el río de Oden, debido a su excepcional bajo nivel de introgresión.

ABSTRACT

Since the past century, the brown trout populations (*Salmo trutta*) of the Catalan Pyrenees rivers have suffered from large restocking of trouts, with the aim of maintaining or improving the natural river's populations and to favor the sport fishing activity, with hatchery-reared non-native fish from Central Europe. These are genetically different from the native Mediterranean populations, where both groups represent the two groups represent divergent evolutionary lineages. Such measure have become a serious threat to the conservation of the native genetic diversity due to genetic introgression processes. In order to change this situation, improve the genetic state and to prevent futures hybridizations, brown trout genetic refuges were created in several sections of the rivers of the different basins. Between the period of 2014 - 2016, the Autonomous Catalan Government restarted the monitoring of the genetic estate of the wild populations of *S. trutta*, previously done between 1993 until 2006, in order to actualize the information about their genetic state. Two genetic markers were used, a group of 5 microsatellites and the locus LDH-C1*, as to evaluate the average genetic introgression degree for each section of the rivers sampled. In the present project we created a data base (with a total of 73 samples) with the genetic information collected during this 2014 - 2016 period in the basins of the Ter, Llobregat, Segre, Noguera Pallaresa i Noguera Ribagorçana, and was determined for every sampled point if it was included or not in a genetic refuge at the moment of the extraction. After the analysis of the such data, we found the existence of significant differences for the genetic introgression degree between the different Catalan Pyrenees basins. But differences on the mean introgression degree between analyzed river stretches inside and outside of the genetic refuges were not found. The expansion and creation of new genetic reserves will be essential for an improvement in the conservation of the native genetics populations. We propose the extension of the genetic reserve of N. Pallaresa to include all the sites analyzed in this project and the extension of the genetic reserve of the Segre basin for the Oden River, due to its exceptional low level of introgression.

INDEX

INTRODUCCIÓ	2
OBJECTIVES.....	5
MATERIALS I MÈTODES	6
POBLACIONS ANALITZADES.....	6
ANÀLISIS ESTADÍSTIQUES	7
RESULTATS	9
DETERMINACIÓ DE LES RESERVES GENÈTIQUES I LOCALITZACIÓ DE LES MOSTRES	9
COMPARACIÓ ENTRE ESTIMES DE LDH-C1* I MICROSATEL·LITS	19
COMPARACIONS ENTRE CONQUES I DINS O FORA DE LES RESERVES GENÈTIQUES	20
DISCUSSIÓ	24
IMPLICACIONS ÈTIQUES I DE SOSTENIBILITAT	26
CONCLUSIONS	28
BIBLIOGRAFIA.....	29

INTRODUCCIÓ

La diversitat genètica dins de les espècies manté el seu potencial evolutiu en la resposta d'aquestes davant canvis dinàmics en l'ambient, i per tant la seva supervivència a llarg termini (Araguas et al., 2009). La preservació del patrimoni genètic de les espècies és per tant una peça clau en la gestió tant en espècies explotades com en perill d'extinció (Hurt & Hedrick 2004). Actualment, s'està incrementant dramàticament la pèrdua dels recursos genètics nadius a nivell mundial, entre d'altres motius, això és degut a l'augment de les taxes d'hibridació i introgressió a causa de les translocacions intencionades d'organismes i modificacions de l'hàbitat degut a l'activitat humana (Allendorf et al., 2001).

En les espècies de caça o pesca, gran quantitat d'animals són criats en captivitat derivats de poblacions natives, alienes o híbrides i posteriorment alliberats en gran nombre a la naturalesa amb la intenció d'augmentar les poblacions silvestres explotades (Araguas et al., 2015). Aquests alliberaments han tingut sovint efectes nocius i han portat a l'extinció de moltes poblacions i espècies en molts taxons vegetals i animals (Rhymer et al. 1996). La pèrdua dels recursos genètics nadius a través de la hibridació està particularment estesa en espècies aquàtiques (Moyle & Leidy 1992). La introducció d'espècies exòtiques d'aigua dolça es considera una de les principals amenaces per les espècies de peixos nadius (Cowx, 1999). En particular, els salmònids han patit una gran disminució en la seva biodiversitat a causa de les introduccions d'espècies exòtiques, la sobrepesca i / o l'alliberament d'estocs no nadius (Cowx & Gerdeaux 2004). A més, el canvi climàtic en curs ha augmentat l'estat vulnerable i en perill d'extinció de les espècies de salmònids de tot el món (e.g. Hari et al. 2006; Almodovar et al. 2012).

La truita comuna (*Salmo trutta*) és un peix salmònid d'aigua freda amb una distribució nativa restringida a la zona paleàrtica. Les penínsules Ibèrica, Itàlica i Balcànica són considerades reserves molt importants de la diversitat del complex *S. trutta* i altres espècies de salmònids relacionades (Suarez et al., 2001; Snoj et al., 2002; Susnik et al., 2007). Moltes poblacions d'aquests territoris són el resultat d'un complex procés evolutiu de antics llinatges i adaptacions locals (Sanz et al., 2002; Snoj et al., 2008; Vera et al., 2010). La truita comuna és l'espècie més important de pesca esportiva d'aigua dolça a Espanya. Però, degut a la degradació de l'hàbitat, contaminació de les aigües, construcció de pantans i sobreexplotació

de pesca, gran nombre de poblacions natives estan en perill (Elvira. 1996). A més, es realitzen grans repoblacions de truites per a afavorir l'activitat de pesca esportiva, on les truites comunes utilitzades en aquests programes són genèticament diferents de les poblacions naturals, on els dos grups representen clarament llinatges evolutius divergents (Garcia-Marin et al. 1991, Martinez et al. 1993). Majoritàriament s'utilitzen soques de poblacions de *S. trutta* provinents d'Europa central criades en piscifactories, les quals comprometen la integritat genètica de les poblacions natives (Elvira 1996). Les repoblacions de *Salmo trutta* amb individus de genètica no nativa ha provocat una introgressió genètica amb conseqüències molt negatives per a les poblacions locals, com la reducció de la seva eficàcia biològica (fitness), reducció de la grandària efectiva de la població, pèrdua de diversitat genètica i en alguns casos la extinció de poblacions locals (Ryman et al. 1995; Laikre et al. 2008). Es necessari per tant un monitoratge sobre les conseqüències d'aquests processos de repoblacions mentre duri aquesta demanda per a la complementació per a la pesca recreativa, per tal de avaluar i predir l'estat evolutiu i futur genètic de les poblacions salvatges (Leary et al. 1995).

Per tal de preservar els gens nadius presents en les poblacions de truita dels rius catalans, el 1997 la Generalitat de Catalunya va modificar la seva política de pesca recreativa de la truita per tal de obtenir un equilibri entre la explotació i la conservació dels recursos genètics. Diversos segments de determinats rius van ser designats com a "refugis genètics" basats en l'estat natiu genèticament demostrat de les seves poblacions de *S. trutta*. En tals refugis genètics es van prohibir les repoblacions d'individus des dels centres piscícoles, i es va acompanyar amb un conjunt de mesures per promoure una pesca sostenible, amb una restricció del nombre de captures (Araguas et al. 2008).

El monitoratge genètic de les poblacions de truites dins dels refugis genètics és essencial per tal d'avaluar-ne la seva contribució per tal d'assolir l'objectiu final de preservar els gens nadius de les truites dels Pirineus (Araguas et al. 2017). La detecció de la hibridació amb les truites de repoblació és cada vegada més fàcil a través del desenvolupament de diverses tècniques moleculars en les últimes dues dècades. Malgrat aquestes millores per a recopilar les dades moleculars, la interpretació de la importància evolutiva de la hibridació i determinar el paper de les poblacions híbrides en el desenvolupament de plans de conservació és més difícil del que inicialment es podria concloure (Allendorf et al. 2001). La utilització de marcadors genètics per tal de diferenciar entre les poblacions de *S. trutta* de Europa central i les

poblacions natives Ibèriques ha permès el monitoratge de l'impacte genètic dels alliberaments amb individus d'aquestes poblacions no natives (Vera et al. 2013)

Pel monitoratge dels rius mediterranis s'utilitza dos tipus de marcadors genètics: el locus LDH-C1* i un conjunt de microsatèl·lits (Araguas et al. 2008; Vera et al. 2013). Al locus de la lactat deshidrogenasa-C1 (LDH-C1*), les truites autòctones són homozigòtiques per l'al·lel *100 i les al·lòctones presents en els centres piscícoles ho són per a l'al·lel *90. Així la freqüència relativa de l'al·lel *90 en les poblacions naturals es pot considerar un estimador dels efectes de les repoblacions sobre els patrimonis genètics nadius. Els loci microsatèl·lits són regions de DNA nuclear de entre 80-400 parells de bases de longitud caracteritzats per tenir motius de seqüències curtes (1-5 pb) repartides en tàndem diverses vegades. La taxa de mutació dels microsatèl·lits és molt elevada (valors de 10^{-2} - 10^{-3}) per tant presenten un gran nombre d'al·lels per locus que condueixen elevats nivells de variabilitat poblacional en aquests (Chistiakov et al. 2006). Això fa que siguin uns marcadors moleculars molt útils en l'anàlisi genètic poblacional. Una bateria de 5 d'aquests loci, conjuntament amb els resultats del locus LDH-C1* , donen un sistema d'anàlisi genètic a un cost raonable i efectiu per a determinar l'estructura poblacional i els efectes de les repoblacions amb estocs d'origen al·lòcton als rius catalans (Araguas et al. 2017).

