



# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y  
TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCENCIAS

---

## CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL STOCK REPRODUCTIVO DEL BAGRE YAQUI, *Ictalurus pricei* (RUTTER, 1896) EN LA SUBCUENCA DEL RÍO BAVISPE, SONORA

TESIS

que para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOCENCIAS

presenta:

ALEXSANDRE GUTIÉRREZ BARRAGÁN

Hermosillo, Sonora, México

22 de julio de 2020

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Hermosillo, Sonora a 21 de julio del 2020.

Asunto: Cesión de derechos

**UNIVERSIDAD DE SONORA  
P R E S E N T E.**

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL STOCK REPRODUCTIVO DEL BAGRE YAQUI, *Ictalurus pricei* (RUTTER, 1896) EN LA SUBCUENCA DEL RÍO BAVISPE, SONORA, en los sucesivos LA OBRA, realizada como trabajo terminal con el propósito de obtener el Grado de Maestro en Biociencias, en virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Sonora (UNISON) para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución, distribución pública, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios de la institución y se integren a los repositorios de la universidad, estatales, regionales, nacionales e internacionales.

La UNISON se compromete a respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA que cometa el suscrito frente a terceros.

ATENTAMENTE

---

**Alexandre Gutiérrez Barragán**

LIC. GILBERTO LEÓN LEÓN  
Abogado General  
UNIVERSIDAD DE SONORA

Hermosillo, Sonora, México

Julio, 2020.

## APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis titulada “Caracterización genética del stock reproductivo del bagre Yaqui, *Ictalurus pricei* (Rutter, 1896) en la subcuenca del Río Bavispe, Sonora”, presentada por Alexandre Gutiérrez Barragán, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Biociencias.



Dr. Alejandro Varela Romero  
Director



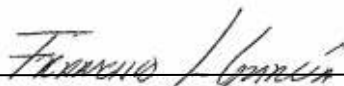
Dr. José Manuel Grijalva Chon  
Sinodal Secretario



Dr. Carlos Alonso Ballesteros Córdova  
Sinodal



Dr. Enrique De la Re Vega  
Sinodal



Dr. Francisco Javier García de León  
Sinodal externo

## **DEDICATORIA**

*A mi padre, mi madre y mi hermano,  
porque esto siempre ha sido, es y seguirá siendo por y para ustedes.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de Sonora, al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (DICTUS) y al Posgrado en Biociencias por aceptarme en el programa y haberme permitido formarme en ella.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mi maestría.

A mi director de tesis, el Dr. Alejandro Varela-Romero por sus enseñanzas, recomendaciones, dedicación, confianza, paciencia y amistad para conmigo. Al Dr. Carlos A. Ballesteros-Córdova por su disponibilidad para enseñarme y resolver mis dudas. A los Dres. J. Manuel Grijalva-Chon y Enrique De la Re-Vega por mostrar interés y apoyarme siempre que se presentaron problemas, tanto metodológicos como teóricos. Finalmente, agradezco al Dr. Francisco J. García-De León por sus siempre interesantes aportaciones al proyecto, por su dedicación e interés y por permitirme desarrollar una estancia de investigación en su laboratorio. Todos ellos apoyaron en mi proceso de formación en este, mi primer acercamiento al campo de la ecología molecular y en todos encontré, además de grandes maestros, grandes amigos.

Se agradece a instituciones que forman parte de este proyecto, entre ellas, el Desert Fishes Council por las becas otorgadas para el desarrollo del proyecto, el Arizona Game and Fish por los recursos otorgados para la conservación del bagre Yaqui, a investigadores de la Oregon State University y la Oklahoma State University quienes también han colaborado en este proyecto y al Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora por las instalaciones para el futuro cultivo de bagre Yaqui. Finalmente, se agradece a Valer Clark y al Ing. José Manuel Pérez Cantú del ADVC Cuenca Los Ojos por permitirnos realizar la recolecta, transporte y almacenamiento de los individuos dentro de su área y a Chuck Minckley, Alton S. Livingstone, Brett Montgomery y al personal de Fundación Cuenca Los Ojos por el apoyo en campo para la

recolecta de ejemplares. Principalmente a Alejandro Varela-Romero y Chuck Minckley, quienes están a la cabeza de este esfuerzo binacional.

Al personal académico y estudiantil del Laboratorio de Ecología Molecular del DICTUS por sus siempre atinadas recomendaciones y enseñanzas durante mi proceso de aprendizaje de las técnicas moleculares que utilicé durante mi maestría. También al Laboratorio de Genética para la Conservación en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, así como a sus integrantes por tomarse el tiempo de compartir conmigo sus conocimientos durante mi estancia.

A mi padre, mi madre, mi hermano y mi familia cercana, por estar conmigo siempre, desde mucho tiempo antes de comenzar este camino, por ser mi soporte emocional, anímico y moral y, a pesar de la distancia física, por siempre motivarme a continuar con este proceso de formación.

A mi novia por su amor, por preocuparse por mí y apoyarme siempre que lo he necesitado, por ser fuente de motivación y ejemplo. A su familia, por abrirme las puertas de su hogar y brindarme su auxilio cuando lo requerí.

A todos mis amigos y amigas y sus familias, especialmente a aquellos más cercanos, por siempre brindarme su amistad como a un hermano, pues ustedes se han convertido en mi segunda familia y siempre estaré agradecido por todo lo que han hecho por mí.

## RESUMEN

El bagre Yaqui, *Ictalurus pricei*, es una especie nativa del Noroeste de México y Suroeste de los Estados Unidos. El bagre Yaqui está en peligro de extinción debido al decline y pérdida de sus poblaciones en más de la mitad de su distribución histórica, principalmente por la competencia e hibridación con el exótico bagre de canal, *I. punctatus*. En 2019 se creó un stock reproductivo en la subcuenca del Río Bavispe, Sonora, con 18 individuos morfológicamente similares a bagre Yaqui recolectados en Arroyo Cajón Bonito, cuenca del Río Yaqui. Se realizaron análisis filogenéticos de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y de los nucleares *RAG1* y *RAG2* con el objetivo de caracterizar genéticamente la pureza de los ejemplares del stock. Se determinaron los atributos característicos del bagre Yaqui mediante el código de barras del ADN basado en caracteres a partir del gen mitocondrial *COXI*. Los análisis filogenéticos a partir de los genes mitocondriales y el código de barras del ADN permitieron determinar el linaje materno de los individuos y los genes nucleares detectaron 13 bagres Yaquis putativamente puros, cuatro posibles híbridos *I. pricei* x *I. punctatus* y un bagre de canal o retrocruza de los 18 obtenidos del Arroyo Cajón Bonito. Estos resultados permitirán diseñar un plan de manejo factible para el stock reproductivo de bagre Yaqui y evaluar genéticamente sus poblaciones remanentes.



## ABSTRACT

The Yaqui catfish, *Ictalurus pricei*, is native to the Northwest of Mexico and Southwest of the United States. The Yaqui catfish is an endangered species due to the decline and loss of its populations in more than half of its historical distribution, mainly because to competition and hybridization with the exotic channel catfish, *I. punctatus*. In 2019 a reproductive stock was created in the Bavispe river sub-basin, Sonora, with 18 individuals morphologically identified like Yaqui catfish collected in Arroyo Cajón Bonito, Yaqui river basin. Phylogenetic analyzes of the mitochondrial *Cyt-b* and *COXI* and nuclear *RAG1* and *RAG2* genes were carried out in order to genetically characterize the individual's purity. Yaqui catfish characteristic attributes were determined using the character-based DNA barcoding from the mitochondrial *COXI* gene. Phylogenetic analyzes from the mitochondrial genes and the DNA barcoding allowed us to determine the individuals maternal lineage, and the nuclear genes detected 13 putatively pure Yaqui catfishes, four possible hybrids *I. pricei* X *I. punctatus* and one channel catfish or backcross of the 18 obtained from the Arroyo Cajón Bonito. These results will allow designing a feasible management plan for the reproductive stock of Yaqui catfish and genetically evaluating their remaining populations.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xii
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	4
I.1. Filogenia e historia natural del bagre Yaqui	4
I.2. Estado de conservación del bagre Yaqui	8
I.3. Hibridación en el bagre Yaqui	11
I.4. Determinación molecular de híbridos	13
I.4.1. Determinación del linaje materno a partir del ADN mitocondrial	15
I.4.2. Determinación de híbridos a partir del ADN nuclear	16
I.4.3. Código de barras del ADN a partir del gen mitocondrial <i>COXI</i>	18
II. HIPÓTESIS	21
III. OBJETIVOS	22
III.1. Objetivo general	22
III.2. Objetivos particulares	22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	23
IV.1. Recolecta de ejemplares y toma de muestras	23
IV. 2. Extracción y análisis del ADN	23
IV.3. Amplificación por PCR	25
IV.4. Secuenciación y análisis de los genes	25
V. RESULTADOS	29
V.1. Análisis filogenético a partir del gen mitocondrial <i>Cyt-b</i>	29
V.2. Análisis filogenético a partir del gen mitocondrial <i>COXI</i>	31

V.3. Análisis filogenético a partir de los genes mitocondriales <i>Cyt-b</i> y <i>COXI</i> concatenados	32
V.4. Sustracción de haplotipos a partir de las secuencias de los genes nucleares <i>RAG1</i> 3' y <i>RAG2</i>	33
V.5. Análisis filogenético a partir de la región 3' del gen nuclear <i>RAG1</i>	35
V.6. Análisis filogenético a partir del gen nuclear <i>RAG2</i>	36
V.7. Análisis filogenéticos a partir de los genes nucleares <i>RAG1</i> 3' y <i>RAG2</i> concatenados	37
V.8. Análisis filogenético a partir de los genes mitocondriales <i>Cyt-b</i> y <i>COXI</i> y los genes nucleares <i>RAG1</i> 3' y <i>RAG2</i> concatenados	38
V.9. Código de barras del ADN a partir del gen mitocondrial <i>COXI</i>	39
VI. DISCUSIÓN	41
VI.1. La filogenia del género <i>Ictalurus</i>	43
VI.2. El linaje materno a partir de genes mitocondriales	43
VI.3. Discriminación de híbridos a partir de genes nucleares	46
VI.4. Hibridación contemporánea entre bagre Yaqui y bagre de canal	47
VI.5. Amenazas y manejo de los híbridos	48
VI.6. El bagre Yaqui como alternativa acuícola	50
VII. CONCLUSIONES	53
VIII. RECOMENDACIONES	54
IX. LITERATURA CITADA	56
X. APÉNDICES	73

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Consenso estricto de 24 árboles obtenidos por máxima parsimonia a partir de los genes mitocondriales <i>COXI</i> , <i>Cyt-b</i> , <i>I6S</i> y <i>I2S</i> , del gen nuclear <i>RAG2</i> y caracteres morfológicos y mapeado al tiempo geológico. Las líneas negras indican las relaciones entre las ramas, las líneas naranjas los rangos estratigráficos de las especies fósiles, las líneas verdes los rangos de extensión y linajes fantasma y las líneas verdes punteadas los rangos de extensión para linajes fantasma potenciales donde hay falta de resolución filogenética (tomado de Arce-H <i>et al.</i> , 2017).	5
2	Área de distribución histórica (círculos) y actual (puntos negros) del bagre Yaqui <i>I. pricei</i> . Registros reportados por Varela-Romero <i>et al.</i> (2011) y muestreos posteriores en: 1) Arroyo Cajón Bonito, 2) Río Tutuaca, 3) Río Batopilas, 4) Río Guerachi.	7
3	Mapa de la localización geográfica del sitio de recolecta de los ejemplares de <i>Ictalurus pricei</i> en el Arroyo Cajón Bonito (Círculo) y ubicación del stock reproductivo en Rancho San Bernardino (Cuadro). Se muestra el sitio de recolecta de ejemplares de <i>I. punctatus</i> en estanques de cultivo sobre el Arroyo Cajón Bonito (Triángulo).	24
4	Alineamiento múltiple de la cadena polipeptídica traducida del gen <i>Cyt-b</i> : <i>I. pricei</i> = Individuos SR1, SR3, SR5, SR7-SR17; SR6 = haplotipo del individuo SR6; <i>I. punctatus</i> hapA = secuencia de referencia de los estanques de cultivo, <i>I. punctatus</i> hapB = Individuos SR2, SR4, SR18. En negro se muestran las variaciones en los aminoácidos entre los haplotipos.	30
5	Árbol filogenético resuelto con el gen mitocondrial <i>Cyt-b</i> por Máxima Verosimilitud (modelo de evolución TVM + G) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = <i>I. punctatus</i> haplotipos A y B, respectivamente.	30

- 6 Alineamiento múltiple de la cadena polipeptídica traducida del gen *COXI*: 31  
*I. pricei* = Individuos SR1, SR3, SR5-SR17; *I. punctatus* hapA = secuencia de referencia de los estanques de cultivo, *I. punctatus* hapB = Individuos SR2, SR4, SR18 y secuencias de referencia. En negro se muestran las variaciones en los aminoácidos entre los haplotipos.
- 7 Árbol filogenético resuelto con el gen mitocondrial *COXI* por máxima 32  
verosimilitud (modelo de evolución TPMuf + I) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = haplotipos A y B de *I. punctatus*, respectivamente.
- 8 Árbol filogenético resuelto con el concatenado de los genes mitocondriales 33  
*Cyt-b* y *COXI* por máxima verosimilitud (modelo de evolución TVM + G para partición *Cyt-b* y TPMuf + I para partición *COXI*) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.
- 9 Secuencias heterocigotas en las posiciones 594 y 598 del gen *RAG1* 3' 35  
observadas como dobles picos en los cromatogramas. A) SR3 *I. pricei*, B) SR1 híbrido con ADNmt de *I. pricei*, C) SR2 híbrido con ADNmt de *I. punctatus*, D) *I. punctatus*.
- 10 Árbol filogenético resuelto con la región 3' del gen nuclear *RAG1* por 36  
máxima verosimilitud (modelo de evolución K80) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.
- 11 Árbol filogenético resuelto con el gen nuclear *RAG2* por máxima 37  
verosimilitud (modelo de evolución K80) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.

- 12      Árbol filogenético resuelto con el concatenado de los genes nucleares *RAG1* 3' y *RAG2* por máxima verosimilitud (modelo de evolución K80) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente. 38

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Oligonucleótidos utilizados en la amplificación de los genes mitocondriales <i>Cyt-b</i> y <i>COXI</i> y de los nucleares <i>RAG1</i> y <i>RAG2</i> .	25
2	Taxa, número de catálogo, marcadores moleculares y números de acceso en el GenBank de las secuencias utilizadas en los análisis filogenéticos y código de barras.	28
3	Sitios polimórficos de un solo nucleótido (SNPs) de secuencias heterocigotas en los genes nucleares <i>RAG1</i> 3' y <i>RAG2</i> detectadas como dobles picos en los electroferogramas en los haplotipos de bagre Yaqui y bagre de canal. CB = Arroyo Cajón Bonito; SR = stock reproductivo; <i>I. punctatus</i> hapA y hapB = haplotipos A y B de bagre de canal encontrados en las secuencias de referencia.	34
4	Distancias genéticas no corregidas (uncorrected <i>p</i> -distances) entre los haplotipos del gen <i>COXI</i> analizados. <i>I. punctatus</i> haplotipo A = <i>Ipu</i> hapA, <i>I. punctatus</i> haplotipo B = <i>Ipu</i> hapB. SR = Stock Reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito.	39
5	Código de barras del ADN basado en caracteres de los <i>Ictalurus</i> analizados. En gris los atributos característicos privados para <i>I. punctatus</i> . Secuencia = Sec, <i>I. pricei</i> CB = <i>IprCB</i> (Arroyo Cajón Bonito), <i>I. pricei</i> KF536996 = <i>Ipr</i> , <i>I. punctatus</i> JF292388 = <i>Ipu</i> , <i>I. punctatus</i> haplotipo A = <i>Ipu</i> hA, <i>I. punctatus</i> haplotipo B = <i>Ipu</i> hB. SR = Stock Reproductivo.	40

## INTRODUCCIÓN

Los bagres pertenecen al orden de los Siluriformes, el cual está formado por 40 familias con alrededor de 490 géneros y aproximadamente 3,730 especies descritas, al menos unas 200 nuevas especies no descritas y otras de las cuáles aún no se tiene conocimiento (Nelson *et al.*, 2016). En la familia Ictaluridae se agrupan siete géneros con 51 especies descritas (Nelson *et al.*, 2016) y se caracterizan por poseer la piel desnuda, cuatro pares de barbillas y una espina al inicio de las aletas dorsal y pectoral (Nelson, 2016; Miller *et al.*, 2009). El género *Ictalurus* está formado por nueve especies descritas y otras varias aún no descritas (Varela-Romero *et al.*, 2020), todas con distribución natural en México, por lo que se ha considerado a este último como el centro de distribución de este género (Miller *et al.*, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2020).

El bagre Yaqui, *Ictalurus pricei* (Rutter, 1896) es una especie nativa del Noroeste de México y Suroeste de los Estados Unidos (EUA) en las cuencas de los ríos Sonora, Yaqui, Mayo, Fuerte y Casas Grandes (Lundberg, 1992; Miller *et al.*, 2009; Minckley y Marsh, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2011; Varela-Romero *et al.*, 2020). Sin embargo, el bagre Yaqui se considera extirpado de las cuencas de los ríos Casas Grandes y Sonora (Miller *et al.*, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2011). En EUA el bagre Yaqui se declaró Amenazado con hábitat crítico en 1984 por el United States Fish and Wildlife Service (USFWS) aunque Minckley y Gilbert (1980) los consideraron extirpado. Por ello, en 1987 y 1990 se recolectaron bagres en el Río Aros, cuenca del Río Yaqui, en Sonora y Chihuahua, los cuáles fueron trasladados a EUA para intentar recuperar la especie (Kelsch y Baca, 1991). Sin embargo, se encontró un alto porcentaje de individuos híbridos con el bagre de canal, *I. punctatus*, determinados mediante análisis de caracteres osteológicos y corroborados por variación de alozimas (Kelsch y Baca, 1991; Minckley y Marsh, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2011). Finalmente, con individuos identificados como puros, se logró el desove de unos cuantos individuos en los años 1995, 1996 y 1997, los cuáles se liberaron en el medio silvestre en tres estanques en Arizona (Varela-Romero *et al.*, 2011).



Baker *et al.* (2008) mencionan que uno de los tres estanques con las poblaciones remanentes de bagre Yaqui en EUA, presentaba contaminación por presencia de bagre de canal, aunque un reporte por la USFWS (2009) señala que no se detectó presencia de hibridación. Los análisis de marca-recaptura en dichas poblaciones, encontraron un reclutamiento anual nulo, una disminución en el tamaño poblacional y se infirió que los individuos restantes son los remanentes de la progenie obtenida en 1985-1987 por lo que estaban cerca de la senescencia (Stewart *et al.*, 2017). Los modelos de marca-recaptura obtenidos a partir de estos datos, estimaron que el bagre Yaqui estaría extinto para 2018 en los EUA (Stewart *et al.*, 2017). En México, los esfuerzos de recolecta realizados por Varela-Romero *et al.* (2011) entre 2004 y 2006 no lograron detectar presencia de bagre Yaqui en el Río Mayo ni en localidades históricas de los ríos Yaqui y Fuerte. Por ello, Varela-Romero *et al.* (2011) mencionan que es necesario elevar la categoría de riesgo de Sujeta a Protección Especial a En Peligro de Extinción en México, sin embargo, sólo se elevó a especie Amenazada por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), mientras que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) la cataloga como En Peligro (NatureServe y Lyons, 2019).

Actualmente sólo se tienen registros de ocurrencia en cuatro localidades, en la parte alta del Río Tutuaca y el Arroyo Cajón Bonito en la cuenca del Yaqui y en los ríos Batopilas y Urique, cuenca del Fuerte (Varela-Romero *et al.*, 2011; Varela-Romero y Minckley, 2018). Las principales amenazas para el bagre Yaqui han sido el uso indiscriminado del agua para actividades agrícolas, ganaderas, mineras, industriales y domésticas, la sobre-extracción de agua del manto freático, las alteraciones en el hábitat, la construcción de presas y la presencia de especies exóticas, principalmente por la competencia con otros ictalúridos y la hibridación con el bagre de canal *I. punctatus* (Miller *et al.*, 2009; Varela-Romero y Hendrickson, 2010; Varela-Romero *et al.*, 2011).

El bagre de canal se introdujo en Sonora como parte de los programas de gobierno cuando se construyeron las principales presas, con la finalidad de ser utilizado para la pesca deportiva y comercial (Ruiz-Campos *et al.*, 2014). Los primeros registros del bagre de canal en el hábitat natural ocurrieron en la década de 1980 (Hendrickson *et al.*, 1981; Hendrickson, 1983) y a partir de entonces se vio un rápido aumento en sus poblaciones invadiendo gran parte de la

distribución del bagre Yaqui, causando la disminución de sus poblaciones (Varela-Romero *et al.*, 2011). Las evidencias morfológicas y genéticas de hibridación entre estas dos especies han preocupado a la comunidad de ictiólogos porque esto supone que el bagre Yaqui está más amenazado de lo que se le ha considerado (Hendrickson *et al.*, 1981; Baker *et al.*, 2008; Minckley y Marsh, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2011). La hibridación interespecífica como consecuencia de la traslocación de especies provoca una pérdida en el esfuerzo reproductivo y ocupación de hábitat, llegando a formar poblaciones completas de híbridos (Allendorf *et al.*, 2001). Sin embargo, cuando los híbridos son fértiles y pueden dejar descendencia por retrocruzamiento con las especies parentales o con otros híbridos, ocurre el fenómeno de introgresión genética, la cual puede extenderse en el área geográfica de distribución de la especie nativa, llevando incluso a una mezcla completa de ambas especies (Allendorf *et al.*, 2001). Por lo tanto, es importante considerar a la hibridación en los programas de manejo y recuperación de las especies,

Como parte de los esfuerzos por la conservación y recuperación del bagre Yaqui, se ha creado un stock reproductivo en un estanque artificial en la subcuenca del Río Bavispe, Sonora, con ejemplares obtenidos de las poblaciones remanentes en el Arroyo Cajón Bonito, cuenca del Río Yaqui. Sin embargo, los ejemplares híbridos entre bagre Yaqui y bagre de canal presentan caracteres morfológicos complejos en su definición e intermedios que dificultan la identificación de los bagres genéticamente puros (Kelsch y Jensen, 1997; Varela-Romero *et al.*, 2011). Este estudio pretende ayudar en garantizar el éxito, pureza y supervivencia del stock reproductivo de bagre Yaqui, para ello se implementan los métodos para una correcta identificación molecular de los ejemplares utilizados como reproductores.

## I. ANTECEDENTES

### I.1. Filogenia e historia natural del bagre Yaqui

El bagre Yaqui, *Ictalurus pricei*, fue descrito por Rutter en 1896 como *Villarius pricei*, en honor al colector Mr. William Wightman Price, basado en siete especímenes recolectados en el Arroyo San Bernardino en la cuenca del Río Yaqui, cerca de la frontera norte en Sonora. El género *Villarius* se encontró similar a *Ameiurus*, aunque difiriendo del resto de los géneros de la familia Ictaluridae por la presencia de cirrus similares a cabello dispersos en los costados, diferente de *Ictalurus* por presentar el hueso supraoccipital y el proceso supraneural ampliamente separados y unidos por ligamentos y diferente a *Ameiurus* por presentar una cabeza más estrecha y la aleta caudal furcada (Rutter, 1896). Posteriormente, la especie fue transferida a géneros como *Ameiurus*, *Amiurus* y *Haustor*, antes de ser asignado al género *Ictalurus* (Hendrickson *et al.*, 1981; Minckley y Marsh, 2009).

Su ubicación actual dentro del género *Ictalurus* está bien soportada con base en caracteres morfológicos, merísticos y osteológicos. Lundberg (1992) describe dos linajes dentro del género *Ictalurus*: el clado *furcatus* formado por *I. furcatus*, *I. balsanus* y el ahora resucitado *I. meridionalis* (Ruiz-Campos *et al.*, 2009; Rodiles-Hernández *et al.*, 2010; Arce-H *et al.*, 2017; Varela-Romero *et al.*, 2020) y el clado *punctatus*, donde ubica a las especies *I. punctatus*, *I. lupus*, *I. pricei*, *I. dugesi*, *I. mexicanus* e *I. australis* (Fig. 1). Estos dos clados fueron soportados posteriormente con base en análisis filogenéticos a partir de ADN mitocondrial (ADNmt) (Varela-Romero, 2007; Varela-Romero *et al.*, 2020) y recientemente a partir del concatenado de genes mitocondriales, nucleares y caracteres morfológicos (Arce-H *et al.*, 2017). Los análisis muestran al bagre Yaqui compartiendo un ancestro con el bagre lobo, *I. lupus*, considerada como la especie hermana de los bagres mexicanos del clado *punctatus* (Varela-Romero, 2007; Arce-H *et al.*, 2017).

