La trucha en Aragón: caracterización genética e introgresión

José Luis Clavero Villacampa *
Olga Mitjana Nerín **

* Gobierno de Aragón. P.º de María Agustín, n.º 36. E-50071 Zaragoza. España.
** Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. E-50071 Zaragoza. España.

Introducción

El mantenimiento de la diversidad genética presente en nuestro planeta constituye uno de los principales desafíos que el hombre debe afrontar en la conservación de los recursos biológicos. La pérdida de la variabilidad en las poblaciones naturales, resultado de siglos de evolución, puede representar un peligro para la supervivencia de una especie.

En junio de 1992 se presentó a la firma el Convenio sobre Diversidad Biológica en la conferencia de la Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y Desarrollo celebrada en Río de Janeiro. El convenio entró en vigor a finales de 1993, y en 1995 lo habían firmado más de cien países. Los objetivos generales del Convenio son: conservar la diversidad genética biológica, utilizar una biodiversidad sostenible a largo plazo y compartir lealmente las ventajas del uso de los recursos genéticos.

Los recursos genéticos y los hábitat que los mantienen podrían ser considerados como una de la posesiones de mayor valor e interés para el hombre. No obstante, en el informe del año 2004 sobre el estado mundial de la pesca y acuicultura (SOFIA) de la Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación (FAO), respecto a las poblaciones acuícolas continentales, remarca que estos recursos están infravalorados, además de estar sometidos a grandes alteraciones en su hábitat y a unas actividades pesqueras insostenibles.

Con el auge que la acuicultura ha experimentado en las últimas décadas, ha aumentado el riesgo de escapes a la naturaleza, lo que favorece la hibridación con las poblaciones naturales. Ello podría constituir una amenaza potencial para estas poblaciones. Además, la denominada acuicultura «sostenible» requiere de poblaciones naturales para su subsistencia, siendo necesario preservar la integridad del acervo genético de las mismas.

La trucha

La trucha común fue descrita por Linneo en 1758 como *Salmo trutta*, aunque también se denominaba *S. fario* y *S. lacustris*. Es una especie polimórfica, por su gran variación morfológica, fisiológica y ecológica. La trucha común puede ser clasificada en tres formas basadas en su comportamiento migratorio: anádroma, lacustre y residente. Las dos primeras realizan migración a lo largo de su vida y la residente no. La trucha anádroma migra tanto del mar (reo; *S. trutta trutta*) como de un lago (*S. trutta lacus-*

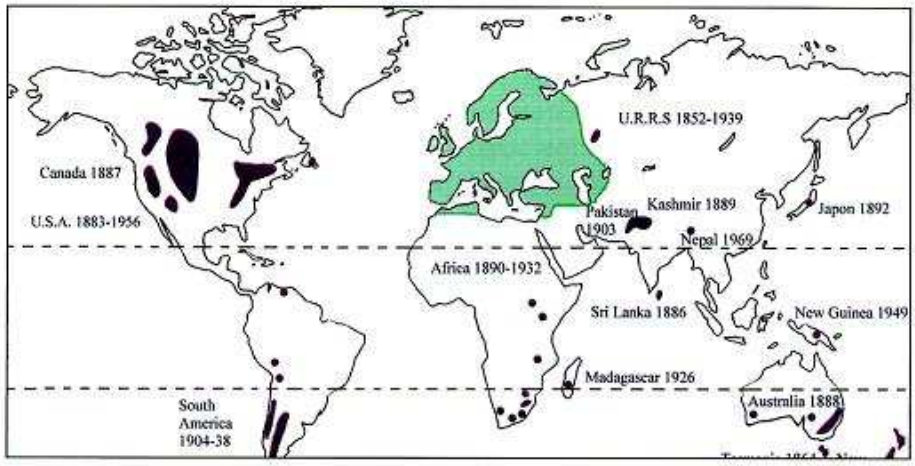

Figura 1. Distribución de la trucha común Salmo trutta *(según Elliot, 1989).*

tris) para alimentarse. En contraste, la forma de trucha común residente (*S. trutta fario*) permanece en su río de nacimiento toda su vida.

Actualmente la forma residente se encuentra distribuida por todo el rango de distribución de la especie, mientras que la forma anádroma se distribuye en la cuenca atlántica hasta la cuenca del río Miño, y prácticamente ha desaparecido en la cuenca mediterránea, excepto en el mar Negro y mar Caspio.