Els resultats dels monitoratges des de 1993 fins a 2006 (Araguas et al. 2008, 2017) indiquen que l'establiment dels refugis genètics no provoca la immediata reducció en l'abundància regional mitjana dels al·lels al·lòctons, encara que la política de refugis genètics si que evita l'augment de la introgressió i pot mantenir les grans tendències en el patró d'estructura de la població. Per tant, és important mantenir el monitoratge i la recol·lecció d'informació genètica de poblacions de truites tant dins de refugis genètics com en àrees adjacents.

Lamentablement aquest estudis s'han fet sobre un grup reduït de localitats (10-13). Des de l'any 2014 la Generalitat de Catalunya esta fent un monitoratge extensiu de l'estat dels patrimonis genètics en les poblacions de truita comuna dels rius de Catalunya, en els que les anàlisis genètiques es realitzen pel Laboratori d'Ictiologia Genètica de la Universitat de Girona.

OBJECTIVES

The results of this monitoring undertaken in years 2014 to 2016 are the basis of the present end-of-degree project that has the following objectives:

1- to compare the average degree of introgression by foreign hatchery stocks between river stretches inside and outside of the genetic refuge zones.

2- to compare the genetic impact on these foreign stocks among major Catalan river basins (Ter River, Llobregat River, Segre River, Noguera Pallaresa River and Noguera Ribagorçan River)

MATERIALS I MÈTODES

POBLACIONS ANALITZADES

L'any 2014 es va tornar a iniciar el control sobre l'estat genètic de les reserves genètiques de *S. trutta* dels rius dels Pirineus catalans. Les últimes avaluacions havien estat realitzades l'any 2006 (Araguas et al. 2008, 2009). La informació genètica d'aquests mostrejors ha estat recollides en un seguit de 4 informes realitzats fins a la data per al Servei de Pesca Continental per part del Laboratori d'Ictiologia Genètica de la Universitat de Girona. En aquests informes s'han analitzat mostres recollides dins dels treballs tècnics per censar les poblacions de truites comunes dels rius dels Pirineus catalans. Aquests mostrejors es van realitzar en 4 campanyes: a la primavera i a finals de l'estiu de 2014, primavera de 2015 i primavera de 2016. De cada exemplar capturat de *S. trutta* es va rebre una petita mostra de teixit d'aleta adiposa al Laboratori d'Ictiologia Genètica (LIG) de la Universitat de Girona (UdG) on es va realitzar una extracció del DNA seguint el procediment Chelex-400 habitual en el LIG per a mostres de truita comuna (Sanz et al. 2009).

Per tal de determinar el grau d'introgressió de les diferents poblacions mostrejades, es va utilitzar una bateria de 5 loci microsatèl·lits (*Str73*, *Ssa85*, *SsoSL438*, *Str591INRA* i *SsHaelll14.20*) per a la caracterització de les mostres dels exemplars rebuts. Aquests 5 loci s'analitzen en una única reacció de PCR múltiple. Mitjançant l'anàlisi bayesià incorporat en el programari STRUCTURE i utilitzant una mostra de referència de la piscifactoria de Bagà es va determinar la naturalesa nativa o no de cada exemplar (Sanz et al, 2009) i es va estimar la proporció mitjana del genoma domèstic en cada punt analitzat.

L'interpretació dels resultats individuals en aquests informes, es realitzà segons els criteris següents:

- Valors inferiors a 5% correspon a un individu natiu
- Valors al voltant de 25% correspon a híbrids de segona generació (per creuament d'un híbrid de primera generació amb un exemplar natiu)
- Valors al voltant 50% correspon a individus de primera generació
- Valors superiors a 50% indiquen individus de repoblació

Degut a que les poblacions van ser repoblades fa temps, gran part dels exemplars són híbrids en un cert grau. Per això els informes inclouen addicionalment un anàlisi del locus LDH-C1** . La freqüència relativa de l'al·lel *90 (corresponent al llinatge atlàntic) dins de les poblacions es també un estimador dels efectes de les repoblacions sobre el patrimoni genètic natiu (Araguas et al. 2008).

En aquest treball fi de grau, es va realitzar com a primer pas una base de dades amb aquesta informació genètica dels punts analitzats, alhora que s'han revisat els documents d'Ordre de Vedes del Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural de la Generalitat de Catalunya disponibles dels anys 2014, 2015 i 2016, per determinar sí durant l'any de la obtenció de la mostra, els punts estaven inclosos o no dins d'una reserva genètica. Els límits de les reserves genètiques estan indicats dins de l'Annex II de cada Ordre de Veda de cada respectiu any.

Per a la construcció d'aquesta base de dades es va decidir ordenar cada punt mostrejat en una taula (Taula 1) que inclou la **Conca** principal on s'ha extret la mostra, el **Riu** o afluent on s'ha realitzat el mostreig, la **Localitat o Tram** on s'ha fet l'extracció exactament , les Coordenades **UTM** de la localització de cada mostra (no incloses en la taula 1), la **Data** del mostreig, la **Proporció mitjana genoma domèstic** a partir de l'anàlisi de microsatèl·lits, el grau d'**Introgressió** a partir del locus LDH-C1** i si s'inclou dins d'alguna **Reserva Genètica** o no en el moment de l'extracció. En aquesta revisió dels quatre informes es van ometre totes les mostres amb menys de 10 individus. Es van agrupar els rius mostrejats inicialment en una classificació general de les 5 conques principals dels Pirineus Catalans:

- *Conca del Ter*: incloent Ter i Fresser
- *Conca del Llobregat*: incloent el Llobregat, Aigua de Valls i el Cardener
- *Conca del Segre*
- *Conca de la Noguera Pallaresa*: incloent el Flamicell
- *Conca de la Noguera Ribagorçana*

ANÀLISIS ESTADÍSTIQUES

En primer lloc es comprovarà si existeix una correlació entre la proporció mitjana del genoma domèstic estimat per microsatèl·lits i el grau mitjà d'introgressió per el locus LDH-C1* . S'utilitzarà un test de **correlació de Pearson**, però en el cas que les dades fossin no

paramètriques s'utilitzarà una prova de **rangs de Spearman**.

A partir d'aquesta base de dades s'ha calculat el grau mitjà d'introgressió per a cada conca, i dins i fora de les reserves genètiques, i s'han fet comparacions entre conques i entre dins i fora de les reserves. Aquests anàlisis estadístics s'han fet mitjançant el programa R-Comander.

Per determinar si existeix alguna interacció entre les dues variables categòriques (Conca i Reserva genètica) respecte cada una de les dues variables numèriques (Proporció mitjana del genoma domèstic estimada pels microsatèl·lits i pel locus LDH-C1*) es realitza en cada cas un **ANOVA bifactorial**.

Per tal de poder validar l' interpretació de les nostres ANOVES bifactorials, serà necessari primer comprovar si les dades estan parametritzades, és a dir, si es compleixen els **supòsits de la normalitat i de la homoscedasticitat**.

Per a la comprovació de la normalitat, s'utilitzarà un test de Shapiro-Wilk i per a la comprovació de la homoscedasticitat, s'utilitzarà un test de Levene. En cas que no es complissin aquests supòsits , es transformaran les dades utilitzant la funció logaritme. Si tot i havent transformat les dades segueixen sense complir-se els dos supòsits, s'analitzaran les dades a partir d'un test no paramètric de **Kruskall-Wallis** en comparacions separades per Conca i dins o fora de Reserva Genètica

Totes les anàlisis estadístiques es realitzaran mitjançant el programa R-Comander, i utilitzant un nivell de significació del 95%.

RESULTATS

DETERMINACIÓ DE LES RESERVES GENÈTIQUES I LOCALITZACIÓ DE LES MOSTRES

En total s'han revisat 73 mostres (Taula 1) recollides pels agents de l'àrea de Pesca Continental de la Generalitat de Catalunya durant els censos de les poblacions de truites als rius catalans entre 2014 i 2016.

Taula 1. Punts mostrejats durant el període 2014 – 2016, introgressió genètica i localització en reserva genètica

Conca	Riu	Localitat / Tram	Data	Microsatèl·lits %	LDH-C1* %	Reserva Genètica
Ter	Ritort	Molló	15/07/2015	3,7	20	Si
Ter	Segadell (Freser)	Ribes de Freser	14/07/2015	13,9	28	Si
Ter	Freser	Confluència Núria	26/03/2014	40	31,9	Si
Ter	Freser	Queralbs	03/06/2014	34	26,4	Si
Ter	Freser	Ribes de Freser	26/03/2014	11	13,6	Si
Ter	Rigat (Freser)	Planoles	03/06/2014	4	12,9	Si
Ter	Segadell (Freser)	Pardines	03/06/2014	51	100	Si
Ter	Freser	Campdevánol	oct-16	11	30	No
Ter	Ribera de Catllar	Ribera de Catllar	oct-16	1,9	1,7	Si
Ter	Ribera de Feitús	Ribera de Feitús	oct-16	13,2	20	Si
Ter	Riera d'Abella	Riera d'Abella	oct-16	24,6	48,3	Si
Ter	Ter	Vallter	01/10/2015	1,4	0	Si
Ter	Ter	Setecases	15/07/2015	1,8	0	Si
Ter	Ter	Llanars	15/07/2015	3,1	6,7	Si
Ter	Ter	Sant Pau Segúries	14/07/2015	5,4	8,3	No
Llobregat	Cardener	Aigua d'Ora (Castellar del Riu- Llinars)	oct-16	2,3	11,7	No
Llobregat	Cardener	Ratavilla	15/07/2015	33,2	56,7	No
Llobregat	Aigua de Valls	Gósol	22/05/2014	46	16,7	Si
Llobregat	Aigua de Valls	Molí de la Corriu	22/05/2014	33	11,5	Si
Llobregat	Aigua de Valls	Guixers	22/05/2014	46	37,2	Si
Segre	Riu Fred	R. Salada	oct-16	6,3	3,3	No
Segre	Riu d'Oden	R. Salada	oct-16	1,6	1,7	No
Segre	Segre	Prullans	oct-16	7,4	21,7	No
Segre	Segre	Isóvol	oct-16	5,3	6,6	No
Segre	Riu de Llawanera	Vilallobent	oct-16	3,7	8,3	Si

