



Universitat de Girona

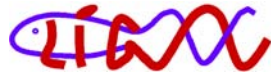
APLICACIÓ DE MÈTODES GENÈTICS EN
L'AVALUACIÓ DE LA GESTIÓ PER A LA
CONSERVACIÓ DE POBLACIONS DE TRUITA
COMUNA, SALMO TRUTTA

Rosa M. ARAGUAS SOLÀ

ISBN: 978-84-692-5163-8
Dipòsit legal: GI-909-2009



Universitat de Girona



Laboratori d'Ictiologia Genètica

**Aplicació de mètodes genètics en
l'avaluació de la gestió per a la
conservació de poblacions de truita
comuna, *Salmo trutta***

Memòria de la tesi doctoral

Rosa M. Araguas Solà

Girona, abril de 2009

EL DR. JOSÉ LUIS GARCÍA MARÍN, PROFESSOR TITULAR DE GENÈTICA, I LA DRA. NÚRIA SANZ BALL-LLOSERA, PROFESSORA LECTORA DE GENÈTICA, AMBDÓS DEL DEPARTAMENT DE BIOLOGIA DE LA UNIVERSITAT DE GIRONA

CERTIFIQUEN,

Que el treball titulat **Aplicació de mètodes genètics en l'avaluació de la gestió per a la conservació de poblacions de truita comuna, *Salmo trutta***, presentat per Rosa M. Araguas Solà per a obtenir el grau de Doctora, ha estat realitzat sota la seva direcció en el Laboratori d'Ictiologia Genètica de la Universitat de Girona, el consideren acabat i autoritzen la seva presentació al tribunal qualificador.

Girona, 29 d'abril de 2009

Dr. José Luis García Marín

Dra. Núria Sanz Ball-llosera

Aquesta tesi doctoral ha estat possible gràcies al finançament rebut del Ministeri de Ciència i Tecnologia mitjançant els projectes REN 2000-0740-C02-01/GLO titulat "Incidencia de la repoblación y la pesca deportiva sobre los recursos genéticos nativos de la trucha común en España" y REN 2003-05931/GLO titulat: "Uso sostenible, conservación y restauración de los endemismos moleculares de la trucha común (*Salmo trutta*) en España. Demografía genética de poblaciones sometidas a diferentes alternativas de gestión".

Als meus pares, a en Jordi i a la Laura

Agraïments

Per fi!!! Ja puc dir que he acabat la tesi. No ha estat fàcil i, un cop acabada, toca agrair a tota aquella gent que d'una manera o d'una altra hi han posat el seu granet de sorra. Són moltes les persones que hi han participat i no voldria oblidar-me ningú per això d'entrada: GRÀCIES A TOTS!!!

En primer lloc voldria agrair al Dr. Carles Pla la possibilitat que em va donar, ja fa uns anys, d'entrar a formar part de l'àrea de Genètica i endinsar-me en tot aquest món de la investigació. Als meus directors de tesi, el Dr. José Luis García-Marín i la Dra. Núria Sanz, vull agrair-los tota la paciència i ajuda, especialment durant la part final que, per mi, ha estat la més dura.

Agrair al Dr. Fred Utter la seva participació en dos dels articles que formen part d'aquesta tesi i també per tota la seva ajuda sempre que la hem necessitat.

Gràcies a la resta de companys que han estat o que actualment estan a l'àrea de genètica. Gràcies per estar al meu costat, per haver-me ajudat sempre que ho he necessitat i per donar-me suport en els moments de desesperació i quan veus que les coses no avancen.

Als amics de la politècnica i companys de menjador durant molt temps.

A la meua família, gràcies per no haver-me preguntat mil vegades: "quan acabes la tesi?"

Finalment vull agrair a en Jordi la seva paciència i comprensió durant tots aquests anys i pels seus consells, encara que moltes vegades sóc conscient que no he sabut seguir. I a la Laura per haver portat una nova il·lusió a la meua vida.

Índex

Resum	3
Resumen	4
Summary	5
1. Introducció	7
1.1. La Genètica en la gestió i conservació d'espècies	7
1.2. La truita comuna (<i>Salmo trutta</i>)	10
1.2.1. Biologia i distribució de l'espècie	10
1.2.2. Filogènia i estructura poblacional de la truita comuna a la península Ibèrica	12
1.3. La gestió de la truita comuna	15
1.3.1. Gestió de la Pesca a Catalunya	15
1.3.2. Les repoblacions	18
1.3.3. Alternatives a la repoblació per a la recuperació d'efectius a les poblacions naturals	20
1.3.4. Les reserves genètiques en la gestió de la truita comuna a Catalunya	23
1.4. Monitoratge genètic de les poblacions	24
1.5. Objectius d'aquest treball	27
2. Resultats	29
Article I. Efficiency of markers and methods for detecting hybrids and introgression in stocked populations.	31

Article II. Breakdown of the brown trout evolutionary history due to hybridization between native and cultivated fish.	45
Article III. Genetic refuges for a self-sustained fishery: experience in wild brown trout populations in the eastern Pyrenees.	57
3. Discussió General	67
3.1. Monitoratge genètic de les poblacions i detecció dels híbrids	69
3.2. Paper de les reserves genètiques en la conservació dels patrimonis genètics nadius	75
3.2.1. Consideració final	85
4. Conclusions	87
5. Referències	91

Resum

Durant anys, el principal mètode per tal de mantenir o augmentar la grandària de les poblacions de truita comuna (*Salmo trutta* L.) ha estat la repoblació amb exemplars exògens. No obstant, aquesta mesura de gestió s'ha convertit en una amenaça per la truita com a conseqüència de la introgressió de gens exògens que alteren la diversitat genètica nativa de les poblacions. El seguiment genètic de les poblacions de truita comuna dels Pirineus orientals durant els anys 90, realitzat en aquest tesi, indica que els al·lels procedents de centres piscícoles estan diluint els patrimonis gènics nadius, conduint a una homogeneització de les poblacions salvatges i a la pèrdua de la història evolutiva d'aquesta espècie. Per tant, en el desenvolupament de noves estratègies de gestió i conservació de les poblacions d'aquesta espècie és molt important la detecció de la introgressió que hi pugui haver tingut lloc. En aquest treball, s'ha avaluat l'eficàcia de diferents marcadors i mètodes que ens ofereix la genètica de poblacions en la detecció de la introgressió present a les poblacions naturals. Els resultats obtinguts mostren que tant al·lozims com microsatèl·lits poden identificar híbrids i introgressió amb una eficàcia similar, per a qualsevol dels mètodes provats, malgrat que algunes metodologies presenten limitacions en determinades situacions. Alhora, els resultats confirmen que el marcador de repoblació per excel·lència en les poblacions mediterrànies, l'al·lel *LDH-C*90*, continua essent de gran utilitat.

En els darrers anys, per tal d'evitar la introgressió i preservar la diversitat genètica nativa present a les poblacions, la gestió de la truita comuna està canviant des d'una gestió basada en "l'alliberar per capturar" a una gestió on s'intenta equilibrar l'explotació i la conservació dels recursos genètics de les poblacions natives. En aquest sentit, des de 1997, alguns dels rius dels Pirineus catalans que encara conserven poblacions natives han estat qualificats com a reserves genètiques, on malgrat s'hi pot pescar, la repoblació no hi està permesa. En aquesta tesi hem analitzat la influència que han tingut aquestes mesures de gestió aplicades amb posterioritat a les repoblacions. Hem fet el seguiment de la freqüència de l'al·lel *LDH-C*90* des de l'any 1993 fins el 2006 en 10 poblacions de referència de truita comuna del Pirineu català que es troben sota diferents alternatives de gestió. Malgrat que en general s'han detectat uns importants nivells d'introgressió genètica (10-25%) com a conseqüència de repoblacions passades, els resultats obtinguts indiquen que des de la implantació de les reserves genètiques s'ha aturat l'augment de la introgressió en la regió estudiada. En aquest sentit, les reserves genètiques aplicades simultàniament amb altres mesures, com l'increment de la grandària dels individus que es poden pescar i la reducció del nombre de captures, està contribuint a aconseguir un model de pesca autosostenible.

Resumen

Durante años, el principal método para mantener o aumentar el tamaño de las poblaciones de trucha común (*Salmo trutta*) ha sido la repoblación con ejemplares exógenos. No obstante, esta medida de gestión se ha convertido en una amenaza para la trucha como consecuencia de la introgresión de genes exógenos que alteran la diversidad genética nativa de las poblaciones. El seguimiento genético de las poblaciones de trucha común de los Pirineos orientales durante los años 90, realizado en esta tesis, indica que los alelos procedentes de centros piscícolas están diluyendo los patrimonios genéticos nativos, conduciendo a una homogeneización de las poblaciones salvajes y a la pérdida de la historia evolutiva de esta especie. Por tanto, en el desarrollo de nuevas estrategias de gestión y conservación de las poblaciones de esta especie es muy importante la detección de la introgresión que pueda haber tenido lugar. En este trabajo, se ha evaluado la eficacia de distintos marcadores y métodos que nos ofrece la genética de poblaciones en la detección de la introgresión presente en las poblaciones naturales. Los resultados obtenidos muestran que tanto los alozimas como los microsatélites pueden identificar híbridos e introgresión con una eficacia similar, para cualquiera de los métodos probados, aunque algunas metodologías presenten limitaciones en determinadas situaciones. Al mismo tiempo, los resultados confirman que el marcador de repoblación por excelencia en las poblaciones mediterráneas, el alelo *LDH-C*90*, continua siendo de gran utilidad.

En los últimos años, con el fin de evitar la introgresión y preservar la diversidad genética nativa presente en las poblaciones, la gestión de la trucha común está cambiando desde una gestión basada en "liberar para capturar" hacia una gestión donde se intenta equilibrar la explotación y la conservación de los recursos genéticos de las poblaciones nativas. En este sentido, desde 1997, algunos ríos de los Pirineos catalanes que aún conservan poblaciones nativas han sido calificados como reservas genéticas, donde a pesar de que se pueda pescar, la repoblación no está permitida. En esta tesis hemos analizado la influencia que han tenido estas medidas de gestión aplicadas con posterioridad a las repoblaciones. Hemos realizado el seguimiento de la frecuencia del alelo *LDH-C*90* desde el año 1993 hasta el 2006 en 10 poblaciones de referencia de trucha común del Pirineo catalán sometidas a diferentes alternativas de gestión. Aunque en general se han detectado unos niveles de introgresión genética importantes (10-25%) como consecuencia de repoblaciones pasadas, los resultados obtenidos indican que desde la implantación de las reservas genéticas el aumento de la introgresión en la región estudiada ha cesado. En este sentido, las reservas genéticas, aplicadas simultáneamente con otras medidas, como el aumento de la talla de los individuos que se pueden pescar y la reducción del número de capturas, está contribuyendo a conseguir un modelo de pesca autosostenible.

Summary

For many years, the primary strategy to maintain or increase brown trout (*Salmo trutta*) population size has been stocking with exogenous individuals. However, this measured has become a serious threat to brown trout populations due to introgression of exogenous genes that disrupt the native genetic diversity of populations. Results on genetic monitoring of brown trout populations in the eastern Pyrenees during the 90s, carried out in this thesis, indicates that hatchery alleles are diluting native gene pools, leading to a genetic homogenization of native populations and the loss of evolutionary history of this specie. It is very important the continuous monitoring of the levels of introgression in wild populations to properly develop management and conservation strategies for populations of this specie. In this work, the efficiency of different genetic markers and methods for detecting introgression in natural populations has been evaluated. Results indicate that allozymes and microstellites can identify hybrids and introgression at similar efficiencies with all statistical methods assessed, though; some methodologies have limitations in certain situations. At the same time, results confirm the persistence of the allele *LDH-C*90* as a useful maker of hatchery effects on Mediterranean populations.

In last years, new management approaches aimed to avoid introgression and preserve native genetic diversity remaining in wild populations are being implemented. In brown trout, policies are changing from those focused on “put and take” to new approaches that balance exploitation and conservation of native genetic resources. In this sense, since 1997, some river headwaters in the Eastern Pyrenees, conserving native populations were designated as genetic refuges, where hatchery releases were completely banned but the existing fishing activities were maintained. In this thesis, we evaluated the influence of such management strategies through the monitoring of the *LDH-C*90* allele frequency from 1993 to 2006 years in 10 reference populations of brown trout from the eastern Pyrenees that are under different management options. In spite of significant genetic introgression (10-25%) resulting from past stocking practices was still detected, results indicated that the increase of introgression stopped in the studied area since genetic refuges designation. In this sense, the implantation of genetic refuges, with additional measures on length and number of captured fish is contributing to self-sustained fisheries.