Las poblaciones naturales de trucha común son esencialmente europeas. Sus límites son el norte de Islandia, el norte de Escandinavia y la antigua Unión Soviética. En el oeste están definidos por la costa europea y en el sur, por la costa del mar Mediterráneo incluyendo las islas de Córcega, Cerdeña y Sicilia, así como las montañas del norte de África. Es difícil definir sus límites de distribución orientales, pero serán probablemente la cordillera de los montes Urales, el mar Caspio y el río Oronte en el Líbano, con una población aislada en el mar de Aral y sus tributarios. Además, la trucha común ha sido introducida por el hombre en al menos 34 países fuera de Europa. Las primeras introducciones fueron en Tasmania (1852), la Rusia (1864) y Nueva Zelanda (1885).

La temperatura del agua es el factor limitante que determina el éxito en la introducción de esta especie. Las localizaciones de poblaciones con trucha común tienen un régimen de temperaturas similar al de sus orígenes. Estos límites son 4 °C y 19 °C, el límite más bajo para su supervivencia es de 0 °C, y su límite más alto está entre 25 °C y 30 °C. Su crecimiento óptimo se produce entre 4 °C y 19,5 °C, y el límite para el desarrollo de los huevos está entre 0 °C y 15 °C.

Las aguas idóneas para la especie tienen un pH entre 5 y 9, están muy oxigenadas y sin contaminación orgánica. Otros factores que afectan al éxito de la especie son un adecuado sustrato para la puesta, calidad y corriente de agua, disponibilidad de comida e intensidad de predadores.

La pesca, gestión y variabilidad genética

La trucha es un pez relativamente primitivo, se conocen fósiles de hace 25 millones de años. El hombre la ha pescado desde la Edad de Piedra, y la pintura más antigua de un pescador con caña data del Antiguo Egipto y tiene sobre 4.000 años de antigüedad.

La pesca ha evolucionado lentamente a través del tiempo, pero es en el s. XV cuando se empieza a desarrollar como se conoce en la actualidad. En 1496, Juliana Berners, priora de una abadía cercana a Saint Albans, Gran Bretaña, escribió el *Tratado de pesca con caña*. Otro libro histórico que debe ser mencionado es el escrito por el también inglés Isaac Walton en 1653, *El pescador completo con caña*. Desde entonces, los pescadores no sólo se han preocupado de mejorar sus aparejos, tácticas y conocimiento de sus presas, sino que también se han dado cuenta que deben proteger su afición para que sobreviva.

Muchas de las poblaciones de truchas se encuentran disminuidas por diversas razones, algunas de ellas derivadas de la acción del hombre, tales como la degradación de hábitat, introducción de enfermedades y por sobrepesca. La repoblación con truchas criadas en piscifactorías ha sido el método más utilizado para mitigar este declive real o percibido de las poblaciones del medio natural. En Europa se repuebla en la mayoría de los países donde existen poblaciones de truchas autóctonas o nativas.

Los cambios genéticos que se producen en las poblaciones salvajes con las introducciones masivas de líneas de truchas domésticas, han sido estudiados en muchos países europeos. Estos estudios demuestran que en todos los casos se han producido tasas de introgresión más o menos importantes en las poblaciones naturales estudiadas.

El cambio genético (introgresión) es en muchos casos menor al esperado, si se tiene en cuenta los datos históricos de repoblación de más de cien años, en algunos de los ríos. Además, las repoblaciones inciden en la reducción de la variabilidad genética de las poblaciones, pudiendo sufrir un efecto de homogeneización. Pueden dar lugar, tanto a un incremento como a una disminución o simplemente no tener ningún efecto, en los cambios de la variación genética entre poblaciones.

Otro efecto que hay que tener en cuenta es que los peces repoblados pueden desplazarse. De esta manera, puede encontrase introgresión en áreas dónde no se han producido repoblaciones, incluso en reservas genéticas diseñadas inicialmente para salvaguardar las poblaciones nativas.

Aragón tiene una extensión de 47.669 km², aproximadamente la décima parte de la España peninsular y ocupa exactamente el 50% de toda la cuenca del Ebro. Los ríos aragoneses contribuyen aproximadamente con el 38% del caudal total anual medio del Ebro. Las aportaciones

proceden esencialmente de la margen izquierda, y especialmente de las cuencas del río Aragón, Gállego, Cinca y del Noguera-Ribagorzana. También cuenta con abundantes embalses. Aragón posea una tradición pescadora muy arraigada; cada año se expiden más de 60.000 licencias de pesca, número que va aumentando poco a poco. Además, la tradición histórica de nuestra comunidad en la gestión de salmónidos, viene desde 1886 con la fundación de la segunda piscifactoría española más antigua, hoy todavía en funcionamiento (piscifactoría del Monasterio de Piedra).