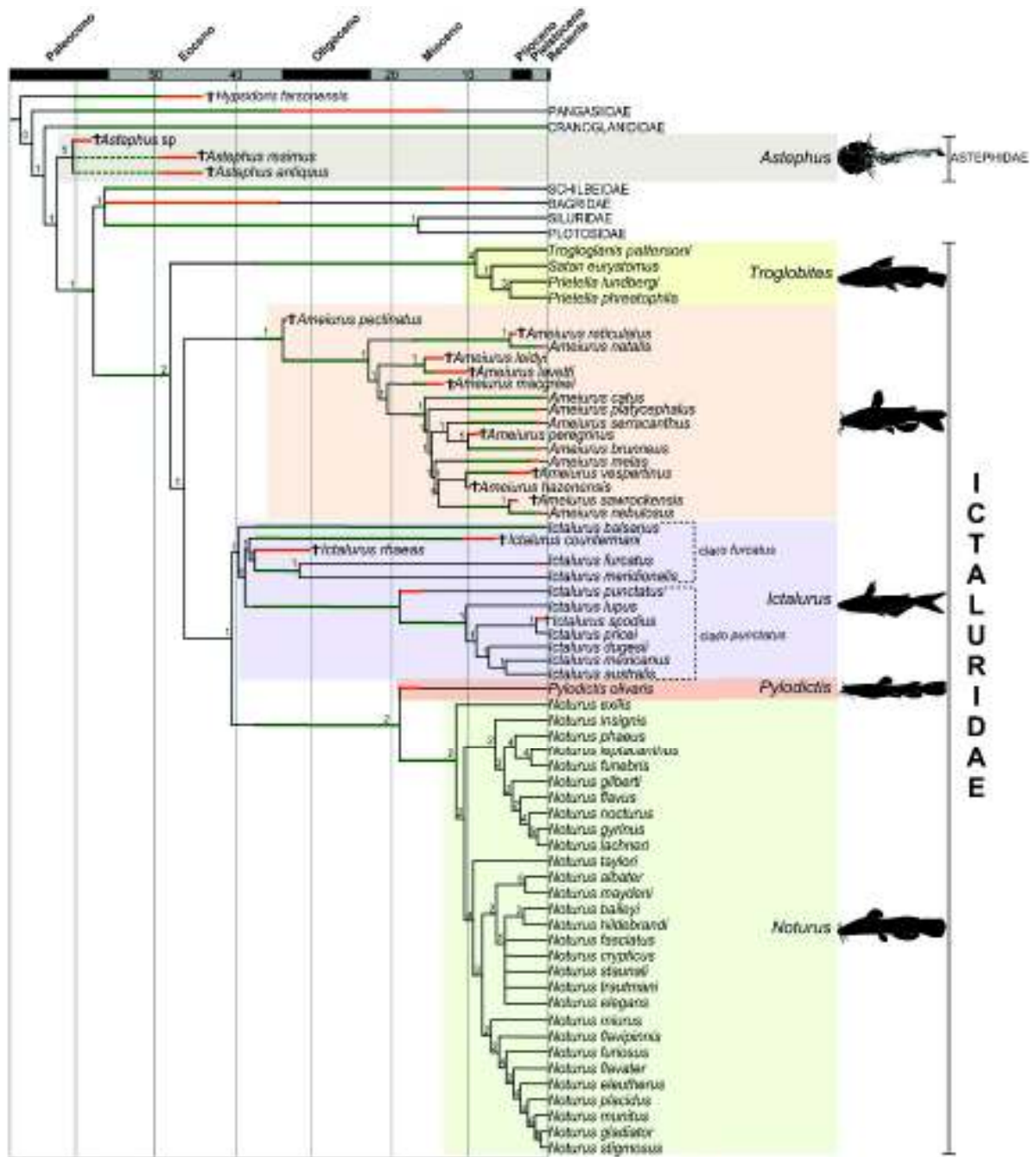


Figura 1. Consenso estricto de 24 árboles obtenidos por máxima parsimonia a partir de los genes mitocondriales *COXI*, *Cyt-b*, *16S* y *12S*, del gen nuclear *RAG2* y caracteres morfológicos y mapeado al tiempo geológico. Las líneas negras indican las relaciones entre las ramas, las líneas naranjas los rangos estratigráficos de las especies fósiles, las líneas verdes los rangos de extensión y linajes fantasma y las líneas verdes punteadas los rangos de extensión para linajes fantasma potenciales donde hay falta de resolución filogenética (tomado de Arce-H *et al.*, 2017).

El bagre Yaqui es un ictalúrido esbelto con cuerpo hidrodinámico y coloración gris a negro o café claro en la cabeza, dorso y costados, blanco a gris ventralmente y moteado con puntos negros en juveniles, aletas con una tonalidad gris clara y la aleta caudal con el borde obscuro, aunque los adultos adquieren mayor grosor y se vuelven monocromáticos alcanzando una longitud mayor a 60 cm y un peso mayor a 10 kg en cautiverio (Miller *et al.*, 2009; Minckley y Marsh, 2009; Ruiz-Campos *et al.*, 2020). Presenta una aleta caudal ligeramente furcada y una aleta anal redondeada con 23-25 radios (Minckley y Marsh, 2009; Ruiz-Campos *et al.*, 2020). Poco se conoce sobre la biología del bagre Yaqui, pero se ha reportado que ocurre desde los 250 metros sobre el nivel del mar (msnm) en secciones de río amplias con flujo lento a intermedio y sustrato de arenas y rocas, hasta las partes altas sobre los 2,100 msnm en pozas claras de pequeños arroyos con sustratos de gravas y arenas (Hendrickson *et al.*, 1981; Miller *et al.*, 2009). Se ha recolectado en zonas con vegetación rala, con presencia de diatomeas y algas verdes macrófitas y en profundidades de 1 a 4 m (Miller *et al.*, 2009). Los adultos se encuentran en zonas profundas durante el día y durante la noche se mueven hacia rápidos para alimentarse de invertebrados, otros peces y materia orgánica (Miller *et al.*, 2009). Se cree que el desove ocurre durante mayo, en agujeros resguardados por los machos hasta que los huevos eclosionan (Miller *et al.*, 2009).

El bagre Yaqui se encuentra naturalmente distribuido en las cuencas de los ríos Sonora, Yaqui, Mayo, Fuerte y Casas Grandes en el Noroeste de México y Suroeste de los Estados Unidos (EUA) (Lundberg, 1992; Miller *et al.*, 2009; Minckley y Marsh, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2011; Varela-Romero *et al.*, 2020) (Figura 2). En el Río Papigochic en Miñaca, cuenca del Río Yaqui, Chihuahua, se describió como *Amiurus meeki* (Regan, 1906-1908), actualmente considerada como sinonimia de *I. pricei* (Miller, 1978; Hendrickson *et al.*, 1981; Lundberg, 1992; Minckley y Marsh, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2020). Además, poblaciones de bagres al sur de la cuenca del Río Fuerte, presentes en los ríos Sinaloa, Culiacán, San Lorenzo, Piaxtla, Presidio, Baluarte y San Pedro Mezquital, representan al menos una especie aún no descrita, el bagre de Sinaloa, cercanamente emparentada con el bagre Yaqui (Hendrickson, 1983; Miller *et al.*, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2011; Varela-Romero *et al.*, 2020). El análisis morfológico de individuos del bagre de Sinaloa recolectados en el Río Culiacán, muestra diferencias morfométricas y merísticas con el bagre Yaqui (Ruiz-Campos *et al.*, 2016; Ruiz-Campos *et al.*,

2020) y los análisis filogenéticos a partir de los genes *Cyt-b* y *12SrRNA* (Varela-Romero, 2007; Varela-Romero *et al.*, 2020), *COXI* (Castañeda-Rivera *et al.*, 2014) y del mitogenoma (Ballesteros-Córdova *et al.*, 2016) indican un clado monofilético formado por el bagre Yaqui y el bagre de Sinaloa, formando el complejo *pricei* del Noroeste de México (Varela-Romero *et al.*, 2011; Varela-Romero *et al.*, 2020). Al igual que ocurre con el complejo *pricei* en el Noroeste de México, existen varias especies no descritas asociadas a las ocho especies del género *Ictalurus* que habitan diversas cuencas hidrológicas tanto de la vertiente Atlántica como Pacífica de México (Miller *et al.*, 2009; Minckley y Marsh, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2020), lo que pone de manifiesto lo poco que se conoce sobre ellas y la necesidad de seguir incrementando el conocimiento.

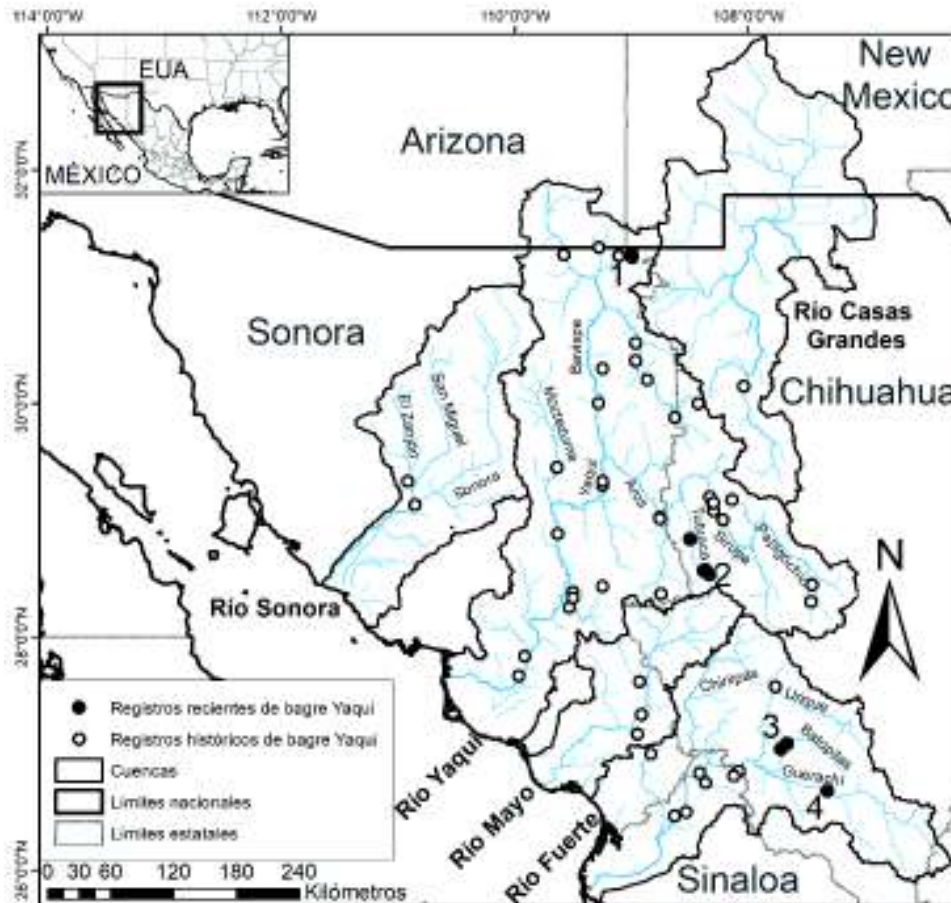


Figura 2. Área de distribución histórica (círculos) y actual (puntos negros) del bagre Yaqui *I. pricei*. Registros reportados por Varela-Romero *et al.* (2011) y muestreos posteriores en: 1) Arroyo Cajón Bonito, 2) Río Tutuaca, 3) Río Batopilas, 4) Río Guerachi.

## **I.2. Estado de conservación del bagre Yaqui**

En 1899, Frederic Morton Chamberlain translocó un stock de bagre Yaqui a partir de 14 ejemplares a la cuenca del Río Santa Cruz, EUA, el cuál sobrevivió hasta aproximadamente 1950, recolectados en Sonora, localidad de “Casitas”, presumiblemente en la cuenca del Río Sonora, datos que aún no se han podido confirmar (Minckley, 1969; Minckley, 1999; Minckley y Marsh, 2009). Sólo dos recolectas más de bagre Yaqui han sido reportadas para el Río Sonora, pero Blasius (1996) las considera cuestionables. Sin embargo, la colección de peces del Museo de Zoología de Michigan (University of Michigan) mantiene un registro con ejemplares de bagre Yaqui recolectados por Miller en 1943 sobre el cauce principal del Río San Miguel de Horcasitas de la cuenca del Río Sonora (UMMZ-157258). Ningún muestreo posterior ha logrado recolectar individuos de bagre Yaqui en la cuenca del Río Sonora, por lo que parece poco probable que aún sobreviva en dicha cuenca (Minckley y Marsh, 2009; Varela-Romero y Hendrickson, 2010). Además, desde hace varias décadas se considera extirpada del Río Casas Grandes (Miller *et al.*, 2009; Minckley y Marsh, 2009), por lo que actualmente su distribución se encuentra restringida a los ríos Yaqui, Mayo y Fuerte (Miller *et al.*, 2009; Varela-Romero *et al.*, 2011).

Los primeros reportes sobre la presencia de bagre de canal en presas de la cuenca del Río Yaqui advierten del potencial de dispersión e impacto a las poblaciones del bagre Yaqui (Hendrickson *et al.*, 1981). Los muestreos en la década de 1981-1990, encontraron abundantes individuos de bagre Yaqui en el Río Yaqui (Hendrickson *et al.*, 1981; Leibfried, 1991). Posteriormente, se reportó la invasión de las especies exóticas sobre los hábitats naturales del Río Yaqui, haciendo escasa la captura de bagre Yaqui (Juárez-Romero *et al.*, 1991). De igual manera, en los ríos Mayo y Fuerte se reporta una escasez de bagre Yaqui en las recolectas, donde las principales afectaciones fueron el uso indiscriminado del agua y alteraciones en el hábitat para actividades agrícolas, así como la presencia de especies exóticas de las familias Clupeidae, Cyprinidae, Catostomidae, Ictaluridae, Salmonidae, Poeciliidae, Centrarchidae y Cichlidae (Varela-Romero *et al.*, 1992; Varela-Romero y Hendrickson, 2010) y la hibridación con el bagre de canal, mencionando que esta puede estar ampliamente extendida en los ríos Yaqui y Fuerte (Hendrickson y Varela-Romero, 1996).

En 1987 y 1990 se recolectaron individuos de bagre Yaqui en el Centro-Este de Sonora y en el Centro-Oeste de Chihuahua, los cuáles fueron trasladados al Dexter National Fish Hatchery and Technology Center (Dexter NFHTC) (Dexter, New Mexico, EUA) para intentar reproducirlos en cautiverio. Los análisis de caracteres osteológicos y merísticos realizado por Miller en 1989 (citado en USFWS, 1995) y de variación de isozimas realizado por el Dexter NFHTC (Kelsch y Baca, 1991; Morizot *et al.*, 1999), detectaron la presencia de individuos híbridos con bagre de canal, *I. punctatus*. Estos individuos híbridos fueron descartados para así crear un stock con bagres Yaqui putativamente puros (Varela-Romero *et al.*, 2011). En 1993, los ejemplares fueron trasladados al Uvalde National Fish Hatchery (Texas) donde se logró reproducirlos en 1995, 1996 y 1997 (USFWS, 2009) mediante la inyección de hormonas, como Ovaprim® y LHRHa (Ulibarri y Jensen, 1997; Mylonas y Zohar, 2001). Las cohortes obtenidas entre 1995 y 1997 fueron liberadas en tres estanques en el condado Cochise, Arizona (USFWS, 2009) como parte del Plan de Recuperación de los Peces del Río Yaqui (USFWS, 1995). El resto de los individuos de bagre Yaqui, tanto reproductores como progenie, permanecieron en cautiverio en el stock, aunque se perdieron para 2006 (Varela-Romero *et al.*, 2011). Los análisis de marca-recaptura de las poblaciones liberadas en los estanques de Arizona, encontraron un reclutamiento anual nulo y se estimó que los bagres Yaqui presentes son los remanentes de la progenie obtenida en los stocks en 1995-1997 (Stewart *et al.*, 2017). Se estimó que la edad máxima de los bagres Yaqui es de 28 años, por lo que los individuos tendrían 19-21 años de haber sido liberados en los estanques y estaban cerca de la senescencia (Stewart *et al.*, 2017). Debido al reclutamiento anual nulo y al decline en la abundancia, se estimó que el bagre Yaqui sería extirpado del medio silvestre en EUA para 2018 (Stewart *et al.*, 2017). Actualmente se considera innecesaria su búsqueda en estos estanques para detectar su posible ocurrencia (Chuck Minckley, 2020, Fundación Cuenca Los Ojos, comunicación personal).

Los últimos esfuerzos de recolecta en campo para conocer el estatus de las poblaciones en México fueron realizados por Varela-Romero *et al.* (2011) entre 2004 y 2006, quienes reportan una disminución en las poblaciones históricas del bagre Yaqui y se menciona que cada vez es más rara su captura. No se detectaron individuos de bagre Yaqui en la cuenca del Río Mayo, por lo que posiblemente también está extirpada ahí (Varela-Romero *et al.*, 2011). Además, tampoco se recolectaron ejemplares en algunos de los sitios de registros históricos de



ocurrencia en las cuencas de los ríos Yaqui y Fuerte sin alcanzar a muestrearlos todos debido a la dificultad del acceso y, sólo se detectó su presencia en la parte alta del Río Tutuaca, cuenca del Río Yaqui y en el Río Batopilas, cuenca del Río Fuerte (Fig. 2) (Varela-Romero *et al.*, 2011). Basado en estos informes de muestreo de campo, Varela-Romero *et al.* (2011) señalan que el nivel de protección de la especie debe aumentar de Sujeta a Protección Especial a en Peligro de Extinción. Sin embargo, su recategorización solo se incrementó a Amenazado en territorio mexicano (SEMARNAT, 2010), a pesar de que Minckley y Gilbert (1980) consideraron al bagre Yaqui extirpado en los Estados Unidos de América, por lo que la USFWS la catalogó como Amenazada (USFWS, 1984) y en la lista roja de la UICN pasó de Vulnerable en 1996 a En Peligro (EN = Endangered) en 2013 (Nature Serve y Lyons, 2019). Esto último debido a que se estima que se distribuye en un área menor a 500 km<sup>2</sup> (criterio B2), en menos de cinco localidades fragmentadas (criterio B2a) y se exhibe una disminución continua en el área de ocupación, calidad del hábitat, número de localidades y número de individuos maduros (criterios B2b ii, iii, iv, v) (Nature Serve y Lyons, 2019).

Recientemente se descubrió una población de bagre Yaqui en el Arroyo Cajón Bonito, Sonora, que se encuentra al sur de la frontera con EUA en la subcuenca del Río Bavispe, cuenca del Río Yaqui (Fig. 2) (Varela-Romero y Minckley, 2016). Debido a esto, se está realizando un esfuerzo binacional entre agencias e instituciones de México y EUA para instrumentar un Plan de Manejo y Conservación del bagre Yaqui (Varela-Romero y Minckley, 2018). Este último incluye la creación de un stock reproductivo de bagre Yaqui en un estanque artificial creado en el Área Destinada Voluntariamente a la Conservación (ADVC) Cuenca Los Ojos, en Rancho San Bernardino, Sonora, (Minckley y Livingstone, 2018), manejado por Fundación Cuenca Los Ojos (<https://cuencalosojos.org/>). Este arroyo es uno de los hábitats más importantes en el manejo y conservación dentro del área manejada por Fundación Cuenca Los Ojos, que ha abrigado en sus objetivos de conservación la creación de este stock reproductivo para la conservación de la especie en el Arroyo Cajón Bonito.

### **I.3. Hibridación en el bagre Yaqui**

Una de las principales amenazas para el bagre Yaqui ha sido la competencia e hibridación con el exótico bagre de canal, *I. punctatus*. El bagre azul, *I. furcatus*, ha sido detectado en las principales presas de las cuencas hidrológicas de distribución del bagre Yaqui (Hendrickson *et al.*, 1981, Minckley y Marsh, 2009; Miller *et al.*, 2009; Varela-Romero y Hendrickson, 2010). Sin embargo, su presencia no ha sido registrada en cauces naturales (Varela-Romero *et al.*, 2011), por lo que es difícil eventos de hibridación entre estas especies. El bagre de canal es la especie más importante en la acuicultura en EUA y a nivel mundial (Jolly *et al.*, 2001) y ha sido translocada a varias partes del mundo, incluyendo México, con la finalidad de ser utilizada para la pesca y acuicultura (Kwak *et al.*, 2011). McClure-Baker *et al.* (2010) reportan que, en Texas, el bagre de canal fue translocado por las granjas acuícolas alrededor de 1930 y fue introducido en la cuenca del Río Grande, Sureste de EUA y Noreste de México, donde ocurría de manera natural el bagre lobo, *I. lupus*. Estos autores detectaron ADNmt del bagre de canal en individuos identificados morfológicamente como bagre lobo y, de igual manera, ADNmt de bagre lobo en individuos identificados morfológicamente como bagre de canal, lo que evidencia la presencia de hibridación entre estas dos especies.

En Sonora la historia es similar, pues el bagre de canal se introdujo cuando se construyeron las principales presas del estado con la finalidad de ser aprovechado en la pesca deportiva y comercial (Varela-Romero y Hendrickson, 2010; Ruiz-Campos *et al.*, 2014). La hibridación entre el bagre Yaqui y el bagre de canal fue primero observada por los análisis osteológicos y merísticos realizados por Robert R. Miller (1989) a partir de radiografías (USFWS, 1995; Varela-Romero *et al.*, 2011). Posteriormente, se detectó hibridación en el Río Yaqui y luego en el Río Fuerte, basado en la morfología de los bagres recolectados, aunque sin ser confirmada por la falta de vouchers (Hendrickson y Varela-Romero, 1996). Los ejemplares analizados por Miller provenían del stock reproductivo en Dexter NFHTC, recolectados en el Aros en Sonora, cuenca del Río Yaqui, lo que indicó que la especie estaba más amenazada de lo que se creía anteriormente (USFWS, 1995; Varela-Romero *et al.*, 2011). Estos resultados fueron corroborados mediante el análisis de variación de alozimas (Kelsch y Baca, 1991), donde se detectó la presencia de híbridos, de bagres Yaqui putativamente puros y de bagres de canal o

posibles retrocruzas. Además, un análisis no publicado realizado a partir de tres loci de isozimas en 184 individuos de bagres que fueron recolectados en 1990 en el Río Sírupa al oeste de Madera en Chihuahua, en hábitat de bagre Yaqui en México (Cuenca del Río Yaqui), mostró evidencia de introgresión del bagre de canal con el bagre Yaqui y sólo se encontraron pocos individuos de bagre de canal puros (Morizot *et al.*, 1997; Morizot *et al.*, 1999). Además, reportan al menos dos generaciones de hibridación introgresiva entre bagre Yaqui y bagre de canal en el área de muestreo y que se produce un cambio sorprendente en los caracteres morfológicos, sin mencionarlos. Los ejemplares puros recolectados en 1987 en Río Aros y en 1990 en Río Sírupa, ambos en la cuenca del Yaqui, fueron utilizados para crear el stock reproductivo de bagre Yaqui en Dexter NFHTC (Varela-Romero *et al.*, 2011). Un posterior análisis morfométrico de los individuos del stock permitió encontrar diferencias entre el bagre Yaqui y el bagre de canal, aunque no se detectaron variables que permitieran identificar correctamente a los individuos genéticamente puros (Kelsch y Jensen, 1997).

Como se mencionó anteriormente, 300 individuos de la progenie obtenida en Uvalde National Fish Hatchery fueron liberados en 1997 en tres estanques en Arizona: 1) Twin Pond en San Bernardino National Wildlife Refuge, 2) House Pond en Slaughter Ranch y 3) Big Tank en El Coronado Ranch (USFWS, 2009). Baker *et al.* (2008) indicaron que las poblaciones de bagre Yaqui en Twin Pond y Big Tank eran puras, pero la población de House Pond parecía contaminada con bagre azul, *I. furcatus*, o con bagre de canal. El análisis a partir de 12 loci microsatelitales que fueron diseñados para bagre de canal, no detectó evidencia de introgresión en la población de bagre Yaqui de House Pond (USFWS, 2009).