1. INTRODUCCIÓ

1.1. La Genètica en la gestió i conservació d'espècies

El manteniment de la diversitat genètica present en les espècies és fonamental per a la seva conservació i evolució biològica, ja que és necessària perquè les poblacions puguin adaptar-se als canvis ambientals (Frankel i Soulé 1981). L'any 1992, el tractat de Río reconeix la diversitat genètica, juntament amb la d'espècies i hàbitats, com a un dels tres eixos bàsics de la biodiversitat. Alhora, la IUCN (*International Union for Conservation of Nature*, Unió Internacional per a la Conservació de la Naturalesa) reconeix com a una necessitat bàsica la conservació de la diversitat genètica (McNeely et al. 1990). Aquest mateix òrgan, estableix una

sèrie de categories i criteris amb l'objectiu de poder classificar les espècies segons el seu perill d'extinció: extingides (EX), extingides en estat salvatge (EW), en perill crític (CR), en perill (EN), vulnerables (VU), quasi amenaçades (NT), preocupació Menor (LC), dades insuficients (DD), no avaluat (NE) (IUCN 2001). Aquesta classificació es basa en considerar l'espècie com a unitat de gestió, malgrat que té en compte la situació particular de les poblacions a l'hora de catalogar les espècies. No obstant, els estudis realitzats utilitzant marcadors genètics indiquen que hi pot haver diferències genètiques substancials entre les diferents poblacions d'una mateixa espècie i que aquestes diferències mereixen també protecció (Moritz 1995). D'aquesta manera, entitats taxonòmiques per sota del nivell d'espècie haurien de ser considerades com a unitats de gestió i conservació (Ryder 1986). Així, per exemple, en el cas del salmó de l'Atlàntic (*Salmo salar*), ens trobem davant una espècie que no està amenaçada però que està composta per molts llinatges evolutius que s'haurien de conservar, perquè representen poblacions úniques adaptades específicament als diferents hàbitats dels rius, fet que permet mantenir l'àmplia distribució que presenta aquesta espècie (Dodson et al. 1998). En aquest sentit, la pèrdua de poblacions ha de ser considerada com el primer pas cap a l'extinció de l'espècie i, per tant, la conservació de les espècies s'ha de basar en la conservació de poblacions o grups de poblacions (Moritz 1995). La conservació dels patrimonis genètics que recullen les poblacions d'una espècie representa el punt de partida pel desenvolupament de programes de gestió, necessaris sobretot per a les espècies explotades o per aquelles que estan amenaçades (Ryman et al. 1995a; Hurt i Hedrick 2004).

Definir i seleccionar correctament quins patrimonis genètics són diferents i és necessari conservar, és una tasca difícil i controvertida. Aquí és on les eines que ens ofereix la genètica de poblacions poden jugar un paper important a l'hora de definir unitats de gestió i conservació més enllà de l'espècie. Amb aquest objectiu, Ryder (1986) va introduir el concepte d' ESU (*Evolutionary*

Significant Units, Unitats amb Significat Evolutiu) per tal de prioritzar les unitats intraespecífiques que requerien una gestió separada. Una ESU pot ser definida com una població o un grup de poblacions amb un aïllament històric i adaptativament diferenciades d'altres poblacions dins d'una mateixa espècie, cadascuna de les quals representa un únic grup monofilètic, i que per tant, es considera una part significativa en el llegat evolutiu de l'espècie (Waples 1991). Tot i l'amplia acceptació en conservació, el concepte d'ESU presenta problemes de diferent naturalesa. Per exemple, exclou la singularitat evolutiva que representen els processos d'hibridació, i tampoc estableix criteris a seguir per tal d'identificar quines parts del llegat evolutiu són significatives i haurien d'ésser incloses en els programes de conservació (Crandall et al. 2000). Una altra unitat de gestió és la MU (*Management Unit*, Unitat de gestió), la qual Moritz (1994) redefineix tenint en compte criteris genètics. Segons aquest autor, les MUs tindrien en compte la divergència estadísticament significativa en les freqüències al·lèliques nuclears i mitocondrials, independentment de la diferenciació filogenètica dels al·lèls. A diferència de les ESUs, no és necessari un origen monofilètic d'aquestes unitats. Així les MUs es centren en l'estructura de les poblacions contemporànies més que en els factors històrics d'aquestes poblacions (Fraser i Bernatchez 2001). Doadrio et al. (1996) van introduir el concepte d'OCU (*Operational Conservation Units*, Unitats Operatives de Conservació) com l'àrea limitada per barreres geogràfiques on hi habiten una o més poblacions que comparteixen el mateix patrimoni genètic. Posteriorment, Dodson et al. (1998) va proposar que les unitats de gestió i conservació no estiguessin exclusivament fonamentades en la informació biològica, i que també tinguessin en compte qüestions socials, ètiques, legals i econòmiques. Aquests autors defineixen les OCU com el resultat de la interacció entre les ESUs i els requeriments socio-econòmics. D'aquesta manera, quan existeixen recursos suficients i el desig social de preservar totes les ESUs, aquestes equivaldrien a les OCU, i quan els recursos són

limitats, com és en la majoria de casos, una OCU podria incloure varies ESUs.

Un altre aspecte important a tenir en compte per a la correcta gestió i conservació de les diferents unitats de gestió d'una espècie és el seguiment temporal de les poblacions per tal d'avaluar la seva resposta a les mesures de gestió aplicades (Hansen 2002; Jensen et al. 2005a). Paràmetres que mesurin la diversitat intrapoblacional i les diferències genètiques entre poblacions, així com el compliment o les desviacions respecte l'equilibri de Hardy-Weinberg, ens donen una valuosa informació sobre l'estat de les poblacions d'una espècie. Això és especialment important en aquelles poblacions petites o que estan molt fragmentades i que, per tant, són més susceptibles a la pèrdua de diversitat genètica per deriva i, en última instància, a l'extinció (Frankham et al. 2002). Així, cada vegada és més reconeguda la importància que representa el seguiment genètic de les poblacions i l'avaluació dels projectes encaminats a millorar la gestió de les poblacions o espècies (Margoluis i Salafsky 1998; Hockings et al. 2000; Woodhill 2000; Stem et al. 2005).

1.2. La truita comuna (*Salmo trutta*)

1.2.1. Biologia i distribució de l'espècie

La truita comuna (*Salmo trutta*) és un peix de la família dels salmònids (Família Salmonidae) que habita aigües oxigenades i netes amb una temperatura d'entre 0 i 30°C, encara que el seu creixement òptim té lloc entre els 4°C i els 19,5°C (Elliot 1989). Es reproduïx entre la tardor i l'hivern, i ho fa primer en aquelles zones on la latitud i l'altitud és més elevada, ja que en aquestes zones es requereix un període d'incubació dels ous més llarg com a conseqüència de la menor temperatura de l'aigua. En els llocs de fressa, la truita construeix nius en el fons del substrat del riu i la femella hi

diposita els ous que seran fecundats pel mascle. Un cop realitzada la fecundació dels ous, la femella tapa la posta amb pedres i grava del llit del riu. Els ous romanen en aquests nius entre un i varis mesos (Klemetsen et al. 2003). L'eclosió d'aquests ous es produeix a la primavera i, en els primers estadis de vida, els alevins s'alimenten del sac vitel·lí (Maisse i Blaglinière 1991). En els individus adults la dieta varia depenent de l'edat, l'àrea geogràfica o l'ambient, però bàsicament consisteix en bentos, zooplancton, insectes i peixos (Hunter 1991).

L'aparença fenotípica de la truita comuna varia àmpliament depenent de l'hàbitat (Pakkasmaa i Piironen 2001). Aquesta variació en els caràcters fenotípics pot ser també deguda a diferències genètiques però existeix una gran plasticitat fenotípica induïda per l'ambient (Aparicio et al. 2005). Es constata que, en resposta a factors ambientals, els individus desenvolupen determinats caràcters morfològics i presenten diferents coloracions (Bourke et al. 1997). Aquesta extraordinària variabilitat fenotípica ha provocat una confusió considerable respecte a la seva taxonomia i, per exemple, s'han descrit 50 taxons sobre el que es coneix amb el nom genèric de truita comuna (Behnke 1986). Actualment, però, s'assumeix l'existència d'una única espècie, *Salmo trutta* (Behnke 1986; Elliot 1989), que recull la gran majoria de formes geogràfiques i ecològiques. Tot i així, com que algunes de les formes descrites responen a patrons clars d'estructura genètica (Guyomard 1989), encara avui es discuteix sobre el valor taxonòmic d'alguns grups poblacionals, ja que considerar una única espècie podria no reflectir l'extensa diversitat interpoblacional que s'observa (Kottelat 1997).

La truita comuna ocupa un rang molt ampli de distribució per tot Europa, que s'estén per l'est fins Àsia i pel sud fins les muntanyes de l'Atlas al nord d'Àfrica (Elliot 1994). Aquesta espècie ha estat introduïda en almenys 24 països fora d'Europa, incloent els Estats Units, Canadà i Austràlia, com també en diferents països de Sud Amèrica, Àfrica i Àsia. Moltes d'aquestes introduccions van ser dutes a terme a finals del segle XIX i la primera meitat

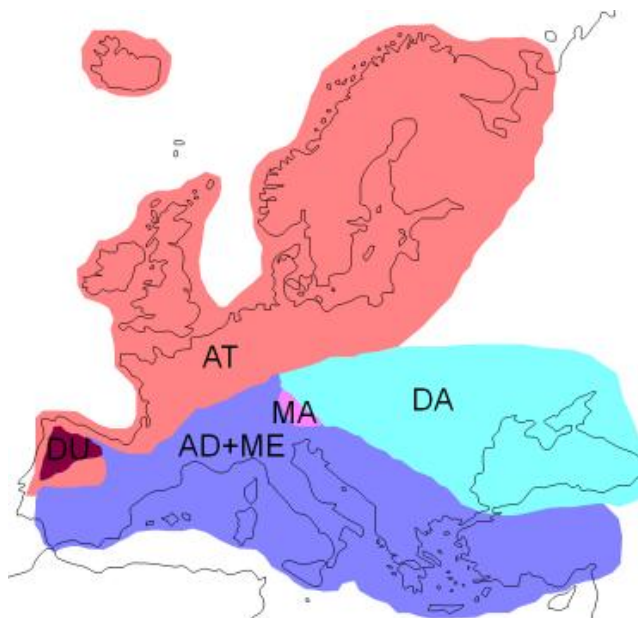
del segle XX, abans que fossin reconeguts els riscos biològics que comporten les introduccions d'espècies foranies (Laikre 1999).

Al llarg de tot el rang de distribució d'aquesta espècie trobem truites que presenten un cicle de vida resident, el que implica que els individus passen tota la vida al riu. Per altra banda, la forma anàdroma, que es caracteritza perquè els individus es desplacen al mar on creixen i maduren sexualment per tornar després al riu on van néixer a reproduir-se, només es distribueix a la conca atlàntica fins al riu Miño, al voltant del paral·lel 42°N (Bouza et al. 1999; Weiss et al. 2000), i ha desaparegut totalment de la conca mediterrània, malgrat que en podem trobar al Mar Negre i al Mar Caspi (Elliot 1994).

1.2.2. Filogènia i estructura poblacional de la truita comuna a la península Ibèrica

La truita comuna és una espècie que ha estat àmpliament estudiada a nivell genètic, la qual cosa permet disposar d'informació detallada sobre la seva filogènia i estructura poblacional. L'estudi de Bernatchez et al. (1992), realitzat a partir de la divergència en les seqüències parcials de la regió control del DNA mitocondrial (DNAMt), proposa l'existència de 5 llinatges evolutius per a la truita comuna: Atlàntic (AT), Adriàtic (AD), Danubi (DA), Marmoratus (MA) i Mediterrani (ME). Estudis més recents donen suport a aquest llinatges (Giuffra et al. 1994; Apostolidis et al. 1997; Machordom et al. 2000; Bernatchez 2001; Suárez et al. 2001), i alguns d'ells plantegen l'existència d'un sisè llinatge que es trobaria restringit a la conca del riu Duero (Machordom et al. 2000; Suárez et al. 2001; Vera 2006; Martínez et al. 2007; Cortey et al. 2009)(Fig. 1).

Figura 1. Distribució dels llinatges de la truita comuna (Cortey 2005).

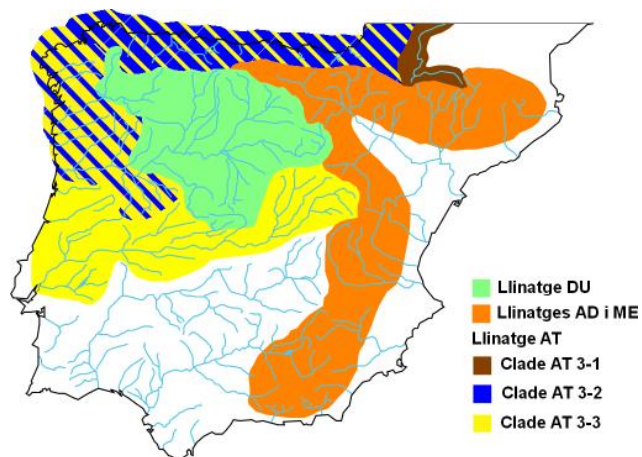
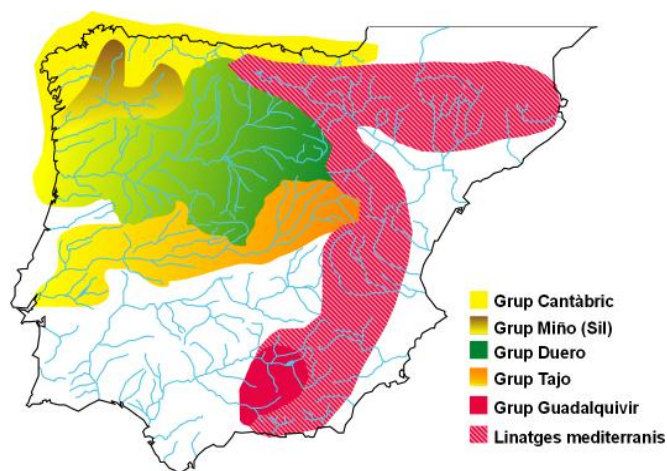


Si bé la distribució geogràfica dels llinatges AT, DA, MA i DU sembla ben definida, la distribució dels llinatges AD i ME resulta ser més complexa. Als rius mediterranis, Machordom et al. (2000) suggerien la separació geogràfica d'aquests dos llinatges, però Cortey et al. (2004) detecten la seva presència en la majoria de poblacions mediterrànies i proposen una distribució en mosaic a tota la conca. Aquests autors expliquen l'absència d'un patró geogràfic com el resultat de múltiples episodis de colonització per part dels llinatges AD i ME, associats a períodes de contactes secundaris i deriva ocorreguts durant els episodis glacials i interglacials del quaternari. Aquesta hipòtesi coincideix amb la que havia estat proposada prèviament per Sanz et al. (2002) utilitzant marcadors nuclears.