Estudios genéticos

En el estudio de las poblaciones de truchas los primeros trabajos de caracterización genética se realizaron en los años 60 mediante electroforesis. En los años 80 se empezaron a realizar estudios basados en el ADN mitocondrial (ADNmt), para a partir de entonces ir desarrollándose distintas técnicas moleculares para estudios de variabilidad genética, utilizando muestras obtenidas a partir de pequeñas fracciones de tejido. En estudios filogenéticos basados en el análisis del ADNmt de la trucha, se ha evidenciado que existen cinco grandes grupos evolutivos: de origen Atlántico (AT), de origen mares Negro, Caspio y Aral (DA), de origen Mediterráneo (ME), de origen Adriático (AD) y del norte del Adriático (MA), y un sexto linaje, casi totalmente restringido a la cuenca del Duero.

La diferenciación de estos grandes grupos fue causada por el aislamiento de las poblaciones de truchas euroasiáticas, durante grandes periodos de tiempo –de 0,5 a 2 millones de años– producidas por las glaciaciones del Cuaternario.

En la vertiente atlántica se aprecia la presencia de dos linajes, uno correspondiente a la cornisa cantábrica hasta el límite con Galicia, y un segundo linaje que se extendía a largo de la costa portuguesa y adentrándose en las cuencas del Tajo y Duero. En la cuenca del Duero se encuentra un grupo con un gran grado de diferenciación, que podría considerarse un nuevo linaje, denominado DU. En esta cuenca habitan dos linajes, uno más ancestral distribuido por la parte norte, y otro más moderno, distribuido en la parte sur.

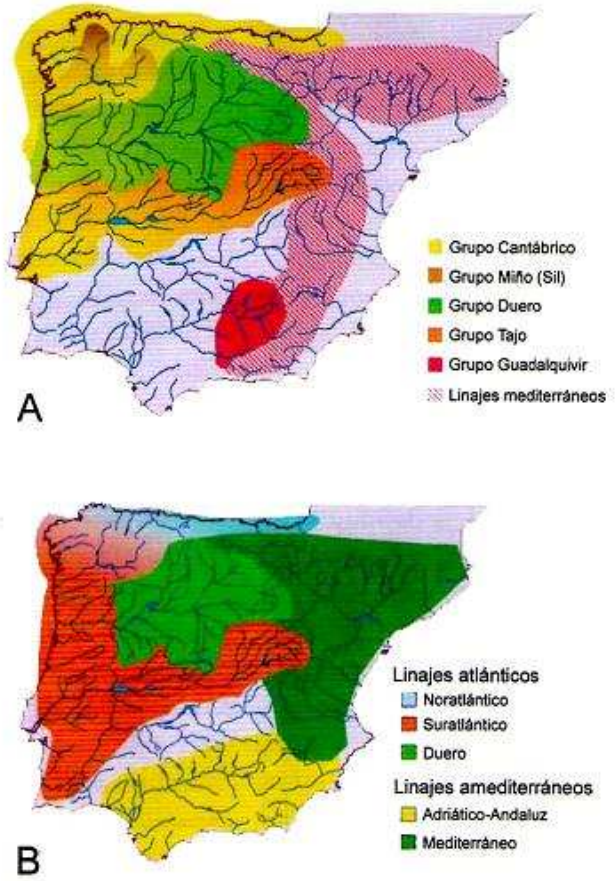

*Figura 2. **A**. Distribución de los principales grupos (linajes) de trucha común en la península Ibérica (según SUÁREZ, 2001). **B**. Distribución de la variabilidad haplotípica en el DNAmt (linajes mitocondriales) (según CORTEY, 2005).*

En el Guadalquivir se encontraron linajes mediterráneos

En la cuenca mediterránea se han encontrado linajes que se corresponden a los clasificados como ME y AD. Pero mientras los ríos de la parte sur de la península estarían ocupados por el linaje AD, desde el Segura hacia el norte estaría extendido el linaje ME, siendo la parte del Segura una zona de convivencia de ambos linajes. Posteriormente, se encontró que la distribución de ambos linajes no estaba tan definida y que formaban una colonización en forma de mosaico.

Los estudios genéticos del ADN nuclear en las poblaciones de truchas son anteriores a los llevados a cabo con ADNmt. En estos estudios, se puso de manifiesto la existencia de dos grandes linajes evolutivos, uno denominado «ancestral» distribuido por el Sur del continente europeo, y otro llamado «moderno», el cual se distribuiría en la zona norte de Europa. Posteriormente, se diferenciaron tres grandes grupos:

- Grupo Mediterráneo-Caspio.
- Grupo Sur-Atlántico.
- Grupo Centro-Europeo.