La identificación morfológica del bagre Yaqui se ha basado en caracteres diagnósticos, como la separación entre el hueso supraneural y el proceso supraoccipital, número de radios de la aleta anal de 23 a 25, aleta caudal moderadamente furcada y una corta longitud de la espina dorsal comparada contra el ancho interorbital (Lundberg, 1992; Miller *et al.*, 2009). Por su parte, en el bagre de canal la separación entre los huesos supraneural y supraoccipital es nula o casi nula, presenta la aleta anal más larga con 24 a 29 radios, la aleta caudal más furcada y una mayor longitud de la espina dorsal cuando se le compara contra el bagre Yaqui (Lundberg, 1992; Miller *et al.*, 2009). Sin embargo, se ha encontrado que los bagres de la familia Ictaluridae pueden

presentar gran plasticidad fenotípica (Ruiz-Campos *et al.*, 2009). Esto ha dificultado la diferenciación morfológica de individuos híbridos y sus especies parentales (Rutkayová *et al.*, 2013). En algunas especies de bagres se han encontrado que los individuos híbridos presentan caracteres morfológicos y merísticos intermedios entre las especies nominales (Trautman, 1948; Taylor, 1969; Menzel y Raney, 1973; Welsch y Cincotta, 2004), sin embargo, se ha encontrado que los híbridos pueden presentar un mosaico de variaciones de las especies parentales (Allendorf *et al.*, 2001). Estos trabajos y los análisis para bagre Yaqui (Kelsch y Jensen, 1997), muestran que los individuos híbridos entre el bagre Yaqui y el bagre de canal pueden presentar caracteres morfológicos intermedios o no bien definidos, por lo que resulta difícil diferenciarlos de individuos genéticamente puros. Por lo anterior, es necesario realizar una identificación genética a partir de ADNmt y ADN nuclear (ADNn) de los individuos del Arroyo Cajón Bonito que pudieran ser utilizados como reproductores para crear el stock reproductivo.

#### **I.4. Determinación molecular de híbridos**

Se ha detectado la presencia de híbridos en la mayoría de los géneros de la familia Ictaluridae, tanto en el medio silvestre como por causas de origen antropogénico, por lo que parece que este fenómeno es más común de lo que anteriormente se creía. Las aproximaciones metodológicas que se han seguido para la determinación de híbridos en la familia Ictaluridae, incluyen análisis morfológicos y moleculares a partir de marcadores enzimáticos y de ADNmt y ADNn. Por ejemplo, se ha detectado la presencia de híbridos en el medio natural *Noturus miurus* x *N. girinus* (Trautman, 1948; Menzel y Raney, 1973), *N. girinus* x *N. miurus* y *N. exilis* x *N. miurus* (Taylor, 1969) y como consecuencia de la degradación del hábitat y traslocación de individuos entre *N. flavus* x *N. insignis* (Welsch y Cincotta, 2004), todos los anteriores determinados a partir del patrón de coloración, la presencia de caracteres morfológicos intermedios y el uso de índices morfológicos de hibridación.

Sin embargo, las aproximaciones basadas en morfología pueden resultar poco precisas porque la cantidad de variación al interior y entre las especies puede ser mayor y, los caracteres de los híbridos pueden caer dentro del rango de variabilidad morfológica reportado para alguna de las especies parentales (Allendorf *et al.*, 2001). Por ello, los análisis morfométricos se han combinado con análisis a partir de ADNmt, pues se ha argumentado que un individuo puede ser

definido como híbrido cuando su identificación morfológica no coincide con el ADNmt que porta (Hunnicuttt *et al.*, 2005). Esta aproximación se utilizó para describir híbridos *Ameiurus melas* x *A. nebulosus* (Hunnicuttt *et al.*, 2005) y también permitió la identificación de hibridación entre *I. punctatus* x *I. lupus* (McClure-Baker *et al.*, 2010), aunque los híbridos entre estas dos últimas especies ya habían sido detectados mediante análisis morfométricos y de variación de isozimas (Kelsch y Hendricks, 1986).

No obstante, se ha visto que la determinación de híbridos puede subestimarse cuando sólo se usa ADNmt y morfología, por lo que se requiere también del uso de marcadores moleculares nucleares (Walter *et al.*, 2014). El uso de ADNmt, ADNn y morfología permitió la correcta identificación de *A. melas* y *A. nebulosus*, dos especies ictalúridas introducidas en Europa que suelen ser identificadas erróneamente debido a la superposición de caracteres morfológicos (Rutkayová *et al.*, 2013). El análisis no detectó la presencia de individuos híbridos en muestras recolectadas en República Checa y República Eslovaca (Rutkayová *et al.*, 2013). Esta aproximación metodológica resulta más precisa y se han desarrollado técnicas basadas en el PCR-RFLP (polimorfismo de fragmentos amplificados por PCR y digeridos por enzimas de restricción, por sus siglas en inglés) de genes mitocondriales y nucleares (Walter *et al.*, 2014). En esta técnica, primero se amplifican las regiones de interés y luego se cortan mediante el uso de enzimas de restricción que reconocen sitios específicos en la secuencia de ADN, por lo que cualquier mutación puntual, o SNP (polimorfismo de un solo nucleótido por sus siglas en inglés), que sea diagnóstica entre las especies parentales, cambia el patrón de corte de la enzima. Mediante esta técnica, se han desarrollado pruebas rápidas para la identificación de *A. melas*, *A. nebulosus* y sus híbridos a partir de genes mitocondriales y nucleares, lo que ha permitido detectar que la hibridación entre estas especies está más extendida de lo que se creía (Walter *et al.*, 2014).

Dado que los individuos de bagre Yaqui recolectados en Arroyo Cajón Bonito se transportan vivos hacia el estanque artificial para su reproducción, no es posible realizar un análisis morfométrico comparativo para discriminar a los individuos de bagre Yaqui puros. Por tanto, la identidad genética de los reproductores del stock debe ser determinada mediante

análisis genéticos que permitan detectar la presencia de hibridación. Como se ha visto en los trabajos previamente citados.

#### **I.4.1. Determinación del linaje materno a partir del ADN mitocondrial**

El ADNmt es una molécula que evoluciona más rápido que el ADNn (Brown *et al.*, 1979). En *Drosophila* el ADNmt muta el doble de rápido que el ADNn, mientras que en mamíferos esta proporción puede ser de hasta 40 veces (Osada y Akashi, 2012). Algunas de las posibles causas de la alta tasa de evolución del ADNmt son la reducida capacidad de corrección de la ADNmt polimerasa, carencia de enzimas de reparación, una alta exposición del ADNmt a la presencia de agentes oxidantes como radicales y superóxidos y las múltiples generaciones mitocondriales por cada generación de la célula (Meyer, 1993; Xia, 2012). Gracias a esta alta tasa mutacional, el ADNmt ha sido ampliamente usado para estudios de relaciones filogenéticas en peces (Meyer, 1993).

Según el modelo de replicación asimétrico del ADNmt, existen dos orígenes de replicación, el primero conocido como origen de replicación de la cadena pesada ( $O_H$ ) y el segundo conocido como origen de replicación de la cadena ligera ( $O_L$ ) (Meyer, 1993; Brown *et al.*, 2005). La replicación comienza en el  $O_H$  en la región promotora conocida como región control (D-loop) y la burbuja de replicación se dirige hacia el gen citocromo *b* (*Cyt-b*) sintetizando la cadena pesada (Meyer, 1993; Brown *et al.*, 2005). Durante este período de tiempo, la cadena ligera permanece como ADN monocatenario quedando expuesta a los radicales y superóxidos presentes en la mitocondria, producto de la respiración celular, que provocan mutaciones (Meyer, 1993; Brown *et al.*, 2005). Cuando la burbuja de replicación llega al  $O_L$  comienza la síntesis de la cadena ligera en dirección opuesta hacia el gen citocromo oxidasa subunidad I (*COXI*) (Meyer, 1993; Brown *et al.*, 2005).

Debido a este modelo de replicación asimétrico, existen regiones que quedan expuestas más tiempo a los agentes oxidantes, como el gen *Cyt-b* y otras que permanecen expuestas menos tiempo, como el gen *COXI* (Meyer, 1993; Brown *et al.*, 2005). Esta alta tasa mutacional y sus variaciones al interior del ADNmt ha sido aprovechada para estudios de filogenia, donde las regiones más variables, como la región control o el gen *Cyt-b*, se han usado para análisis a nivel

de poblaciones, especies o géneros (Hardman y Page, 2003; Hardman, 2004; Hardman, 2005) y las más conservadas, como el *COXI* y los genes ribosomales *12S* y *16S*, se han usado para resolver filogenias a niveles taxonómicos de familias o superiores (Cramer *et al.*, 2011).

El gen mitocondrial citocromo b (*Cyt-b*) ha sido ampliamente utilizado en estudios para resolver problemas filogenéticos a diferentes niveles taxonómicos, principalmente de mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces (Lydeard y Roe, 1997). El gen *Cyt-b* se volvió muy popular en los estudios de sistemática molecular debido a que es un gen moderadamente variable (Meyer, 1993; Lydeard y Roe, 1997). Por lo tanto, el uso de este gen ha permitido obtener información filogenética a diferentes niveles taxonómicos, desde el nivel intraespecífico hasta el nivel intergenérico descubriendo la monofilia entre especies y géneros cercanos (Kocher *et al.*, 1989; Hardman y Page, 2003).

A nivel intraespecífico, el *Cyt-b* ha sido utilizado para determinar monofilia y estructura filogeográfica entre poblaciones silvestres de peces (Luhariya *et al.*, 2012). Este tipo de análisis proporciona información útil para el desarrollo de estrategias de manejo y conservación de especies con poblaciones vulnerables (Luhariya *et al.*, 2012). Para el bagre Yaqui, este gen y su uso en concatenado con otros genes mitocondriales ha resuelto la identidad de la especie a nivel mitocondrial en el Noroeste de México (Ballesteros-Córdova *et al.*, 2016; Castañeda-Rivera *et al.*, 2014; Varela-Romero *et al.*, 2020). Por lo tanto, el análisis del gen *Cyt-b* de los ejemplares utilizados para el stock reproductivo de bagre Yaqui puede dar información acerca de la afinidad filogenética de las poblaciones de las cuáles se extraerán los individuos reproductores, además de que permitirá comprobar la monofilia de dichas poblaciones.

#### **I.4.2. Determinación de híbridos a partir del ADN nuclear**

En trabajos anteriores con bagres se han utilizado genes nucleares para resolver filogenias a diferentes niveles taxonómicos, siendo los genes activadores de la recombinación 1 y 2 (*RAG1* y *RAG2*) los más ampliamente utilizados (Hardman y Page, 2003; Hardman, 2004; Sullivan *et al.*, 2006). Estos genes no se encuentran en la lista de los 111 genes con las tasas de sustitución más rápidas, encontrados por Liu *et al.* (2016) a partir de la secuenciación del genoma del bagre

de canal, lo que indica que son genes poco variables por lo tanto útiles para los propósitos de identificación de híbridos.

En el pez cebra, *Danio rerio*, el gen *RAG1* está formado por 1,057 codones, es decir, 3,171 pb y presenta dos intrones, el intrón 1b se encuentra cerca de la mitad de la región codificante y el intrón 1a cerca del extremo 5' terminal (Willet *et al.*, 1997). El gen *RAG2* tiene una extensión de 530 codones o 1,590 pb en el pez cebra y no presenta intrones (Willet *et al.*, 1997). En bagre de canal se han amplificado dos fragmentos del *RAG1*: el primero de 1,182 pb que incluye una sección del exón 1, ubicado en el extremo 5' codificante, el intrón 1a completo y parte del exón 2; el segundo fragmento de 1,494 pb e incluye el exón 3 ubicado en el extremo 3' (Sullivan *et al.*, 2006). Del gen *RAG2* se amplificó un fragmento de 883 pb en el bagre de canal (Sullivan *et al.*, 2006).

Los genes nucleares *RAG1* y *RAG2* se han utilizado en concatenado con el gen mitocondrial *Cyt-b* para obtener un mayor poder resolutivo de filogenias a niveles de familia (Hardman y Page, 2003) e inferiores (Hardman, 2004). También han sido usados en concatenado con el *COXI* y el gen nuclear *F-reticulon 4* para resolver filogenias a nivel de subfamilia (Cramer *et al.*, 2011). Por su parte, estos genes nucleares concatenados permitieron resolver la filogenia de 36 familias pertenecientes al orden Siluriformes (Sullivan *et al.*, 2006). Estos trabajos han mostrado que los genes *RAG1* y *RAG2* presentan un alto poder de resolución filogenética a diferentes niveles taxonómicos.

Cuando se trabaja con genes nucleares de organismos di-, tri- o tetra-ploides, se pueden presentar posiciones heterocigotas debido a que los haplotipos parentales presenten mutaciones puntuales (o SNPs), inserciones o deleciones (Sousa-Santos *et al.*, 2005). Esto puede dificultar la interpretación de la historia evolutiva de las especies (Sousa-Santos *et al.*, 2007), por lo que se han propuesto algunos métodos que permiten la obtención de los haplotipos parentales (Clark, 1990; Sousa-Santos *et al.*, 2005). El algoritmo de “sustracción de haplotipos” (haplotype subtraction) es un método que permite identificar los dos haplotipos dentro de los heterocigotos (Clark, 1990). Este método se basa en el análisis de los homocigotos que en teoría no muestran posiciones ambiguas en una población dada, por lo que se pueden identificar alelos parentales (haplotipos) con cierta certidumbre (Clark, 1990). Una vez identificados estos alelos parentales



en los homocigotos, es posible recuperar los heterocigotos que muestran ambigüedades (Clark, 1990).

Estos algoritmos y su uso en conjunto con genes mitocondriales son métodos que se han utilizado recientemente, permitiendo la determinación de híbridos en diferentes grupos taxonómicos (Sonnenberg *et al.*, 2007; Bae *et al.*, 2016; Han *et al.*, 2018). Por lo tanto, el método de “sustracción de haplotipos” (Clark, 1990) y su uso en conjunto con los genes mitocondriales, puede ser aplicado para la obtención de los haplotipos parentales en los genes nucleares *RAG1* y *RAG2*, permitiendo así la identificación de los híbridos *Ictalurus pricei* x *I. punctatus*.

#### **I.4.3. Código de barras del ADN a partir del gen mitocondrial *COXI***

El código de barras del ADN es un enfoque que se ha utilizado para la identificación de las especies y se basa en la comparación de los cuatro nucleótidos que se pueden encontrar en cada posición de un determinado segmento de la cadena de ADN (Hebert *et al.*, 2003a). Hebert *et al.* (2003a, b) sugieren utilizar el gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (*COXI*) en los análisis de código de barras de vertebrados. Este gen posee un alto nivel de diversidad interespecífica y permite la correcta identificación de las especies incluso a niveles taxonómicos de filos y órdenes (Hebert *et al.*, 2003a, b). Por otra parte, se encontró que permite separar especies filogenéticamente muy relacionadas y que a nivel intraespecífico no existe tanta variación (Hebert *et al.*, 2003b).

Los métodos de análisis del código de barras del ADN se han dividido en tres grupos principales, los métodos basados en distancias, los métodos de coalescencia y el método de código de barras basado en caracteres. Los métodos basados en distancias convierten las diferencias de las secuencias del ADN en distancias genéticas dentro y entre las especies y se define un umbral de similitud entre las secuencias intra- e interespecíficas para la delimitación de una especie (Hebert *et al.*, 2003a; Zou *et al.*, 2011; Puillandre *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2014). Sin embargo, se ha discutido que las tasas de sustitución de nucleótidos varían entre las especies y al interior de éstas, resultando en amplias superposiciones de distancias intra- e interespecíficas, lo que puede resultar en grupos polifiléticos o parafiléticos aun cuando se trate de grupos monofiléticos (Meyer y Paulay, 2005; Zou *et al.*, 2011).

Los métodos basados en la teoría de coalescencia requieren la construcción del árbol filogenético para determinar las relaciones ancestro descendencia, al cual se asignan especies desconocidas a taxones conocidos, basado en la premisa de que un conjunto de linajes agrupados es monofilético (Zou *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2014). Por lo tanto, los linajes conespecíficos mostrarán una mayor tasa de coalescencia que los linajes heteroespecíficos (Yu *et al.*, 2014) Sin embargo, estos métodos han sido cuestionados por presentar monofilias rechazadas incorrectamente debido a que las genealogías de algunos genes no corresponden con los árboles de especies y por problemas para producir grupos monofiléticos cuando han divergido recientemente (Zou *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2014)

Finalmente, el método de código de barras basado en caracteres se basa en la idea de que los miembros de un taxón comparten atributos que están ausentes en otros grupos (Zou *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2014). La identificación requiere dos pasos para una aproximación válida: en el primero se identifican las especies mediante la determinación de los nucleótidos diagnósticos de cada una de las unidades taxonómicas predeterminadas y, en el segundo, se clasifican los especímenes desconocidos basado en los códigos de barra del ADN diagnósticos previamente identificados (Sarkar *et al.*, 2008). El algoritmo CAOS (Characteristic Attributes Organization System) desarrollado por Sarkar *et al.* (2008) clasifica a los caracteres diagnósticos, o atributos característicos (CA, por sus siglas en inglés), en puros o Pu (Pure) cuando están presentes en todos los miembros de un clado, pero no en otros clados, y en privados o Pr (Private) cuando existen en algunos de los miembros de un clado, pero no en otro clado (Sarkar *et al.*, 2008). El sistema CAOS identifica los CA que se encuentran en una posición nucleotídica, denominados CA simples, que pueden ser sPu o sPr (Sarkar *et al.*, 2008). Después, CAOS busca los CA compuestos, que son aquellos formados por múltiples posiciones de nucleótidos y pueden ser cPu y cPr (Sarkar *et al.*, 2008). Con base en estos tipos de estados de carácter, el programa crea una regla para clasificar las nuevas secuencias en el árbol original a partir del cual se identificaron los CA (Sarkar *et al.*, 2008).

Estos métodos han permitido la identificación de especies fenotípicamente plásticas y de especies crípticas (Hebert *et al.*, 2003a). Se ha encontrado que el método de código de barras basado en caracteres ha demostrado tener un mayor poder resolutivo para la discriminación de

especies (Zou *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2014). Por tanto, se espera que el algoritmo CAOS permita la correcta asignación del linaje materno de los individuos del stock reproductivo de bagre Yaqui. Se puede inferir, que los híbridos serán aquellos individuos identificados como bagres Yaqui con base en caracteres morfológicos, pero que presenten ADNmt de bagre de canal.

No obstante, el código de barras en general presenta limitaciones cuando ocurre hibridación o cuando existe una clasificación incompleta de linajes (Sonnenberg *et al.*, 2007), Este fenómeno no permite la discriminación de los individuos híbridos con morfología de bagre Yaqui y que presenten un linaje materno de bagre Yaqui. Por tanto, el uso de marcadores moleculares de ADNn se ha utilizado en conjunto con marcadores de ADNmt para la correcta identificación de los híbridos (Sonnenberg *et al.*, 2007; Rutkayová *et al.*, 2013; Walter *et al.*, 2014).

## **II. HIPÓTESIS**

Los ejemplares del stock reproductivo de bagre Yaqui *Ictalurus pricei* del Arroyo Cajón Bonito, en la subcuenca del Río Bavispe, podrán ser diferenciados mediante la caracterización genética a partir de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y de los genes nucleares *RAG1* y *RAG2*.

### **III. OBJETIVOS**

#### **III.1. Objetivo general**

Caracterizar genéticamente el stock reproductivo de bagre Yaqui *Ictalurus pricei* del Arroyo Cajón Bonito, en la subcuenca del Río Bavispe.

#### **III.2. Objetivos particulares**

1. Descubrir la afinidad filogenética de los individuos del stock reproductivo del bagre Yaqui, *Ictalurus pricei*, por medio de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y nucleares *RAG1* y *RAG2* y en concatenado.
2. Determinar la identidad específica de los candidatos a fundadores del stock reproductivo del bagre Yaqui *Ictalurus pricei* mediante el código de barras del ADN a partir del gen mitocondrial *COXI*.

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **IV.1. Recolecta de ejemplares y toma de muestras**

Los ejemplares de bagre Yaqui y bagre de canal fueron recolectados del Arroyo Cajón Bonito (Figura 1) que se encuentra en la subcuenca del río Bavispe, cuenca del Río Yaqui, mediante electropesca (Coffelt BP-6). A cada ejemplar se le realizó un corte en el extremo de la aleta adiposa para la obtención de 0.5 g de tejido, el cual se fijó en etanol al 95% y se etiquetó de manera individual; además, a cada ejemplar se le colocó una etiqueta (Pit Tag) que sirve como su identificador individual para su manejo y que corresponde con el ID utilizado para la muestra de tejido obtenida a partir de cada individuo. Los 18 ejemplares recolectados se trasladaron vivos al Rancho San Bernardino, manejado por la Fundación Cuenca los Ojos, donde finalmente se depositaron en un estanque acondicionado para su posterior manejo, de acuerdo con los resultados de los análisis genéticos.

El ejemplar de bagre Yaqui de referencia fue recolectado en el Arroyo Cajón Bonito en el 2017 y se encuentra depositado en la Colección de Peces Nativos de Sonora (USON-01382), de la Universidad de Sonora. Un ejemplar de referencia de bagre de canal se recolectó en el Arroyo Cajón Bonito en 2017 (USON-01383) y otros cuatro ejemplares (USON-01430) se recolectaron en estanques de cultivo en instalaciones productoras de bagre de canal que se encontraban en un rancho sobre el Arroyo Cajón Bonito.

### **IV.2. Extracción y análisis del ADN**

Se homogenizaron 25 mg de tejido de la aleta adiposa de cada individuo con un homogenizador de Kontes para microtubos. El homogenizado se digirió con proteinasa K para obtener el ADN que se precipitó con etanol de acuerdo con lo especificado en el kit QIAamp DNA Mini Kit de la compañía QIAGEN. La calidad y pureza del ADN se determinó por medio de un

espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 con absorbancias de 260 y 280 nm. La calidad de la extracción se analizó visualmente por electroforesis en geles de agarosa al 1%.



Figura 3. Mapa de la localización geográfica del sitio de recolecta de los ejemplares de *Ictalurus pricei* en el Arroyo Cajón Bonito (Círculo) y ubicación del stock reproductivo en Rancho San Bernardino (Cuadro). Se muestra el sitio de recolecta de ejemplares de *I. punctatus* en estanques de cultivo sobre el Arroyo Cajón Bonito (Triángulo).

### IV.3. Amplificación por PCR

Las reacciones de PCR se realizaron utilizando el kit Go Taq® Colorless Master Mix (Promega Corporation) y agregando 40 picomoles de los oligonucleótidos Fw y Rv específicos para cada gen y 100 ng de ADN. Para la amplificación del gene *Cyt-b* se emplearon los oligonucleótidos universales desarrollados por Kocher *et al.* (1989), mientras que para el gen *COXI* se utilizaron los oligonucleótidos desarrollados por Waldbieser *et al.* (2003) y probados anteriormente en la amplificación del ADNmt por Varela-Romero (2007), Ballesteros-Córdova *et al.* (2016) y por Castañeda-Rivera *et al.* (2014). Para la amplificación de los genes nucleares *RAG1* y *RAG2* se utilizaron los oligonucleótidos empleados por Sullivan *et al.* (2006) (Tabla 1).

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados en la amplificación de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y de los nucleares *RAG1* y *RAG2*.

Gen	Fw	Rv	Referencia
<i>Cyt-b</i>	TGACTTGAAAAMCCACCGTTG	TCAGTCTCCGGTTTACAAGACC	Kocher <i>et al.</i> , 1989
<i>COXI</i>	AAACCTTTGTTTCATGGAGCTAC	TCAAGCCAGTTACATAACCACT	Walbieser <i>et al.</i> , 2003
<i>RAG1</i> 3'	CTCAGCTGTAGCCAGTACCACA AAATG	TGAGCCTCCATGAACTTCTGAA GrTAYTT	López <i>et al.</i> , 2004
<i>RAG2</i>	TGyTATCTCCCACCTCTGCGyTA CC	TCATCCTCCTCATckTCCTCwTT GTA	Hardman, 2004

Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador BioRad DNA Engine PTC 200, donde se capturaron los programas de PCR para cada par de oligonucleótidos con la mejor temperatura de alineación, iniciando con un ciclo de desnaturalización a 94°C por cinco minutos, seguido por 35 ciclos repetidos de desnaturalización a 94°C por dos minutos, alineación de los oligonucleótidos a 48°C para el *Cyt-b* (Varela-Romero, 2007; Ballesteros-Córdova *et al.*, 2016), 52°C para el *COXI* (Ballesteros-Córdova *et al.*, 2016; Castañeda-Rivera *et al.*, 2014) y 57°C para *RAG1* y *RAG2* (Sullivan *et al.*, 2006) y elongación a 72°C por dos minutos, seguidos por un ciclo final de elongación a 72°C por 7 minutos. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1% con 2 µl de Bromuro de Etidio como agente intercalante y utilizando 2 µl del producto de PCR (Sigma-Aldrich) y un marcador de peso



molecular de 1Kb Plus (Invitrogen). Finalmente, los geles se expusieron a luz UV para ser observados con la ayuda de un fotodocumentador MiniBis Pro (DNR Bio\_Imaging System). Todos los productos de PCR se almacenaron a -20° C.