A la península Ibèrica, la principal divergència entre les poblacions de truita resulta entre les poblacions dels rius de la vessant mediterrània i els rius de la vessant atlàntica, detectada tant amb gens nuclears (García-Marín i Pla

1996, Cagigas et al. 2002) com mitocondrials (Machordom et al. 2000; Suárez et al. 2001)(Fig.2).

Figura 2. Distribució dels llinatges de truita comuna a la península Ibèrica. A. Distribució dels grups al·lozímics segons Sanz (2000). B. Distribució del llinatges mitocondrials segons Cortey (2005).



L'estructura poblacional que es defineix dins de cadascuna de les dues vessants també és diferent. A la vessant atlàntica s'observa una elevada diferenciació entre les poblacions que, d'acord a un clar patró hidrogràfic d'aïllament, permet diferenciar les poblacions del Cantàbric, Miño, Duero, Tajo, i Guadalquivir (Bouza et al. 1999, 2001; Machordom et al. 2000; Sanz et al. 2000; Suárez et al. 2001; Cortey et al. 2009). A la vessant mediterrània, la restricció de flux gènic entre poblacions i l'extensa deriva genètica han produït una elevada diferenciació entre poblacions fins i tot a nivell microgeogràfic amb la presència d'alels únics dins les poblacions. Això fa que a la vessant mediterrània la diferenciació entre poblacions dins d'un riu pugui ser més gran que la diferenciació entre rius, donant lloc a una escassa correlació entre la distància geogràfica i la distància genètica (Sanz et al. 2002; Cortey et al. 2004). Aquest patró en mosaic descrit al Mediterrani és molt interessant des del punt de vista evolutiu, però complica alhora la gestió de la truita comuna. En base als seus treballs, Machordom et al. (2000) suggereixen l'existència de dues ESU a la vessant mediterrània de la península Ibèrica, una al nord de la conca del riu Segura i l'altre al sud. Però, tenint en compte l'estructura poblacional descrita en estudis posteriors, aquesta hipòtesi de només dues unitats a la vessant mediterrània sembla massa simple i perillosa per a la conservació de la diversitat genètica existent (Sanz et al. 2002, 2006).

1.3. La gestió de la truita comuna

1.3.1. Gestió de la Pesca a Catalunya

La truita comuna és una espècie de gran importància a la península Ibèrica, no només a nivell comercial sinó també en la pesca recreativa (García del Jalón i Schmidt 1995), la qual potencia el sector turístic de les zones d'alta muntanya. Tot i que aquesta espècie no es troba a la llista vermella d'espècies amenaçades de la IUCN, les poblacions autòctones de truita

comuna de la península Ibèrica han estat catalogades com a Vulnerables (Doadrio et al. 2001).

A l'Estat espanyol la gestió de la truita comuna va començar el segle XIX, amb la creació el 1888 del "Servicio Piscícola" (Gaceta de Madrid, 1888) que tenia com a objectiu repoblar i fomentar la riquesa piscícola de les aigües continentals, la qual cosa va propiciar la creació de fins a 20 centres piscícoles al territori espanyol (Muñoz, 1988). La gestió de la truita comuna s'ha regit per la Llei de regulació del foment i la conservació de la pesca fluvial de 20 de Febrer de 1942 i el seu reglament de desenvolupament de 6 d'abril de 1943. Des de 1978 les competències pel que fa a la gestió de les aigües continentals van ser traspassades del govern central a les comunitat autònomes, la qual cosa va propiciar l'aparició de lleis de pesca pròpies per a cada autonomia.

A Catalunya, la Direcció General de Medi Natural que actualment depèn del Departament de Medi Ambient i Habitatge, juntament amb el Consell de Pesca Continental de Catalunya i els Consells Territorials de Pesca, són els òrgans responsables del disseny de la gestió de les espècies que es poden pescar a les aigües continentals. Anualment, el Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya publica una resolució on es fixen quines són les espècies pescables a Catalunya, les modalitats de pesca, el límit màxim de captures i les mides mínimes. Alhora, s'indiquen quins són els períodes hàbils de pesca i en quins trams dels rius es pot dur a terme aquesta activitat. En el cas de la truita comuna, els períodes hàbils de pesca solen anar des de mitjans març fins a finals d'agost, excepte a les zones de pesca sense mort on el període s'allarga fins a finals de setembre i en algunes zones d'alta muntanya en que el període hàbil de pesca s'inicia a mitjans maig i s'acaba a finals de setembre. Per altra banda, depenent de la permissivitat de pesca de les truites, en els rius catalans podem trobar bàsicament les següents figures de gestió:

1. *Zones lliures de pesca*, on s'hi pot pescar mitjançant la possessió d'una llicència de pesca recreativa.
2. *Zones lliures de pesca sense mort*, on també cal disposar de la llicència de pesca recreativa però, donat que són zones sense mort, els individus capturats han de ser retornats al riu evitant causar-los cap dany.
3. *Zones de pesca controlada*, on per pescar és necessari la possessió d'una llicència de pesca recreativa i, alhora, disposar d'un permís especial de pesca d'un dia de durada, personal i intransferible, el qual s'obté a través de les entitats col.laboradores, principalment societats de pescadors, que tenen delegada la gestió de la zona de pesca controlada. En aquestes zones es pot pescar tenint en compte les limitacions sobre el nombre de captures i la seva grandària, excepte a les *zones de pesca controlada sense mort* on els exemplars capturats han de ser retornats a l'aigua de forma immediata i evitant causar-los cap mal, alhora que només s'autoritzen esquers que no produeixin la mort dels animals.
4. *Zones de pesca controlada intensiva*, reben aquest nom els trams de riu o superfícies de llacs, llacunes i embassaments que no són aptes per al manteniment natural d'una població o que són interessants des de punt de vista esportiu. En aquestes zones la pesca està permesa durant tot l'any i hi podem trobar *trams de pesca controlada infantil*, destinats al l'ensenyament i la formació dels menors de 14 anys on només es permet la captura d'un exemplar i s'hi fomenta la modalitat sense mort; *zones de pesca controlada professional*, on només hi poden pescar les confraries de pescadors de la zona que han realitzat aquesta activitat tradicionalment i on no s'hi pot superposar cap tipus de zona de pesca controlada esportiva ni de Règim especial; les *zones de pesca controlada de ciprínids*, que bàsicament estan fora de

la zona de truites; i, finalment; les *zones de pesca de les aigües compartides entre les Comunitats de Catalunya i Aragó*, on són vàlides tant les llicències de pesca expedides per la Diputació General d'Aragó com les expedides per la Generalitat de Catalunya.

5. *Trams amb règim especial*, són zones on s'autoritza la pesca de la truita amb canya durant tot l'any, a excepció de les masses d'aigua en règim especial en zona de truites, on el període de pesca és l'hàbil general de la truita.
6. *Refugis de pesca*: són zones on està prohibit pescar.

1.3.2. Les repoblacions

Com a conseqüència de l'activitat extractiva de la pesca i altres amenaces com la degradació de l'hàbitat, la pol·lució i la sobreexplotació a la que han estat sotmeses les poblacions des de principis del segle XX (García del Jalón i Schmidt 1995; Elvira i Almodóvar 2001) i, més recentment, la disminució dels cabals dels rius associada als episodis de sequera (López-Moreno et al. 2008), la truita comuna ha estat i és segurament l'espècie fluvial per a la qual s'han realitzat més repoblacions al llarg dels anys, com a principal mesura pal·liativa. Així, des de finals del segle XIX la gestió de la truita comuna ha anat acompanyada de l'alliberament d'individus procedents de centres piscícoles (Muñoz 1988; García-Marín 1992). De fet, aquesta és una pràctica extensament utilitzada en salmònids tant a Europa com a Amèrica (Brown i Day 2002). I, en molt casos, malgrat que l'alliberament d'exemplars es justifica per la disminució de la grandària de les poblacions, la intenció real d'aquests programes de repoblacions és mantenir un nivell d'explotació del riu per part dels pescadors que d'altra manera no podria ser sostingut per la reproducció natural de les poblacions salvatges.

Tal i com també ha passat a Europa (Laikre et al. 2008), a la conca mediterrània, i a tota la península Ibèrica els estocs de truita comuna dels centres piscícoles pertanyen majoritàriament a un llinatge evolutiu diferent als que es distribueixen en les poblacions salvatges (García-Marín et al. 1991; Martínez et al. 1993; Machordom et al. 2000; Cortey i García-Marín 2002). Aquests estocs mantinguts en captivitat es caracteritzen per presentar una elevada variabilitat genètica com a conseqüència de la hibridació entre exemplars importats de diferents orígens, alhora que entre ells presenten una elevada homogeneïtat (García-Marín et al. 1991; Martínez et al. 1993). D'aquesta manera, l'alliberament d'aquests exemplars posa en perill els patrimonis genètics de les poblacions natives, sobretot perquè els individus introduïts poden hibridar amb els individus nadius i deixar descendència fèrtil, la qual cosa comporta que hi hagi una introgressió de material exogen que pot passar de generació en generació. En alguns casos, fins i tot es constata el reemplaçament d'algunes poblacions salvatges per poblacions exògenes totalment naturalitzades (Poteaux i Berrebi 1997; García-Marín et al. 1998). D'aquesta manera, la conseqüència més evident de les repoblacions efectuades amb aquests exemplars és l'homogeneïtzació de les poblacions salvatges (Machordom et al. 1999; Sanz et al. 2002; Almodóvar et al. 2006) i la pèrdua de patrimonis genètics nadius (Barbat-Leterrier et al. 1989; García-Marín et al. 1999; Berrebi et al. 2000a; Sanz et al. 2006), com a conseqüència de la introducció del mateix material genètic a totes les poblacions de truita. Aquesta pèrdua de la diversitat entre poblacions pot portar també a l'extinció de poblacions puntuals (Ryman et al. 1995b).

Alhora, les repoblacions poden comportar altres efectes negatius que es produirien fins i tot si aquestes s'efectuessin amb exemplars autòctons, com ara la reducció de l'eficàcia biològica de les poblacions, degut a que els individus mantinguts en captivitat presenten una eficàcia reproductiva inferior (Araki et al. 2008), la introducció de malalties, la competència intraespecífica i la reducció de la grandària efectiva (Leary et al. 1995; García-Marín et al.

1998; Laikre et al. 2008). Per altra banda, moltes de les truites que són alliberades són ràpidament capturades o moren al cap de poc temps per la qual cosa es constata que sovint les repoblacions tampoc contribueixen a augmentar la grandària de la població receptora (Morán et al. 1991; Hansen et al. 1993; Martínez et al. 1993; Arias et al. 1995; Mezzera i Largiadèr 2001; Ayllon et al. 2006). Per tant, les repoblacions en general no són rendibles en el sentit de recuperació del riu però sí contribueixen a mantenir una forta pressió de pesca en les poblacions salvatges (Baer et al. 2007).

1.3.3. Alternatives a la repoblació per a la recuperació d'efectius a les poblacions naturals

Donada la importància de la truita comuna tant a nivell comercial com en la pesca recreativa i davant la presa de consciència per part de les administracions dels problemes que representa la repoblació amb exemplars exògens per a la conservació dels patrimonis genètics nadius, les administracions responsables de la gestió de la truita comuna en diferents països s'han plantejat altres mesures de gestió que permetin fer compatibles la conservació de les poblacions autòctones de truita comuna amb la seva explotació.

Un dels mètodes que s'han plantejat per tal de poder mantenir l'explotació dels rius sense alterar els patrimonis genètics nadius de les poblacions és la repoblació amb individus triploids. La infertilitat d'aquests individus faria desaparèixer el risc d'hibridació genètica entre els individus procedents de centres piscícoles i els salvatges, evitant la introgressió. Els individus triploids s'obtenen mitjançant l'exposició dels ous fertilitzats a un xoc tèrmic (Thorgaard i Jazwin 1981; Crozier i Moffatt 1989) o a tractaments d'augment de pressió (Chourrout 1984; Lincoln 1996) i han estat utilitzats en piscicultura amb la finalitat comercial d'evitar els efectes negatius del procés de maduració de les gònades sobre el desenvolupament de la carn en els

salmònids (Blanco 1994). Tot i que s'han fet estudis per determinar la utilitat dels individus triploids en piscicultura comercial (Benfey 2001) i en pesca recreativa (Kozfkay et al. 2006), hi ha poca informació sobre l'impacte que els individus triploids alliberats al riu podrien tenir en les poblacions salvatges (Chatterji et al. 2008), encara que, sembla ser que hi ha més individus triploids que sobreviuen l'hivern, la qual cosa fa pensar en la possibilitat que tinguin un avantatge a l'hora de competir amb els individus diploids (Solomon 2001). No existeixen dades sobre la utilització d'individus triploids de truita comuna per a la repoblació dels rius de la península Ibèrica. No obstant, s'haurien utilitzat per repoblar rius del sud d'Anglaterra (Solomon 2001).