Segre	Segre	Queixans	oct-16	2,7	5	Si
Segre	Riu Durán	Meranges	oct-16	38,2	6,3	Si
Segre	Riu Durán	Olopte	oct-16	2,9	3,3	Si
Segre	Riu d'Aravó	Querol /Sanaja	oct-16	3,1	10	Si
N. Pallaresa	Flamicell	Aiguabella	01/07/2014	4	1,4	Si
N. Pallaresa	Flamicell	Senterada	01/07/2014	3	1,7	No
N. Pallaresa	Ríquerna (Flamicell)	Capdella	01/07/2014	4	5,3	Si
N. Pallaresa	Bòssia (Flamicell)	Sarroca de Bellera	02/07/2014	4	0	No
N. Pallaresa	Flamicell	La Plana de Mont-Ros	02/07/2014	2	1,4	No
N. Pallaresa	Flamicell	Erinyà	02/07/2014	6	1,3	No
N. Pallaresa	Valiri (Flamicell)	Avellanós	02/07/2014	1	2,3	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Riu de Manyanet	04/08/2014	1,8	0	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Estany de Ribanegra	14/08/2014	1,5	0	Si
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Estany de Francí i Estany petit	14/08/2014	2,3	0	Si
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Canal de Sossís	01/09/2014	5,4	0,06	No
N. Pallaresa	N. Cardós	Lladorre	21/07/2015	4,6	0	No
N. Pallaresa	Riu de Lladorre	Pla de Bohavi	21/07/2015	3	1,7	Si
N. Pallaresa	N. Cardós	Ainet de Cardós	22/07/2015	4,6	3,3	No
N. Pallaresa	N. Vallferrera	Ermita (Alins)	22/07/2015	2,5	0	Si
N. Pallaresa	Riu de Tavascan	Quanca	22/07/2015	3,6	16,7	Si
N. Pallaresa	Riu d'Estaon	Estaon	22/07/2015	2,4	0	Si
N. Pallaresa	Escrita	Espot	23/07/2015	3,4	3,4	Si
N. Pallaresa	N. Tor	Norís	23/07/2015	2,9	0	Si
N. Pallaresa	N. Vallferrera	Ainet de Besan	23/07/2015	2,9	0	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Alós d'Isil	24/07/2015	4,5	0	Si
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Bonabé	24/07/2015	3,9	0	Si
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Montgarri	24/07/2015	3,9	0	Si
N. Pallaresa	N. Cardós	Ribera de Cardós	oct-16	3,4	1,6	No
N. Pallaresa	N. Cardós	Tavascan	oct-16	3,2	1,7	Si
N. Pallaresa	N. Cardós	Tírvia	oct-16	3,2	0	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Borén	oct-16	4,8	0	Si
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Bonaigua	oct-16	5,3	16,7	Si
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Escaló	oct-16	4,7	1,7	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Rialp	oct-16	3,1	0	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Sort	oct-16	3,4	0	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Gerri de la Sal	oct-16	3,7	0	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Baro	oct-16	3,6	3,3	No
N. Pallaresa	N. Pallaresa	Sossís	oct-16	4,7	5	No
N. Pallaresa	Riu de Caregue	Beraní	oct-16	4,8	5,2	No
N. Pallaresa	Riu de Pomano	Saurí	oct-16	7,5	10	No

N. Pallaresa	Riu de Santa Magdalena	Romadriu	oct-16	6,2	11,7	No
N. Pallaresa	Riu d'Unarre	Cerbi	oct-16	2,3	0	Si
N. Pallaresa	Riu del Conven	Erta/Gironella	oct-16	2,7	0	No
N. Ribagorçana	N. de Tor	Cardet	oct-16	5,1	11,7	No
N. Ribagorçana	N. de Tor	Castilló de Tor	oct-16	5,2	13,3	No
N. Ribagorçana	Erta	Erta	29/07/2015	1,5	0	Si
N. Ribagorçana	N. de Tor	Caldes de Bohí (Pont Toirigo)	29/07/2015	12,3	30	No
N. Ribagorçana	Sant Nicolau	Limit Parc Nacional	29/07/2015	4,4	30	Si

Per a facilitar la visualització de la localització de les mostres s'han introduït cada una de les seves coordenades UTM al programa Google Earth. Obtenint així una visió més general i dinàmica de les conques analitzades i tots els punts mostrejats (Figura 1). S'ha decidit fer servir el programa Google Earth degut a la seva accessibilitat per a tothom i poder així oferir aquest mapa que conté tots els punts mostrejats a tots els lectors d'aquest treball. Es pot visualitzar en la direcció de Google Maps següent:

https://drive.google.com/open?id=12HTKnDGOy_lPpRfGQsIRke_xS84&usp=sharing

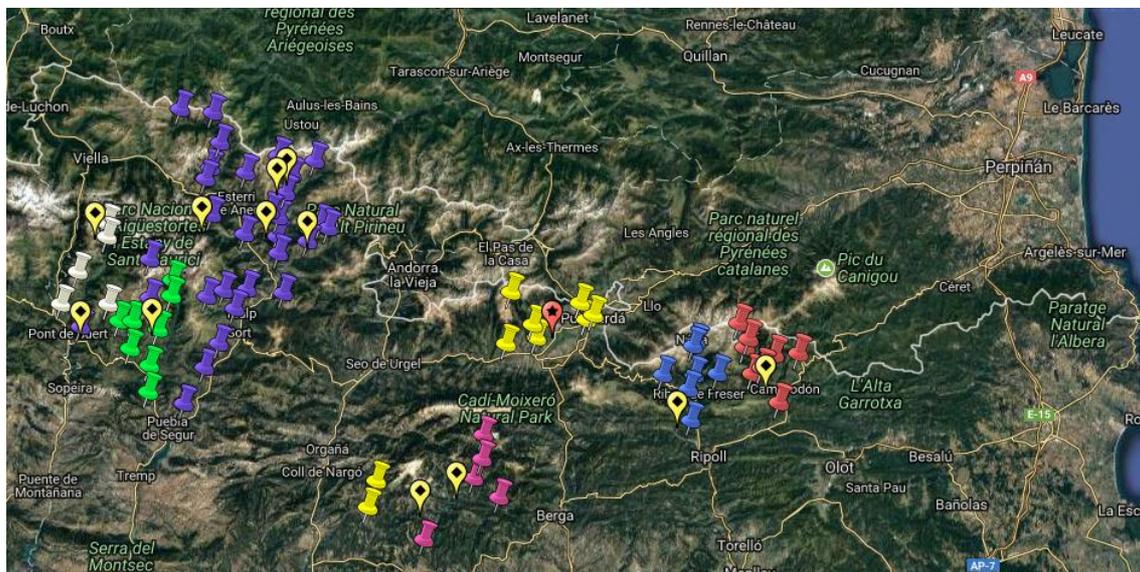


Figura 1. Visió satèl·lit general de tots els punts mostrejats dividits per color per cada conca: Conca del Ter - Vermell (Ter) i Blau (Freser), Conca del Llobregat - Rosa, Conca del Segre - Groc, Conca de la N. Pallaresa - Morat (N. Pallaresa) i Verd (Flamicell) i Conca de la N. Ribagorçana - Blanc. Disponible per a la visualització online i descarrega dels lectors.

A continuació es detalla per conques la ubicació de les Reserves Genètiques i les mostres estudiades.

Conca del Ter:

Les Ordres de Veda consultades indiquen dos reserves genètiques, una a la part alta del Ter i l'altra al Fresser. En el Ter es determina la Reserva Genètica des de l'aiguabarreig amb el riu Ritort (inclòs el Ritort), a Camprodón. Per tant només la mostra presa a Sant Pau de Segúries queda fora de la reserva genètica (Figura 2). Al Fresser la reserva comença des de la resclosa a 75 m aigües avall del pont de la Cabreta proper a Campdevànol. En aquest riu també només una mostra, extreta a Campdevànol esta fora de la reserva genètica, doncs es troba per sota del pont de la Cabreta. Totes les demás mostres tindran consideració com a espai de reserva genètica (Figura 3). En el document d'ordre de vedes del 2016 s'exclou el riu Segadell de la reserva genètica, però degut a que les nostres mostres van ser extretes el 2014 i 2015 aquestes seguien incloses dins de les reserves genètiques.



Figura 2. Punts mostrejats de la Conca del Ter del Riu Ter, Riera d'Abella, Ribera de Catllar, Ribera de Feitús i Riu Ritort inclosos dins de la reserva genètica (marcats en verd) i exclòs de la reserva genètica (marcats en vermell), delimitat per l'aiguabarreig del Riu Ritort.