#### **IV.4. Secuenciación y análisis de los genes**

Los productos de PCR se enviaron a Macrogen, Inc. (Seúl, Corea) de acuerdo con las especificaciones de la compañía para su purificación y secuenciación. Las secuencias obtenidas se editaron y ensamblaron utilizando el programa Chromas Pro (versión 1.6). Los individuos que presentaron posiciones con dobles picos en los electroferogramas de los genes nucleares se interpretaron como individuos heterocigotos. Para resolver esto, se buscaron secuencias sin la presencia de dobles picos, los cuáles se interpretaron como individuos homocigotos para un haplotipo. Una vez identificados los haplotipos presentes en la población, se empleó el método de “sustracción de haplotipos” (haplotype subtraction) desarrollado por Clark (1990) para obtener los haplotipos parentales en los individuos heterocigotos. Posteriormente, las secuencias se alinearon por medio de Clustal W y la identidad de cada gen se determinó en BLAST con otros genes del GenBank. Las secuencias codificadoras de proteínas fueron traducidas a polipéptidos a través del software en línea Expasy (<http://web.expasy.org/translate/>) para verificar los marcos de lectura abiertos (ORFs por sus siglas en inglés).

La filogenia se evaluó a partir de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y de los genes nucleares *RAG1* y *RAG2* de forma individual y a partir del concatenado de los dos genes mitocondriales, los dos genes nucleares y el set de datos de los cuatro genes. Se utilizó a *Ameiurus nebulosus* como grupo externo y se incluyeron secuencias de los genes mitocondriales y nucleares de las especies *Ictalurus pricei*, *I. punctatus*, *I. lupus* e *I. furcatus*, todas descargadas del GenBank (Tabla 2). El modelo evolutivo se obtuvo por el criterio de Akaike corregido (AICc) en el programa jModelTest v.2 (Guindon y Gascuel, 2003; Darriba *et al.*, 2012) y las topologías se resolvieron por el algoritmo Máxima Verosimilitud aplicando el modelo evolutivo en el programa computacional PAUP v.4 (Swofford, 2002). El soporte de los nodos se determinó a partir de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap en RAxML-HPC v.8 on XSEDE 8.2.12 (Stamatakis, 2014) desarrollado en la plataforma CIPRES Science Gateway V.3.3 (Miller *et al.*, 2010).

El código de barras del ADN para los ejemplares recolectados se obtuvo mediante el análisis de las distancias genéticas no corregidas (uncorrected  $p$ -distances) con el programa computacional MEGAX (Kumar *et al.*, 2018). Se generó un árbol base de Vecino más Cercano (NJ por sus siglas en inglés de Nighbour-Joining) con Kimura-2 parámetros en PAUP\* v.4 con 1,000,000 de réplicas de bootstrap y se incorporó al archivo NEXUS en el paquete Mesquite v3.61 (Maddison y Maddison, 2019), donde se obtuvo un archivo NEXUS/TREE para correr en el programa CAOS (Sarkar *et al.*, 2008) y obtener el código de barras de los especímenes analizados.

Tabla 2. Taxa, número de catálogo, marcadores moleculares y números de acceso en el GenBank de las secuencias utilizadas en los análisis filogenéticos y código de barras.

Especie	No. Acceso	No. De Catálogo	Autor	Localidad
<i>Cytb</i> 1138pb				
<i>A. nebulosus</i>	AY184271	INHS 47496	Hardman y Page (2003)	EUA: New York: North Branch, Clarks Corner
<i>I. furcatus</i>	EF491729	USON-01148	Varela <i>et al.</i> (2020)	México: Sonora: Río Yaqui: Presa Álvaro Obregón
<i>I. punctatus</i>	JN015529	Sin voucher	Varela <i>et al.</i> (2020)	Tuxpan
<i>I. punctatus</i>		USON-01383		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito
<i>I. punctatus</i>		USON-01430		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito: Rancho Nuevo
<i>I. lupus</i>	AY458885	TNHC 29350-1	Wilcox <i>et al.</i> (2004)	EUA: Texas: Val Verde: San Felipe Creek
<i>I. pricei</i>	EF491727	TNHC30450	Varela-Romero <i>et al.</i> (2020)	México: Sonora: Río Yaqui
<i>I. pricei</i>		USON-01382		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito
COXI 651pb				
<i>A. nebulosus</i>	EU524429	ROM:BCF0118-3	Hubert <i>et al.</i> (2008)	Canada: Quebec: Fleuve St-Laurent, lac St-Pierre
<i>I. furcatus</i>	KF929995	KUT 1736	Arce-H <i>et al.</i> (2017)	EUA: Louisiana: Cameron Parish, Superior Canal
<i>I. punctatus</i>	JF292388	AUJPM5	Wong <i>et al.</i> (2011)	EUA: Auburn University
<i>I. punctatus</i>		USON-01383		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito
<i>I. punctatus</i>		USON-01430		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito: Rancho Nuevo
<i>I. lupus</i>	JN026911	NAFF1284	April <i>et al.</i> (2011)	EUA: Texas: Val Verde: Devils River
<i>I. pricei</i>	KF536996	USON-01183	Castañeda-Rivera <i>et al.</i> (2014)	México: Sonora: Río Yaqui: Río Tutuaca
<i>I. pricei</i>		USON-01382		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito
RAG1 3' 1487pb				
<i>A. nebulosus</i>	DQ492510	ANSP 182780	Sullivan <i>et al.</i> (2006)	EUA: Pennsylvania: Delaware River
<i>I. punctatus</i>	DQ492511	ANSP 180368	Sullivan <i>et al.</i> (2006)	EUA: Pennsylvania: Delaware River
<i>I. punctatus</i>		USON-01383		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito
<i>I. punctatus</i>		USON-01430		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito: Rancho Nuevo
<i>I. lupus</i>		TNHC 43183		EUA: Texas: Val Verde: Devils River
<i>I. pricei</i>		USON-01382		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito
RAG2 883pb				
<i>A. nebulosus</i>	DQ492397	ANSP 182780	Sullivan <i>et al.</i> (2006)	EUA: Pennsylvania: Delaware River
<i>I. punctatus</i>	DQ492398	ANSP 180368	Sullivan <i>et al.</i> (2006)	EUA: Pennsylvania: Delaware River
<i>I. punctatus</i>		USON-01383		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito
<i>I. punctatus</i>		USON-01430		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito: Rancho Nuevo
<i>I. lupus</i>	AY327076	MSB45448	Hardman (2004)	EUA: New Mexico: Eddy Co: Dark Canyon
<i>I. pricei</i>		USON-01382		México: Sonora: Río Yaqui: Arroyo Cajón Bonito

## V. RESULTADOS

### V.1. Análisis filogenético a partir del gen mitocondrial *Cyt-b*

Se obtuvo un amplicón de 1,138 pb del gen mitocondrial *Cyt-b* para los individuos del stock reproductivo de bagre Yaqui, *Ictalurus pricei*. El alineamiento se realizó con un total de 26 secuencias y se encontraron 255 sitios variables, de los cuales 107 fueron parsimoniosamente informativos. Se encontraron dos haplotipos en los individuos del stock reproductivo con genoma mitocondrial de bagre Yaqui, el primero compartido por 14 individuos del stock reproductivo y, el segundo, representado sólo en el individuo SR6, diferenciados por una mutación en la posición 698. La traducción de la secuencia nucleotídica de ADN del gen *Cyt-b* (Fig. 4) mostró una cadena polipeptídica conservada entre los haplotipos de bagre Yaqui, iniciando con un codón ATG y finalizando con codón T-.

El análisis filogenético por Máxima Verosimilitud (ML, por sus siglas en inglés) empleando el modelo TVM + G y utilizando a *Ameirus nebulosus* como grupo externo, mostró un grupo monofilético soportado por altos valores de bootstrap (Fig. 5). Dentro del género *Ictalurus*, se resuelven los clados *furcatus* y *punctatus*. Se observaron tres haplotipos de bagre de canal, *I. punctatus*, el primero formado por la secuencia de referencia (JN015529), el segundo (haplotipo A) se encontró en los bagres recolectados en los estanques de cultivo (USON-01430), ambos diferenciados del tercer haplotipo (B) identificado en el individuo recolectado en 2017 (USON-01383) y en tres individuos (SR2, SR4 y SR18) de los 18 capturados para el stock reproductivo (BP = 100%, Fig. 5). El clado *I. punctatus* comparte un ancestro con *I. lupus* (BP = 100%), este último bien diferenciado del bagre Yaqui, *I. pricei*, (BP = 100%). El clado del bagre Yaqui se formó por 15 individuos del stock reproductivo y las secuencias de referencia del Río Yaqui (EF491727) y del Arroyo Cajón Bonito (USON-01382) (Fig. 5).

```

I. pricei      MI TRKTHPLK IANNALIDL PAPSNI SAWWNFGSLLLLCLMAQ I LTGLFLAMHYTSDIST
SR6           MI TRKTHPLK IANNALIDL PAPSNI SAWWNFGSLLLLCLMAQ I LTGLFLAMHYTSDIST
I. punctatus hapA MI TRKTHPLK IANNALIDL PAPSNI SAWWNFGSLLLLCLMAQ I LTGLFLAMHYTSDIST
I. punctatus hapB MI TRKTHPLK IANNALIDL PAPSNI SAWWNFGSLLLLCLMAQ I LTGLFLAMHYTSDIST
.....

I. pricei      AFSSVAHICRDVNYGWLIRNLHANGASFFF I CIYLNIGRGLYYGSYLYKETWNIGVVLLL
SR6           AFSSVAHICRDVNYGWLIRNLHANGASFFF I CIYLNIGRGLYYGSYLYKETWNIGVVLLL
I. punctatus hapA AFSSVAHICRDVNYGWLIRNLHANGASFFF I CIYLNIGRGLYYGSYLYKETWNIGVVLLL
I. punctatus hapB AFSSVAHICRDVNYGWLIRNLHANGASFFF I CIYLNIGRGLYYGSYLYKETWNIGVVLLL
.....

I. pricei      LVMNTAFVGYVLPWQGMSFWGATVITNLLS AVPYMQSALVQWIWGGF8VDNATLTRFFAF
SR6           LVMNTAFVGYVLPWQGMSFWGATVITNLLS AVPYMQSALVQWIWGGF8VDNATLTRFFAF
I. punctatus hapA LVMNTAFVGYVLPWQGMSFWGATVITNLLS AVPYMQSALVQWIWGGF8VDNATLTRFFAF
I. punctatus hapB LVMNTAFVGYVLPWQGMSFWGATVITNLLS AVPYMQSALVQWIWGGF8VDNATLTRFFAF
.....

I. pricei      HFLLPFAIIAATL LHALFLHETG5NNP I G LNSDADKISFHPYFSYKDLLGFV L LITALAS
SR6           HFLLPFAIIAATL LHALFLHETG5NNP I G LNSDADKISFHPYFSYKDLLGFV L LITALAS
I. punctatus hapA HFLLPFAIIAATL LHALFLHETG5NNP I G LNSDADKISFHPYFSYKDLLGFV L LITALAS
I. punctatus hapB HFLLPFAIIAATL LHALFLHETG5NNP I G LNSDADKISFHPYFSYKDLLGFV L LITALAS
.....

I. pricei      LALFSPNLLGDPENFT PANPLVTPPHIKPEWYFLFAYAILRSIPNKLGQVLALLLSLVL
SR6           LALFSPNLLGDPENFT PANPLVTPPHIKPEWYFLFAYAILRSIPNKLGQVLALLLSLVL
I. punctatus hapA LALFSPNLLGDPENFT PANPLVTPPHIKPEWYFLFAYAILRSIPNKLGQVLALLLSLVL
I. punctatus hapB LALFSPNLLGDPENFT PANPLVTPPHIKPEWYFLFAYAILRSIPNKLGQVLALLLSLVL
.....

I. pricei      MIVPLLHTSKQGG L FRPLSOLLFW LVA DVAILTWIGGMPVEHFF I IIGQIASVLYFSL
SR6           MIVPLLHTSKQGG L FRPLSOLLFW LVA DVAILTWIGGMPVEHFF I IIGQIASVLYFSL
I. punctatus hapA MIVPLLHTSKQGG L FRPLSOLLFW LVA DVAILTWIGGMPVEHFF I IIGQIASVLYFSL
I. punctatus hapB MIVPLLHTSKQGG L FRPLSOLLFW LVA DVAILTWIGGMPVEHFF I IIGQIASVLYFSL
.....

I. pricei      FLIFRPLNGWLENKTI NFK
SR6           FLIFRPLNGWLENKTI NFK
I. punctatus hapA FLIFRPLNGWLENKTI NFK
I. punctatus hapB FLIFRPLNGWLENKTI NFK
.....

```

Figura 4. Alineamiento múltiple de la cadena polipeptídica traducida del gen *Cyt-b*: *I. pricei* = Individuos SR1, SR3, SR5, SR7-SR17; SR6 = haplotipo del individuo SR6; *I. punctatus* hapA = secuencia de referencia de los estanques de cultivo, *I. punctatus* hapB = Individuos SR2, SR4, SR18. En negro se muestran las variaciones en los aminoácidos entre los haplotipos.

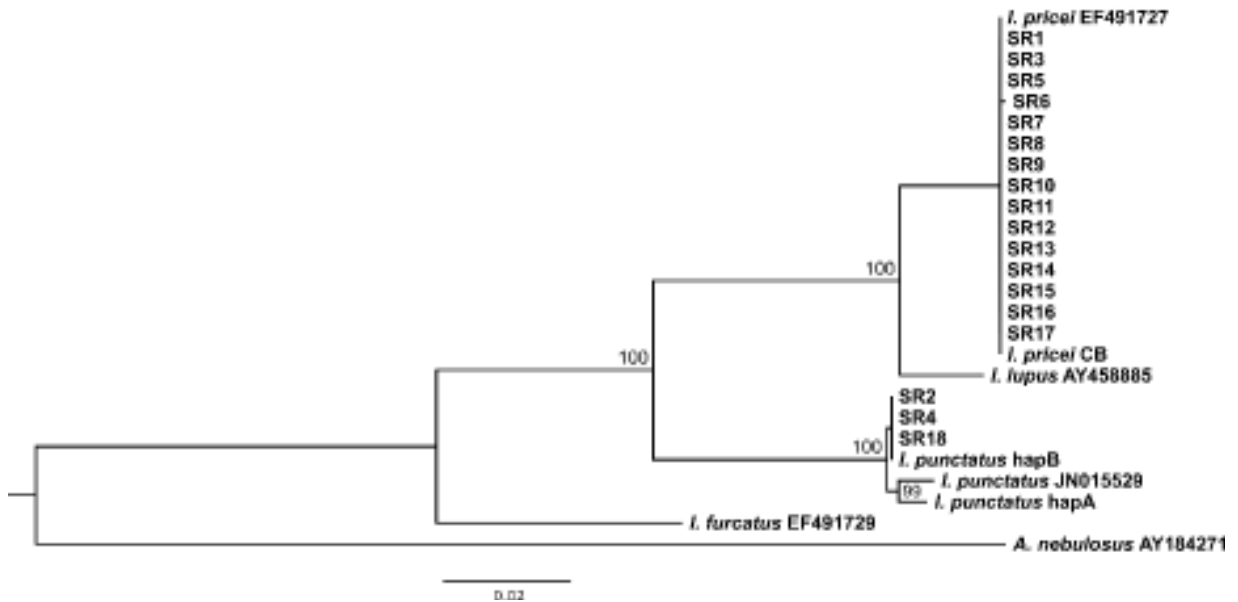


Figura 5. Árbol filogenético resuelto con el gen mitocondrial *Cyt-b* por Máxima Verosimilitud (modelo de evolución TVM + G) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.

## V.2. Análisis filogenético a partir del gen mitocondrial *COXI*

Se alineó un fragmento de 651 pb del gen mitocondrial *COXI* de 26 taxa de la familia Ictaluridae, mostrando 126 sitios variables de los cuáles 61 resultaron parsimoniosamente informativos. La traducción de esta secuencia nucleotídica de ADN a cadena polipeptídica mostró el marco de lectura abierto sin codones de paro, inserciones o deleciones (Fig. 6). Se encontró un cambio de aminoácido entre la cadena polipeptídica del bagre Yaqui y la del bagre de canal (Fig. 6).

La topología del árbol filogenético por ML aplicando el modelo TPMuf + I y utilizando a *A. nebulosus* como grupo externo, mostró un grupo monofilético soportado por altos valores de bootstrap (Fig. 7). Al interior del género *Ictalurus*, se definen los clados *furcatus* y *punctatus*, este último integrado por dos haplotipos de *I. punctatus* que se diferencia de los otros bagres (BP = 82%), *I. lupus* e *I. pricei* (BP = 96%). En cuanto a los individuos del stock reproductivo, se encontró que tres de ellos (SR2, SR4 y SR18) anidan al haplotipo B del bagre de canal, el cual se comparte con el ejemplar de bagre de canal recolectado en el Arroyo Cajón Bonito en 2017 (USON-01383) y la secuencia de referencia (JF292388; Fig. 7). El resto de los ejemplares del stock reproductivo anidan en un solo clado junto a *I. pricei* del Arroyo Cajón Bonito (USON-01382) y a *I. pricei* del Río Tutuaca (KF536996), ambos pertenecientes a la cuenca del Río Yaqui (Fig. 7).

```

I. pricei      LYLVFGAWAGMVGTALSLLIRAE LAQPGALLGDDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPIMIGG
I. punctatus hapA LYLVFGAWAGMVGTALSLLIRAE LAQPGALLGDDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPIMIGG
I. punctatus hapB LYLVFGAWAGMVGTALSLLIRAE LAQPGALLGDDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPIMIGG
.....
I. pricei      FGNWLVPLMIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLLASSGVEAGAGTGWTVYPPLAENLA
I. punctatus hapA FGNWLVPLMIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLLASSGVEAGAGTGWTVYPPLAENLA
I. punctatus hapB FGNWLVPLMIGAPDMAFPRMNNMSFWLLPPSFLLLLASSGVEAGAGTGWTVYPPLAENLA
.....
I. pricei      HAGASVDLTI FSLHLAGVSSILGAINFITTI INMKPPAISQYQTPLFVWAVLITAVLLLL
I. punctatus hapA HAGASVDLTI FSLHLAGVSSILGAINFITTI INMKPPAISQYQTPLFVWAVLITAVLLLL
I. punctatus hapB HAGASVDLTI FSLHLAGVSSILGAINFITTI INMKPPAISQYQTPLFVWAVLITAVLLLL
.....
I. pricei      SLPVLAAGITMLLTDRNLNTTFFDPAGGGDPILYQHL
I. punctatus hapA SLPVLAAGITMLLTDRNLNTTFFDPAGGGDPILYQHL
I. punctatus hapB SLPVLAAGITMLLTDRNLNTTFFDPAGGGDPILYQHL
.....

```

Figura 6. Alineamiento múltiple de la cadena polipeptídica traducida del gen *COXI*: *I. pricei* = Individuos SR1, SR3, SR5-SR17; *I. punctatus* hapA = secuencia de referencia de los estanques de cultivo, *I. punctatus* hapB = Individuos SR2, SR4, SR18 y secuencias de referencia. En negro se muestran las variaciones en los aminoácidos entre los haplotipos.

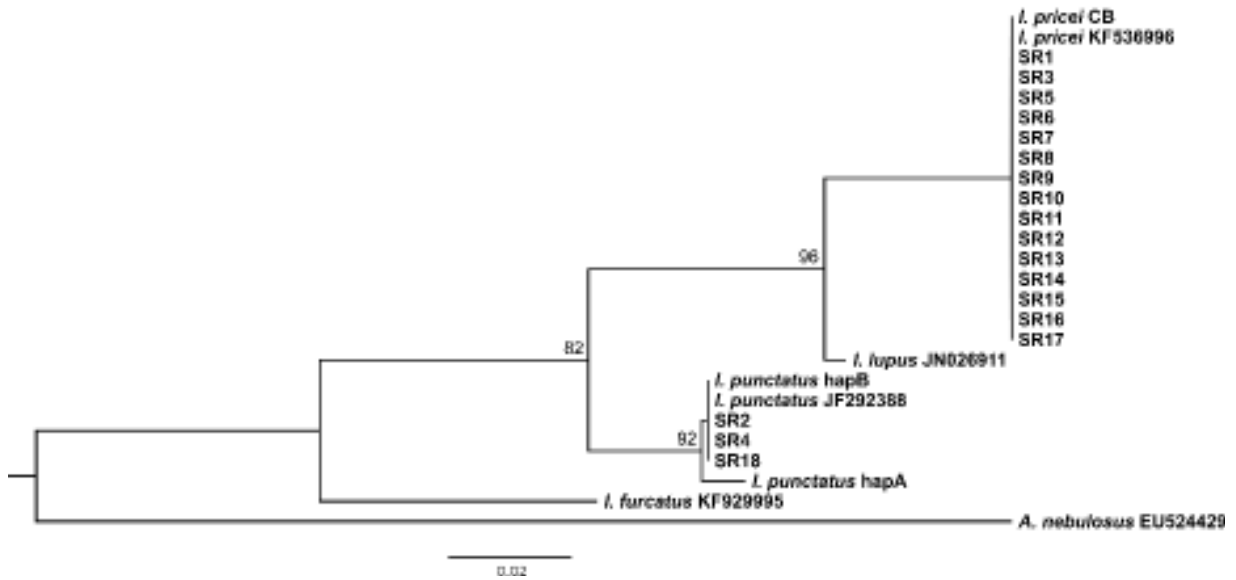


Figura 7. Árbol filogenético resuelto con el gen mitocondrial *COXI* por máxima verosimilitud (modelo de evolución TPMuf + I) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = haplotipos A y B de *I. punctatus*, respectivamente.

### V.3. Análisis filogenético a partir de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* concatenados

Se obtuvo un alineamiento de 1,789 pb a partir del concatenado de los genes mitocondriales *Cytb* y *COXI*. El análisis filogenético por Máxima Verosimilitud (ML) bajo el modelo TVM + G para la partición del *Cyt-b* (bases 1-1,138) y TPMuf + I para *COXI* (1,139-1,789) con *Ameirus nebulosus* como grupo externo, mostró un grupo monofilético soportado por altos valores bootstrap (Fig. 8). Dentro del clado *Ictalurus*, se resuelven los clados *furcatus* y *punctatus*. En el clado *punctatus* se observa que tres individuos de los 18 presentes en el stock reproductivo (SR2, SR4 y SR18) anidan al clado el bagre de canal recolectado en Arroyo Cajón Bonito (USON-01383) y se separan del resto de los bagres mexicanos (BP = 100%, Fig. 8). Posteriormente *I. lupus* se separa del linaje *I. pricei* (BP = 100%, Fig. 8), el último formado por 15 individuos del stock reproductivo y las secuencias de referencia del Arroyo Cajón Bonito (USON-01382) y Río Yaqui.