Una altra mesura de gestió dissenyada per tal d'augmentar la grandària de les poblacions evitant la introducció de gens exògens en les poblacions salvatges és la repoblació amb individus procedents d'estocs de cria originats a partir de poblacions salvatges. Per aplicar aquest tipus de gestió, cal disposar d'estocs de cria per a cadascuna de les poblacions diferenciades presents en els rius, la qual cosa pot implicar mantenir en captivitat un elevat nombre d'estocs diferents. En aquesta pràctica cal tenir en compte el nombre d'individus nadius que són necessaris per la creació de l'estoc, per tal d'evitar problemes de consanguinitat o de pèrdua de la variabilitat genètica (Ryman i Laikre 1991; Ryman 1994; Ryman et al. 1995b; Hansen et al. 2000; Wang i Ryman 2001; Machado-Schiaffino et al. 2007). Estudis realitzats en el riu Daläven (Suècia) no mostren diferències significatives en el comportament dels individus procedents d'estocs nadius i els salvatges (Dannewitz et al. 2003; Dannewitz et al. 2004; Dahl et al. 2006). Per altra banda, Petersson i Järvi (2006) troben diferències en la resposta cap als depredadors entre els individus de truita comuna salvatges, els híbrids i els procedents d'estocs nadius. Alhora, Knudsen et al. (2006) estudiant individus salvatges i procedents d'estocs nadius de l'espècie salmó reial (*Oncorhynchus tshawytscha*) en el riu Yakima (Washington, EUA) arriben a la conclusió que els individus procedents dels estocs nadius no són

idèntics als individus salvatges, ja que detecten diferències en la grandària, la proporció sexual o el moment en què desoven. La repoblació a partir d'estocs nadius ha estat utilitzada en programes de gestió del salmó (*Oncorhynchus* spp.) als EUA (Hedrick et al. 1994; Cummings et al. 1997; Knudsen et al. 2006), de truita comuna a Suècia (Dahl et al. 2006) i de salmó (*Salmo salar* L.) a la península Ibèrica (Saura et al. 2006).

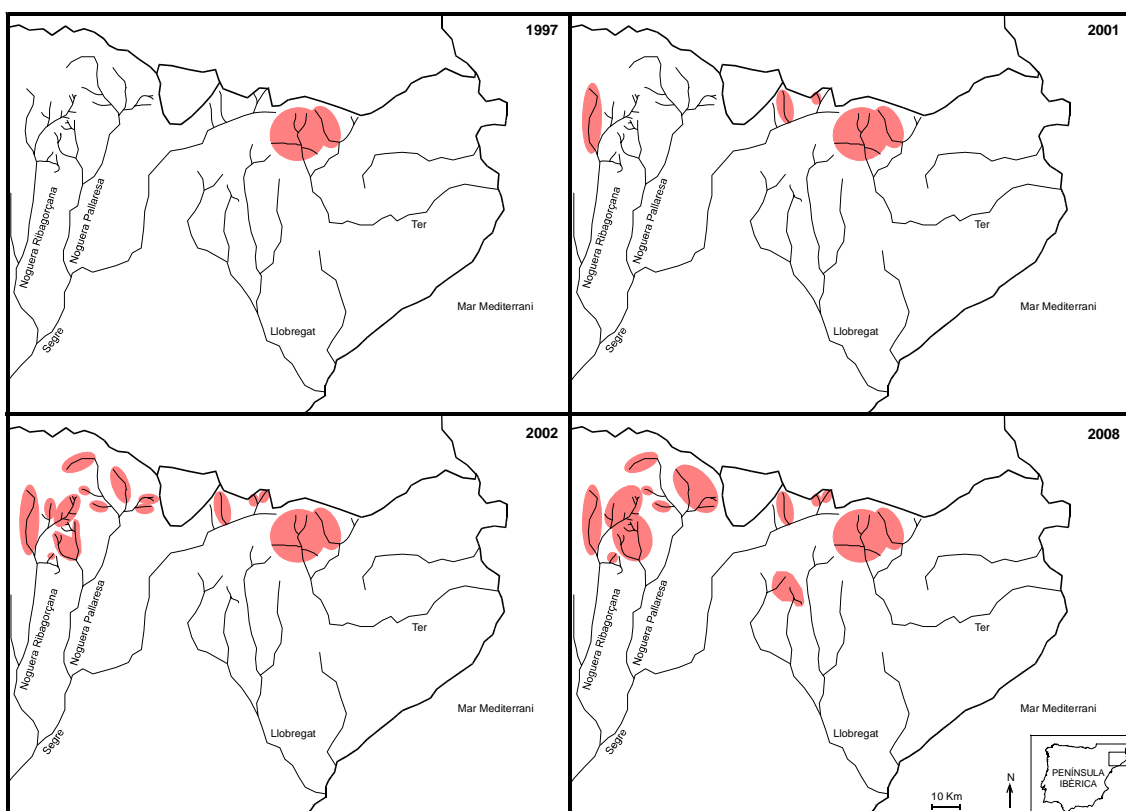
Una variant d'aquesta pràctica seria l'anomenada cria de suport ("supportive breeding"), en aquest cas, una fracció dels individus parentals de la població salvatge es porta cada any al centre piscícola on té lloc la reproducció i, posteriorment, la descendència és alliberada a l'hàbitat natural on es barregen amb els individus salvatges (Ryman i Laikre 1991; Laikre et al. 1999; Ferguson 2006). Tot i que no existeixen molts estudis que avaluin l'impacte de les repoblacions realitzades amb salmònids procedents d'estocs nadius de suport en les poblacions salvatges, Araki et al. (2007a,b) observen una davallada de l'eficàcia reproductiva dels individus procedents d'estocs nadius de suport respecte la dels individus salvatges. Als EUA, s'han portat a terme programes de cria de suport per la gestió del salmó (Araki et al. 2007b). A Europa, aquest tipus de repoblació ha estat aplicada en programes de gestió de poblacions de truita comuna en rius de Dinamarca (Hansen et al. 2000) i de salmó en rius del nord de la península Ibèrica (Machado-Schiaffino et al. 2007). Per altra banda, Ferguson (2006) recomana que, tal i com es fa a Dinamarca, aquest sigui l'únic tipus de repoblació de truita comuna permès a Anglaterra i Gal.les.

1.3.4. Les reserves genètiques en la gestió de la truita comuna a Catalunya

Com ja s'ha comentat, la gestió de les poblacions de truita comuna portada a terme fins ara en la majoria de rius de la vessant mediterrània de la península Ibèrica ha estat centrada bàsicament en les repoblacions intensives amb exemplars exògens per tal de mantenir el nivell d'explotació.

Aquesta activitat ha tingut conseqüències negatives i, en molts casos, irreversibles en les poblacions salvatges (García-Marín et al. 1998, Almodóvar et al. 2006, Sanz et al. 2006). En molts països d'Europa són àmpliament reconegudes les figures de les reserves naturals i els santuaris en els programes de conservació d'espècies amb un interès social i econòmic. Pel que fa a la truita comuna, Poteaux i Berrebi (1997) defineixen, per exemple, el terme "santuari genètic" com una reserva genètica d'individus nadius on no hi estan permeses ni la repoblació ni la pesca. Conscients de la pèrdua de patrimonis genètics nadius, l'administració responsable de la gestió de la pesca de la truita comuna en els rius de Catalunya està proposant canvis importants en les polítiques de gestió per tal d'aconseguir també la conservació dels patrimonis genètics nadius i mantenir poblacions natives autosostenibles. Així, des de 1997, en les ordres de pesca apareix una nova figura de gestió: les *Reserves Genètiques de Truites*. Són considerades reserves genètiques de truites algunes capçaleres de rius on, segons les anàlisis genètiques realitzades, la presència d'exemplars de repoblació és escassa o nul·la. Sota aquesta figura, l'alliberament d'exemplars està totalment prohibit, però es mantenen les activitats relatives a la pesca que tenien els trams dels rius abans de ser declarats reserves genètiques essent aquesta una diferència clau i fonamental respecte els "santuaris genètics" proposats per Poteaux i Berrebi (1997), ja que normalment l'explotació interfereix amb les reserves. Dins les reserves genètiques podem trobar, per tant, zones lliures de pesca (que en aquest cas seran sempre sense mort), refugis de pesca i zones de pesca controlada. El nombre de reserves genètiques ha anat augmentant des de 2 al 1997 fins a 16 al 2008 (Fig. 3).

Figura 3. Zones que són considerades reserves genètiques de truita comuna a Catalunya.



Des de la creació de les reserves genètiques, només es repobla de forma periòdica i continuada a les *zones de pesca controlada* en trams de riu fora d'aquesta figura i les repoblacions es realitzen principalment amb exemplars juvenils procedents de centres piscícoles autoritzats. Malgrat això, no es pot descartar la possibilitat de que es donin repoblacions furtives en altres punts.

1.4. Monitoratge genètic de les poblacions

El monitoratge de les poblacions és especialment interessant per comprovar que les figures de gestió aplicades estiguin assolit els objectius pels quals han estat dissenyades. En els darrers anys, la introducció de les reserves

genètiques de truites a Catalunya fa que el monitoratge de les poblacions sigui molt important per tal de veure si realment s'està millorant la conservació dels patrimonis genètics. Al mateix temps, el monitoratge de poblacions que han patit la introducció de gens exògens procedents de centres piscícoles a través de les repoblacions és també molt important per tal de constatar com evolucionen els processos d'hibridació i per saber quin és el nivell d'introgressió en les poblacions (Ferguson et al. 1995).

Existeixen diferents mètodes, basats en la informació genètica, que permeten detectar la introgressió present a les poblacions mediterrànies de truita comuna. En aquest sentit, la variació al·lèlica en els loci que codifiquen per enzims (al·lozims) ha estat utilitzada durant anys com a eina principal en l'anàlisi de la variabilitat intra i interespecífica en la truita comuna (Ferguson 1988). En l'avaluació de la introgressió a partir de loci al·lozímics, el mètode més ràpid és la detecció de l'al·lel *LDH-C*90*, el qual està fixat en els estocs d'origen nord i centre europeu dels centres piscícoles, mentre que és absent en les poblacions natives (García-Marín et al. 1991, 1998; Martínez et al. 1993; Arias et al. 1995; Berrebi et al. 2000a). La seva utilitat com a marcador diagnòstic és àmpliament reconeguda i ha estat utilitzat en molts estudis per tal d'avaluar l'impacte de les repoblacions en les poblacions mediterrànies de diferents països com per exemple França (Poteaux et al. 1998, Berrebi et al. 2000a, Aurelle et al. 2002), Suïssa, (Mezzerà i Largiadèr 2001) o Espanya (Martínez et al. 1993, Arias et al. 1995, Bouza et al. 1999, Corujo et al. 2004, Ayllon et al. 2006). Altres al·lels minoritaris com ara *G3PDH-2*50*, *sMDH-A2*120* i *sMDH-B1,2*80* que són freqüents en els estocs dels centres piscícoles i rars en poblacions natives, també han estat utilitzats com a marcadors del grau d'introgressió present en les poblacions ibèriques (García-Marín et al. 1998; Sanz et al. 2000, 2002). A partir d'aquests marcadors, s'han desenvolupat diferents mètodes amb l'objectiu d'estimar les taxes d'introgressió (Berrebi et al. 2000a; Sanz et al. 2000; Mezzerà i Largiadèr 2001). Més recentment, les anàlisis de gens mitocondrials han

permès descriure haplotips exclusius d'individus de centres piscícoles però, donat que el DNAm_t presenta una herència materna, aquest és només un indicador de la introgressió com a conseqüència de les femelles que han estat repoblades (Poteaux et al. 1998; Sanz et al. 2006). Els avenços en la genètica molecular han proporcionat nous marcadors, potencialment molt útils per tal d'estudiar els processos d'hibridació, alhora que han permès disposar d'un ventall més ampli de tècniques moleculars per tal de documentar aquests processos d'hibridació, així com la introgressió (Hewitt 2001). Entre ells hi trobem els marcadors altament variables com els microsatèl·lits, els quals, pel seu elevat polimorfisme, permeten unes anàlisis més detallades de l'estructura de la població que els loci al·lozimics, alhora que es poden analitzar a partir de mostres que no requereixen el sacrifici dels individus (Jarne i Lagoda 1996; Grant et al. 1999; Aurelle et al. 2002). La seva utilitat per avaluar la introgressió sembla especialment útil quan les soques de centres piscícoles presenten una baixa divergència genètica respecte a les poblacions natives (Aurelle et al. 2002) i podrien servir pel seguiment de repoblacions amb estocs naturals (Caudron et al. 2006). L'elevat potencial d'aquests marcadors per genotipar els individus ha anat acompanyada de l'aparició de nous mètodes estadístics on la mostra total d'individus es divideix en un nombre indeterminat de subpoblacions en base al seu genotip (Pritchard et al. 2002). Entre aquests, els tests d'assignament individual permeten assignar els individus a la població de la qual és més probable que provingui el seu genotip (Hansen et al. 2001a), fet que permet la detecció d'individus híbrids, migrants o translocats. D'aquesta manera, sabent el nombre d'individus que són assignats a la població del centre piscícola, podem tenir una estimació de la magnitud de la introgressió en les poblacions repoblades.