Figura 3. Punts mostrejats de la Conca del Ter del Riu Freser, Riu Segadell i Riu Rigat inclosos dins de la reserva genètica (marcats en verd) i exclosos de la reserva genètica (marcats en vermell), delimitat pel Pont de la Cabreta

Conca del Llobregat

No hi ha hagut cap canvi en les reserves genètiques per a la conca del Llobregat durant el període 2014 - 2016. S'ha mostregat principalment dos rius d'aquesta conca, l'Aigua de Valls i el Cardener. Segons els documents d'ordre de vedes per aquest període s'indica l'inici de la reserva genètica de l'Aigua de Valls a la cua de l'embassament de la Llosa del Cavall. Les e mostres recollides d'Aigua de Valls es troben per sobre d'aquest punt i per tant incloses dins de la reserva genètica. Per al Cardener el límit de la reserva genètica es troba al pont de la carretera LV-4241 a la confluència de l'Aigua d'Ora i l'Aigua de Llinars. Les dues mostres extrems del Cardener queden per tant fora de la reserva genètica (Figura 4).



Figura 4. Punts mostrejats de la Conca del Llobregat del Riu Cardener i Aigua de inclosos dins de la reserva genètica (marcats en verd) i exclosos de la reserva genètica (marcats en vermell), delimitat per la confluència de l'Aigua d'Ora i 'Aigua de Llinars, i la cua de l'embassament de la Llosa del Cavall.

Conca del Segre

No hi ha hagut cap canvi en les reserves genètiques per a la conca del Segre durant el període 2014 - 2016. I tots els mostrejos es van realitzar durant el 2016. El riu principal de la conca, el Segre, es limita la seva reserva genètica aigües amunt de l'aiguabarreig amb el riu d'Alp segons els documents d'ordre de vedes. Els 4 punts per sota de l'aiguabarreig del riu d'Alps queden fora de la reserva genètica, 2 d'ells molt allunyats d'aquest punt (Figura 6) i els 3 punts mostrejats per sobre d'aquest queden dins de la reserva (Figura 5). Per al Riu Duran tota la conca està considerada reserva genètica, exclosos els estanys, per tan les 2 mostres extretes en aquest riu queden incloses dins de la reserva genètica (Figura 5).

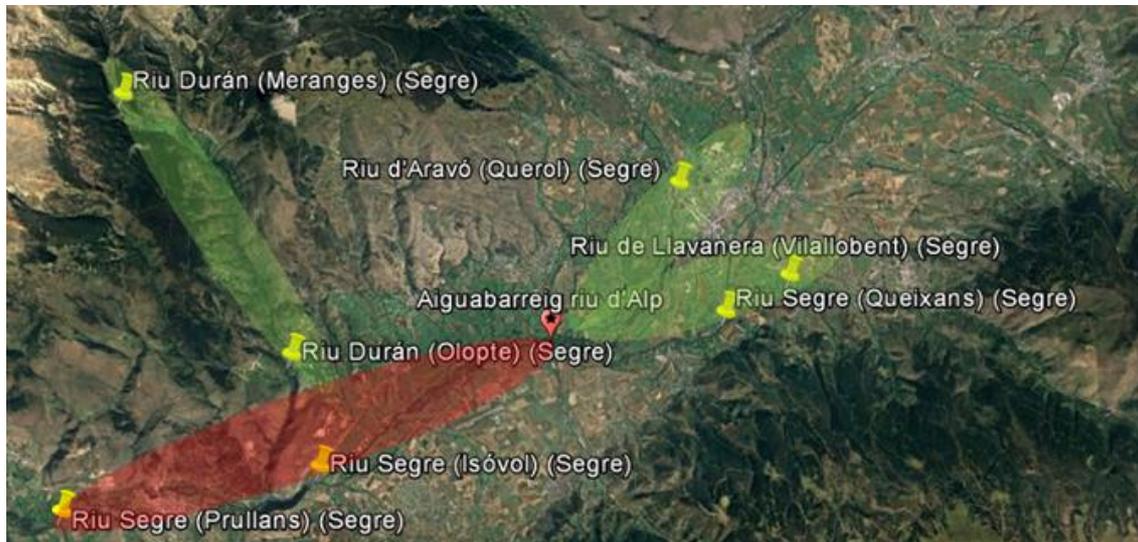


Figura 5. Punts mostrejats de la Conca del Segre del Riu Durán, Riu de Llavanera, Riu d'Aravó i Riu Segre inclosos dins de la reserva genètica (marcats en verd) i exclosos de la reserva genètica (marcats en vermell), delimitat pel l'aiguabarreig amb el riu d'Alp i tota la conca del Riu Durán.

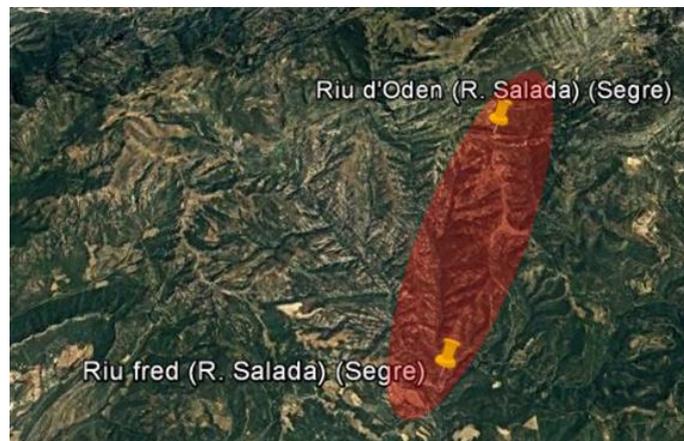


Figura 6. Punts mostrejats de la Conca del Segre del Riu d'Oden i Riu Fred, no inclosos en la reserva genètica (marcats en vermell).

Conca de la Noguera Pallaresa

La Noguera Pallaresa és una conca de grans dimensions. En la qual s'han mostrejat gran quantitat de punts. I a més, hi han hagut modificacions significatives entre els límits de les reserves genètiques durant el període 2014-2016. Això ha augmentat la complexitat de la determinació de les reserves genètiques.

Totes les mostres del Riu Flamicell van ser extretes durant el 2014. Per tant tot i haver algun

canvi en les reserves genètiques durant l'any 2015 i 2016, s'utilitzarà l'àrea delimitada per l'Ordre de Vedes del 2014. Aquesta delimita la reserva genètica a aigües amunt de la central de Molinos. I se n'exclou l'embassament de Sallente i la resta d'estanys llevat del de Francí, Francí de Dalt, Ribanegra i Travessan. Només les dos mostres extreteres per sobre de la central de Molinos i les dos mostres dels estanys de Ribanegra i Francí es troben dins dels límits de l'àrea de reserva genètica (Figura 7).

Per al riu Escrita no hi han hagut modificacions en els ordres de veda durant el període 2014-2016. Aquesta reserva genètica comença a aigües amunt del poble d'Espot (riu Peguera inclòs) i se n'exclouen els estanys. La mostra del Riu Escrita es troba just per sobre del poble d'Espot que delimita l'àrea de la reserva genètica i per tant està inclosa dins de la reserva. En canvi la mostra de Escaló es troba per sota d'aquest i es troba exclosa (Figura 8).

En la conca de la Noguera de Cardós o Noguera de Lladorre, hi han hagut alguns canvis en els límits de la reserva genètica de la conca durant l'any 2016. Per a les mostres extreteres durant el 2014 i 2015 es delimita la reserva genètica aigües amunt de l'aiguabarreig amb el barranc de Gallimorta o ribera de Boldís (barranc de Gallimorta o ribera de Boldís inclòs). Se n'exclouen els estanys. I el Riu Estaon s'inclou tota la seva conca (excepte estanys). La mostra del Riu Estaon està per tant inclosa dins de la reserva genètica. Els punts mostrejats a Lladorre i Ainet de Cardós es troben sota de l'aiguabarreig amb la ribera de Boldís, per tant no estan dins de la reserva genètica. En canvi la mostra del Pla de Bohaví si que es troba per sobre d'aquest punt (Figura 8). Les mostres extreteres al 2016 es delimita la seva reserva genètica aigües amunt amb la confluència amb el Riu Estaon (aquest inclòs). S'exclouen els llacs i embassaments de Graus i Tavascan. Les mostres de la Ribera de Cardós i a Tírvia estan per sota de la confluència amb el Riu Estaon, no es consideren reserves genètiques. En canvi la mostra de Tavascan si que està per sobre d'aquesta i es pot considerar reserva genètica. Degut a la modificació de l'ordre de veda de l'any 2016 tot i que la mostra extreta a Tavascan es consideraria fora de la reserva en el 2014 i 2015, en el 2016 si que es troba inclosa i es quan es va fer el mostreig d'aquesta (Figura 8).

La reserva genètica del riu Tavascan s'inicia aigües amunt de la cua de l'embassament de Graus. Se n'exclouen els estanys. La mostra del Riu de Tavascan es troba per sobre del l'embassament de Graus i per tant es troba dins de la reserva genètica (Figura 8).

La conca de la Noguera de Vallferrera s'inicia la seva reserva genètica aigües amunt del nucli urbà d'Alins, a la confluència entre la Noguera de Tor i la Noguera de Vallferrera. Se n'exclouen els estanys. La mostra de Ainet de Besan es troba per sota de la confluència entre la Noguera de Tor i la Noguera de Vallferrera per tant fora de la reserva genètica. Les mostres de Noris i de l'ermita d'Alins si que es troben per sobre d'aquest punt i per tant s'inclouen dins de la reserva (Figura 8).