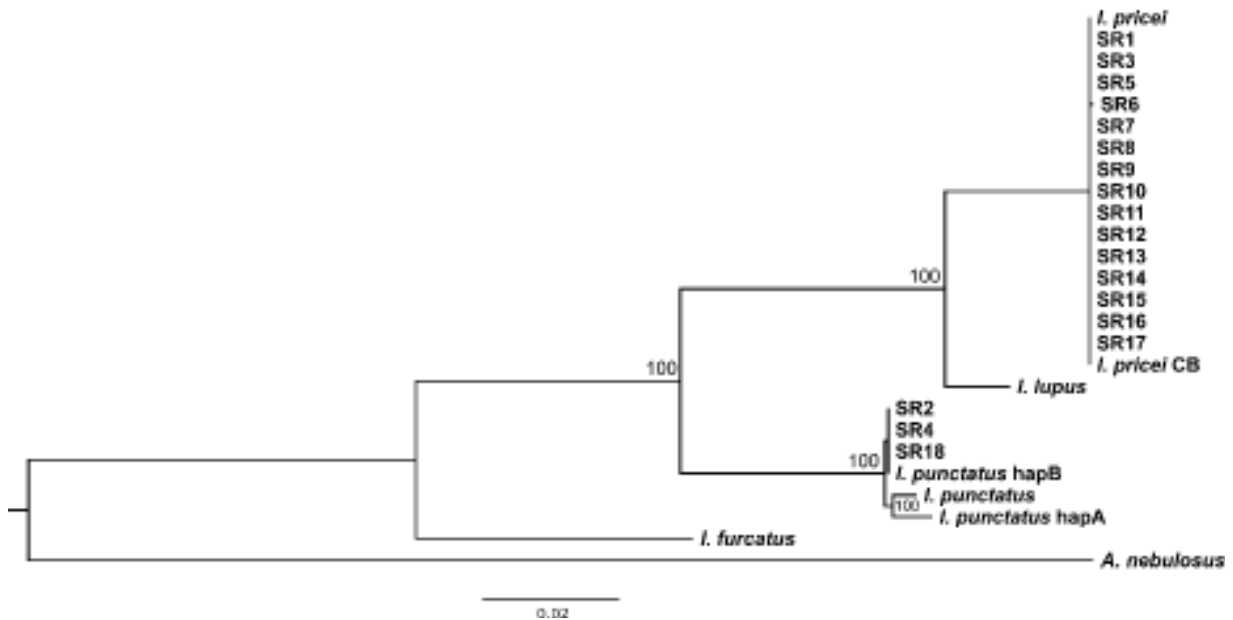


Figura 8. Árbol filogenético resuelto con el concatenado de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* por máxima verosimilitud (modelo de evolución TVM + G para partición *Cyt-b* y TPMuf + I para partición *COXI*) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.

#### V.4. Sustracción de haplotipos a partir de las secuencias de los genes nucleares *RAG1 3'* y *RAG2*

El análisis de los electroferogramas de las secuencias mostró siete posiciones heterocigotas en el gen nuclear *RAG1 3'* y siete en *RAG2*, detectadas como dobles picos en algunas secuencias (Tabla 3; Fig. 9). Una vez identificados los haplotipos presentes en la población, se empleó el método de sustracción de haplotipos (Clark, 1990) para obtener los haplotipos parentales de los individuos heterocigotos y se utilizaron únicamente los haplotipos de bagre de canal de los individuos híbridos para desarrollar los análisis filogenéticos, sin considerar que fueron realmente individuos heterocigotos. Estos haplotipos coinciden con los de las secuencias de referencia de *I. pricei* e *I. punctatus*, por lo que los individuos heterocigotos fueron interpretados como híbridos. Se encontraron dos haplotipos de bagre de canal para ambos genes nucleares, en el caso de *RAG1 3'* el haplotipo A se detectó en un individuo recolectado en los estanques de cultivo de bagre de canal y en el ejemplar recolectado en Arroyo Cajón Bonito en 2017 (USON-01383) y el haplotipo B se detectó en otro de los individuos recolectados en los estanques de



cultivo (USON-01430). De igual manera, se encontraron dos haplotipos de *I. punctatus* para el gen *RAG2*, el haplotipo A se encontró en un individuo de los estanques de cultivo (USON-01430) y en el bagre de canal del Arroyo Cajón Bonito (USON-01383) y el haplotipo B en un individuo de los estanques de cultivo (USON-01430). El individuo de bagre de canal recolectado en Arroyo Cajón Bonito en 2017 y que presentó ADNmt de bagre de canal, fue heterocigoto en las posiciones de los genes nucleares que son diagnósticas entre las especies (Tabla 3), por lo que se considera que es un híbrido.

Tabla 3. Sitios polimórficos de un solo nucleótido (SNPs) de secuencias heterocigotas en los genes nucleares *RAG1* 3' y *RAG2* detectadas como dobles picos en los electroferogramas en los haplotipos de bagre Yaqui y bagre de canal. CB = Arroyo Cajón Bonito; SR = stock reproductivo; *I. punctatus* hapA y hapB = haplotipos A y B de bagre de canal encontrados en las secuencias de referencia.

Especie	Posición													
	<i>RAG1</i> 3'							<i>RAG2</i>						
	594	598	743	882	1021	1134	1146	81	114	378	679	789	844	865
<i>I. pricei</i> CB	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR3	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR5	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR6	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR8	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR9	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR10	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR11	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR12	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR13	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR14	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR15	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR16	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR17	A	G	G	G	A	A	G	A	A	G	C	A	C	T
SR1	A/C	G/A	G/A	G/C	A/G	A	G	A/G	A	G/A	C	A/G	C/T	T/A
SR2	C/A	A/G	A/G	C/G	G/A	G/A	A/G	G/A	T/A	A/G	T/C	G/A	T/C	A/T
SR4	C/A	A/G	A/G	C/G	G/A	A	G	G/A	A	A/G	C	G/A	T/C	A/T
SR7	A/C	G/A	G/A	G/C	A/G	A/G	G/A	A/G	A/T	G/A	C/T	A/G	C/T	T/A
SR18	C	A	A	C	G	A/G	G/A	G	A/T	A	C/T	G	T	A
<i>I. punctatus</i> CB	A/C	G/A	G/A	G/C	A/G	A	G	A/G	A	G/A	C	A/G	C/T	T/A
<i>I. punctatus</i> hapA	C	A	A	C	G	A	G	G	A	A	C	G	T	A
<i>I. punctatus</i> hapB	C	A	A	C	G	G	A	G	T	A	T	G	T	A

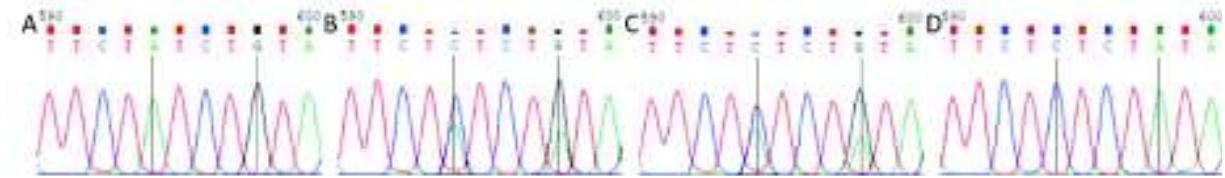


Figura 9. Secuencias heterocigotas en las posiciones 594 y 598 del gen *RAG1* 3' observadas como dobles picos en los cromatogramas. A) SR3 *I. pricei*, B) SR1 híbrido con ADNmt de *I. pricei*, C) SR2 híbrido con ADNmt de *I. punctatus*, D) *I. punctatus*.

### V.5. Análisis filogenético a partir de la región 3' del gen nuclear *RAG1*

El conjunto de datos para los análisis de la región 3' del gen nuclear *RAG1*, estuvo formado por secuencias de 1,487 pb de 25 taxa y se encontraron 53 sitios variables, 14 de los cuales resultaron parsimoniosamente informativos. Se generó un árbol por ML utilizando como grupo externo a *A. nebulosus*. Dentro del género *Ictalurus*, donde se evidencia la monofilia, la topología muestra los clados principales *furcatus* y *punctatus* (Fig. 10). Los individuos SR1 y SR4 presentan el haplotipo A de bagre de canal, los individuos SR2, SR7 presentan haplotipo nuclear B de bagre de canal y el individuo SR18 presenta ambos. El clado del bagre de canal se separa de un ancestro del clado de los bagres nativos, compuesto por *I. lupus* (BP = 100%), que a su vez está bien diferenciado del clado del bagre Yaqui (BP = 100%), formado por 13 ejemplares del stock reproductivo y el bagre Yaqui de referencia del Arroyo Cajón Bonito (Fig. 10).

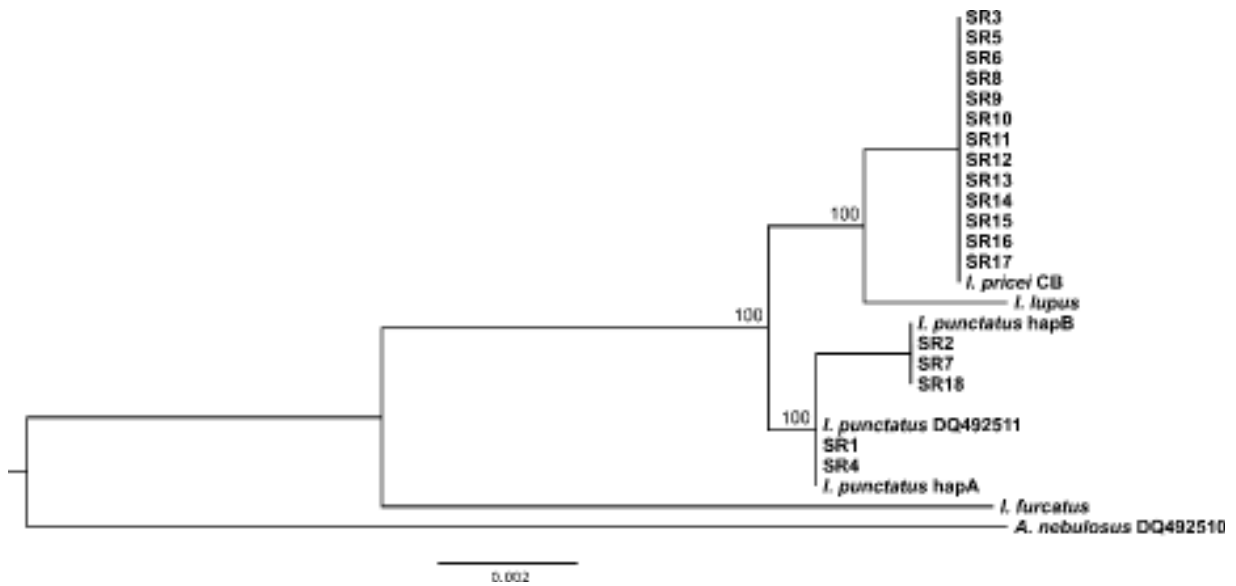


Figura 10. Árbol filogenético resuelto con la región 3' del gen nuclear *RAG1* por máxima verosimilitud (modelo de evolución K80) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.

### V.7. Análisis filogenético a partir del gen nuclear *RAG2*

Para los análisis del gen nuclear *RAG2*, se realizó el alineamiento de 883 pb de 25 taxa y se encontraron 29 sitios variables y 12 sitios parsimoniosamente informativos. La filogenia mostró un clado monofilético del género *Ictalurus* con *A. nebulosus* como grupo externo bien diferenciado. Dentro de *Ictalurus* se separan los clados *I. furcatus* e *I. punctatus* (Fig. 11). Los individuos SR1 y SR4 del stock reproductivo comparten el haplotipo A con la secuencia de referencia (DQ492398) y con un individuo recolectado en los estanques de cultivo de bagre de canal y el individuo recolectado en Arroyo Cajón Bonito, mientras que los individuos SR2, SR7 anidan al clado *I. punctatus* con haplotipo B y el individuo SR18, quien presenta ambos haplotipos. El bagre de canal se separa del clado de los bagres del Yaqui (BP = 72%), formado por el bagre lobo *I. lupus* (BP = 95 %, Fig. 11) y el resto de los ejemplares del stock reproductivo y la secuencia de referencia de bagre Yaqui de Arroyo Cajón Bonito, compartiendo todos un ancestro común.

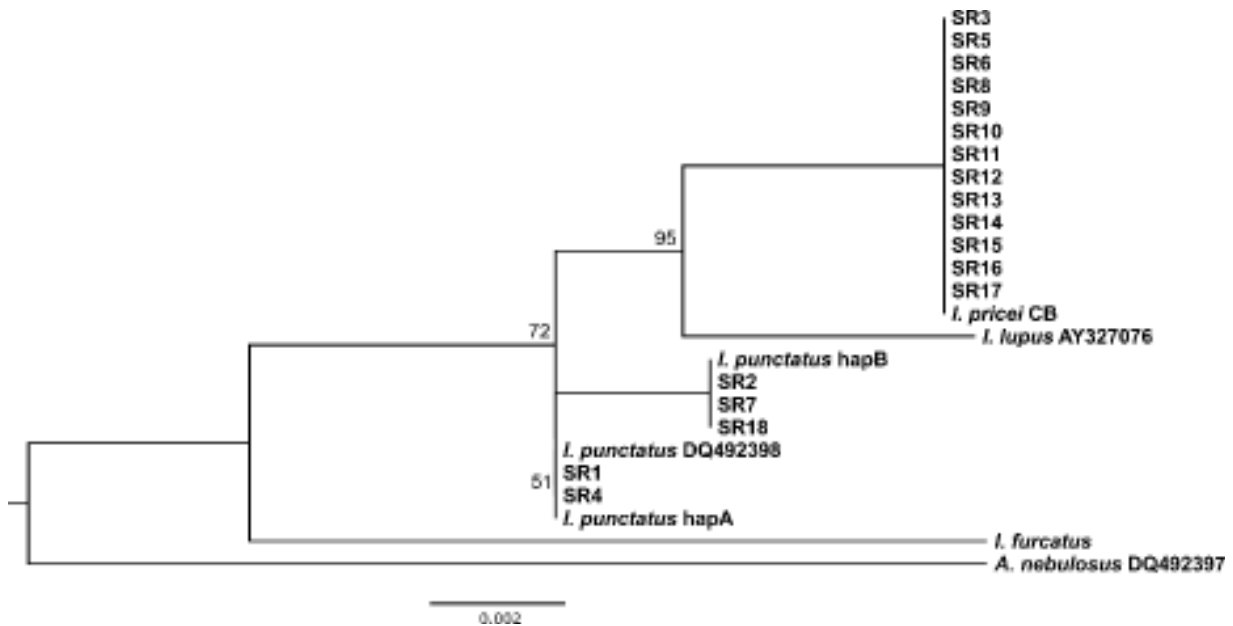


Figura 11. Árbol filogenético resuelto con el gen nuclear *RAG2* por máxima verosimilitud (modelo de evolución K80) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.

#### V.8. Análisis filogenético a partir de los genes nucleares *RAG1* 3' y *RAG2* concatenados

El análisis de los genes *RAG1* 3' y *RAG2* en concatenado se analizó a partir del alineamiento de 2,370 pb. El concatenado generó un árbol monofilético por ML donde el grupo externo fue la especie *Ameiurus nebulosus*. Dentro del género *Ictalurus* se observan los clados *furcatus* y *punctatus* bien diferenciados. Dentro de *I. punctatus* los individuos SR1 y SR4 presentan el haplotipo A del bagre de canal y los individuos SR2, SR7 y SR18 presenta el haplotipo B del bagre de canal (BP = 100%, Fig. 12). El bagre de canal comparte ancestro con el clado de los bagres nativos, formado este por el bagre lobo (BP = 100%) y el clado integrado por el bagre Yaqui de referencia de Arroyo Cajón Bonito (USON-01382) y resto de los ejemplares del stock reproductivo (Fig. 12).

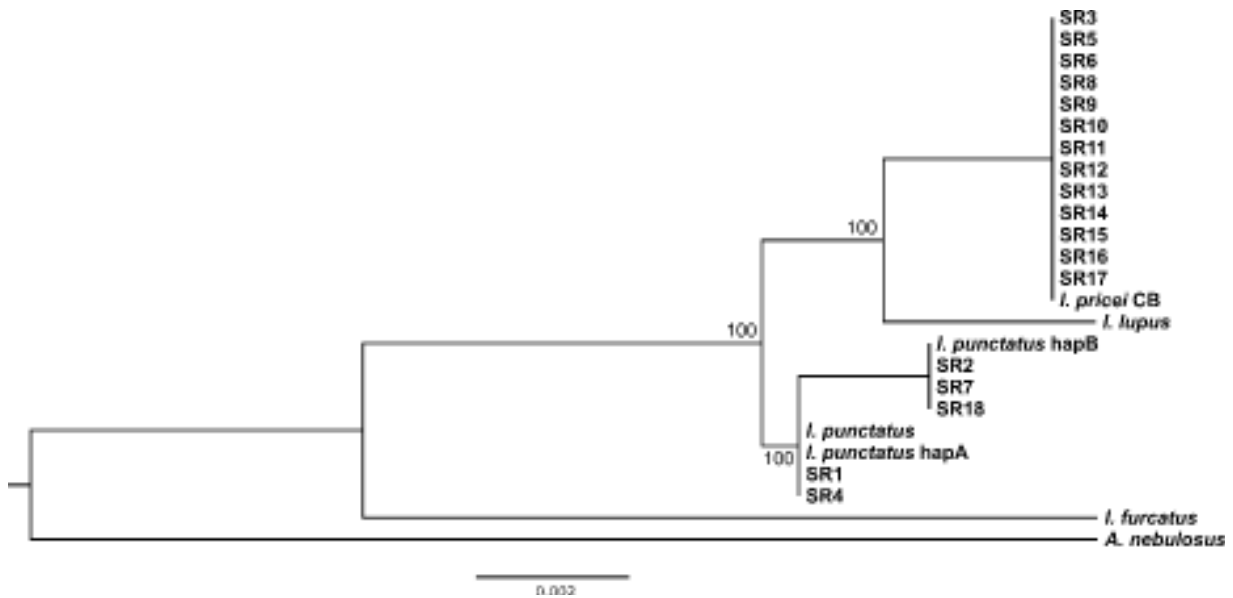


Figura 12. Árbol filogenético resuelto con el concatenado de los genes nucleares *RAG1* 3' y *RAG2* por máxima verosimilitud (modelo de evolución K80) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.

### V.9. Análisis filogenético a partir de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y los genes nucleares *RAG1* 3' y *RAG2* concatenados

Se realizó el análisis filogenético a partir del concatenado de los dos genes mitocondriales y los dos genes nucleares. El conjunto de 25 secuencias estuvo formado por 4,159 pb y la filogenia se evaluó bajo los modelos TVM + G para la partición del gen *Cyt-b* (bases 1-1,138), TPMuf + I para *COXI* (1,139-1,789) y K80 para ambos genes nucleares (1,789-4,159). El árbol filogenético utilizando a *A. nebulosus* como grupo externo, mostró una topología similar a la encontrada a partir de los genes mitocondriales y nucleares por separado, donde los individuos SR2, SR4 y SR18 del stock reproductivo anidaron al clado del bagre de canal. Sin embargo, los individuos SR1 y SR7 que presentaron ADNmt de bagre Yaqui y se evaluaron utilizando el haplotipo de ADNn de bagre de canal, formaron un clado hermano al bagre Yaqui, predominando la señal de los genes mitocondriales sobre los nucleares para resultar una topología errónea a los cladogramas de los genes por separado (Anexo 3). Por ello, no se recomienda su uso en concatenado para análisis filogenéticos en especies que hibridan.

#### V.4. Código de barras del ADN a partir del gen mitocondrial *COXI*

El análisis de código de barras se desarrolló a partir de las primeras 651pb del gen mitocondrial *COXI* de 24 secuencias, tres del GenBank de las especies *I. furcatus*, *I. punctatus* e *I. pricei* (Tabla 1), una de bagre Yaqui (USON-01382) y bagre de canal (USON-01383) del Arroyo Cajón Bonito, una de los individuos colectados en los estanques de cultivo de bagre de canal (USON-01530) y las 18 secuencias de los individuos del stock reproductivo (SR).

El árbol de distancias genéticas por NJ con Kimura-2 parámetros utilizando a *I. furcatus* como grupo externo, mostró dos grupos principales, el de bagre Yaqui y el del bagre de canal (Anexo 4). Las distancias genéticas fueron 0.000 al interior de dichos grupos, lo que indica que los individuos SR2, SR4 y SR18 del stock reproductivo comparten un haplotipo idéntico con el bagre de canal del Arroyo Cajón Bonito (haplotipo B) y el resto de los individuos del stock reproductivo comparten haplotipo con el bagre Yaqui del Arroyo Cajón Bonito y del Río Tutuaca (Tabla 4). La distancia entre el bagre Yaqui y los haplotipos de *I. punctatus* fue de 0.081 con el haplotipo A encontrado en los individuos de los estanques de cultivo y de 0.077 con el haplotipo B del Arroyo Cajón Bonito (Tabla 4). El análisis de código de barras del ADN basado en caracteres mostró 44 atributos Puros simples (Pure simples = sPu) o autapomórficos para el bagre Yaqui que permiten diferenciarlo del bagre de canal (Tabla 5). Además, se detectaron tres atributos Privados simples (Private simples = sPr) para el haplotipo A de *I. punctatus*, que no se encuentran en el bagre Yaqui (Tabla 5).

Tabla 4. Distancias genéticas no corregidas (uncorrected *p*-distances) entre los haplotipos del gen *COXI* analizados. *I. punctatus* haplotipo A = *Ipu* hapA, *I. punctatus* haplotipo B = *Ipu* hapB. SR = Stock Reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito.

	<i>I. furcatus</i>	<i>I. punctatus</i>	<i>I. pu</i> hapA	<i>I. pu</i> hapB	<i>I. pricei</i>	<i>I. pricei</i> CB	<i>I. pricei</i> SR
<i>I. furcatus</i> KF929995							
<i>I. punctatus</i> JF292388	0.091						
<i>I. punctatus</i> hapA	0.099	0.008					
<i>I. punctatus</i> hapB	0.091	0.000	0.008				
<i>I. pricei</i> KF536996	0.124	0.077	0.081	0.077			
<i>I. pricei</i> CB	0.124	0.077	0.081	0.077	0.000		
<i>I. pricei</i> SR	0.124	0.077	0.081	0.077	0.000	0.000	



## VI. DISCUSIÓN

Hendrickson *et al.*, (1981) menciona que el bagre Yaqui fue abundante en la cuenca del Río Yaqui corriente arriba y abajo de las principales presas de la cuenca. También, en 1987 se recolectaron 72 bagres subadultos y 267 alevines del Río Aros en Sonora y, en 1990, otros 190 individuos del Río Sírupa, Chihuahua, ambos en la cuenca del Río Yaqui para transporte de ejemplares vivos de bagre Yaqui con el propósito de formar un stock reproductivo en EUA (Kelsch y Baca, 1991; Morizot *et al.*, 1999). Posteriormente, Varela-Romero *et al.* (1992) encontraron escasos individuos de bagre Yaqui en las cuencas de los ríos Mayo y Fuerte y los registros en la base de datos de la Colección de Peces Nativos de Sonora (DICTUS) muestran colectas de menos de cinco individuos entre 1987 y 1989. En la cuenca del Río Yaqui, el bagre Yaqui se recolectó en el bajo Yaqui y en la subcuenca de los ríos Papigochic, Sirupa y Aros entre 1978 y 1989. En el Río Bavispe, cuenca del Río Yaqui, el bagre Yaqui fue abundante en las recolectas entre 1989 a 1991. Recientemente, en muestreos de 2004 a 2006 por Varela-Romero *et al.* (2011) reportan su ausencia de muchas de las localidades históricas de baja y mediana elevación, además reportan una nueva localidad en el Río Tutuaca, en la parte alta de la subcuenca de los ríos Papigochic-Sirupa-Aros, no muestreada anteriormente. De igual manera, se encontró una nueva localidad en el Río Batopilas, cuenca del Río Fuerte. Sin embargo, estos autores no lograron revisar la totalidad de las localidades históricas, por lo que aún pueden persistir en algunas de ellas y además en otras localidades aún no detectadas.