1.5. Objectius d'aquest treball

En aquest treball es pretén realitzar el monitoratge genètic de les poblacions de truita comuna dels Pirineus orientals, fent especial incidència en com la incorporació de les reserves genètiques des de l'any 1997 ha afavorit la conservació dels seus patrimonis genètics. El Laboratori d'Ictiologia Genètica disposa de dades genètiques d'aquestes poblacions dels Pirineus orientals des del 1993, corresponents als estudis realitzats amb projectes anteriors als que han finançat aquesta tesi. Aquestes dades i les analitzades dins d'aquest treball de tesi permeten avaluar l'estat de les poblacions abans i després de la incorporació de les reserves genètiques en la gestió d'aquestes poblacions. Malgrat que les dades genètiques dels primers projectes van ser recollides utilitzant la variació proteica (loci al·lozímics) i que en l'actualitat el laboratori treballi amb tècniques de DNA, la informació genotípica pel locus *LDH-C** s'obté també actualment mitjançant tècniques a partir de DNA (McMeel et al. 2001). La informació per aquest marcador és l'única que s'ha continuat obtenint al llarg dels anys.

Tenint en compte aquestes consideracions i amb l'objectiu general d'avaluar els efectes de la gestió de la truita comuna portada a terme fins ara per tal de proposar mesures de gestió encaminades a millorar la preservació dels patrimonis genètics nadius, els objectius concrets que es plantegen en aquest treball són els següents:

1. *Avaluar la concordança i coherència entre diferents marcadors i mètodes genètics utilitzats pel seguiment de les repoblacions als Pirineus catalans*

El marcador clàssic *LDH-C*90* és l'únic que s'ha mantingut en les anàlisis de les poblacions salvatges de truita comuna fetes pel Laboratori d'Ictiologia Genètica. Les dades obtingudes amb aquest locus ens haurien de permetre el seguiment temporal d'aquesta introgressió (objectiu 3). Com que en l'actualitat la informació que

s'obté a partir de l'anàlisi de varis loci i l'aplicació de diferents metodologies més modernes de processament de dades permet obtenir estimes "a priori" més acurades del nivell d'introgressió, el primer objectiu és veure quins dels marcadors i mètodes que existeixen actualment són més adequats per detectar la introgressió en les poblacions salvatges i com són les estimes obtingudes amb el locus *LDH-C** respecte d'aquestes.

2. *Valorar l'impacte genètic de les repoblacions en el territori abans de la creació de les reserves genètiques*

El segon objectiu és fer una valoració de l'impacte genètic que van tenir les repoblacions en l'estructura genètica local i regional de les poblacions abans de la creació de les reserves genètiques.

3. *Analitzar el paper de les reserves genètiques en la conservació dels patrimonis genètics nadius de les poblacions de truita*

El tercer objectiu d'aquest treball és avaluar l'efecte que ha tingut la designació de reserves genètiques en la preservació dels patrimonis genètics nadius de les poblacions de truita dels Pirineus orientals. S'intenta, alhora, determinar si aquesta figura afavoreix un model de gestió autosostenible, en el que s'aconsegueixi un equilibri entre conservació i explotació.

2. RESULTATS

En el marc dels objectius del treball descrits al capítol anterior, la totalitat dels resultats obtinguts en el decurs del treball de tesi es presenten elaborats en forma de tres articles científics, tots ells publicats en diferents revistes indexades en el Journal Citation Reports a les àrees de “Biodiversitat i Conservació” i “Pesqueries”.

ARTICLE I. Sanz N., Araguas R.M., Fernández R., Vera M., García-Marín J.L. 2009. Efficiency of markers and methods for detecting hybrids and introgression in stocked populations. *Conservation Genetics*, **10**: 225-236.

En aquest primer article s'avalua la coherència entre diferents marcadors (al.lozims, microsatèl.lits, gen diagnòstic) i mètodes (STRUCTURE, NEWHYBRIDS, BAPS i GeneClass) en la detecció dels híbrids i els nivells d'introgressió en les poblacions. Per això, primer s'han generat dades simulades de poblacions híbrides entre exemplars nadius del Pirineu català i l'estoc del centre piscícola de Bagà (F1, F2, F1 x natiu). Els resultats obtinguts ens permeten establir valors de referència a l'hora d'estimar els nivells d'introgressió a les poblacions salvatges. A priori, els resultats obtinguts utilitzant simulacions mostren que tant al.lozims com microsatèl.lits poden identificar híbrids i introgressió amb una eficàcia similar, per a qualsevol dels mètodes provats. En canvi, les anàlisis de casos reals en poblacions del medi natural semblen indicar que la millor combinació seria l'ús de marcadors microsatèl.lits analitzats amb el programa STRUCTURE. Al mateix temps, els resultats confirmen que el marcador *LDH-C* continua essent un bon indicador de la introgressió poblacional. De manera global, els resultats demostren que l'increment del grau d'introgressió de les poblacions, disminueix l'eficàcia en la detecció dels exemplars procedents del centre piscícola.

ARTICLE I

Sanz N., Araguas R.M., Fernández R., Vera M., García-Marín J.L. 2009. Efficiency of markers and methods for detecting hybrids and introgression in stocked populations. *Conservation Genetics*, **10**: 225-236.

<http://dx.doi.org/10.1007/s10592-008-9550-0>

Received: 28 September 2007 **Accepted:** 5 March 2008 **Published online:** 16 March 2008

Abstract

Detection of hybridization and introgression in wild populations that have been supplemented by hatchery fish is necessary during development of conservation and management strategies. Initially, allozyme data and more recently highly polymorphic microsatellite markers have been used to obtain this information. We used both markers to assess the effectiveness of four assignment methods (STRUCTURE, NEWHYBRIDS, BAPS and GeneClass) to detect hatchery introgression in wild stocked populations. Simulations of hybrid genotypes from real parental data revealed that the number and type of markers used with STRUCTURE, NEWHYBRIDS and BAPS can identify as admixed most first and second generation hybrids as well as first generation backcrosses. In wild populations, introgression rates estimated from different markers and methods were correlated. However, slight disagreements were observed at both population and individual levels. Overall, the fully Bayesian (STRUCTURE, NEWHYBRIDS and BAPS) performed better than partially Bayesian (GeneClass) assignment tests. In wild collections, BAPS analyses were limited because of the lack of a native baseline. In all cases, the efficiency of methods was reduced as introgression increased.

Keywords Allozymes - Assignment methods - Brown trout -Introgression - Microsatellites

ARTICLE II. 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** (Supplement A): 28-37.

Aquest segon article posa de manifest l'impacte de les repoblacions a nivell local a Catalunya en un interval de 6-9 anys previ a la creació de les reserves genètiques. Per això, s'ha monitoritzat l'estructura genètica de 13 poblacions de truita comuna utilitzant 42 loci al·lozímics. Els resultats obtinguts posen en evidència que els al·lels procedents de centres piscícoles estan diluint els patrimonis gènics nadius i conduint a una homogeneització de les poblacions salvatges. Alhora l'alteració de l'estructura genètica nativa de la truita comuna al riu dels Pirineus orientals, com a conseqüència de la introgressió de gens de repoblació, ens porta a observar com la hibridació entre poblacions natives i l'estoc de repoblació esborra la història d'hibridacions naturals entre llinatges.

ARTICLE II

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** (Supplement A): 28-37.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00544.x>

<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118756147/abstract>

Received: 28 February 2002; Accepted: 09 September 2002;

ABSTRACT

Genetic changes in the population structure of brown trout *Salmo trutta* in the eastern Pyrenees were monitored during the 1990s. Stocking with cultivated exogenous fish has resulted in introgressed populations where those with higher introgression coefficients also have the highest values of heterozygosity. Nevertheless, this increase of local diversity reflects a decrease of genetic differentiation between populations and loss of native alleles. These changes obscure native gene pools and modify evolutionary distinctions among native brown trout populations.

KEYWORDS

evolutionary history • hybridization • introgression • *Salmo trutta* • stocking

ARTICLE III. Araguas R.M., Sanz N., Fernández R., Utter F.M., Pla C., García-Marín J.L. Genetic refuges for a self-sustained fishery: experience in wild brown trout populations in the eastern Pyrenees. *Ecology of Freshwater Fish*, **17**: 610-616.

En aquest tercer article s'han estudiat els canvis en la freqüència de l'al·lel *LDH-C*90* que han tingut lloc en 10 poblacions salvatges de truita comuna dels Pirineus orientals des de 1993 fins el 2006, tenint en compte la gestió que s'ha portat a terme en aquestes poblacions al llarg de tots aquests anys. Per això ha estat necessari recopilar tota la informació al llarg del temps sobre les repoblacions efectuades i la permissivitat de pesca en les zones on es troben les poblacions estudiades, la qual cosa ens ha permès descriure un historial de gestió per a cada població. Algunes d'elles són reserves genètiques des que es va començar a utilitzar aquesta figura l'any 1997. Els resultats obtinguts indiquen que, tot i que encara es detecten nivells d'introgressió importants com a conseqüència de les repoblacions passades, les reserves genètiques estan evitant un increment d'aquesta introgressió en la regió estudiada. Al mateix temps, juntament amb restriccions aplicades en la grandària i el nombre de les captures, aquesta figura està contribuint a assolir un model de gestió autosostenible.

ARTICLE III

Araguas R.M., Sanz N., Fernández R., Utter F.M., Pla C., García-Marín J.L. Genetic refuges for a self-sustained fishery: experience in wild brown trout populations in the eastern Pyrenees. *Ecology of Freshwater Fish*, 17: 610-616.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0633.2008.00312.x>

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/120122935/HTMLSTART>

Accepted for publication April 9, 2008

ABSTRACT

Management policies balancing harvest and conservation of natural populations of fish are difficult to establish, both scientifically and politically. This issue is particularly difficult when those populations represent native genetic resources. Since 1997, several brown trout populations in the eastern Pyrenees Mountains (Spain) were designated as 'genetic refuges' under varying fishing regulations, where releases of hatchery-origin fish are not permitted. We analysed genetic variation in samples of brown trout from six of those refuge populations and four non-refuge populations within the same region. Each population was sampled in four separate years: 1993, 1999, 2004 and 2006. Our analyses were based on a diagnostic allele (LDH-C*90) that distinguishes native and exogenous hatchery populations. Comparisons were based on stocking histories before and after refuge designations and on three management strategies: fished, unfished and catch-and-release. Overall, we detected significant genetic introgression resulting from past stocking practices despite the current restriction of hatchery releases imposed by the recent genetic refuge policy. However, this new policy has prevented detectable introgression from increasing throughout the region and together with additional measures on length and number of captured fish is contributing to self-sustained fisheries that are achieving conservation goals. Quick acceptance of 'genetic refuges' by anglers in one particular river, the Ter River basin, has been a key factor in protecting native gene pools compared with the Segre River basins where refuges were not readily accepted.

KEYWORDS

brown trout • conservation • genetic refuges • hatchery introgression • stocking

3. DISCUSSIÓ GENERAL

La discussió general d'aquesta tesi s'ha estructurat en dos apartats. En el primer es discuteix quins han estat els efectes de les repoblacions i la necessitat del seguiment genètic de les poblacions per tal de millorar-ne la seva gestió. Per altra banda, en el segon apartat, es fa una avaluació general de la gestió de la truita comuna portada a terme a Catalunya en els darrers anys i, especialment del paper que han tingut fins ara les reserves genètiques en aquesta gestió. Aquest apartat sobre la gestió basada en les reserves genètiques, es presenta en format d'assaig científic, el qual ha estat acceptat recentment per a ser publicat a la revista *Conservation Biology*, revista indexada al Journal Citation Reports a l'àrea temàtica corresponent a "Biodiversitat i Conservació".

3.1. Monitoratge genètic de les poblacions i detecció dels híbrids

Tot i que la hibridació és un procés que té lloc en les poblacions naturals, evitant els efectes negatius que es donen en poblacions aïllades i afavorint l'especiació, la hibridació antropogènica resultant de la introducció d'espècies exòtiques està amenaçant la integritat genètica d'un ampli rang d'espècies i causant l'extinció de molts taxons (espècies, subespècies i poblacions localment adaptades), ja sigui pel reemplaçament o per la barreja genètica (Rhymer i Simberloff 1996; Huxel 1999; Allendorf et al. 2001; Wolf et al. 2001; Frankham et al. 2002). Els nivells d'hibridació genètica i introgressió estan augmentant a nivell mundial com a conseqüència de les translocacions intencionades d'organismes i les modificacions dels hàbitats per part dels homes (Allendorf et al. 2001, Jensen et al. 2005b). Així, actualment, la introducció d'espècies és considerada, juntament amb la pèrdua de l'hàbitat, la sobreexplotació i la pol·lució, com una de les principals causes d'extinció d'espècies (Frankham et al. 2002). La introducció d'espècies és especialment greu quan el nombre d'exemplars introduïts és més abundant que el de les natives (Rhymer i Simberloff 1996).

El problema que suposa la hibridació com a conseqüència de la introducció d'individus exògens està particularment estès en espècies de peixos d'aigua dolça (Moyle i Leidy 1992; Cowx 1999) i ha estat molt estudiat en espècies de la família dels salmònids (Utter 2001; *Salmo marmoratus*, Berrebi et al. 2000b, Fumagalli et al. 2002; *Oncorhynchus clarki lewisi*, Hitt et al. 2003; *Thymallus thymallus* L., Sušnik et al. 2004; *Salmo salar* L., Campos et al. 2008).