De les 10 mostres extretes en la zona per sota de la localitat de Llavorsí i per sobre del canal de Sossís, cap d'aquestes queda inclosa en una reserva genètica. Pel que fa la part més al Nord de la conca, a partir de la localitat de Esterri d'Àneu, queden les 6 mostres extretes en aquesta zona queden integrades dins de la reserva genètica.

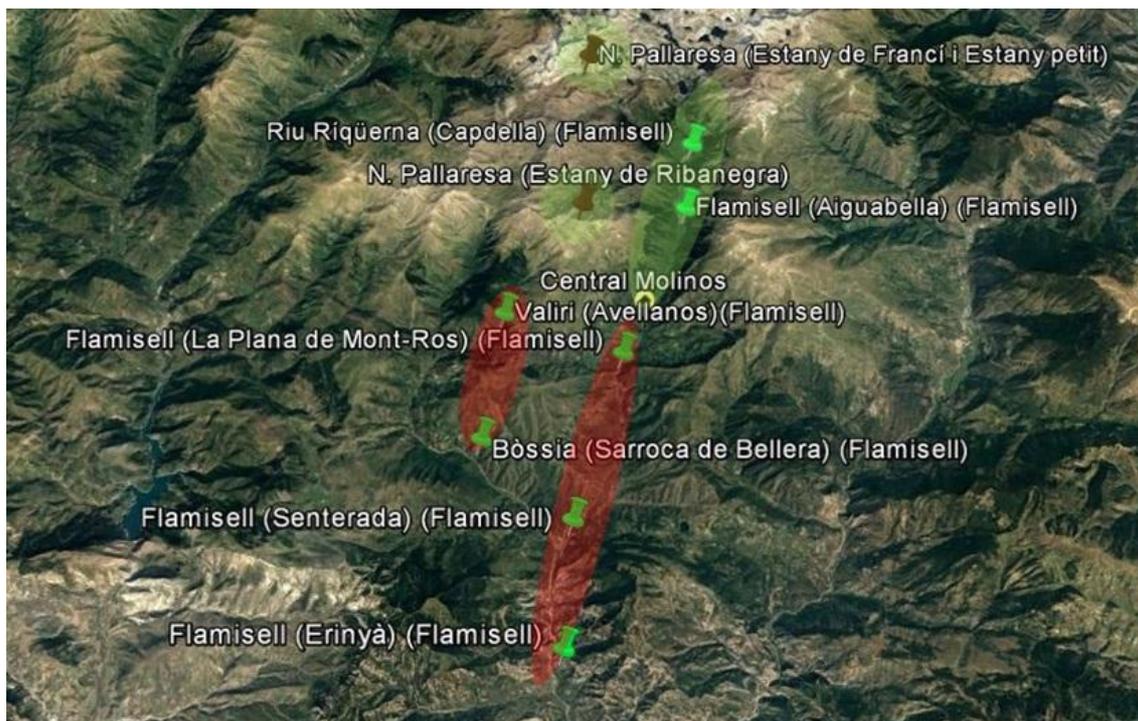


Figura 7. Punts mostrejats de la Conca de la Noguera Pallaresa del Riu Flamicell, Riu Bòssia, Riu Requerna i l'Estany de Francí, Estany Petit, i Estany de Ribanegra inclosos dins de la reserva genètica (marcats en verd) i exclosos de la reserva genètica (marcats en vermell), delimitat per la central de Molinos.



Figura 8. Punts mostrejats de la Conca de la Noguera Pallaresa del Riu de Tavascan, Riu Lladorre, N. Cardós, Riu d'Estaón, N. Vallferrera i N. Pallaresa inclosos dins de la reserva genètica (marcats en verd) i exclosos de la reserva genètica (marcats en vermell), delimitat per la confluència de la Ribera de Boldís, la confluència entre la N. de Tor i la N. Vallferrera, l'aiguabarreig del Riu Estaón i el poble d'Espot.

Conca de la Noguera Ribagorçana

No hi ha hagut cap canvi en les reserves genètiques per a la Noguera Ribagorçana durant el període 2014 - 2016. El riu principal de la conca és la Noguera de Tor. Aquest delimita la seva reserva genètica aigües amunt del pont del balneari de Caldes de Boí (exclòs l'embassament de Cavallers). Totes les mostres de la Noguera de Tor van ser extretes per sota del pont del balneari de Caldes de Boí i per tant queden fora de la reserva genètica. Per al Riu de Sant Nicolau l'inici del Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici, a la confluència amb el barranc d'Aigüissi delimita la reserva genètica. La mostra de Sant Nicolau es troba a l'inici del Parc Nacional d'Aigüestortes i queda inclosa dins de la reserva genètica. Tota la conca del Barranc de Massivert i riu del port d'Erta tindrà consideració de reserva genètica. El mostreig al riu Erta es va realitzar per sobre del riu del port d'Erta i està inclosa dins de la reserva genètica (Figura 9).

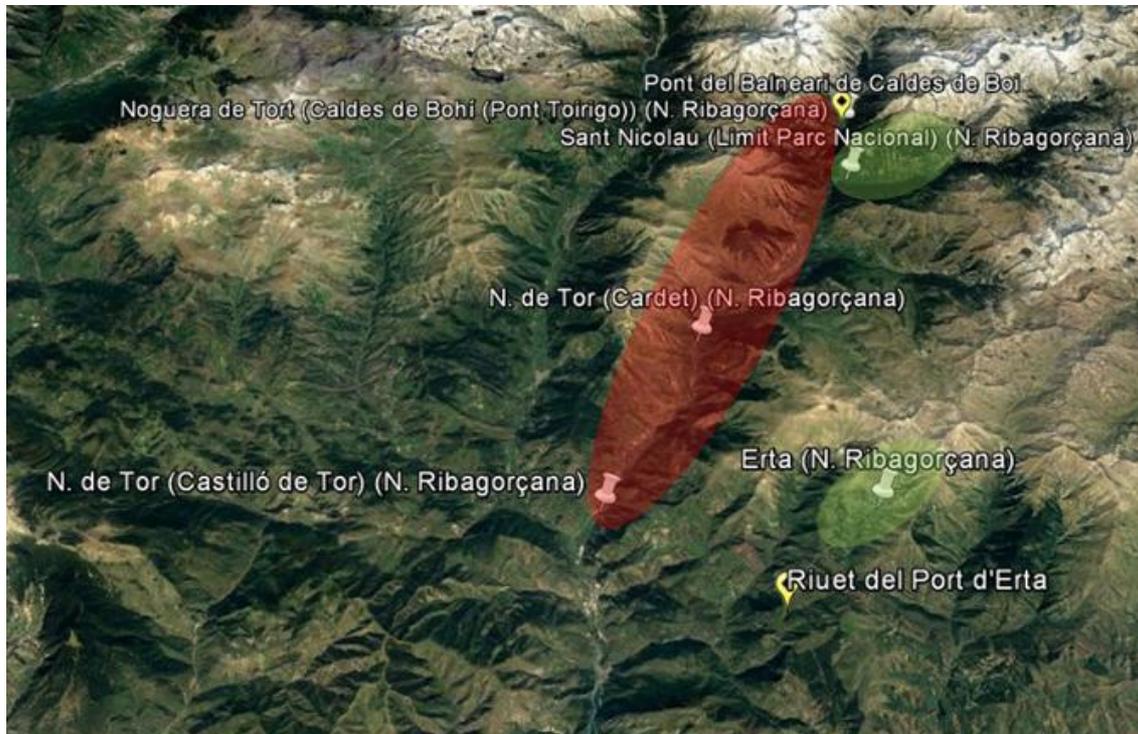


Figura 9. Punts mostrejats de la Conca de la Noguera Ribagorçana dels inclosos dins de la reserva genètica (marcats en verd) i exclosos de la reserva genètica (marcats en vermell), delimitat pel pont del balneari de Caldes de Boí, el riuet del port d'Erta i per l'inici del Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici.

COMPARACIÓ ENTRE ESTIMES DE LDH-C1* I MICROSATEL·LITS

Els valors obtinguts sobre el grau d'introgressió poblacional a partir de la LDH-C1* i els microsatèl·lits no es coincideixen (Taula 1). Sovint, quan la LDH-C1* no detecta l'al·lel forani *90, els microsatèl·lits indiquen una introgressió molt baixa (per sota del 5%), fruit de la metodologia d'anàlisi amb aquest protocol indicada per Sanz et al (2009), que força al programa STRUCTURE a suggerir sempre per cada individu analitzat una proporció pels dos grups poblacionals indicats a l'anàlisi, el natiu i el de repoblació (Figura 10).