Se considera que las poblaciones de la cuenca del Río Fuerte, en los ríos Urique y Batopilas, son las más abundantes dentro de la distribución actual del bagre Yaqui (Varela-Romero y Minckley, 2016). En el Río Yaqui, recientemente se redescubrió la población de bagre Yaqui en el Arroyo Cajón Bonito, subcuenca del Río Bavispe, la cual se ha visto que va en aumento (Varela-Romero y Minckley, 2016). Este es un arroyo intermitente, que permanece aislado la mayor parte del año de las corrientes principales, conectándose sólo en la temporada de lluvias. La mayor parte del arroyo se encuentra dentro del ADVC Cuenca Los Ojos manejada



por Fundación Cuenca Los Ojos. No obstante, en Rancho Nuevo de propiedad privada situado en la parte media-alta del arroyo, existieron tres estanques para la engorda de bagre de canal, alimentados con agua del arroyo y con la descarga conectada al arroyo, razón por la cual se estiman posibles escapes de individuos que ponen en riesgo la integridad de la población remanente de bagre Yaqui. En los muestreos realizados en 2017, sólo se pudo recolectar un bagre Yaqui y un individuo híbrido en el Arroyo Cajón Bonito. Dos años después, en 2019, se obtuvieron los 18 individuos para la formación del stock reproductivo. Con la evidencia obtenida hasta el momento, 13 de los 18 individuos son bagres Yaqui putativamente puros, lo que indica un nivel incipiente del fenómeno de hibridación de acuerdo con la evidencia acumulada hasta este momento. Esta evidencia de hibridación ha sido reportada con anterioridad por Kelsch y Baca (1991) y Morizot *et al.* (1999) para los bagres capturados de la cuenca del Río Yaqui en 1987 y 1990, respectivamente. Ambos análisis a partir de alozimas, el primero en 215 individuos detectó 170 (79.1%) bagres Yaqui puros y 45 (20.9%) híbridos, bagres de canal puros o retrocruzas y, el segundo de 184 individuos analizados de los 190 ejemplares recolectados en el Río Sírupa detectó 85.6% bagres Yaqui puros, el 17.4% restante fueron híbridos F1, retrocruzas y bagres de canal.

En 2020 se muestrearon los estanques de cultivo que contenían una escasa cantidad de agua de donde se capturaron más de 100 bagres de canal, la mayoría de ellos en talla comercial. La reducción de la distribución natural del bagre Yaqui registrada y la introducción de ejemplares de bagre de canal en ambiente natural a través de estas instalaciones de cultivo fueron una amenaza permanente para las especies nativas del Arroyo Cajón Bonito. Esta amenaza se incrementa debido a que esta zona se considera como una de las poblaciones relictas del bagre Yaqui en Sonora. Actualmente Rancho Nuevo es parte de la ADVC Cuenca Los Ojos por lo que estos repesos serán utilizados para el manejo del bagre Yaqui en el Arroyo Cajón Bonito. Una evaluación de las amenazas del resto de las poblaciones remanentes de bagre Yaqui en el Noroeste de México es requerida para conocer su situación actual.

## **VI.1. La filogenia del género *Ictalurus***

Los árboles filogenéticos por Máxima Verosimilitud a partir de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y los nucleares *RAG1* y *RAG2* mostraron topologías similares soportadas por altos valores de bootstrap. Se observó que *I. furcatus* se separa del clado *punctatus* que incluye a *I. punctatus*, *I. lupus* e *I. pricei*, concordando con hipótesis filogenéticas previas (Lundberg, 1992; Varela-Romero, 2007; Castañeda-Rivera *et al.*, 2014; Arce-H *et al.*, 2017). Se encontró que el bagre Yaqui es filogenéticamente más cercano con *I. lupus* que con *I. punctatus*, lo que concuerda con la hipótesis de que *I. lupus* comparte un ancestro con el resto los bagres mexicanos del clado *punctatus*, incluyendo al bagre Yaqui (Varela-Romero, 2007; Arce-H *et al.*, 2017). *Ameiurus nebulosus* se utilizó como grupo externo, considerando que *Ameiurus* es el género hermano de *Ictalurus* y su divergencia ocurrió finales del Eoceno (Hardman, 2005).

## **VI.2. El linaje materno a partir de genes mitocondriales**

La mayoría de los individuos del stock reproductivo de bagre Yaqui recolectados en el Arroyo Cajón Bonito anidaron al clado del bagre Yaqui. Sin embargo, la filogenia a partir de los genes mitocondriales mostró a los individuos SR2, SR4 y SR18 en un clado con el bagre de canal. Esto representó la primera evidencia de hibridación, dado que la mayoría de los individuos aparentemente presentan caracteres morfológicos de bagre Yaqui (Lundberg 1992; Miller *et al.*, 2009). El código de barras del ADN y el análisis filogenético a partir de los genes mitocondriales permiten determinar el linaje materno de los individuos analizados y evidenciar potenciales híbridos. Los análisis filogenéticos a partir de ADNmt se han usado en otras especies de ictalúridos para determinar la presencia de híbridos (McClure-Baker *et al.*, 2010). No obstante, cuando los híbridos son fértiles y dejan descendencia por retrocruzamiento con especies parentales u otros individuos híbridos, puede producirse un fenómeno de introgresión de linajes mitocondriales (Allendorf *et al.*, 2001; McClure-Baker *et al.*, 2010). Por lo tanto, el hecho de que los individuos del stock reproductivo presenten evidencia de un linaje materno de bagre de canal, debe tratarse con precaución, puesto que no se sabe con certeza si estos individuos son producto de una cruce F1 entre las dos especies parentales o sean resultado de retrocruzas. No obstante, el ADNmt indica el sentido de la hibridación, es decir, permite determinar el linaje mitocondrial que se está estableciendo.

La presencia de ADNmt de bagre de canal en individuos morfológicamente similares a bagre Yaqui también podría deberse a otros posibles fenómenos, como retención de haplotipos ancestrales, heteroplasmia o pseudogenes. Primero, la clasificación o segregación de linajes (Avice *et al.*, 1983) ocurre cuando dos poblaciones divergen albergando copias de los alelos ancestrales antes de que se vuelvan específicos para las poblaciones y estas se vuelvan recíprocamente monofiléticas. Sin embargo, cuando ocurre una clasificación incompleta de linajes (ILS, por sus siglas en inglés) se da una retención de haplotipos ancestrales, produciendo genealogías similares a las resultantes de procesos de introgresión (Charlesworth *et al.*, 2005) y estos procesos no son mutuamente excluyentes (Zhou *et al.*, 2017). Además, un haplotipo ancestral también podría retenerse en una especie fantasma extinta (Padhi, 2010; Wang *et al.*, 2018) que pudo coexistir e hibridar con el bagre Yaqui hasta que el fenotipo de la especie fantasma fue completamente de bagre Yaqui (Padhi, 2010; Wang *et al.* 2018), pero se esperaría que el bagre Yaqui hubiese retenido el alelo mitocondrial de la especie fantasma.

Sin embargo, cuando dos especies comparten el mismo haplotipo, una ILS puede explicarlo sólo si el evento de especiación ocurrió tan recientemente que no ha habido tiempo para acumular mutaciones que permitan una divergencia genética (McGuire *et al.*, 2007) y el mismo principio aplicaría para la presencia de un haplotipo *cuasi* idéntico en una especie fantasma. Las distancias genéticas del gen *COXI* mostraron valor 0.0% y 0.8% entre individuos del stock reproductivo del clado del bagre de canal con respecto a los haplotipos B y A de bagre de canal, respectivamente, lo que indica ninguna o muy pocas posiciones diferentes en *COXI*. Además, los nodos en las filogenias obtenidas entre estas especies tienen valores altos de bootstrap y, el código de barras del ADN basado en caracteres detectó caracteres autopomórficos del bagre Yaqui. Por lo anterior, se concluye que resulta poco plausible la posibilidad de retención de un haplotipo de ADNmt ancestral *cuasi* idéntico al ADNmt de bagre de canal, ya sea en el bagre Yaqui o en una hipotética especie fantasma, durante los aproximadamente 10 Ma que tienen aisladas estas especies (Arce-H *et al.*, 2017).

Segundo, a pesar de que se sabe que la mitocondria se hereda uniparentalmente por vía materna (Sato y Sato, 2013; Peng *et al.*, 2018), en ciprínidos se ha encontrado que el ADNmt paterno está presente en cigotos y ausente en larvas, lo que sugiere que la heteroplasmia

permanece hasta una etapa avanzada de la embriogénesis (Wen *et al.*, 2016) sin tener un gran efecto sobre la supervivencia y desarrollo embrionario (Peng *et al.*, 2018). En bagres asiáticos del género *Pelteobagrus* (familia Bagridae) no se encontró evidencia de heteroplasma en embriones intraespecíficos, pero sí en híbridos interespecíficos (Chu *et al.*, 2019). La heteroplasma en bagres híbridos se mantuvo durante los primeros estadios de desarrollo hasta la formación de la gástrula (Chu *et al.*, 2019). Cuando la heteroplasma se mantuvo en los estadios de gástrula y post-eclosión, se observó un aumento en el porcentaje de presencia de malformaciones, como curvaturas en la notocorda y/o edemas pericárdicos, lo que puede estar relacionado con la eliminación tardía de ADNmt paterno (Chu *et al.*, 2019). Esto sugiere la presencia de mecanismos especie-específicos de eliminación de ADNmt paterno en bagres, pero que pueden depender de las especies. Debido a su cercanía filogenética, es posible que el mecanismo que actúe para la eliminación de ADNmt paterno en los primeros estadios de desarrollo de híbridos en la familia Bagridae sea similar en la familia Ictaluridae. La heteroplasma puede ser detectada como picos dobles (heterocigotos) en las posiciones heterogéneas entre las especies parentales. En nuestros análisis de secuencias, no se encontró evidencia de heteroplasma en las posiciones variables entre bagre Yaqui y bagre de canal. Por lo tanto, se concluye que las secuencias de los genes mitocondriales reflejan la línea materna y no son producto de heteroplasma.

Finalmente, otra explicación alternativa para la presencia de un linaje mitocondrial diferente de bagre Yaqui en los individuos del stock reproductivo, es la posibilidad de incluir pseudogenes de ADNmt en el análisis (Wallace *et al.*, 1997; Awadalla *et al.*, 1999). La determinación de pseudogenes se ha basado en la presencia de lecturas ambiguas en los cromatogramas, presencia de codones de paro, inserciones o deleciones que tengan efectos sobre los marcos de lectura (Agnese y Teugels, 2001; Bensasson *et al.*, 2001; Wilcox *et al.*, 2004; Betancur-R, 2009; Roxo *et al.*, 2012; Xiao *et al.*, 2012; Roxo *et al.*, 2014; Paixao *et al.*, 2018). En las secuencias de nuestro trabajo se analizaron los marcos de lectura para descartar la posibilidad de secuenciar pseudogenes. Las secuencias de los genes presentaron marcos de lectura abiertos sin ningún codón de paro, inserciones o deleciones a lo largo de su secuencia que modifiquen la cadena polipeptídica traducida, por lo que se concluye que no se secuenciaron pseudogenes. Se observó que el gen mitocondrial *Cyt-b* inicia con un codón ATG y finaliza T-,

según lo encontrado por Ballesteros-Córdova (2013). Por su parte, aunque en la metodología de análisis del código de barras del ADN con el gen *COXI* sólo se consideraron las 651 pb establecidas por el BOLD systems ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)) (Ratnasingham y Hebert, 2007), las secuencias completas del gen mostraron su codón inicial GTG y su codón de termino TAA (Ballesteros-Córdova, 2013).

### **VI.3. Discriminación de híbridos a partir de genes nucleares**

El método de sustracción de haplotipos ha sido aplicado para la identificación nuclear de individuos híbridos, pues se ha encontrado que los dobles picos en los electroferogramas pueden reflejar hibridación si estos se encuentran en las posiciones que presentan diferencias diagnósticas entre las especies parentales (Sonnenberg *et al.*, 2007; Bae *et al.*, 2016; Han *et al.*, 2018). Los electroferogramas de los genes nucleares *RAG1* 3' y *RAG2* mostraron tres haplotipos nucleares, el primero asociado a *I. pricei* y los otros dos a *I. punctatus*. No se detectó la presencia de inserciones o deleciones en los haplotipos parentales, pero sí se detectaron siete mutaciones puntuales (SNPs) en *RAG1* 3' y siete en *RAG2* que son diferentes entre el haplotipo de bagre Yaqui y los haplotipos de bagre de canal. De los individuos del stock reproductivo, 13 mostraron ser homocigotos del haplotipo de bagre Yaqui para ambos genes nucleares, mientras que el resto fueron heterocigotos en los dos genes nucleares. Estos individuos heterocigotos mostraron posiciones ambiguas en los sitios donde existen diferencias entre los haplotipos de bagre Yaqui y de bagre de canal. El individuo SR18 fue heterocigoto presentando los dos haplotipos nucleares de bagre de canal, lo que indica que posiblemente se trata de un bagre de canal puro o híbrido de 2 o 3 generación con linaje bagre de canal. La topología de los árboles filogenéticos obtenidos a partir de la región 3' del gen nuclear *RAG1* y del gen *RAG2* mostraron a los individuos SR1, SR2, SR4, SR7 y SR18 formando un clado con el bagre de canal y a los 13 individuos restantes del stock reproductivo en el clado del bagre Yaqui.

Con base en lo anterior, se encontró un total de 13 individuos de bagre Yaqui putativamente puros (SR3, SR5, SR6 y SR8 a SR17), cuatro individuos híbridos del stock reproductivo (SR1, SR2, SR4, SR7) los cuales fueron heterocigotos en las secuencias de ADN nuclear y un individuo de bagre de canal putativamente puro (SR18), aunque también puede ser producto de retrocruzas entre híbridos y las especies parentales. El ADNmt permite determinar

el sexo de los haplotipos parentales (Han *et al.*, 2018), por lo que, basado en los genes mitocondriales, se encontró que tres individuos (SR2, SR4 y SR18) presentaron linaje materno de bagre de canal y los otros dos individuos (SR1 y SR7) se asume que presentan linaje materno de bagre Yaqui. Es importante aumentar la evidencia de la hibridación, puesto que se desconoce si los híbridos sean fértiles y puedan dejar descendencia por retrocruzamiento con las especies parentales u otros híbridos. Por lo tanto, tampoco se sabe con certeza si lo que se encontró en el presente análisis es evidencia de híbridos F1 o sean el resultado de un proceso de introgresión genética que ha ocurrido durante varias generaciones.

#### **VI.4. Hibridación contemporánea entre bagre Yaqui y bagre de canal**

Las hipótesis fisiográficas de Norteamérica sugieren que el Río Grande conectó varias cuencas de New Mexico y el desierto de Chihuahua que actualmente son independientes (Galloway *et al.*, 2011). Se estima que el Río Yaqui capturó afluentes del Río Conchos, tributario del Río Grande, durante el proceso de formación de la Sierra Madre Occidental durante el Oligoceno y Mioceno, hace de 33.9 Ma a 5.33 Ma, pero que continuó hasta el Pleistoceno (Miller, 1959; Galloway *et al.*, 2011). Los análisis filogeográficos muestran una compleja historia de conexiones entre las cuencas del Pacífico, las cuencas endorreicas del desierto Chihuahuense y la cuenca del Río Grande, con eventos de captura de cabeceras y conexiones que pudieron extenderse hasta hace unos pocos millones de años (Schönhuth *et al.*, 2011; Schönhuth *et al.*, 2015; Ballesteros-Nova *et al.*, 2019). Esta captura de afluentes hizo que un alto porcentaje de la ictiofauna que actualmente habita el Río Yaqui sea proveniente del antiguo sistema de Río Grande, incluyendo al bagre Yaqui como descendiente del bagre lobo mexicano, *I. lupus* (Miller, 1959; Hendrickson *et al.*, 1981).

En el Río Grande existen poblaciones de bagre de canal que coexisten con el bagre lobo. Sin embargo, McClure-Baker *et al.* (2010) consideran que el bagre de canal fue traslocado al Río Grande después de 1930, cuando las pesquerías comenzaron a distribuirlo a través de Texas, por lo que sugieren que no es nativo en la cuenca. Por otro lado, las hipótesis fisiográficas no muestran evidencia que indique conexión reciente entre el área de distribución actual del bagre Yaqui con la distribución del bagre de canal (Galloway *et al.*, 2011). Por tanto, puede argumentarse que el bagre Yaqui se ha mantenido aislado de sus especies hermanas durante

varios millones de años y la hibridación con el de canal es de origen atropogénico. Por lo anterior y dada la falta de divergencia genética entre los bagres de canal colectados en Arroyo Cajón Bonito y los datos del GenBank, puede concluirse que la hibridación entre el bagre Yaqui y el bagre de canal se debe a eventos de translocación recientes de bagres de canal hacia la distribución del bagre Yaqui.

## **VI.5. Amenazas y manejo de los híbridos**

La hibridación puede ocurrir en el medio silvestre de manera natural entre especies simpátricas o cuyos límites de distribución se superponen (Allendorf *et al.*, 2001). Esto puede llevar a la formación de un taxón híbrido originado por eventos de hibridación entre dos especies, a la introgresión natural o a la formación de zonas híbridas que persisten a lo largo del tiempo en un área determinada y no se expande más allá de las zonas de contacto porque la selección sexual y natural actúa contra los híbridos (Allendorf *et al.*, 2001) a veces a favor de eventos de especiación en peces (Volf, 2005; Lampert y Scharl, 2008; Kang *et al.*, 2013). Cuando la hibridación es natural, se debe de considerar a las poblaciones híbridas dentro de los planes de manejo, mientras que, cuando la hibridación resulta como consecuencia de actividades antropogénicas, la conservación dependerá del tipo de hibridación que ocurra (Allendorf *et al.*, 2001).

La hibridación entre bagre Yaqui y bagre de canal se debe a la introducción del exótico en el Noroeste de México, por lo que su manejo deberá estar en función del nivel de hibridación que presenten. Si los híbridos *I. pricei* x *I. punctatus* no son fértiles, la población del Arroyo Cajón Bonito podría recuperarse mediante la remoción de híbridos o la creación de un stock reproductivo con sólo individuos puros (Allendorf *et al.*, 2001). La función del metabolismo aeróbico ocurre en la mitocondria y depende de los genes mitocondriales y de una gran cantidad de genes nucleares (Burton *et al.*, 2013). Estos dos genomas han coevolucionado de tal manera que, si ocurren alteraciones en cualquiera de ellos, estas funciones se ven afectadas (Burton *et al.*, 2013). Por ello, la introducción del genoma nuclear de una nueva especie puede afectar la función de la mitocondria y reducir la adecuación de los híbridos, principalmente los híbridos F2 (Burton *et al.*, 2013 Liu *et al.*, 2020). También se ha detectado incompatibilidades en los híbridos por la interacción entre diferentes alelos de genes nucleares que difieren en las especies

parentales (Schumer *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2020; Powell *et al.*, 2020). Estas incompatibilidades, conocidas como incompatibilidades Bateson-Dobzhansky-Muller (BDM), han jugado un papel importante en el aislamiento reproductivo postcigótico en especies incipientes (Orr y Turelli, 2001; Burton *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2020).

El modelo BDM postula que la baja viabilidad de los híbridos o su esterilidad está dada por una proporción baja del total de variaciones que existen entre las especies que hibridizan (Orr y Turelli, 2001; Johnson, 2002). El aislamiento postcigótico puede deberse a sólo una incompatibilidad, pero estas van aumentando y se van acumulando con el tiempo desde que ocurrió la divergencia (Orr y Turelli, 2001). La divergencia entre el bagre Yaqui y el bagre de canal pudo haber ocurrido hace unos 10 Ma, según lo encontrado por Arce-H *et al.* (2017), por lo que es posible que durante ese tiempo se hayan creado barreras postcigóticas que causen esterilidad en los híbridos de bagre Yaqui y bagre de canal.

Sin embargo, en escapes de híbridos producidos con fines de acuicultura de los bagres sudamericanos *Pseudoplatystoma corruscans* y *P. reticulatum* de la familia Pimelodidae, se encontró evidencia de retrocruzamiento en el medio silvestre, aún a pesar de que la divergencia entre dichas especies ocurrió hace unos 10 a 11.8 Ma (Do Prado *et al.*, 2017). Cuando los híbridos son fértiles y dejan descendencia por retrocruzamiento con las especies parentales o por apareamiento con otros híbridos, se forman poblaciones en donde todos los individuos tienen un origen híbrido, conocidas como “enjambres híbridos” (hybrid swarm), ocurriendo entonces un fenómeno de flujo genético entre las especies que hibridizan, conocido como introgresión genética (Allendorf *et al.*, 2001). Cuando se forman los enjambres híbridos, los genes de los taxa parentales se distribuyen azarosamente debido al proceso de recombinación, por lo que existe probabilidad de que algunos individuos híbridos presenten los alelos característicos de una especie parental si se analizan pocos loci (Allendorf *et al.*, 2001). Si este fenómeno está ocurriendo en el Arroyo Cajón Bonito, exista la posibilidad de que se hayan identificado erróneamente algunos híbridos de generación F2 o retrocruzas como individuos puros de cualquiera de las especies parentales (Allendorf *et al.*, 2001). Se ha visto que los híbridos F1 pueden ser identificados con pocos marcadores moleculares, pero la detección de



los híbridos F2 o retrocruzas requieren del análisis de marcadores moleculares más numerosos (Allendorf *et al.*, 2010; Do Prado *et al.*, 2017).

La introgresión puede estar restringida a una determinada área geográfica como consecuencia de la selección sexual y selección natural, por lo que los esfuerzos deben enfocarse en el mantenimiento y expansión de las poblaciones remanentes puras (Allendorf *et al.*, 2001). Sin embargo, si se da una mezcla completa entre las especies parentales, se debe considerar la conservación de los híbridos para evitar perder completamente la especie hibridizada, en este caso, el bagre Yaqui, con el objetivo de que los híbridos jueguen el papel ecológico del taxón nativo (Allendorf *et al.*, 2001). Debido a que nuestro análisis se realizó a partir de pocos marcadores moleculares, es recomendable aumentar la evidencia genética mediante el uso de marcadores numerosos en el genoma (Allendorf *et al.*, 2010), que permitan una descripción precisa de las dinámicas de hibridación y posible introgresión genética entre el bagre Yaqui y el bagre de canal.

#### **VI.6. El bagre Yaqui como alternativa acuícola**

La ley General de Pesca y Acuicultura Sustentables (LGPAS) establece en su artículo 17 que la pesca y acuicultura deben estar orientadas a la producción de alimentos para el consumo humano y, por tanto, son prioridad para el desarrollo (CONAPESCA, 2007). Por su parte, la Ley General de Vida Silvestre establece en su artículo 27 que “el manejo de ejemplares y poblaciones exóticos sólo se podrá llevar a cabo en condiciones de confinamiento... para evitar los efectos negativos que... pudieran tener para la conservación de los ejemplares y poblaciones nativos de la vida silvestre y su hábitat” y en su artículo 27 Bis establece que “no se permitirá la liberación o introducción a los hábitats y ecosistemas naturales de especies exóticas invasoras” (SEMARNAT, 2000).

Sin embargo, en Sonora Varela-Romero y Hendrickson (2010) enlistan 26 especies exóticas de las familias Clupeidae, Cyprinidae, Catostomidae, Ictaluridae, Salmonidae, Poeciliidae, Centrarchidae y Cichlidae que han sido empleadas con fines acuícolas. Entre ellas, el bagre de canal se introdujo cuando se construyeron las principales presas del estado, como parte de los programas federales de apoyo para pesca deportiva y comercial en las zonas rurales,

los cuáles se siguen promoviendo (Ruiz-Campos *et al.*, 2014). Sin embargo, contrario a lo establecido por la Ley General de Vida Silvestre, estas especies exóticas son cultivadas en presas, embalses y repesos sin barreras, por lo que pueden dispersarse teniendo impactos negativos sobre las poblaciones de peces nativos por la competencia, desplazamiento, hibridación y depredación (Varela-Romero y Hendrickson, 2010).

En el artículo 27 de la LGPAS también se establece que se deben buscar tecnologías “que reduzcan los impactos ambientales y que permitan ampliar el número de especies nativas que se cultiven, dando prioridad en todo momento al cultivo de especies nativas sobre las especies exóticas” (CONAPESCA, 2007). Sin embargo, muy poco se sabe sobre la tecnología para el desove y cultivo de bagre de canal. En Uvalde National Fish Hatchery, Texas, se logró el desove mediante la inyección peritoneal de Ovaprim® (SGnRHa [Gonadotropin-releasing hormone agonists] + Domperidone) a 0.5 ml/kg de peso del pez y mediante implantes de LHRHa (luteinizing hormone-releasing hormone analogue) a 25-45 mg/kg de peso (Ulibarri y Jensen, 1997; Mylonas y Zohar, 2001).

La tasa de crecimiento y la asíntota de crecimiento en el bagre Yaqui son similares a las del bagre de canal (Stewart *et al.*, 2017). Por su parte, Reilly y Lochman (2000) encontraron menor ganancia de peso, menor crecimiento, menor proporción de eficiencia proteica (medida como la relación de ganancia de peso húmedo entre el peso seco de la proteína alimentada), pero mayor proporción de conversión alimenticia (medida como la relación del peso seco del alimento entre el peso ganado) tras 12 semanas de tratamiento. Estos trabajos muestran que el bagre Yaqui es una especie con potencial acuícola, susceptible de apropiación.