En el cas de la truita comuna, malgrat que les repoblacions amb exemplars procedents de centres piscícoles no sempre tenen l'efecte desitjat d'augmentar el nombre d'exemplars de les poblacions salvatges, els individus que sobreviuen, sobretot en les zones no explotades, s'hibriden amb els nadius provocant la introgressió de gens exògens en els patrimonis genètics nadius (García-Marín et al. 1998, 1999; Cagigas et al. 1999; Sanz et

al. 2002). En aquest sentit, les repoblacions continuades que han tingut lloc als rius dels Pirineus orientals han comportat una important introgressió de gens exògens a les poblacions salvatges de truita comuna, que ha contribuït a la pèrdua de la història evolutiva d'aquestes poblacions (article II).

Per tal de fer front a aquesta situació i evitar la pèrdua dels patrimonis genètics nadius que encara perduren a les poblacions salvatges és important el disseny de noves mesures de gestió, però alhora cal que es faci un monitoratge genètic de les poblacions al llarg del temps per tal d'avaluar quina diversitat genètica ens resta i quina és l'eficàcia de la gestió portada a terme (Margoulis i Salafsky 1998; Woodhill 2000; Stem et al. 2005; Schwartz et al. 2006). En el cas de la truita comuna, esdevé doncs necessari fer un seguiment dels nivells d'introgressió present a les poblacions per poder identificar les poblacions natives i diferenciar-les de les introgressades (Ferguson et al. 1995). D'aquí la importància de trobar marcadors i mètodes d'anàlisi que ens permetin detectar híbrids i introgressió d'una manera ràpida i eficaç (article I). La identificació dels híbrids no sempre és fàcil encara que les tècniques moleculars ens han proporcionat eines molt valuoses per aquesta tasca (Allendorf et al. 2001; Hewitt 2001). Des de mitjans dels anys 60, els marcadors al·lozimics han estat àmpliament utilitzats en els estudis de genètica de poblacions. Actualment però, els marcadors altament polimòrfics, com els microsatèl·lits, que a més tenen l'avantatge de poder ser analitzats a partir de mostres no destructives, han anat desplaçant aquesta tècnica. L'avantatge principal dels microsatèl·lits estaria però relacionat amb la seva alta variabilitat que permet identificar genotips individuals i analitzar relacions genètiques per sota del nivell de població. Alhora, les noves aplicacions estadístiques disponibles permeten processar les dades moleculars per tal de detectar introgressió en les poblacions i fins i tot identificar individus híbrids dins les poblacions que han estat repoblades (Hansen et al. 2002). D'aquesta manera, podem obtenir informació molt valuosa per elaborar plans de conservació dels patrimonis genètics nadius

que encara resten en les poblacions salvatges (Berrebi et al. 2000b; Nielsen et al. 2001; Sušnik et al. 2004).

Per altra banda, més enllà dels marcadors genètics, hi ha autors que proposen la utilització de marcadors morfològics com ara la variació del patró de color, el patró de taques o la pigmentació de les aletes, enlloc dels marcadors genotípics, ja que han observat que, en algunes espècies de salmònids s'obté una informació similar a la que proporcionen els anàlisis genètics (Delling et al 2000; Kruse et al. 2000; Weigel et al. 2002). De fet, a la truita comuna hi ha alguns caràcters fenotípics relacionats amb les taques i la coloració del cos que presenten una base genètica (Skaala i Jørstad 1988; Blanc et al. 1994; Mezzera et al. 1997) i que, per tant, potencialment podrien ser utilitzats com a marcadors per identificar els individus procedents de centres piscícoles i els individus salvatges d'una població. En aquest sentint, Aparicio et al. (2005) en poblacions de truita del Pirineu català identifiquen una proporció similar d'individus nadius, híbrids i de centre piscícola utilitzant caràcters fenotípics i analitzant el locus *LDH-C*. Segons aquests autors, la possibilitat d'identificar "in situ" els individus nadius, híbrids i de centre piscícola a partir del seu fenotip podria ser molt útil i afavoriria que els pescadors s'involucressin en la conservació de la truita comuna autòctona de manera que els individus capturats pels pescadors que fossin identificats com a introduïts poguessin ser eliminats del riu.

3.2. Paper de les reserves genètiques en la conservació dels patrimonis genètics

Role of Genetic Refuges in the Restoration of Native Gene Pools of Brown Trout

ROSA M. ARAGUAS,* NÚRIA SANZ,* ‡ RAQUEL FERNÁNDEZ,* FRED M. UTTER,† CARLES PLA,* AND JOSÉ-LUIS GARCÍA-MARÍN*

*Laboratori d'Ictiologia Genètica, University of Girona, Campus Montilivi s/n, E-17071 Girona, Spain

†School of Aquatic and Fishery Sciences, University of Washington, Seattle, WA 98195, U.S.A.

Abstract: *Captive-bred animals derived from native, alien, or hybrid stocks are often released in large numbers in natural settings with the intention of augmenting harvests. In brown trout (*Salmo trutta*), stocking with hatchery-reared non-native fish has been the main management strategy used to maintain or improve depleted wild brown trout populations in Iberian and other Mediterranean regions. This measure has become a serious threat to the conservation of native genetic diversity, mainly due to introgressive hybridization. Aware of this risk, the agency responsible for management of brown trout in the eastern Pyrenees (Spain) created "brown trout genetic refuges" to preserve the integrity of brown trout gene pools in this region. Within refuge areas, the prerefuge status with respect to fishing activities has been maintained, but hatchery releases have been banned completely. We evaluated this management strategy through a comparison of the stocking impact on native populations that accounted for stocking histories before and after refuge designations and fishing activities. In particular we examined the relevant scientific, cultural, and political challenges encountered. Despite agency willingness to change fishery policies to balance exploitation and conservation, acceptance of these new policies by anglers and genetic monitoring of refuge populations should also be considered. To improve management supported by genetic refuges, we suggest focusing on areas where the public is more receptive, considering the situation of local native diversity, and monitoring of adjacent introgressed populations. We recommend the use of directional supportive breeding only when a population really needs to be enhanced. In any case, management strategies should be developed to allow for protection within the context of human use.*

Keywords: fish stocking, genetic refuges, hatchery introgression, management guidelines, native gene pools

El Papel de los Refugios Genéticos en la Restauración de Acervos Genéticos Nativos de Trucha Común

Resumen: *Animales criados en cautiverio derivados de individuos nativos, exóticos o híbridos a menudo son liberados en grandes cantidades en ambientes naturales con la intención de incrementar su explotación. En la trucha común (*Salmo trutta*), la repoblación con peces no nativos criados en granjas ha sido la principal estrategia de manejo utilizada para mantener o mejorar poblaciones naturales de trucha común en la Península Ibérica y otras regiones Mediterráneas. Esta medida se ha convertido en una seria amenaza para la conservación de la diversidad genética nativa, debido principalmente a la hibridación introgresiva. Consciente de este riesgo, la agencia responsable del manejo de la trucha común en los Pirineos orientales (España) creó "refugios genéticos de trucha común" para preservar la integridad de los acervos genéticos de trucha común en esta región. Dentro de las áreas de refugio, se ha mantenido el estatus previo al refugio con respecto a las actividades pesqueras pero las liberaciones de peces de piscifactoría han sido completamente prohibidas. Evaluamos esta estrategia de manejo mediante la comparación del impacto de la repoblación sobre las poblaciones nativas que registraron historias de repoblación antes y después de la designación de refugios y de actividades pesqueras. En particular, examinamos los significativos retos científicos, culturales y políticos que*

‡Address correspondence to N. Sanz, email nuria.sanz@udg.es

Paper submitted June 2, 2008; revised manuscript accepted October 6, 2008.

3.2.1. Consideració final

La creació de les reserves genètiques ha estat un pas important per a la conservació de les poblacions salvatges de truita comuna però perquè aquesta mesura sigui realment efectiva cal que les associacions de pescadors s'involucrin més. Per això, és necessari que hi hagi un canvi d'actitud social envers les poblacions salvatges de truita comuna. En aquest sentit cal conscienciar els pescadors de la importància de la conservació de la diversitat genètica present a les poblacions no només per evitar la pèrdua de l'espècie autòctona dels nostres rius (article II), sinó també per assegurar que, a llarg termini, els rius pirinencs puguin seguir sostenint una pesca recreativa de la truita comuna. En poblacions autosostenibles, un possible reclam als pescadors podria ser l'oferiment dels peixos de grandària superior com a peixos trofeu, com a una alternativa a la pesca sense mort (veure Hutt i Bettoli 2007). Les truites més grans de la classe 4+ són escasses en el riu de la península Ibèrica, però tenen una grandària superior i una major fecunditat que no pas els individus reproductors de classe 2+, que són més abundants (Nicola i Almodóvar 2002). El fet de treure aquests individus més grans podria afavorir un increment de la població efectiva, ja que equilibraria l'edat i les condicions dels individus reproductors.

Tal com ja s'ha vist al llarg d'aquesta tesi, la singularitat genètica que es descriu en les poblacions estudiades en complica la seva gestió, fins i tot la utilització d'estocs nadius per a la repoblació de les poblacions més deprimides, ja sigui a partir d'estocs de cria originats a partir de poblacions natives o estocs de cria de suport nadius, poden no tenir l'efecte desitjat. Així doncs, en aquests casos les accions per a la conservació haurien d'anar encaminades a l'augment de la grandària d'aquestes poblacions mitjançant la millora i la recuperació de l'hàbitat, sobretot en les zones de fressa, i a la reducció del nivell d'explotació de pesca fins a nivells que permetin que la població es pugui mantenir mitjançant la reproducció natural.

4. CONCLUSIONS

Les conclusions més rellevants que es desprenen d'aquesta tesi són les següents:

1. Tant els marcadors al·lozímics com els microsatèl·lits poden identificar híbrids i introgressió amb una eficàcia similar utilitzant qualsevol dels programes estudiats (STRUCTURE, NEWHYBRIDS, BAPS, GeneClass). No obstant, les anàlisis amb poblacions natives que havien estat repoblades indiquen que, en estudis de poblacions salvatges de truita comuna, la combinació Microsatèl·lits-STRUCTURE seria la millor opció.

2. En aquells casos en què es disposa d'informació sobre les repoblacions efectuades en els rius, el marcador *LDH-C*90* continua essent un indicador vàlid d'introgressió en les poblacions de truita de la vessant mediterrània de la península Ibèrica.
3. La introgressió redueix l'eficàcia en la detecció d'exemplars de centre piscícola alliberats en repoblacions posteriors, fins i tot en el cas que aquesta introgressió només sigui del 10%.
4. La repoblació, ja sigui directa o indirecta, comporta una homogeneització de les poblacions natives i una distorsió de l'estructura genètica de les poblacions, esborrant els patrimonis genètics nadius i la història evolutiva. Tenint en compte que el grau d'introgressió a partir de noves repoblacions en la regió augmenta un 1% per any, segons el model del one-way-migration model, la història evolutiva de la truita comuna en els Pirineus catalans podria desaparèixer en els propers 100 anys com a resultat de les repoblacions.
5. Afortunadament, les reserves genètiques introduïdes el 1997 estan evitant l'increment de la introgressió a nivell global. A nivell local s'observa que l'impacte de les repoblacions passades és molt difícil d'esborrar.
6. En la implantació de la gestió basada en les reserves genètiques cal dirigir els esforços cap aquelles àrees on el públic és més receptiu, ja que, l'acceptació de les reserves en aquestes àrees pot promoure l'acceptació en altres zones. L'aturada de les repoblacions és inqüestionable per tal de protegir les poblacions natives. Alhora, les reserves genètiques, juntament amb altres mesures de gestió com ara l'augment de grandària dels individus que es poden pescar i la disminució del nombre de captures, són claus per promoure una pesca autosostenible.

7. La identificació de les variacions de diversitat genètica i del grau d'introgressió de les poblacions a nivell local és molt important a l'hora de designar una nova reserva genètica. Per això, cal que hi hagi un seguiment de les poblacions a nivell genètic.
8. Per tal d'evitar que els individus exògens puguin arribar a les reserves genètiques, cal situar aquestes zones lluny de les zones on encara es realitzen repoblacions. En aquells casos en què això no és possible, una solució seria la introducció entre les dues zones d'una zona de pesca controlada en la que no hi hagués repoblació, la qual cosa afavoriria l'extracció dels individus híbrids, en poblacions altrament introgressades, o dels individus procedents dels centres piscícoles i que han estat alliberats en altres trams del riu.
9. Per la seva complexitat, donada la gran estructura genètica que existeix inclús entre poblacions adjacents, la repoblació basada en la cria de suport és recomanable només en moments puntuals i en aquelles poblacions realment deprimides on sigui necessari augmentar la seva grandària.
10. Les estratègies de gestió aplicades han de ser compatibles amb les activitats humanes que tenen lloc en els rius. D'aquesta manera, les zones de reserva genètica no han d'excloure forçosament l'activitat pesquera malgrat que aquesta ha de poder mantenir-se mitjançant la reproducció natural de les poblacions. Per això és molt important que els pescadors acceptin que cal que hi hagi restriccions de pesca i que s'incrementin les zones on la pesca sigui sense mort.

5. REFERÈNCIES

Allendorf, F.W., Leary, R.F., Spruell, P., Wenburg, J.K. 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *TRENDS in Ecology & Evolution* **16**, 613-622.

Almodóvar, A., Nicola, G.G., Elvira, B., García-Marín, J.L. 2006. Introgression variability among Iberian brown trout Evolutionary Significant Units: the influence of local management and environmental features. *Freshwater Biology* **51**, 1175-1187.