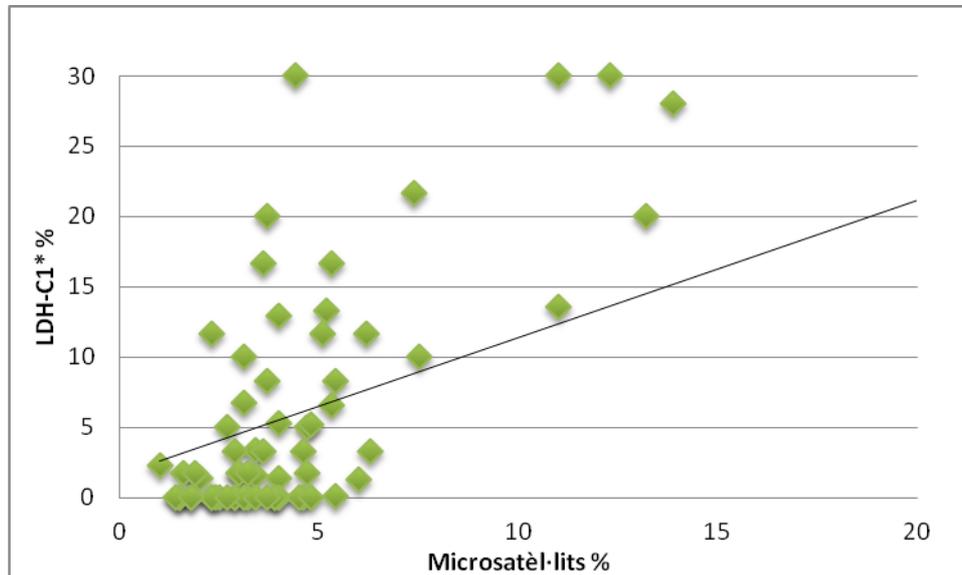


Figura 10. Correlació entre les dades obtingudes per Microsatèl·lits i LDH, limitant els eixos per a ampliar la zona on es concentren la major part dels punts.

Pel conjunt de valors obtinguts (Figura 10) s'ha detectat una correlació significativa d'aquestes dues estimes (*Spearman's rank correlation* $S = 20825$, $P \ll 0.001$). S'ha comprovat mitjançant una prova de rangs de Spearman ja que com s'indica a continuació les dues variables (introgressió estimada per LDH-C1* i per microsatèl·lits) no semblen seguir el criteri de Normalitat.

COMPARACIONS ENTRE CONQUES I DINS O FORA DE LES RESERVES GENÈTIQUES

Pels trams de rius analitzats dins de les reserves genètiques la conca del Ter presenta el valor més alt segons la mitjana de la introgressió en el locus LDH-C1* (23.808%), tot i que en aquesta conca s'observa també una desviació molt elevada. Segons els loci microsatèl·lits serien les reserves genètiques del Llobregat on es detecten els impactes més elevats de les repoblacions (41,667%). En els trams analitzats fora de les reserves de les genètiques, també la conca del Llobregat presenta els valors més elevats en les dues metodologies, LDH-C1* i microsatèl·lits. La Conca de la Noguera Pallaresa es la que presenta les menors estimacions d'efectes de la repoblacions, tant dins o fora de les reserves genètiques i amb les dues metodologies (Taula 2).

Taula 2. Estimes d' Introgressió mitjana (SD) en els rius del Pirineu Català.

	Dins Reserva Genètica %		Fora Reserva Genètica %	
	LDH-C1*	Microsatèl·lits	LDH-C1*	Microsatèl·lits
Ter	23,808 (±26, 87)	15,662 (±16,6)	19,15 (±15,34)	8,2 (±3,96)
Llobregat	21,8 (±13,59)	41,667 (±7,5)	34,2 (±31,81)	17,75 (±21,85)
Segre	6,58 (±2,64)	10,12 (±15,7)	8,325 (±9,15)	5,15 (±2,51)
N. Ribagorçana	15 (±21,21)	2,95 (±4,13)	18,333 (±10,13)	7,533 (±2,05)
N. Pallaresa	2,759 (±5,45)	3,382 (±1,01)	2,207 (±3,24)	3,923 (±1,53)

Tant les anàlisi del supòsit de Normalitat -com les de Homoscedasticitat- sobre les dades originals o les transformacions logarítmiques van donar resultats significatius (Taula 3), i per aquests motius es va decidir aplicar els tests no paramètrics.

Taula 3. Resultats del test de Shapiro-Wilk (S-W, Normalitat) i Levene (Homoscedasticitat)

TEST	LDH	MICROSATÈL·LITS
Normalitat (Test de Shapiro-Wilk)	W: 0,64265 P<< 0,001	W: 0,57082 P<<0,001
Homoscedasticitat (Test de Levene)	F: 3,1914 P= 0,003	F: 4,1083 P<0,001

Per tant s'utilitza un test no paramètric de Kruskal-Wallis. Aquest test permet analitzar cada variable categòrica per separat respecte la variable numèrica, però no podem obtenir informació sobre la interacció de les dos variables categòriques (Conca i Reserva).

Aquest test va detectar diferències significatives entre Conques en relació al grau d'introgressió pel locus LDH-C1* (*Kruskal-Wallis chi-squared = 32.011, df = 4, P <<0.001*). Això indica que una o més conques presenten un grau d' introgressió diferent a la resta. El diagrama de caixes suggereix baixa introgressió a la Noguera Pallaresa i al Segre, amb valors més alts a la resta de conques (Figura 11).

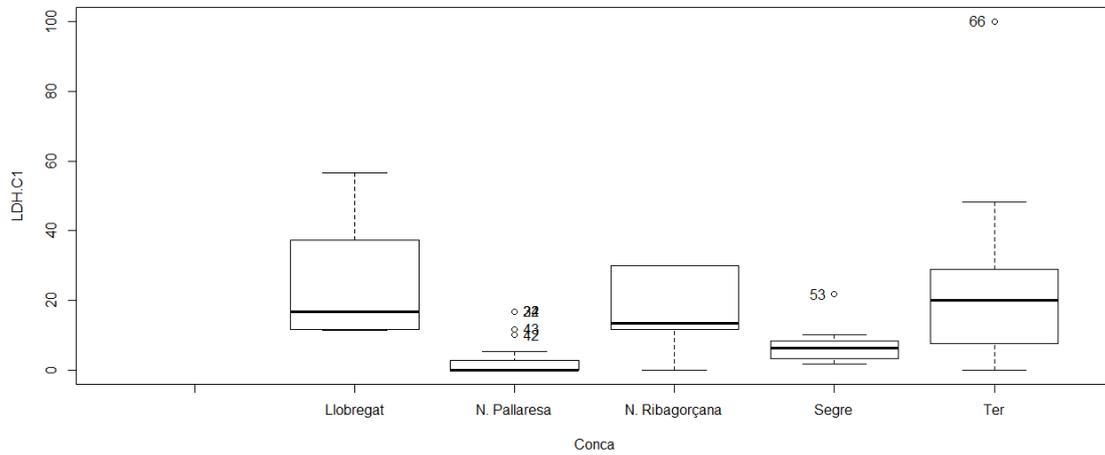


Figura 11. Diagrama de caixes per al valor mitjà d'introgressió per al locus LDH-C1* per conques.

En relació a les estimes amb els microsatèl·lits, també es va obtenir un resultat significatiu (*Kruskal-Wallis chi-squared* = 11.104, *df* = 4, *P* = 0.02542), que segurament representen les altes introgressions obtingudes a la Conca del Llobregat (Figura 12).

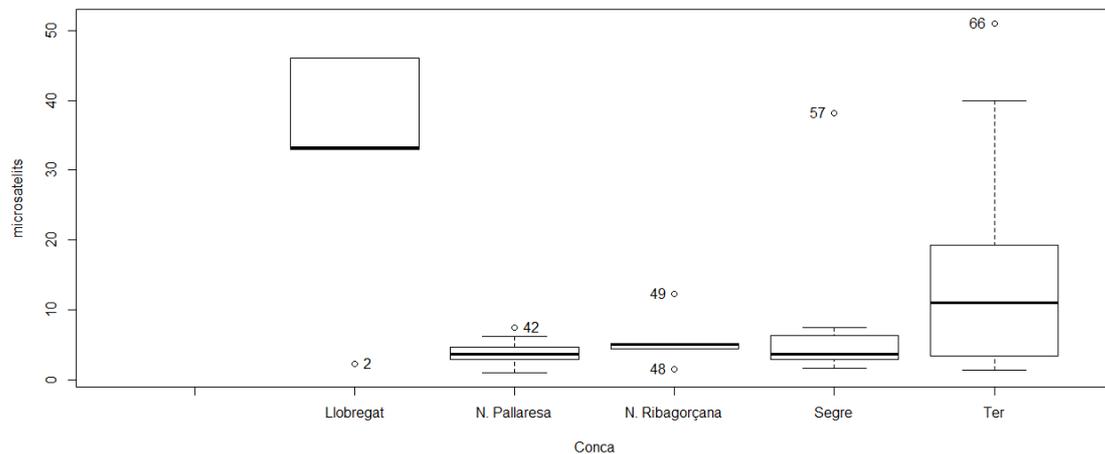


Figura 12. Diagrama de caixes per al valor mitjà de la introgressió en microsatèl·lits per conques.

En quan a les comparacions entre mostres dins i fora de les Reserves genètiques, el test de *Kruskal-Wallis* no va detectar diferències significatives ni a partir dels resultats de la LDH-C1* (*Kruskal-Wallis chi-squared* = 0.70169, *df* = 1, *P* = 0.4022), ni dels obtinguts amb els microsatèl·lits (*Kruskal-Wallis chi-squared* = 0.10698, *df* = 1, *P* = 0.7436) per a al LDH-C1* i

valors baixos per als microsatèl·lits tant per a l'interior com per fora de les reserves genètiques en comparació amb les demés conques (Figures 13 i 14).