Dado que el bagre Yaqui es una especie Amenazada, según la NOM-059-SEMARNAT-2010, es necesario su preservación mediante “el fomento y creación de estaciones biológicas de rehabilitación y repoblamiento” en cumplimiento con el artículo 79 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA) (SEMARNAT, 1988). Además, es importante que se cumpla con el artículo 27 de la Ley General de Vida Silvestre que establece que la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales “expedirá las normas oficiales mexicanas y/o acuerdos secretariales relativos a la prevención de la entrada de especies exóticas invasoras, así como el manejo, control y erradicación de aquéllas que ya se encuentren

establecidas en el país o en los casos de introducción fortuita, accidental o ilegal” (SEMARNAT, 2000). Por ello, es necesario seguir desarrollando la tecnología para el desove y cultivo del bagre Yaqui, que permita su aprovechamiento como alternativa en producción acuícola y favorezca la preservación de la especie. De esta manera, se aseguraría el “abastecimiento de proteínas de alta calidad y de bajo costo para los habitantes” (artículo 17 de la LGPAS) (CONAPESCA, 2007) y la “preservación y conservación de la biodiversidad y del hábitat natural” que favorezcan “la continuidad de los procesos evolutivos de las especies” (artículo 78 y 79 de la LGEEPA) (SEMARNAT, 1988) en este caso, del bagre Yaqui.

## VII. CONCLUSIONES

Los análisis filogenéticos y código de barras del ADN mostraron 15 individuos con linaje materno de bagre Yaqui y tres individuos con linaje materno de bagre de canal. El análisis del ADNn permitió encontrar cinco individuos heterocigotos sugiriendo híbridos entre bagre Yaqui y bagre de canal. Estos resultados por lo tanto permitieron la diferenciación de los individuos fundadores del stock reproductivo.

La evidencia acumulada mostró 13 individuos como bagre Yaqui, *Ictalurus pricei*, putativamente puros y cinco posibles híbridos con bagre de canal, *I. punctatus*. Los datos muestran que existe hibridación en el medio silvestre como consecuencia de la traslocación de bagre de canal para su uso en acuicultura y que la cruce entre estas especies no es unidireccional, sino que ocurre entre machos y hembras de ambas especies.

No se pudo resolver si los individuos híbridos pertenecen a la generación F1, F2 o son producto de retrocruzas. Por tanto, tampoco permiten diferenciar si existe introgresión genética entre bagre Yaqui y de canal. No obstante, los resultados muestran que estas especies forman híbridos en el medio silvestre, lo que representa una grave amenaza para la supervivencia de la especie nativa.

## VIII. RECOMENDACIONES

Considerar estos resultados en el plan de manejo del stock reproductivo de bagre Yaqui, *Ictalurus pricei*, por lo que se recomienda descartar a los individuos detectados como híbridos en la formación del stock. Además, es necesario aumentar el tamaño poblacional del stock con individuos de bagre Yaqui que sean identificados como genéticamente puros y recolectados en el Arroyo Cajón Bonito.

Se recomienda realizar análisis morfométricos y merísticos correlacionados con datos moleculares, para determinar combinaciones de caracteres que permitan la diferenciación morfológica de los individuos genéticamente puros.

Se propone utilizar técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) para la secuenciación parcial de un genoma de bagre Yaqui y la obtención de loci microsatelitales o, de ser posible, utilizar SNPs. Esto dará herramientas para el conocimiento de los patrones de hibridación y permitirá determinar si existe evidencia de introgresión genética entre bagre Yaqui y bagre de canal.

Es importante evaluar el estado de las poblaciones de bagre Yaqui, en cuanto a ocurrencia y tamaño poblacional, centrándose en las localidades Río Tutuaca y Arroyo Cajón Bonito, cuenca del Río Yaqui, en los ríos Urique y Batopilas, cuenca del Río Fuerte, así como buscar localidades en la parte alta de la cuenca del Río Mayo para determinar si aún está presente o ya ha sido extirpado. En todas las localidades se deberá de evaluar el estado de la hibridación mediante marcadores moleculares de ADN mitocondrial y nuclear.

Se sugiere evaluar patrones de estructura poblacional entre las localidades de recolecta e incluir estos datos para el manejo por separado de las diferentes unidades geográficas. También, evaluar parámetros de diversidad genética en las poblaciones remanentes donde se recolecte bagre Yaqui, permitirá determinar si existe evidencia de endogamia o algún otro proceso que esté afectando la variabilidad genética.

Finalmente, es importante que las autoridades competentes vigilen el cumplimiento de la normatividad mexicana que establece que las especies exóticas deben cultivarse en confinamiento y que se deben desarrollar normas y/o acuerdos para manejo, control y erradicación de las exóticas invasoras. Es importante desarrollar investigación para el desove y cultivo del bagre Yaqui que favorezca la preservación de la especie y su aprovechamiento como un recurso acuícola susceptible de apropiación, de tal manera que se garantice la producción de proteínas de alta calidad y de bajo costo para los habitantes de la región como una estrategia sostenible.

## IX. LITERATURA CITADA

- Agnese, J. F. y G. G. Teugels. 2001. Genetic evidence for monophyly of the genus *Heterobranchus* and paraphyly of the genus *Clarias* (Siluriformes, Clariidae). *Copeia* 2:548-552.
- Allendorf, F. W., P. A. Hohenlohe y G. Luikart. 2010. Genomics and the future of conservation genetics. *Nature Reviews Genetics* 11(10):697-709.
- Allendorf, F. W., R. F. Leary, P. Spruell y J. K. Wenburg. 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology and Evolution* 16(11):613-622.
- April, J., R. L. Mayden, R. H. Hanner y L. Bernatchez. 2011. Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(26):10602-10607.
- Arce-H, M., J. G. Lundberg y M. A. O'Leary. 2017. Phylogeny of the North American catfish family Ictaluridae (Teleostei: Siluriformes) combining morphology, genes and fossils. *Cladistics* 33:406-428.
- Awadalla, P., A. Eyre-Walker y J. M. Smith. 1999. Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA. *Science* 286:2524-2525.
- Avise, J. C., J. Shapira, S. W. Daniel, C. F. Aquadro y R. A. Lansman. 1983. Mitochondrial DNA differentiation during the speciation process in *Peromyscus*. *Molecular Biology and Evolution* 1:38-56.
- Bae, S. E., J.-K. Kim y J. H. Kim. 2016. Evidence of incomplete lineage sorting or restricted secondary contact in *Lateolabrax japonicus* complex (Actinopterygii: Moronidae) based on morphological and molecular traits. *Biochemical Systematics and Ecology* 66:98-108.

- Baker, S., C. Keeler-Foster y W. Radke. 2008. Assessing hybridization between Yaqui catfish, *Ictalurus pricei*, channel catfish, *I. punctatus*, and blue catfish, *I. furcatus* using microsatellite markers. 3 p. En: Hendrickson, D. (Ed.), Proceedings of the Desert Fishes Council Symposium 40. 12 al 16 de noviembre de 2008. Cuatro Ciénegas, Coahuila, México.
- Ballesteros-Córdova, C. A. 2013. Estructura del Genoma Mitocondrial del bagre Yaqui (*Ictalurus pricei*) en el Noroeste de México. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Hermosillo, Sonora, México.
- Ballesteros-Córdova, C. A., J. M. Grijalva-Chon, R. A. Castillo-Gámez, F. Camarena-Rosales, A. Varela-Romero. 2016. The complete mitochondrial genome of the Yaqui catfish *Ictalurus pricei* (Teleostei: Ictaluridae) and evidence of a cryptic *Ictalurus* species in Northwest Mexico. *Mitochondrial DNA* 27: 4439-4441.
- Ballesteros-Nova, N. E., R. Perez-Rodriguez, R. G. Beltran-Lopez y O. Dominguez-Dominguez. 2019. Genetic differentiation in the southern population of the Fathead Minnow *Pimephales promelas* Rafinesque (Actinopterygii: Cyprinidae). *PeerJ* 7:e6224.
- Bensasson, D., D. X. Zhang, D. L. Hartl y G. M. Hewitt. 2001. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends in Ecology and Evolution* 16:314-321.
- Betancur-R, R. 2009. Molecular phylogenetics and evolutionary history of ariid catfishes revisited: a comprehensive sampling. *BMC Evolutionary Biology* 9(1):175.
- Blasius, H. B. 1996. Biogeography of freshwater fishes of Northwestern Mexico. Tesis de Maestría. Arizona State University. Arizona, Estados Unidos.
- Brown, T. A., C. Cecconi, A. N. Tkachuk, C. Bustamante y D. A. Clayton. 2005. Replication of mitochondrial DNA occurs by strand displacement with alternative light-strand origins, not via a strand-coupled mechanism. *Genes and Development* 19(20):2466-2476.



- Brown, W. M., M. George & A. C. Wilson. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76:1967-1971.
- Burton, R. S., R. J. Pereira y F. S. Barreto. 2013. Cytonuclear genomic interactions and hybrid breakdown. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 44:281-302.
- Castañeda-Rivera, M., J. M. Grijalva-Chon, L. E. Gutiérrez-Millán, G. Ruiz-Campos, and A. Varela-Romero. 2014. Mitochondrial DNA analysis of the *Ictalurus pricei* Complex (Teleostei: Ictaluridae) in Northwest Mexico. *The Southwestern Naturalist* 59(3):434-438.
- Charlesworth, B., C. Bartolomé y V. Noël. 2005. The detection of shared and ancestral polymorphisms. *Genetics Research* 86:149-157.
- Chu, Z. Z., W. J. Guo, W. H. Hu y J. Mei. 2019. Delayed elimination of paternal mtDNA in the interspecific hybrid of *Pelteobagrus fulvidraco* and *Pelteobagrus vachelli* during early embryogenesis. *Gene* 704:1-7.
- Clark, A. G. 1990. Inference of haplotypes from pcr-amplified samples of diploid populations. *Molecular Biology and Evolution* 7:111-122.
- Cohen, K. M., S. C. Finney, P. L. Gibbard y J. X. Fan. 2013. The ICS International Chronostratigraphic Chart. *Episodes* 36:199-204.
- CONAPESCA. 2007. Ley General de Pesca y Acuacultura Sustentables. Reforma publicada en el DOF el 24-04-2018. *Diario Oficial de la Federación*: 1-71.
- Cramer, C. A., S. L. Bonatto y R. E. Reis. 2011. Molecular phylogeny of the Neoplecostominae and Hypoptopomatinae (Siluriformes: Loricariidae) using multiple genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59(1):43-52.
- Darriba D., G. L. Taboada, R. Doallo y D. Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8):772.

- Do Prado, F. D., R. Fernandez-Cebrián, D. T. Hashimoto, J. A. Senhorini, F. Foresti, P. Martínez, y F. Porto-Foresti. 2017. Hybridization and genetic introgression patterns between two South American catfish along their sympatric distribution range. *Hydrobiologia* 788(1):319-343.
- Galloway, W. E., T. L. Whiteaker y P. Ganey-Curry. 2011. History of Cenozoic North American drainage basin evolution, sediment yield, and accumulation in the Gulf of Mexico basin. *Geosphere* 7:938-973.
- Guindon S. y O. Gascuel. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology* 52:696-704
- Han, S.-Y., S. Rho, G. E. Noh y J.-K. Kim. 2018. Interspecific hybridization in seahorses: artificially produced hybrid offspring of *Hippocampus kuda* and *Hippocampus reidi*. *Fisheries and Aquatic Sciences* 21(1):11.
- Hardman, M. 2004. The phylogenetic relationships among *Noturus* catfishes (Siluriformes: Ictaluridae) as inferred from mitochondrial gene cytochrome b and nuclear recombination activating gene 2. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30:395-408.
- Hardman, M. 2005. The phylogenetic relationships among non-diplomystid catfishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequences; the search for the ictalurid sister taxon (Otophysi: Siluriformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37:700-720.
- Hardman, M. y L. M. Page. 2003. Phylogenetic Relationships among Bullhead Catfish on the Genus *Ameiurus* (Siluriformes: Ictaluridae). *Copeia* 1:20-33.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, y J. R. Dewaard. 2003a. Biological identification through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270:313-322.
- Hebert, P. D. N., S. Ratnasingham y J. R. DeWaard. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 270: S96–S99.

- Hebert, P. D. N., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen y W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Science* 101:14812–14817.
- Hendrickson, D. A. 1983. Distribution records of native and exotic fishes in Pacific drainages of Northern Mexico. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science* 18:33-38.
- Hendrickson, D. y A. Varela-Romero. 1996. Status of the fish fauna of the Río Fuerte basin, northwestern México. 50-52 p. En: Garret, G. (Ed.), *Proceedings of the Desert Fishes Council* 27. 16 al 19 de noviembre de 1995. Reno, Nevada, Estados Unidos.
- Hendrickson, D. A., W. L. Minckley, R. R. Miller, D. J. Siebert y P. H. Minckley. 1981. Fishes of the Rio Yaqui basin, México and United States. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science* 15(3):65-106.
- Hubert, N., R. Hanner, E. Holm, N. E. Mandrak, E. Taylor, M. BurrIDGE, D. Watkinson, P. Dumont, A. Curry, P. Bentzen, J. Zhang, J. April y L. Bernatchez. 2008. Identifying canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *PLoS ONE* 3(6):e2490.
- Hunnicut, D. W., J. Cingolani y M. A. Voss. 2005. Use of mtDNA to identify genetic introgression among related species of catfish. *Journal of the Great Lakes Research* 31:482-491.
- Johnson, N. A. 2002. Sixty years after “Isolating mechanisms, evolution and temperature”: Muller’s legacy. *Genetics* 161:939-944.
- Jolly, C., C. Ligeon, J. Crews, Z. Morley y R. Dunham. 2001. Present and future trends in the U. S. catfish industry: strategies and concerns for Millennium years. *Reviews in Fisheries Science* 9(4):271-295.
- Juarez-Romero, L., A. Varela-Romero y J. R. Campoy-Favela. 1991. Ecological observations of native fishes from the Lower Rio Yaqui, Sonora, Mexico. 79-80 p. En: Pister, P. (Ed.),

- Proceedings of the Desert Fishes Council 20. 16 al 19 de noviembre de 1988. Death Valley, California, Estados Unidos.
- Kang, J. H., M. Scharl, R. B. Walter y A. Meyer. 2013. Comprehensive phylogenetic analysis of all species of swordtails and platies (Pisces: Genus *Xiphophorus*) uncovers a hybrid origin of a swordtail fish, *Xiphophorus monticolus*, and demonstrates that the sexually selected sword originated in the ancestral lineage of the genus, but was lost again secondarily. *BMC evolutionary biology* 13(1):25.
- Kelsch, S. W. y B. L. Jensen. 1997. Morphometric comparison of Yaqui and Channel catfishes. 64 p. En: Garrett, G. (Ed.), Proceedings of the Desert Fishes Council 28. 6 al 9 de noviembre de 1996. La Paz, Baja California Sur, México.
- Kelsch, S. W. y F. S. Hendricks. 1986. An electrophoretic and multivariate morphometric comparison of the American catfishes *Ictalurus lupus* and *I. punctatus*. *Copeia* 3:646-652.
- Kelsch, S. W. y M. J. Baca. 1991. Biochemical analysis of gene products in the Yaqui catfish *Ictalurus pricei*. U. S. Fish and Wildlife Service y Dexter National Fish Hatchery. New Mexico, EUA.
- Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Paabo, F. X. Villablanca y A. C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals-amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 86:6196-6200.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz y K. Tamura. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution* 35(6):1547-1549.
- Kwak, T. J., M. T. Porath, P. H. Michaletz y V. H. Travnicek. 2011. Catfish science: status and trends in the 21<sup>st</sup> century. *American Fisheries Society Symposium* 77:755-780.

- Lampert, K. P. y M. Schartl. 2008. The origin and evolution of a unisexual hybrid: *Poecilia formosa*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363(1505):2901-2909.
- Leibfried, W. C. 1991. A recent survey of fishes from the Interior Rio Yaqui drainage with a record of flathead catfish, *Pylodictis olivaris*, from the Rio Aros. 70 p. En: Pister, P. (Ed.), *Proceedings of the Desert Fishes Council* 20. 16 al 19 de noviembre de 1988. Death Valley, California, Estados Unidos.
- Liu, Q., J. Liu, L. Yuan, L. Li, M. Tao, C. Zhang, Q. Qin, B. Chen, M. Ma, C. Tang y S. Liu. 2020. The establishment of the fertile fish lineages derived from distant hybridization by overcoming the reproductive barriers. *Reproduction* 159:R237–R249.
- Liu, Z. S. Liu, J. Yao, L. Bao, J. Zhang, Y. Li, C. Jiang, L. Sun, R. Wang, Y. Zhang, T. Zhou, Q. Zeng, Q. Fu, S. Gao, N. Li, S. Koren, Y. Jiang, A. Zimin, P. Xu, A. M. Phillippy, X. Geng, L. Song, F. Sun, C. Li, X. Wang, A. Chen, Y. Jin, Z. Yuan, Y. Yang, S. Tan, E. Peatman, J. Lu, Z. Qin, R. Dunham, Z. Li, T. Sonstegard, J. Feng, R. G. Danzmann, S. Schroeder, B. Scheffler, M. V. Duke, L. Ballard, H. Kucuktas, L. Kaltenboeck, H. Liu, J. Armbruster, Y. Xie, M. L. Kirby, Y. Tian, M. E. Flanagan, W. Mu y G. C. Waldbieser. 2016. The channel catfish genome sequence provides insights into the evolution of scale formation in teleosts. *Nature Communications* 7:11757.
- López, J.A., W.-J. Chen, G. Ortí. 2004. Esociform phylogeny. *Copeia* 3:449–464.
- Luhariya, R. K., K. K. Lal, R. K. Singh, V. Mohindra, P. Punia, U. K. Chauhan, A. Gupta y W. S. Lakra. 2012. Genetic divergence in wild population of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) from nine Indian rivers analyzed through mtDNA Cytochrome b region. *Molecular Biology Reports* 39: 3659-3665.
- Lundberg, J. G. 1992. The phylogeny of ictalurid catfishes: a synthesis of recent work. 392–420 p. En: Mayden, R. L. (Ed.), *Systematics, historical ecology, and North American freshwater fishes*. Stanford University Press, Stanford, Palo Alto, California, Estados Unidos.

- Lydeard, C. y K. J. Roe. 1997. The phylogenetic utility of the mitochondrial Cytochrome b gene for inferring relationships among Actinopterygian fishes. En: Kocher, T. D. y Stepien, C. A. (Eds.), *Molecular Systematics of Fishes*. Academic Press. San Diego. California. Estados Unidos.
- Maddison, W. P. y D.R. Maddison. 2019. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.61 <http://www.mesquiteproject.org>.
- McClure-Baker, S. A., A. A. Echelle, R. A. Van den Bussche, A. F. Echelle, D. A. Hendrickson y G. P. Garrett. 2010. Genetic status of headwater catfish in Texas and New Mexico: A perspective from mtDNA and morphology. *Transactions of the American Fisheries Society* 139:1780-1791.
- McGuire, J. A., C. W. Linkem, M. S. Koo, D. W. Hutchison, A. K. Lappin, D. I. Orange, J. Lemos-Espinal, B. R. Riddle y J. R. Jaeger. 2007. Mitochondrial introgression and incomplete lineage sorting through space and time: Phylogenetics of crotaphytid lizards. *Evolution* 61:2879-2897.
- Meier, R., G. Zhang y F. Ali. 2008. The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the “barcoding gap” and leads to misidentification. *Systematic Biology* 57:809–813.
- Menzel, B. W. y E. C. Raney. 1973. Hybrid madtom catfishes, *Noturus gyrinus* x *N. miurus*, from Cayuga Lake, New York. *The American Midland Naturalist* 90(1):165-176.
- Meyer, A. 1993. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. 1-38 p. En Hochachka, P. y Mommsen T. P. (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of fishes*, vol. 2. Elsevier Science. Ámsterdam, Países Bajos.
- Meyer, C. P. y G. Paulay. 2005. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology* 3:2229–2238.

- Miller, M. A., W. Pfeiffer y T. Schwartz. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE): 1-8.
- Miller, R. R. 1959. Origin and affinities of the freshwater fish fauna of western North America. "Zoogeography". American Association for the Advancement of Science 51:187-222.
- Miller, R. R. 1978. Composition and derivation of the native fish fauna of the Chihuahuan Desert Region. 365-382 p. En: Wauer, R. H. y D. H. Riskin (Eds.), Transactions of the Symposium on Biological Resources of the Chihuahuan Desert Region, United States and Mexico.
- Miller, R. R., W. L. Minckley y S. M. Norris. 2009. Peces dulceacuícolas de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. D.F., México.
- Minckley, C. y A. S. Livingstone. 2018. Summary of pond construction of a holding pond for the Endangered Yaqui catfish. 907 p. En: Hendrickson, D. (Ed.), Proceedings of the Desert Fishes Council 49. 14 al 18 de noviembre de 2018. Death Valley, California, Estados Unidos.
- Minckley, W. L. 1969. Aquatic biota of the Sonoita Creek basin, Santa Cruz County, Arizona. Arizona State University. Tempe, Arizona, Estados Unidos.
- Minckley, W. L. 1999. Frederic Morton Chamberlain's 1904 survey of Arizona fishes, with annotations. Journal of the Southwest 41:177-238.
- Minckley, W. L. y C. R. Gilbert. 1980. *Ictalurus pricei* Rutter, Yaqui catfish. Pp 445. En Lee, D. S., C. R. Gilbert, C. H. Hocutt, R. E. Jenkins, D. E. McAllister y J. R. Stauffer (Eds.), Atlas of North American freshwater fishes. North Carolina State Museum of Natural History, North Carolina, Estados Unidos.
- Minckley W. L. y P. Marsh. 2009. Inland fishes of the greater Southwest: chronicle of a vanishing biota. University of Arizona Press. Arizona, Tucson, Estados Unidos

- Morizot, D. C., B. L. Jensen, S. W. Kelsch, G. J. Carmichael y J. Campoy-Favela. 1997. Introgression between Yaqui and channel catfish in the Rio Yaqui, Sonora Mexico. 75 p. En: Garrett, G. (Eds.), Proceedings of the Desert Fishes Council 28. 6 al 9 de noviembre de 1996. La Paz, Baja California Sur, México.
- Morizot, D. C., B. L. Jensen, S. W. Kelsch, J. Campoy-Favela y G. J. Carmichael. 1999. Introgression between Yaqui and channel catfishes in the Rio Yaqui Basin, Mexico. Fish and Wildlife Service y Mora National Fish Hatchery and Technology Center. New Mexico, EUA.
- Mylonas, C. C. y Y. Zohar. 2001. Use of GnRHa-delivery systems of the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10:463-491.
- NatureServe y Lyons, T. J. 2019. *Ictalurus pricei*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2019: e.T10770A130012248. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T10770A130012248.en>
- Nelson, J. S., T. C. Grande y M. V. H. Wilson. 2016. *Fishes of the World*. 5a edición. Wiley. New Jersey, Estados Unidos.
- Orr, H. A. y M. Turelli. 2001. The evolution of postzygotic isolation: accumulating Dobzhansky-Muller incompatibilities. *Evolution* 55(6):1085-1094.
- Osada, N. y H. Akashi. 2012. Mitochondrial–Nuclear Interactions and Accelerated Compensatory Evolution: Evidence from the Primate Cytochrome c Oxidase Complex. *Molecular Biology Evolution* 29(1):337-346.
- Padhi, A. 2010. Mitochondrial DNA sequence revealed contrasting demographic history between the black bullhead (*Ameiurus melas*) and its cryptic lineage in North America. *Aquatic Living Resources* 23:325-333.
- Paixao, R. V., J. Ribolli y E. Zaniboni. 2018. Genetic variation of the Endangered Neotropical catfish *Steindachneridion scriptum* (Siluriformes: Pimelodidae). *Frontiers in Genetics* 9:48.