Aparicio, E., García-Berthou, E., Araguas, R.M., Martínez, P., García-Marín, J.L. 2005. Body pigmentation pattern to assess introgression by hatchery

- stocks in native *Salmo trutta* from Mediterranean streams. *Journal of Fish Biology* **67**, 931-949.
- Apostolidis, A.P., Triantaphyllidis, C., Kouvatsi, A., Economidis, S. 1997. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek brown trout) populations. *Molecular ecology* **6**, 531-542.
- Araki, H., Ardren, W.R., Olsen, E., Cooper, B., Blouin, M.S. 2007a. Reproductive Success of Captive-Bred Steelhead Trout in the Wild: Evaluation of Three hatchery Programs in the Hood River. *Conservation Biology* **21**, 181-190.
- Araki, H., Cooper, B., Blouin, M.S. 2007b. Genetics effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild. *Science* **318**, 100-103.
- Araki, H., Berejikian, B.A., Ford, M.J., Blouin, M.S. 2008. Fitness of hatchery-reared salmonids in the wild. *Evolutionary Applications* **1**:342-355.
- Arias, J., Sánchez, L., Martínez, P. 1995. Low stocking incidence in brown trout populations from north-western Spain monitored by *LDH-5** diagnostic marker. *Journal of Fish Biology* **47**, 170-176.
- Aurelle, D., Cattaneo-Berrebi, G., Berrebi, P.L. 2002. Natural and artificial secondary contact in brown trout (*Salmo trutta*, L.) in the French western Pyrenees assessed by allozymes and microsatellites. *Heredity* **89**, 171-183.
- Ayllon, F., Moran, P., García-Vásquez, E. 2006. Maintenance of a small anadromous subpopulation of brown trout (*Salmo trutta* L.) by straying. *Freshwater Biology* **51**, 351-358.

- Baer, J., Blasel, K., Diekmann, M. 2007. Benefits of repeated stocking with adult, hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta*, to recreational fisheries? *Fisheries Management and Ecology* **14**, 51-59.
- Barbat-Leterrier, A., Guyomard, R., Krieg, F. 1989. Introgression between introduced domesticated strains and Mediterranean native populations of brown trout (*Salmo trutta*, L.). *Aquatic Living Resources* **2**, 215-223.
- Behnke, R.J. 1986. Brown trout. *Trout* **27**, 42-47.
- Benfey, T.J. 2001. Use of sterile triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) for aquaculture in New Brunswick, Canada. *Journal of Marine Science* **58**, 525-529.
- Bernatchez, L., Guyomard, R., Bonhomme, F. 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout (*Salmo trutta*) populations. *Molecular Ecology* **1**, 161-173.
- Bernatchez, L. 2001. The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution* **55**, 351-379.
- Berrebi, P., Poteaux, C., Fissier, M., Cattaneo-Berrebi, G. 2000a. Stocking impact and allozyme diversity in brown trout from Mediterranean southern France. *Journal of Fish Biology* **56**, 949-960.
- Berrebi, P., Povz, M., Jesensek, D., Cattaneo-Berrebi, G., Crivelli, A.J. 2000b. The genetic diversity of native, stocked and hybrid populations of marble trout in the Soca River, Slovenia. *Heredity* **85**, 277-287.
- Blanc, J.M., Chevassus, B., Krieg, F. 1994. Inheritance of the number of red spots on the skin of the brown trout. *Aquatic Living Resources* **7**, 133-136.

- Blanco, M.C. 1994. La trucha cria industrial. 2na Edició. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. ISBN: 84-7114-504-9. pp503.
- Bourke, P., Magnan, P., Rodríguez, M.A. 1997. Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *Journal of Fish Biology* **51**, 783-794.
- Bouza, C., Arias, J., Castro, J., Sánchez, L., Martínez, P. 1999. Genetic structure of brown trout, *Salmo trutta* L., at the southern limit of the distribution range of the anadromous form. *Molecular Ecology* **8**, 1-11.
- Bouza, C., Castro, J., Sánchez, L., Martínez, P. 2001. Allozymic evidence of parapatric differentiation of brown trout (*Salmo trutta* L.) within an Atlantic river basin of the Iberian Peninsula. *Molecular ecology* **10**, 1455-1469
- Brown, C., Day, R.L. 2002. The future of stock enhancements: lessons for hatchery practice from conservation biology. *Fish and Fisheries* **3**, 79-94.
- Campos, J.L., Posada, D., Morán, P. 2008. Introgression and genetic structure in northern Spanish Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations according to mtDNA data. *Conservation Genetics* **9**, 157-169.
- Cagigas, M.E., Vázquez, E., Blanco, G., Sánchez, J.A. 1999. Genetics effects of introduced hatchery stocks on indigenous brown trout (*Salmo trutta* L.) populations in Spain. *Ecology of Freshwater Fish* **8**, 141-150.
- Cagigas, M.E., Vázquez, E., Blanco, G., Sánchez, J.A. 2002. Phylogeographical lineages in brown trout (*Salmo trutta*): investigating microgeographical differentiation between native populations from Northern Spain. *Freshwater Biology* **47**, 1879-1892.
- Caudron, A., Champigneulle, A., Guyomard, R. 2006. Assessment of restocking as a strategy for rehabilitating a native population of brown trout

- Salmo trutta* L. in a fast-flowing mountain stream in the northern French Alps. *Journal of Fish Biology* **69**, 127-139.
- Chatterji, R.K., Longley, D., Sandford, D.J., Roberts, D.E., Stubbing, D.N. 2008. Performance of stocked triploid and diploid brown trout and their effects on wild brown trout in UK rivers. Summary report-1st Draft. The Game Conservancy Trust. Environment Agency.
- Chourrout, D. 1984. Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout: production of all-triploids, all-tetraploids and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. *Aquaculture* **36**, 111-126.
- Cortey, M., García-Marín, J.L. 2002. Evidence for phylogeographically informative sequence variation in the mitochondrial control region of Atlantic brown trout. *Journal of Fish Biology* **60**, 1058-1063.
- Cortey, M., Pla, C., García-Marín, J.L. 2004. Historical biogeography of mediterranean trout. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **33**, 831-844.
- Cortey, M. 2005. Filogeografia de la truita comuna (*Salmo trutta*) basada en la diversitat molecular del DNA mitocondrial. Tesis doctoral. Laboratori d'ictiologia Genètica. Universitat de Girona.
- Cortey, M., Vera, M., Pla, C., García-Marín, J.L. 2009. Northern and southern expansions of Atlantic brown trout (*Salmo trutta*) populations during the Pleistocene. *Biological Journal of the Linnean Society*, en premsa.
- Corujo, M., Blanco, G., Vázquez, E., Sánchez, J.A. 2004. Genetic structure of northwestern Spanish brown trout (*Salmo trutta* L.) populations, differences between microsatellite and allozyme loci. *Hereditas* **141**, 258-271.

- Cowx, I.G. 1999. An appraisal of stocking strategies in the light of developing country constraints. *Fisheries Management and Ecology* **6**, 21-34.
- Crandall, K.A., Bininda-Emonds, O.R.P., Mace, G.M., Wayne R.K. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* **17**, 390-395.
- Crozier, W.W., Moffatt, I.J.J. 1989. Experimental production of triploid brown trout, *Salmo trutta* L., using heat shock. *Aquaculture and fisheries Management* **20**, 343-353.
- Cummings, S.A., Brannon, E.L., Adams, K.J., Thorgaard, G.H. 1997. Genetic analyses to establish captive breeding priorities for endangered Snake River sockeye salmon. *Conservation Biology* **11**, 662-669.
- Dahl, J., Pettersson, E., Dannewitz, J., Järvi, T., Löf A.-C. 2006. No difference in survival, growth and morphology between offspring of wild-born, hatchery and hybrid brown trout (*Salmo trutta*). *Ecology of Freshwater Fish* **15**, 388-397.
- Dannewitz, J., Petersson, E., Prestegard, T., Järvi, T. 2003. Effects of sea-ranching and family background on fitness traits in brown trout *Salmo trutta* reared under near-natural conditions. *Journal of Applied Ecology* **40**, 241-250.
- Dannewitz, J., Petersson, E., Dahl, J., Prestegard, T., Löf, A., Järvi, T. 2004. Reproductive success of hatchery-produced and wild-born brown trout in an experimental stream. *Journal of Applied Ecology* **41**, 355-364.
- Delling, B., Crivelli, A.J., Rubin, J.F., Berrebi, P. 2000. Morphological variation in hybrids between *Salmo marmoratus* and alien *Salmo* species in the Volarja stream, Soca River basin, Slovenia. *Journal of Fish Biology* **57**, 1199-1212.

- Doadrio, I., Perdices, A., Machordom, A. 1996. Allozymic variation of the endangered killfish *Aphanius iberus* and its application to conservation. *Environmental Biology of Fishes* **45**, 259-271.
- Doadrio, I. 2001. *Atlas y Libro Rojo de los Peces Continentales de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza-Museo Nacional de Ciencias Naturales. Madrid, Spain.
- Dodson, J.J., Gibson, R.J., Cunjak, R.A., Friedland, K.D., García de Leaniz, C., Gross, M.R., Newbury, R., Nielsen, J.L., Power, M.E., Roy, S. 1998. Elements in the development of conservation plans for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55** (Supplement 1), 312-323.
- Elliot, J.M. 1989. Wild brown trout, *Salmo trutta*: an important national and international resource. *Freshwater Biology* **21**, 1-5.
- Elliot, J.M. 1994. *Quantitative Ecology and the Brown trout*. Oxford University Press, Oxford.
- Elvira, B., Almodóvar, A. 2001. Freshwater fish introductions in Spain: facts and figures at the beginning of the 21st century. *Journal of Fish Biology* **59** (Supplement A), 323-331.
- Ferguson, A. 1988. Isozyme studies and their interpretation. A: *Prospects in Systematics* (Hawksworth, D.L. ed.). Systematics Association, Clarendon Press, Oxford.
- Ferguson, A., Taggart, J.B., Prodohl, P.A., Mcmeel, O., Thompson, C., Stone, C., Macginnity, P., Hynes, R.A. 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations, with special reference to *Salmo*. *Journal of Fish Biology* **47**, 103-126.

- Ferguson, A. 2006. Genetic impacts of stocking on indigenous brown trout populations. Environment Agency, Rio House, Waterside Drive, Aztec West, Almondsbury, Bristol, BS32 4UD.
- Frankel, O.H., Soule, M.E. 1981. Conservation and Evolution. Cambridge University Press, Cambridge.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Fraser, D.J., Bernatchez, L. 2001. Adaptive evolutionary conservation. Towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology* **10**, 2741-2752.
- Fumagalli, L., Snoj, A., Jesenšek, D., Balloux, F., Jug, T., Duron, O., Brossier, F., Crivelli, A.J., Berrebi, P. 2002. Extreme genetic differentiation among the remnant populations of marble trout (*Salmo marmoratus*) in Slovenia. *Molecular Ecology* **11**, 2711-2716.
- Gaceta de Madrid. 1888. Real Decreto del Ministerio de Fomento, del 2 septiembre de 1888. *Gaceta de Madrid* 16-IX-1888.
- García del Jalón, D., Schmidt, G. (eds). 1995. *Manual práctico para la gestión sostenible de la pesca fluvial*. A.E.M.S., Girona. 169pp.
- García-Marín, J.L. 1992. Diferenciación genética de la trucha común (*Salmo trutta*) en España. Tesis doctoral. Departament de Genètica i Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona.
- García-Marín, J.L., Jorde, P.E., Ryman, N., Utter, F., Pla, C. 1991. Management implications of genetic differentiation between native and hatchery populations of brown trout (*Salmo trutta*) in Spain. *Aquaculture* **95**, 235-249.

- García-Marín, J.L., Pla, C. 1996. Origins and relationships of native populations of brown trout (*Salmo trutta*) in Spain. *Heredity* **77**, 313-323.
- García-Marín, J.L., Sanz, N., Pla, C. 1998. Proportions of native and introduced brown trout in adjacent fished and unfished Spanish rivers. *Conservation Biology* **12**(2), 313-319.
- García-Marín, J.L., Sanz, N., Pla, C. 1999. Erosion of the native and genetic resources of brown trout in Spain. *Ecology of freshwater fish* **8**, 151-158.
- Giuffra, E., Bernatchez, L., Guyomard, R. 1994. Mitochondrial control region and protein coding sequence variation among phenotypic forms of brown trout *Salmo trutta* from northern Italy. *Molecular Ecology* **3**, 161-171.
- Grant, W.S., García-Marín, J.L., Utter, F.M. 1999. Defining Population Boundaries for Fishery Management. A: *Genetics in Sustainable Fisheries Management* (S. Mustafa ed.). Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, UK. pp 27-72.
- Guyomard, R. 1989. Diversité génétique de la truite commune. *Bulletin Français de la Pêche et la Pisciculture* **314**, 118-135.
- Hansen, M.M., Loeschke V., Rasmussen, G., Simonsen, V. 1993. Genetic differentiation among Danish brown trout (*Salmo trutta*) populations. *Hereditas* **118**, 177-185.
- Hansen, M.M., Nielsen, E.E., Ruzzante, D.E., Bouza, C., Mensberg, K.-L.D. 2000. Genetic monitoring of supportive breeding in brown trout (*Salmo trutta* L.), using microsatellite DNA markers. *Canadian Journal of Aquatic Sciences* **57**, 2130-2139.
- Hansen, M.M., Kenchington, E., Nielsen, E.E. 2001. Assigning individuals fish to populations using microsatellite DNA markers. *Fish and Fisheries* **2**, 93-112.