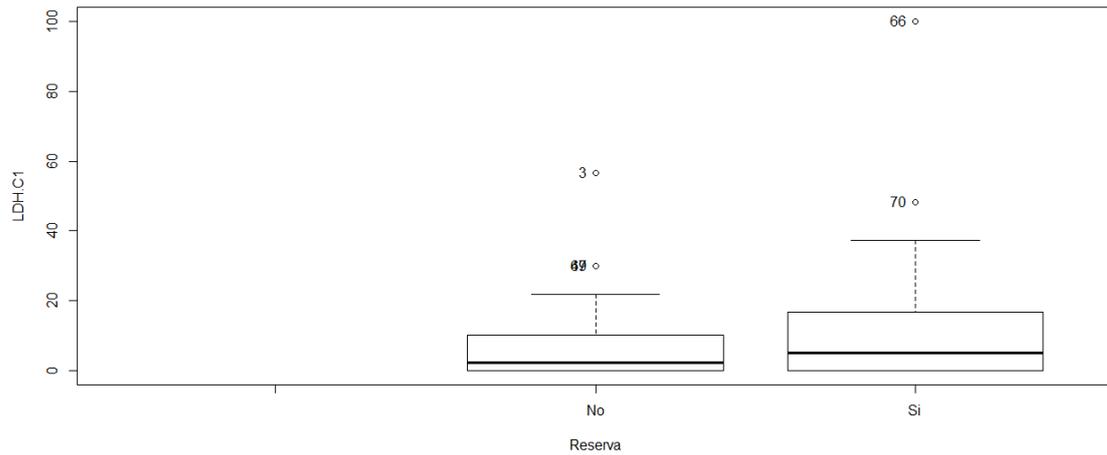


Figura 13. Diagrama de caixes per al valor mitjà d'introgressió per al locus LDH-C1** per estar a inclòs en una reserva genètica o no.

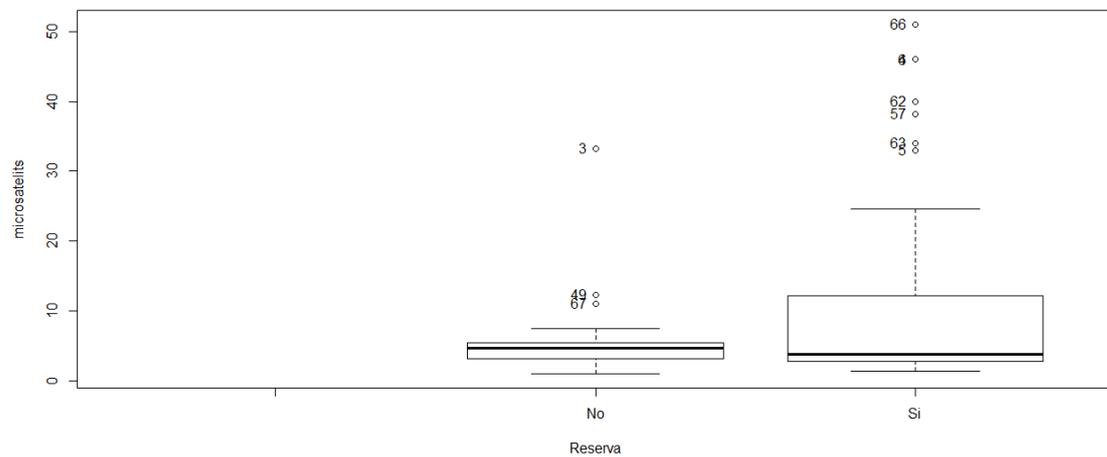


Figura 14. Diagrama de caixes per al valor mitjà de la introgressió en microsatèl·lits per reserva genètica o fora de reserva genètica.

DISCUSSIÓ

La repoblació de poblacions de *S. trutta* amb individus originaris de piscifactories amb soques provinents d'Europa central en els rius de les diferents conques dels Pirineus catalans ha estat una pràctica molt comuna des del segle passat. Tals actuacions han compromès la integritat genètica de les poblacions natives (García-Marín et al., 1991). Els efectes d'aquest procés d'introgresió genètic en les diferents conques catalanes i a l'interior i fora de les reserves genètiques poden ser avaluats amb les dades obtingudes.

Els nostres resultats indiquen que les repoblacions no han afectat per igual a totes les conques, però no hi ha diferències entre els trams analitzats dins o fora de les reserves genètiques. A les reserves genètiques del Llobregat és on es detecten els impactes més elevats de les repoblacions, amb un 41,667% d'introgresió mitjana per els marcadors de microsatèl·lits i un 21.8% d'introgresió mitjana per el locus LDH-C1. Això ens demostra una clara i elevada introgresió en la conca del Llobregat. Tot i això aquests resultats s'han de prendre amb precaució ja que els punts de mostreig a la conca del Llobregat van ser pocs, properes entre si i propers a les delimitacions de les reserves genètiques. També s'observa una clara diferència en la introgresió del punt mostrejat al riu Aigua d'Ora (Castellar del Riu - Llinars) amb uns valors molt més baixos que per la resta de la conca del Llobregat (2,3% microsatèl·lits i 11,7% LDH-C1*). Seria interessant un mostreig més ampli en aquest riu per a valorar la seva possible conversió en una reserva genètica ja que actualment no es troba inclòs en cap de les reserves del Llobregat. Potencialment podria servir per a la recuperació de les àrees més afectades per la introgresió de la conca.

La conca del Ter conté uns dels valors més elevats per a la introgresió dins de reserves genètiques ($23.808\% \pm 26.87$) per al LDH-C1* i $15.662 (\pm 16.6)$ per als microsatèl·lits). S'ha de tenir en compte però que les desviacions estàndards per aquestes dades són molt elevades. Això indica que la conca conté una gran variabilitat en la introgresió de les diferents zones. És preocupant la situació del Segadell (Pardines) on s'ha detectat una població no autòctona naturalitzada. Aquesta localització es troba dins d'un dels primers refugis genètics establerts durant el 1997 (Araguas et al. 2004, 2008). Aquest riu pot ser un flux constant d'individus cap a les zones menys híbrides de la reserva genètica. Però també s'han detecta tres poblacions natives sense cap grau d'introgresió genètica foranes a les localitats de Vallter i Setcases i a la

Ribera del Catllar. Serà de gran prioritat la conservació d'aquestes poblacions degut a la seva puresa genètica nativa. Per tant s'haurà de portar a terme polítiques de gestió i conservació que previnguin qualsevol possible canal d'introgressió genètica per a aquestes poblacions. Tant per possibles migracions d'individus híbrids d'altres zones de la conca, com possibles repoblacions il·legals.

La conca del Segre i de la N. Ribagorçana presenten menor valors mitjans d'introgressió. Al Segre s'ha detectat el Riu d'Oden amb uns nivells d'introgressió molt baixos, per tant és de gran interès la ampliació de la reserva genètica de la conca del Segre per tal d'incorporar aquest riu. A la conca de la N. Ribagorçana només s'han analitzat 5 trams i per tant seria necessari un mostreig més extens. En aquesta conca s'ha detectat una població nativa sense cap grau d'introgressió a la localitat d'Erta inclosa dins de la reserva genètica. Aquest riu ha de tenir prioritat en les gestions de conservació de les poblacions natives de truita de la conca.

La conca de la N. Pallaresa presenta valors d'introgressió excepcionalment baixos tant pels trams dins com per fora de les reserves genètiques. La N. Pallaresa ha estat la conca més mostrejada durant aquest període i no s'ha trobat cap població de *S. trutta* altament híbrida. Degut al seu excepcional bon estat genètic de les poblacions de truites analitzades de la N. Pallaresa tots aquest trams podrien ser incorporats dins de les reserves genètiques.

Els tests de Kruskal-Wallis per a les reserves genètiques tant per LDH-C1* com per microsatèl·lits no han detectat diferències significatives entre dins i fora de les reserves. Cal destacar l'importància de la realització d'estudis genètics previs a la delimitació de les reserves genètiques, ja que es pot donar el cas de la protecció de poblacions altament híbrides. Aquesta és la situació del Segadell al la conca del Ter i del riu Aigua de Valls ala conca del Llobregat, on s'han detectat poblacions no autòctones naturalitzades dins de reserves genètiques. Per tant els refugis genètics eviten futures repoblacions dins d'aquests, prevenint l'augment de la introgressió genètica i promou una equilibri entre la pesca i l'explotació en aquestes zones. Però si s'inclouen zones altament híbrides s'estaran protegint poblacions amb alts nivells d'introgressió en comptes de poblacions natives. Per aquest motiu té tanta importància la realització d'estudis d'introgressió de les poblacions i establir valors màxims d'introgressió d'una població per a poder ser inclosa dins d'una reserva genètica (Allendorf et al. 2004). Una dificultat afegida a l'hora d'establir les reserves genètiques és l'absència de

barreres físiques que evitin l'encreuament entre poblacions natives i poblacions adjacents altament híbrides. Araguas et al. 2009 suggereix la consideració d'aquests influxos d'individus híbrids al delimitar les reserves genètiques i la possibilitat de construir barreres físiques per a evitar-les. Existeixen previsions on s'indica que les poblacions de *S. trutta* dels rius mediterranis podrien perdre la meitat del seu habitat potencial pel 2040 degut a l'increment de temperatures dels rius (Almodovar et al., 2012). Per tant és important que en futures polítiques de gestió, conservació i determinació de refugis genètics de les truites es tinguin en compte també aquestes prediccions climàtiques (Araguas et al. 2009).