- Peng, L. Y., M. Wen, Q. Z. Liu, J. Y. Peng, S. B. Tang, Y. H. Hong, S. J. Liu y Y. M. Xiao. 2018. Persistence and transcription of paternal mtDNA dependent on the delivery strategy rather than mitochondria source in fish embryos. *Cellular Physiology and Biochemistry* 47:1898-1908.
- Powell, D. L., M. García-Olazábal, M. Keegan, P. Reilly, K. Du, A. P. Díaz-Loyo, S. Banerjee, D. Blakkan, D. Reich, P. Andolfatto, G. G. Rosenthal, M. Scharl y M. Schumer. 2020. Natural hybridization reveals incompatible alleles that cause melanoma in swordtail fish. *Science* 368:731-736.
- Puillandre, N., A. Lambert, S. Brouillet y G. Achaz. 2012. ABGD, automatic barcode gap discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21:1864-1877.
- Ratnasingham, S. y P. D. N. Hebert. 2007. Barcoding BOLD: The barcode of Life Data System ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)). *Molecular Ecology Notes* 7(3):355-364.
- Regan, C. T. 1906-1908. Pisces. Pp i-xxxii, 1-203 p. En F. D. Godman y Salvin O. (Eds.), *Biologia Centrali-Americana*, Londres, Inglaterra.
- Reilly, J. y R. Lochmann. 2000. Comparative aspects of feed and feedstuff utilization by Yaqui and channel catfish. *North American Journal of Aquaculture* 62:279-284.
- Rodiles-Hernández, R., J. G. Lundberg y J. P. Sullivan. 2010. Taxonomic discrimination and identification of extant blue catfishes (Siluriformes: Ictaluridae: *Ictalurus furcatus* Group). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 159:67-82
- Roxo, F. F., J. S. Albert, G. S. C. Silva, C. H. Zawadzki, F. Foresti y C. Oliveira. 2014. Molecular phylogeny and biogeographic history of the Armored Neotropical catfish subfamilies Hypoptopomatinae, Neoplecostominae and Otothyrinae (Siluriformes: Loricariidae). *Plos One* 9(8):e105564.
- Roxo, F. F., C. H. Zawadzki, M. A. Alexandrou, G. J. C. Silva, M. C. Chiachio, F. Foresti y C. Oliveira. 2012. Evolutionary and biogeographic history of the subfamily Neoplecostominae (Siluriformes: Loricariidae). *Ecology and Evolution* 2:2438-2449.

- Ruiz-Campos, G., A. Varela-Romero, D. Ceseña-Gallegos, C. A. Ballesteros-Córdova y S. Sánchez-González. 2020. Morphometry and meristics of two species of *Ictalurus* (Siluriformes: Ictaluridae), native catfishes of Sierra Madre Occidental, Mexico. *Revista de Biología Tropical* 68(2):479-491.
- Ruiz-Campos, G., A. Varela-Romero, S. Sánchez-González, F. Camarena-Rosales, A. M. Maeda-Martínez, A. F. González-Acosta, A. Andreu-Soler, E. Campos-González y J. Delgadillo-Rodríguez. 2014. Peces invasores en el Noroeste de México. 375-399 p. En: Mendoza R. y Koleff P. (Coords.), *Especies acuáticas invasoras en México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. D. F., México.
- Ruiz-Campos, G., D. Ceseña-Gallegos, S. Sánchez-González y A. Varela-Romero. 2016. Caracterización merística y morfométrica del bagre del Río Culiacán (*Ictalurus* sp.) y su comparación con el bagre del “yaqui” (*Ictalurus pricei* Rutter, 1896) de la Sierra Madre Occidental, México. XV Congreso Nacional de Ictiología, V Simposio Latinoamericano de Ictiología, I Simposio Internacional de Genómica de Peces. Universidad Autónoma de Aguascalientes, México.
- Ruiz-Campos, G., M. de Lourdes Lozano-Vilano y M. E. García-Ramírez. 2009. Morphometric comparison of blue catfish *Ictalurus furcatus* (Lesueur, 1840) from northern and southern Atlantic drainages of Mexico. *Bulletin Southern California Academy of Sciences* 108:36-44.
- Rutkayová, J., R. Biskup, R. Harant, V. Slechta y J. Kosco. 2013. *Ameiurus melas* (black bullhead): morphological characteristics of new introduced species and its comparison with *Ameiurus nebulosus* (brown bullhead). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 23:51-68.
- Rutter, C. 1896. Notes on fresh water fishes of the Pacific Slope of North America. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 6:245-267.
- Sarkar, I. N., P. J. Planet y R. De Salle. 2008. CAOS software for use in character- based DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources* 8:1256-1259.

- Sato, M. y K. Sato. 2013. Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* 1833(8):1979-1984.
- Schönhuth, S., L. Lozano-Vilano, A. Perdices, H. Espinosa y R. L. Mayden. 2015. Phylogeny, genetic diversity and phylogeography of the genus *Codoma* (Teleostei, Cyprinidae). *Zoologica Scripta* 44:11-28.
- Schönhuth, S., M. J. Blum, L. Lozano-Vilano, D. A. Neely, A. Varela-Romero, H. Espinosa, A. Perdices y R. L. Mayden. 2011. Inter-basin exchange and repeated headwater capture across the Sierra Madre Occidental inferred from the phylogeography of Mexican stonerollers. *Journal of Biogeography* 38:1406-1421.
- Schumer, M., R. Cui, D. L. Powell, R. Dresner, G. G. Rosenthal y P. Andolfatto. 2014. High-resolution mapping reveals hundreds of genetic incompatibilities in hybridizing fish species. *Elife* 3:e02535.
- SEMARNAT. 1988. Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. Reforma publicada en el DOF el 05-06-2018. *Diario Oficial de la Federación*: 1-135.
- SEMARNAT. 2000. Ley General de Vida Silvestre. Reforma publicada en el DOF el 19-01-2018. *Diario Oficial de la Federación*: 1-72.
- SEMARNAT. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación (Segunda Sección)*: 1-78.
- Sonnenberg, R., A. W. Nolte y D. Tautz. 2007. An evaluation of LSU rDNA D1-D2 sequences for their use in species identification. *Frontiers in Zoology* 4(1):1-12.
- Sousa-Santos, C., J. I. Robalo, M. J. Collares-Pereira y V. C. Almada. 2005. Heterozygous indels as useful tools in the reconstruction of DNA sequences and in the assessment of ploidy level and genomic constitution of hybrid organisms. *DNA Sequence* 16:462-467.

- Sousa-Santos, C., M. J. Collares-Pereira y V. Almada. 2007. Reading the history of a hybrid fish complex from its molecular record. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45:981-996.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics* 10.1093/bioinformatics/btu033.
- Stewart, D. R., M. J. Butler, G. Harris, W. R. Radke. 2017. Mark-recapture models identify imminent extinction of Yaqui catfish *Ictalurus pricei* in the United States. *Biological Conservation* 209:45-53.
- Sullivan, J. P., J. G. Lundberg y M. Hardman. 2006. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using *rag1* and *rag2* nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41(3):636-662.
- Swofford, D. L. 2002. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods)*. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, Estados Unidos.
- Taylor, W. R. 1969. A revision of the catfish genus *Noturus* Rafinesque with an analysis of higher groups in the Ictaluridae. *Bulletin of the United States National Museum* 282.
- Trautman, M.B. 1948. A natural hybrid catfish, *Schilbeodes miurus* x *Schilbeodes mollis*. *Copeia* 3:166–174.
- U. S. Fish and Wildlife Service (USFWS). 1984. Endangered and Threatened Wildlife and Plants; Final rule to determine the Yaqui chub to be an Endangered species with critical habitat, and to determine the beautiful shiner and the Yaqui catfish to be Threatened species with critical habitat. Department of the Interior. *Federal Register* 49(171):34490-34497.
- U. S. Fish and Wildlife Service (USFWS). 1995. Yaqui fishes recovery plan. U.S. Fish and Wildlife Service. Albulquerque, New Mexico, EUA.

- U. S. Fish and Wildlife Service (USFWS). 2009. Assessment of Introgression and Genetic Variation in Captive Yaqui Catfish (*Ictalurus pricei*). U. S. Fish and Wildlife Service y Dexter National Fish Hatchery and Technology Center. Dexter, New Mexico, EUA.
- Ulibarri, M. E. y B. L. Jensen. 1997. Development of spawning and culture techniques of the Yaqui catfish, *Ictalurus pricei*. 103-104 p. En: Garrett, G. (Eds.), Proceedings of the Desert Fishes Council 28. 6 al 9 de noviembre de 1996. La Paz, Baja California Sur, México.
- Varela-Romero, A. 2007. Variación genética mitocondrial en bagres del género *Ictalurus* (Pisces: Ictaluridae) en el noroeste de México. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Hermosillo, Sonora, México.
- Varela-Romero, A. y C. Minckley. 2016. Recent distributional status of the Yaqui catfish (*Ictalurus pricei* Rutter, 1896) in northwest Mexico. 670-672 p. En: Hendrickson, D. (Ed.), Proceedings of the Desert Fishes Council 47. 17 a 21 de noviembre de 2016. Albuquerque, New Mexico, Estados Unidos.
- Varela-Romero, A., y C. Minckley. 2018. Study and conservations strategies of Yaqui catfish: Recovery and Management Plan. 839-840 p. En: Hendrickson, D. (Ed.), Proceedings of the Desert Fishes Council 49. 14 al 18 de noviembre de 2018. Death Valley, California, Estados Unidos.
- Varela-Romero, A. y D. Hendrickson. 2010. Peces dulceacuícolas. 339-356 p. En: Molina-Freaner, F. E. y Van Devender T. R. (Eds.), Diversidad Biológica de Sonora. UNAM, D. F., México.
- Varela-Romero, A., C. A. Ballesteros-Córdova, G. Ruiz-Campos, S. Sánchez- González y J. E. Brooks. 2020. Recent discoveries and conservation of catfishes genus *Ictalurus* in México. 225-232 p. En: Bestgen, K. R., Hoagstrom C. W, Propst D. L. y Williams J. E. (Eds.), Standing between life and extinction: Ethics and ecology of conserving aquatic species in the American Southwest, University of Chicago Press. Chicago, Estados Unidos de América.

- Varela-Romero, A., D. A. Hendrickson, G. Yepiz-Plascencia, J. E. Brooks y D. A. Nelly. 2011. Conservation status of the Yaqui catfish (*Ictalurus pricei*) in the United States and northwest Mexico. *The Southwestern Naturalists* 56(2):278-286.
- Varela-Romero, A., J. Campoy-Favela y L. Juarez-Romero. 1992. Fishes of the rios Mayo and Fuerte basins, Sonora and Sinaloa, Mexico. 70-71 p. En: Hendrickson, D. (Ed.), *Proceedings of the Desert Fishes Council* 22. 16 al 18 de noviembre de 1989. Albuquerque, New Mexico, Estados Unidos.
- Volff, J. N. 2005. Genome evolution and biodiversity in teleost fish. *Heredity* 94(3):280-294.
- Waldbieser, G. C., A. L. Bilodeau y D. J. Nonneman. 2003. Complete sequence and characterization of the channel catfish mitochondrial genome. *DNA Sequence* 14:265-277.
- Wallace, D. C., C. Stugard, D. Murdock, T. Schurr y M. D. Brown. 1997. Ancient mtDNA sequences in the human nuclear genome: A potential source of errors in identifying pathogenic mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94:14900-14905.
- Walter, R. P., E. S. Gnyra, L. I. Söderberg y D. D. Heath. 2014. Rapid genetic identification of brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*), black bullhead (*Ameiurus melas*) and their hybrids. *Conservation Genetics Resources* 6:507-509.
- Wang, K., J. A. Lenstra, L. Liu, Q. J. Hu, T. Ma, Q. Qiu y J. Q. Liu. 2018. Incomplete lineage sorting rather than hybridization explains the inconsistent phylogeny of the wisent. *Communications Biology* 1(1):1-9.
- Welsh, S. A. y D. A. Cincotta. Natural hybrids of the Madtom. *Noturus flavus* and *Noturus insignis*, from the Monongahela River drainage, West Virginia. *Northeastern Naturalist* 11(4):399-406.
- Wen, M., L. Y. Peng, X. J. Hu, Y. L. Zhao, S. J. Liu y Y. H. Hong. 2016. Transcriptional quiescence of paternal mtDNA in cyprinid fish embryos. *Scientific Reports* 6(1):1-7.

- Wilcox, T. P., F. J. G. de Leon, D. A. Hendrickson y D. M. Hillis. 2004. Convergence among cave catfishes: long-branch attraction and a Bayesian relative rates test. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31:1101-1113.
- Willett, C. E., J. J. Cherry y L. A. Steiner. 1997. Characterization and expression of the recombination activating genes (*rag1* and *rag2*) of zebrafish. *Immunogenetics* 45(6):394-404.
- Wong, L. L., E. Peatman, J. Lu, H. Kucuktas, S. He, C. Zhou, U. Na-nakorn y Z. Liu. 2011. DNA barcoding of catfish: species authentication and phylogenetic assessment. *PLoS One* 6(3):e17812.
- Xia, X. 2012. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. 73-82 p. En: Singh, R. S., J. Xu y R. J. Kulathinal (Eds.), *Rapidly evolving genes and genetic systems*. Oxford, Reino Unido.
- Xiao, M. S., H. W. Xia y Y. H. Ma. 2012. Genetic variation of the Chinese longsnout catfish *Leiocassis longirostris* in the Yangtze River revealed using mitochondrial DNA cytochrome b sequences. *Acta Ecologica Sinica* 32:305-313.
- Yu, Z., Q. Li, L. Kong y H. Yu. 2014. Utility of DNA barcoding for Tellinoidea: a comparison of distance, coalescent and character-based methods on multiple genes. *Marine Biotechnology* 17(1):55-65.
- Zhou, Y., L. Duvaux, G. Ren, L. Zhang, O. Savolainen y J. Liu. 2017. Importance of incomplete lineage sorting and introgression in the origin of shared genetic variation between two closely related pines with overlapping distributions. *Heredity* 118:211-220.
- Zou, S., Q. Li, L. Kong. H. Yu y X. Zheng. 2011. Comparing the usefulness of distance, monophyly and character-based DNA barcoding methods in species identification: a case study of Neogastropoda. *PLoS ONE* 6:e26619.

## X. APÉNDICES

ANEXO 1. Alineamiento múltiple de la cadena polipeptídica traducida del gen *RAG1* 3': *I. pricei* = Individuos SR3, SR5, SR6, SR8-SR17; *I. punctatus* hapA = Individuos SR1, SR4 y secuencias de referencia de los estanques de cultivo y Arroyo Cajón Bonito, *I. punctatus* hapB = Individuos SR2, SR7, SR18 y secuencias de referencia de los estanques de cultivo. En negro se muestran las variaciones en los aminoácidos entre los haplotipos.

```

I. pricei          Q I F Q P L H T L R N A E K E L L P G F H Q F E W Q P A L K N V S N S C N I G I I D G L S G W T A S V D D V P A E T I S
I. punctatus hapA Q I F Q P L H T L R N A E K E L L P G F H Q F E W Q P A L K N V S N S C N I G I I D G L S G W T A S V D D V P A E T I S
I. punctatus hapB Q I F Q P L H T L R N A E K E L L P G F H Q F E W Q P A L K N V S N S C N I G I I D G L S G W T A S V D D V P A E T I S
.....

I. pricei          R R F R Y D V A L V S A L K D L E E D I M E G L R E R G L D D S T C S S G F T V V I K E S C D G M G D V S E K H G G G P
I. punctatus hapA R R F R Y D V A L V S A L K D L E E D I M E G L R E R G L D D S T C S S G F T V V I K E S C D G M G D V S E K H G G G P
I. punctatus hapB R R F R Y D V A L V S A L K D L E E D I M E G L R E R G L D D S T C S S G F T V V I K E S C D G M G D V S E K H G G G P
.....

I. pricei          A V P E K A V R F S F T V M S I S I Q A E G E E E A V T I F Q E K K P N S E L S C R P L C L M F V D E S D H E I L T A I
I. punctatus hapA A V P E K A V R F S F T V M S I S I Q A E G E E E A V T I F Q E K K P N S E L S C R P L C L M F V D E S D H E I L T A I
I. punctatus hapB A V P E K A V R F S F T V M S I S I Q A E G E E E A V T I F Q E K K P N S E L S C R P L C L M F V D E S D H E I L T A I
.....

I. pricei          L G P V V A E R K A M K E S R L I L S I G G L Q R S F R F Y F R S T G Y D E K M V R D M E G L E A S G S T Y I C T L C D
I. punctatus hapA L G P V V A E R K A M K E S R L I L S I G G L Q R S F R F Y F R S T G Y D E K M V R D M E G L E A S G S T Y I C T L C D
I. punctatus hapB L G P V V A E R K A M K E S R L I L S I G G L Q R S F R F Y F R S T G Y D E K M V R D M E G L E A S G S T Y I C T L C D
.....

I. pricei          A T R A E A S R N M V L H S I T R S H D E N L E R Y E I W R T N P F S E S A E E L R D R V K G V S A K P F I E T Q P T L
I. punctatus hapA A T R A E A S R N M V L H S I T R S H D E N L E R Y E I W R T N P F S E S A E E L R D R V K G V S A K P F I E T Q P T L
I. punctatus hapB A T R A E A S R N M V L H S I T R S H D E N L E R Y E I W R T N P F S E S A E E L R D R V K G V S A K P F I E T Q P T L
.....

I. pricei          D A L H C D I G N A T E F Y K I F Q D E I A E V Y L K N N P T R E E R R R W R S I L D K Q L R K K M K L K P V M R M N G
I. punctatus hapA D A L H C D I G N A T E F Y K I F Q D E I A E V Y L K N N P T R E E R R R W R S I L D K Q L R K K M K L K P V M R M N G
I. punctatus hapB D A L H C D I G N A T E F Y K I F Q D E I A E V Y L K N N P T R E E R R R W R S I L D K Q L R K K M K L K P V M R M N G
.....

I. pricei          N Y A R R L M T R E A V E V V C E L V P S E E R R E A L K E L M E L Y L Q M K P V W R S T C P A R D C P D Q L C R Y S F
I. punctatus hapA N Y A R R L M T R E A V E V V C E L V P S E E R R E A L K E L M E L Y L Q M K P V W R S T C P A R D C P D Q L C R Y S F
I. punctatus hapB N Y A R R L M T R E A V E V V C E L V P S E E R R E A L K E L M E L Y L Q M K P V W R S T C P A R D C P D Q L C R Y S F
.....

I. pricei          N S Q R F A E I L S T T F K Y R Y D G K I T N Y L H K T L A H V P E I V E R D G S I G A W A S E G N E S G N K L F R R F
I. punctatus hapA N S Q R F A E I L S T T F K Y R Y D G K I T N Y L H K T L A H V P E I V E R D G S I G A W A S E G N E S G N K L F R R F
I. punctatus hapB N S Q R F A E I L S T T F K Y R Y D G K I T N Y L H K T L A H V P E I V E R D G S I G A W A S E G N E S G N K L F R R F
.....

I. pricei          R K M N A R Q S K T F E L D
I. punctatus hapA R K M N A R Q S K T F E L D
I. punctatus hapB R K M N A R Q S K T F E L D
.....

```



ANEXO 2. Alineamiento múltiple de la cadena polipeptídica traducida del gen *RAG2*: *I. pricei* = Individuos SR3, SR5, SR6, SR8-SR17; *I. punctatus* hapA = Individuos SR1, SR4 y secuencias de referencia de los estanques de cultivo y Arroyo Cajón Bonito, *I. punctatus* hapB = Individuos SR2, SR7, SR18 y secuencias de referencia de los estanques de cultivo. En negro se muestran las variaciones en los aminoácidos entre los haplotipos.

```

I. pricei          ECYLIHGGRTPNNELSSSLYMLSVDNHACNRKVIILRCEKELVGELP
I. punctatus hapA ECYLIHGGRTPNNELSSSLYMLSVDNRACNRKVIILRCEKELVGELP
I. punctatus hapB ECYLIHGGRTPNNELSSSLYMLSVDNRACNRKVIILRLEKELVGELP
*****

I. pricei          RGKTACVLFGGRSYMRPSERTTENWNCMVDCPPQIYLIIDLEFGCCSA
I. punctatus hapA RGKTACVLFGGRSYMRPSERTTENWNCMVDCPPQIYLIIDLEFGCCSA
I. punctatus hapB RGKTACVLFGGRSYMRPSERTTENWNCMVDCPPQIYLIIDLEFGCCSA
*****

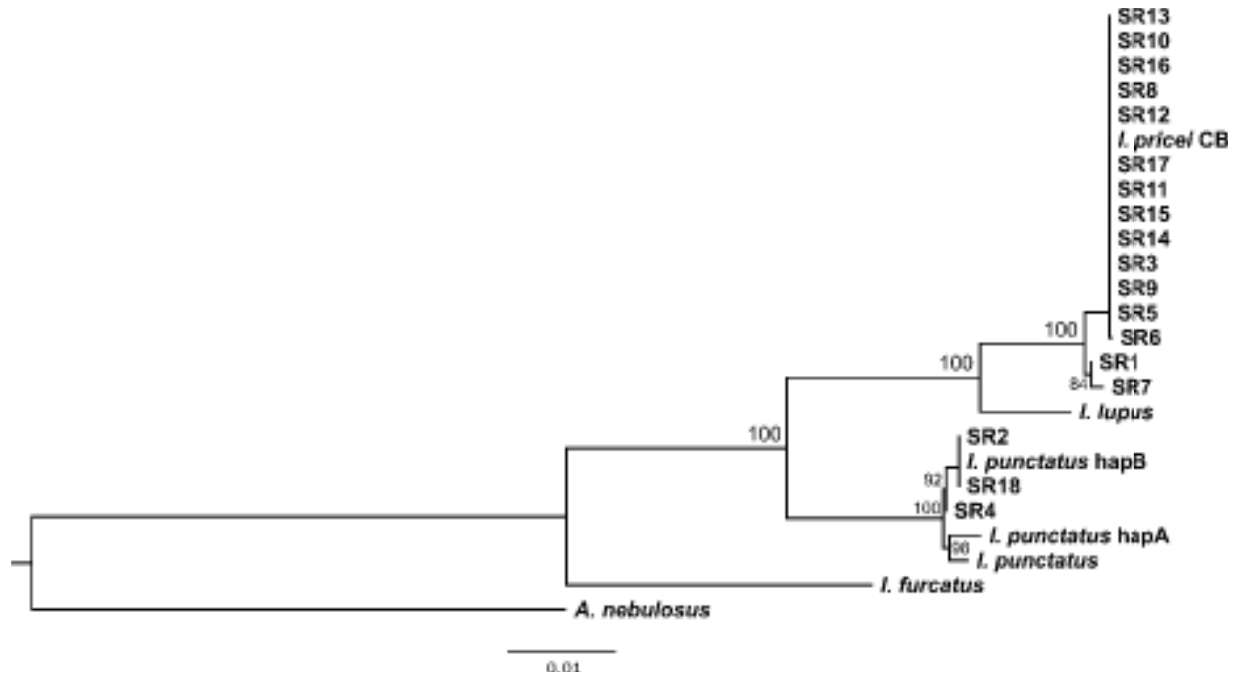
I. pricei          LALARGDSVYFLGGHIASTDCRPPRLFRLRVELLGRPLLSC EMLND
I. punctatus hapA LALAREDSVYFLGGHIASTDCRPPRLFRLRVELLGRPLLSC EMLND
I. punctatus hapB LALAREDSVYFLGGHIASTDCRPPRLFRLRVELLGRPLLSC EMLND
*****

I. pricei          PAHEYIILGGYQSDSQKRMLCTYVALDDVGI RMEPREPPEWSSEISQ
I. punctatus hapA PAHEYIILGGYQSDSQKRMLCTYVALDDVGI RMEPREPPEWSSEISQ
I. punctatus hapB PAHEYIILGGYQSDSQKRMLCTYVALDDVGI RMEPREPPEWSSEISQ
*****

I. pricei          ALIVIPSGTNPTPTDAYYFYQLNFHQEGDREDPTQTCSQESTDFEDS
I. punctatus hapA ALIVIPSGTNPTPTDAYYFYQLSFHQEGDREDPTQTCSQESTDFEDS
I. punctatus hapB ALIVIPSGTNPTPTDAYYFYQLSFHQEGDREDPTQTCSQESTDFEDS
*****

```

ANEXO 3. Árbol filogenético resuelto con el concatenado de los genes mitocondriales *Cyt-b* y *COXI* y los nucleares *RAG1* 3' y *RAG2* por máxima verosimilitud (modelo de evolución GTR + G + I) para los ejemplares del stock reproductivo (SR) de bagre Yaqui. Los números en los nodos representan los valores de soporte de 1,000 pseudo-réplicas de bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B, respectivamente.



ANEXO 4. Árbol de distancias genéticas NJ por K2P para el gen *COXI* de las secuencias de *Ictalurus*. Los valores en los nodos representan el porcentaje de Bootstrap. SR = Stock reproductivo, CB = Arroyo Cajón Bonito, hapA y hapB = *I. punctatus* haplotipos A y B.