- Hansen, M.M. 2002. Estimating the long-term effects of stocking domesticated trout into wild brown trout (*Salmo trutta*) populations: an approach using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. *Molecular Ecology* **11**, 1003-1013.
- Hedrick, P.W., Hedgecock, D., Hamelberg, S. 1994. Effective population size in winter-run chinook salmon. *Conservation biology* **9**, 615-624.
- Hewitt, G. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography – or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology* **10**, 537-549.
- Hitt, N.P., Frissell, C.A., Muhlfeld, C.C., Allendorf, F.W. 2003. Spread of hybridization between native westlope cutthroat trout, *Oncorhynchus clarki lewisi*, and nonnative rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **60**, 1440-1451.
- Hockings, M., Stolton, S., Dudley, N. 2000. Evaluating Effectiveness: A framework for assessing the management of protected areas. World Conservation Union, Gland, Switzerland.
- Hunter, C.J. 1991. *Better trout habitat. A guide to stream restoration and management*. Montana Land Reliance. Island Press. pp 319.
- Hurt, C. i Hedrick, P. 2004. Conservation genetic in aquatic sciences: general approaches and case studies in fisheries and springsnails of arid lands. *Aquatic Science* **66**, 402-413.
- Hutt, C.P., Bettoli, P.W. 2007. Preferences, Specialization, and Management Attitudes of Trout Anglers Fishing in Tennessee Tailwaters. *North American Journal of Fisheries Society* **27**, 1257-1267.
- Huxel, G.R. 1999. Rapid displacement of native species by invasive species: effects of hybridization. *Biological Conservation* **89**, 143-152.

- Jarne, P., Lagoda, P.J.L. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* **11**, 424-429.
- Jensen, L.F., Hansen, M.M., Carlsson, J., Loeschcke, V., Mensberg K.-L.D. 2005a. Spatial and temporal genetic differentiation and effective population size of brown trout (*Salmo trutta*, L.) in small Danish rivers. *Conservation Genetics* **6**, 615-621.
- Jensen, A.B., Palmer, K.A., Boomsma, J.J., Pedersen, B.O. 2005b. Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe. *Molecular Ecology* **14**, 93-106.
- Klemetsen, A., Amundsen, P.A., Depson, J.B., Jonsson, B., Jonsson, N., O'Connell, M. F., Mortensen, E. 2003. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories. *Ecology of Freshwater fish* **12**, 1-59.
- Knudsen, C.M., Schroder, S.L., Busack, C.A., Johnston, M. V., Pearsons, T.N., Bosch, W.J., Fast, D.E. 2006. Comparison of Life History Traits between First-Generation Hatchery and Wild Upper Yakima river Spring Chinook Salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* **135**, 1130-1144.
- Kottelat, M. 1997. European freshwater fishes. An heuristic checklist of freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia, Section Zoology* **52** (Supplement 5), 1-271.
- Kozfkay, J.R., Dillon J.C., Schill, D.J. 2006. Routine use of sterile fish in salmonid sport fisheries: are we there yet? *Perspective Fisheries Management* **31**, 392-401.

- Kruse, C.G., Hubert, W.A., Rahel, F.J. 2000. Status of Yellowstone cutthroat trout in Wyoming waters. *North American Journal of Fisheries Management* **20**, 693-705.
- Laikre, L. 1999. *Conservation Genetic Management of Brown Trout (Salmo trutta) in Europe*. Report by the Concert Action on Identification, Management and Exploitation of Genetic Resources in the Brown Trout (*Salmo trutta*). ('TROUTCONCERT'; EU FAIR CT97-3882). ISBN 87-987732-0-8.
- Laikre, L., Larsson, L.C., Palmé, A., Charlier, J., Josefsson, M., Ryman N. 2008. Potentials from monitoring gene level biodiversity: using Sweden as an example. *Biodiversity and Conservation* **17**, 893-910.
- Leary, R.F., Allendorf, F.W., Sage, G.K. 1995. Hybridization and Introgression between introduced and native fish. *American Fisheries Society Symposium* **15**, 91-101.
- Lincoln, R. 1996. Progress towards the commercial production of triploid brown trout. *Trout News* **22**, 23-28.
- López-Moreno, J.I., Beniston, M., García-Ruiz, J.M. 2008. Environmental change and water management in the Pyrenees: Facts and future perspectives for Mediterranean mountains. *Global and Planetary Change* **61**, 300-312.
- Machado-Schiaffino, G., Dopico, E., Garcia-Vazquez, E. 2007. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. *Aquaculture* **264**, 59-65.
- Machordom, A., García-Marín, J.L., Sanz, N., Almodóvar, A., Pla, C. 1999. Allozyme diversity in brown trout (*Salmo trutta*) from Central Spain. Genetic consequences of restocking. *Freshwater Biology* **41**, 707-718.

- Machordom, A., Suárez, J., Almodóvar, A., Bautista, J.M. 2000. Mitochondrial haplotype variation and phylogeography of Iberian brown trout populations. *Molecular Ecology* **9**, 1325-1338.
- Maise, G., Blaglinière, J.L. 1991. Biologie de la truite commune (*Salmo trutta* L.) dans les rivières françaises. pp: 25-45. A: *La truite. Biologie et ecologie* (Baglinière, J.L. i Maise, G. eds). INRA, París.
- Margoluis, R., Salafsky, N. 1998. Measures of success: designing, managing, and monitoring conservation and development projects. Island Press, Washington, D.C.
- Martínez, P., Arias, J., Castro, J., Sánchez, L. 1993. Differential stocking incidence in brown trout (*Salmo trutta*) populations from Northwestern Spain. *Aquaculture* **114**, 203-216.
- Martínez, P., Bouza, C., Castro, J., Hermida, M., Pardo, B.G., Sánchez, L. 2007. Analysis of a secondary contact between divergent lineages of brown trout *Salmo trutta* L. from Duero basin using microsatellites and mtDNA RFLPs. *Journal of Fish Biology* **71** (Suplement B), 195-213.
- McMeel, O.M., Hoey, E.M., Ferguson, A. 2001. Partial nucleotide sequences, and routine typing by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, of the brown trout (*Salmo trutta*) lactate dehydrogenase, *LDH-C1*90* and **100* alleles. *Molecular Ecology* **10**, 29-34.
- McNeely, J.A., Miller, K.R., Reid, W.V., Mittermeier, R.A., Werner, T.B. 1990. *Conserving the World's Biological Diversity*. IUCN, World Resources Institute, Conservation International, WWF-US and the World Bank, Washington, DC.
- Mezzera, M., Largiadèr, C.R., Scholl, A. 1997. Discrimination of native and introduced brown trout in the river Doubs (Rhône drainage) by number and shape of parr marks. *Journal of Fish biology* **50**, 672-677.

- Mezzera, M., Largiadèr, C.R. 2001. Evidence for selective angling of introduced trout and their hybrids in a stocked brown trout population. *Journal of Fish Biology* **59**, 287-301.
- Morán, P., Pendás, A.M., García-Vázquez, E., Izquierdo, J. 1991. Failure of a stocking policy of hatchery reared brown trout, *Salmo trutta* L., in Asturias, Spain, using *LDH-5** as a genetic marker. *Journal of Fish Biology* **39**, 117-123.
- Moritz, C. 1994. Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* **9**, 373-375.
- Moritz, C. 1995. Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **349**, 113-118.
- Moyle, P.B., Leidy, R.A. 1992. Loss of biodiversity in aquatic ecosystems: evidence from fish faunas. A: *Conservation biology: the theory and practice of nature conservation, preservation, and management*. (Fiedler, P.L. i Jain, S.K. eds.) pp 127-169. Chapman and Hall, London.
- Muñoz, G. 1988. *Crónica piscícola continental hispana*. ICONA. Madrid. 192 pp.
- Nicola, G. G, Almodóvar, A. 2002. Reproductive traits of stream-dwelling brown trout *Salmo trutta* in contrasting neighbouring rivers of central Spain. *Freshwater Biology* **47**, 1353-1365.
- Nielsen, E.E., Hansen, M.M., Bach, L. 2001. Looking for a needle in a haystack: discovery of indigenous salmon in heavily stocked populations. *Conservation Genetics* **2**, 219-232.

- Pakkasmaa, S., Piironen, J. 2001. Morphological differentiation among local trout (*Salmo trutta*) populations. *Biological Journal of the Linnean Society* **72**, 231-239.
- Petersson, E., Järvi, T. 2006. Anti-predator response in wild and sea-ranched brown trout and their crosses. *Aquaculture* **253**, 218-228.
- Poteaux, C., Berrebi, P. 1997. Genome integrity and trout restocking on the Mediterranean versant. *Bulletin Francais de Peche et de Pisciculture* **344/345**, 309-322.
- Poteaux, C., Bonhomme, F., Berrebi, P. 1998. Differences between nuclear and mitochondrial introgressions of brown trout populations from a restocked main river and its unstocked tributary. *Biological Journal of the Linnean Society* **63**, 379-392.
- Rhymer, J.M., Simberloff, D. 1996. Extinction by Hybridization and Introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**, 83-109.
- Ryder, O.A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution* **1**, 9-10.
- Ryman, N. 1994. Supportive breeding and effective population size: differences between inbreeding and variance effective numbers. *Conservation Biology* **8**, 888-890.
- Ryman, N., Laikre, L. 1991. Effects of supportive breeding on the genetically effective population size. *Conservation Biology* **5**, 325-329.
- Ryman, N., Utter, F., Hindar, K. 1995a. Introgression, Supportive Breeding, and Genetic Conservation. A: *Population Management for Survival and Recovery* (Ballou, J. D., Gilpin, M. i Foose T. J. eds.), pp. 341-365. New York: Columbia University Press.

- Ryman, N., Jorde, P.E., Laikre, L. 1995b. Supportive breeding and variance effective population size. *Conservation Biology* **9**, 1619-1628.
- Sanz, N. 2000. Diversitat genètica de la truita comuna (*Salmo trutta* L.) a la Península Ibèrica: Biogeografia i gestió. Tesi doctoral. Laboratori d'ictiologia Genètica. Universitat de Girona.
- Sanz, N., García-Marín, J.L., Pla, C. 2000. Divergence of brown trout (*Salmo trutta*) within glacial refugia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **57**, 2201-2210.
- Sanz, N., García-Marín, J.L., Pla, C. 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., Cortey, M., Pla, C., García-Marín, J.L. 2006. Hatchery introgression blurs ancient hybridization between brown trout (*Salmo trutta*) lineages as indicated by complementary allozymes and mtDNA markers. *Biological Conservation* **130**, 278-289.
- Saura, M., Caballero, P., Caballero, A., Morán, P. 2006. Genetic variation in restored Atlàntic salmon (*Salmo salar* L.) populations in the Ulla and Lérez rivers, Galicia, Spain. *Journal of Marine Science* **63**, 1290-1296.
- Schwartz, M.K., Luikart, G., Waples, R.S. 2006. Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *TRENDS in Ecology and Evolution* **22**, 25-33.
- Skaala, Ø., Jørstad, K.E. 1988. Inheritance of the fine-spotted pigmentation pattern of brown trout. *Polish Archives of Hydrobiology* **35**, 295-304.
- Solomon D.J. 2001. The potential for restocking using all-female triploid brown trout to avoid genetic impact upon native stocks. Report to the Environment Agency.

- Stem, C., Margoluis, R., Salafsky, N., Brown, M. 2005. Monitoring and evaluation in Conservation: a Review of Trends and Approaches. *Conservation Biology* **19**, 295-309.
- Suárez, J., Bautista, J.M., Almodóvar, A., Machordom, A. 2001. Evolution of the mitochondrial control region in Palaearctic brown trout (*Salmo trutta*) populations: the biogeographical role of the Iberian Peninsula. *Heredity* **87**, 198-206.
- Sušnik, S., Berrebi, P., Dovč, Hansen, M.M., Snoj, A. 2004. Genetic introgression between wild and stocked salmonids and the prospects for using molecular markers in population rehabilitation: the case of the Adriatic grayling (*Thymallus thymallus* L. 1785). *Heredity* **93**, 273-282.
- Thorgaard, G.H., Jazwin, M.E. 1981. Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society* **110**, 546-550.
- Utter, F.M., 2001. Patterns of subspecific anthropogenic introgression in two salmonid genera. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **10**, 265-279.
- Vera, M. 2006. Estudio de las variaciones espaciales y temporales de la diversidad genética de la trucha común, *Salmo trutta*, en ríos de la Península Ibérica. Tesis doctoral. Laboratori d'ictiologia Genètica. Universitat de Girona.
- Wang, J., Ryman, N. 2001. Genetic effects of multiple generations of supportive breeding. *Conservation Biology* **15**, 1619-1631.
- Waples, R.S. 1991. Genetic methods for estimating the effective size of Cetacean populations. *Report of the international Whaling Commission special issue* **13**, 279-297.

- Weigel, D.E., Peterson, J.T., Spruell, P. 2002. A model using phenotypic characteristics to detect introgressive hybridization in wild westlope cutthroat trout and rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries society* **131**, 389-403.
- Weiss, S., Antunes, A., Schlötterer, C., Alexandrino, P. 2000. Mitochondrial haplotype diversity among Portuguese brown trout *Salmo trutta* L. populations: relevance to the post-Pleistocene recolonization of northern Europe. *Molecular Ecology* **9**, 691-698.
- Wolf, D.E., Takebayashi, N., Rieseberg, L.H. 2001. Predicting the Risk of Extinction through Hybridization. *Conservation Biology* **15**, 1039-1053.
- Woodhill, J. 2000. Planning, monitoring and evaluating programmes and projects: introduction to key concepts, approaches and terms. World Conservation Union, Gland, Switzerland.