IMPLICACIONS ÈTIQUES I DE SOSTENIBILITAT

Per a l'obtenció de les dades necessàries per a la elaboració dels informes realitzats per Laboratori d'Ictiologia Genètica (LIG) de la Universitat de Girona (UdG) que s'han revisat en el present treball, va ser necessària la sedació i l'extracció d'una petita mostra de teixit d'aleta adiposa de cada exemplar capturat de *S. trutta*, per a la seva posterior extracció del DNA. Es desconeixen els efectes que la sedació realitzada i l'extracció de l'aleta adiposa podrien tenir sobre la supervivència dels individus capturats. Durant molts anys aquesta aleta ha estat considerada com una aleta vestigial, i que no tenia cap funció concreta, però l'eliminació de l'aleta adiposa provoca a l'espècie *S. trutta* pot provocar un pitjor rendiment de la natació en els rangs de velocitat en peixos de mida mitja (7-12 cm), i alhora aquesta aleta també podria funcionar com un sensor de flux precabdal que permet ajustos en el moviment en aigües turbulentes (Reimchen et al. 2004). Si és així, els efectes de l'eliminació d'aquesta aleta provocarien un augment de l'energia requerida per a mantenir la posició del peix en la corrent. S'ha demostrat per tant, que l'eliminació de l'aleta adiposa té conseqüències importants per a aquests peixos. Això comporta un dilema alhora d'extreure DNA de les poblacions de truites.

Per altra banda, els resultats del present treball impliquen que existeixen poblacions altament hibriditzades que podrien ser un flux d'introgressió continu cap a zones poc introgressionades. Aquestes poblacions són per tant un perill per a la conservació genètica nativa. Algunes estratègies de conservació suggereixen l'eliminació de tots els exemplars de *S. trutta* amb una alta introgressió (Allendorf et al. 2004). Aquesta estratègia es podria aplicar en rius dins o propers a una reserva genètica, on poblacions de genètica no nativa s'han naturalitzat. Aquestes podrien ser reemplaçades per individus translocats de poblacions properes amb

baixa introgressió. Però degut l'escassetat d'individus amb una genètica pura en les poblacions de truita dels rius dels Pirineus catalans, aquestes actuacions podrien fer minvar les poblacions de truites de la regió (Vera et al. 2013). També existeixen consideracions morals, públiques i d'interessos davant de les comunitats pròximes i dels pescadors locals, alhora d'eradicar o relocalitzar poblacions senceres de truites.

CONCLUSIONS

From the results of our study, we can conclude that:

- There is a positive correlation between the estimates of introgression obtained from the two genetic markers, the average proportion of domestic genome by microsatellites and the introgression degree for the LDH-C1* locus. This correlation is not perfect and may contain some differences, particularly at low introgression rates.
- There are differences among the mean introgression degree at the different Catalan Pyrenean basins. The highest levels of introgression were detected in the analyzed sites at the Llobregat River, and the lowest in revised stretches at the Noguera Pallaresa River.
- There are not differences on the mean introgression degree between analyzed river stretches inside and outside of the genetic refuges.
- The expansion and creation of new genetic reserves will be essential for an improvement in the conservation of the native genetics populations. We propose the extension of the genetic reserve of N. Pallaresa to include all the sites analyzed in this project and the extension of the genetic reserve of the Segre basin for the Oden River, due to its exceptional low level of introgression.

BIBLIOGRAFIA

- Allendorf, F. W., R. F. Leary, P. Spruell, & J. K. Wenburg, 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology & Evolution* 16:613–622.
- Almodovar, A., G. G. Nicola, D. Ayllon & B. Elvira, 2012. Global warming threatens the persistence of Mediterranean brown trout. *Global Change Biology* 18: 1549–1560.
- Araguas, R.M., Sanz, N., Pla, C. & García- Marín, J.L. 2004. Breakdown of the brown trout evolutionary history due to hybridization between native and cultivated fish. *Journal of Fish Biology* 65: 28–37.
- Araguas, R. M., N. Sanz, R. Fernandez, F. M. Utter, C. Pla, & J. L. García- Marín, 2008. Genetic refuges for a self-sustained fishery: experience in wild brown trout populations in the eastern Pyrenees. *Ecology of Freshwater Fish* 17:610–616.
- Araguas, R. M., N. Sanz, R. Fernandez, F. M. Utter, C. Pla & J. L. Garcia-Marin, 2009. Role of genetic refuges in the restoration of native gene pools of brown trout. *Conservation Biology* 23: 871–878.
- Araguas R. M., M. Vera, E. Aparicio, N. Sanz, R. Fernandez, C. Marchante & J.L García-Marín, 2017. Current status of the brown trout (*Salmo trutta*) populations within eastern Pyrenees genetic refuges. *Ecology of Freshwater Fish* 26: 120-132
- Chistiakov, D. A., B. Hellemans & F. A. M. Volckaert, 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255: 1-29
- Cowx, I. G., 1999. An appraisal of stocking strategies in the light of developing country constraints. *Fisheries Management and Ecology* 6:21–34.
- Cowx, I.G. & Gerdeaux, D. 2004. The effects of fisheries management practices on freshwater ecosystems. *Fisheries Management and Ecology* 11: 145–151.
- Elvira, B., 1996. Endangered freshwater fish of Spain. In: Kirchhofer, A. & Hefti, D., ed. *Conservation of endangered freshwater fish in Europe*. Basel: Birkhauser Verlag, pp. 55-61.
- Garcia-Marin, J. L., F. M. Utter & C. Pla, 1999. Postglacial colonization of brown trout in Europe based on distribution of allozyme variants. *Heredity* 82: 46–56.
- Garcia-Marin, J. L., P. E. Jorde, N. Ryman, F. Utter & C. Pla, 1991. Management implications of genetic differentiation between native and hatchery populations of brown trout (*Salmo trutta*) in Spain. *Aquaculture* 95: 235–249.
- Hari, R. E., D. M. Livingstone, R. Siber, P. Burkhardt-Holm & H. Guttinger, 2006. Consequences of climatic change for water temperature and brown trout populations in Alpine rivers and streams. *Global Change Biology* 12: 10–26.
- Hurt, C. & P. Hedrick, 2004. Conservation genetics in aquatic species: general approaches and case studies in fishes and spring snails of arid lands. *Aquatic Sciences* 66: 402–413.
- Laikre, L., L. C. Larsson, A. Palmé, J. Charlier, M. Josefsson, & N. Ryman, 2008. Potentials from monitoring gene level biodiversity: using Sweden as an example. *Biodiversity and Conservation* 17:893–910.

- Leary, R.F. et al., 1995 Hybridization and introgression between introduced and native fish. *Am. Fish. Soc. Symp.* 15, 91–101
- Martinez, P., J. Arias, J. Castro & L. Sanchez, 1993. Differential stocking incidence in brown trout (*Salmo trutta*) populations from Northwestern Spain. *Aquaculture* 114: 203–216.
- Moyle, P. B., & R. A. Leidy, 1992. Loss of biodiversity in aquatic ecosystems: evidence from fish faunas. *Conservation biology* 127–169
- Reimchen, T. E. & N.F. Temple, 2004. Hydrodynamic and phylogenetic aspects of the adipose fin in fishes. *Canadian Journal of Zoology* 82: 910–916.
- Rhymer, J.M. & Simberloff, D, 1996. Extinction by hybridization and introgression. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27, 83–109
- Ryman, N., F. Utter, & L. Laikre, 1995. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 5:417–446.
- Sanz, N., J. L. Garcia-Marin & C. Pla, 2002. Managing fish populations under mosaic relationships. The case of brown trout (*Salmo trutta*) in peripheral Mediterranean populations. *Conservation Genetics* 3: 385–400.
- Sanz, N., R.M. Araguas, R. Fernández & J. L. Garcia-Marin, 2009. Efficiency of markers and methods for detecting hybrids and introgression in stocked populations. *Conservation Genetics* 10: 225–236
- Snoj, A., E. Melki, S. Susnik, S. Muhamedagi & P. Dov, 2002. DNA phylogeny supports revised classification of *Salmothymus obtusirostris*. *Biological Journal of the Linnean Society* 77: 399–411.
- Snoj, A., I. Bogut & S. Susnik, 2008. Evidence of a genetically distinct population of Vrljika softmouth trout *Salmo obtusirostris* Heckel evolved by vicariance. *Journal of Fish Biology* 72: 1945–1959.
- Suarez, J., J. M. Bautista, A. Almodovar & A. Machordom, 2001. Evolution of the mitochondrial control region in Palaeartic brown trout (*Salmo trutta*) populations: the biogeographical role of the Iberian Peninsula. *Heredity* 87: 198–206.
- Susnik, S., A. Snoj, I. F. Wilson, D. Mrdak & S. Weiss, 2007. Historical demography of brown trout (*Salmo trutta*) in the Adriatic drainage including the putative *S. letnica* endemic to Lake Ohrid. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 63–76.
- Vera, M., M. Cortey, N. Sanz & J. L. Garcia-Marin, 2010. Maintenance of an endemic lineage of brown trout (*Salmo trutta*) within the Duero river basin. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 48: 181–187.
- Vera, M., J. L. Garcia-Marin, P. Martinez, R. M. Araguas & C. Bouza, 2013. Identification and conservation of remnant genetic resources of brown trout in relict populations from Western Mediterranean streams. *Hydrobiologia* 707:29–45.