Conocimiento de la situación en Aragón y trabajos realizados

Los trabajos realizados por el Dr. José Luis García Marín en 1992, sentaron las bases de la caracterización genética de las poblaciones de la trucha común en España. Por otra parte, en los últimos 60 años, en Aragón se habían estado realizando repoblaciones sistemáticas con truchas alóctonas de origen centroeuropeo criadas en piscifactoría, lo cual originó la necesidad de conocer el grado de introgresión genética que estas líneas repobladas habían producido en nuestras truchas salvajes.

Para obtener la caracterización genética de las poblaciones de trucha de Aragón y determinar su grado de introgresión, se ha realizado un plan de muestreo en tramos altos y medios de las cuencas de los afluentes del Ebro, así como en el nacimiento del Tajo y en los ríos aragoneses de la cuenca del Júcar. Los muestreos fueron realizados entre 1998 y 2005, con la ayuda del personal de la Guardería del Departamento de Medio Ambiente del Gobierno de Aragón. Se eligieron tramos de ríos, próximos a las cabeceras, con el fin de encontrar las áreas de un «posible refugio» de las truchas comunes autóctonas. También se contó con muestras de truchas autóctonas de la cuenca del Duero como control.

Toma de muestras

Las truchas se capturaron mediante dos equipos de pesca eléctrica. El propósito de la pesca eléctrica no es matar a los peces, sino hacer que naden hacia el ánodo (electrotaxis), donde quedan paralizados (electronarcosis) durante un periodo corto de tiempo, el cual se aprovecha para la manipulación y extracción de las muestras.

Figura 3. Pesca eléctrica (izda.) y toma de muestras de un ejemplar de trucha.

El muestreo de cada punto se realizó en un recorrido medio de 100-400 metros, en los cuales se recogían una media de 10-20 individuos. Este tamaño medio por punto de muestreo se determinó en base a su adecuada representatividad genética. Este método de captura asegura que la muestra sea genéticamente representativa y minimiza la posibilidad que los peces pertenezcan a una o pocas familias.

Una vez capturados los ejemplares de trucha fueron fotografiados y a continuación, usando material estéril, se procedió a la disección total o parcial de su aleta adiposa, según el tamaño del pez, lo que no comprometía su supervivencia.

Figura 4. Trucha pirenaica.

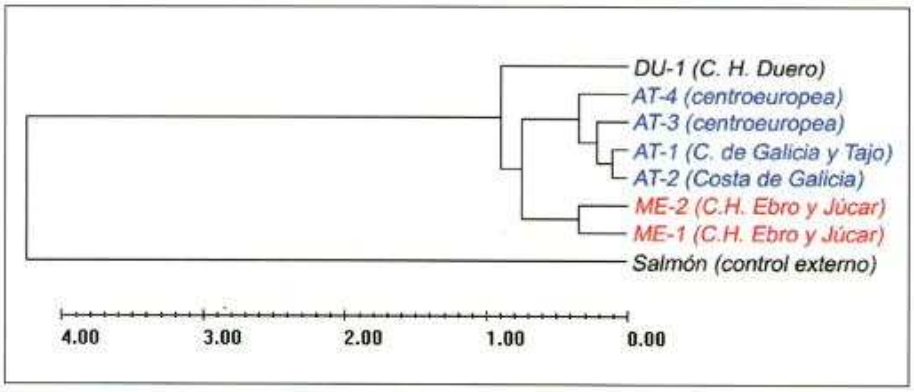

Figura 5. Dendograma «UPGMA».

La aleta adiposa es un vestigio residual característica de algunos peces como los salmónidos. Está constituida por tejido adiposo, por lo que es una muestra ideal para usar en los estudios de ADN. Una vez obtenida, era almacenada en un tubo ependorf.

La trucha era devuelta al río, recuperándose pocos segundos después. Las muestras colocadas en gradillas eran transportadas al laboratorio en una nevera y allí se almacenaban en ultracongelación a -80 ºC hasta su procesado.

Finalmente, se capturaron ejemplares de trucha común de los centros piscícolas gestionados por la Diputación General de Aragón: monasterio de Piedra (Zaragoza), Planduviar (Huesca) y Los Pajares (Teruel). Se obtuvieron muestras al azar de individuos adultos. A los ejemplares, se les cortó la aleta adiposa almacenándose con el mismo procedimiento.

Análisis de ADNmt

Se amplificaron dos dominios del ADNmt: fragmento A y fragmento B mediante tecnología PCR (Polimerase Chain Reaction). Tras la amplificación de estos fragmentos se procedió a su análisis con diferentes enzimas de restricción que cortaran el fragmento amplificado por sitios específicos, y de este modo, se obtuvo un perfil de bandas en electroforesis muy similar al perfil de un código de barras, de forma que los distintos haplotipos de trucha común presentarán un perfil característico.

En el análisis de restricción del fragmento A, se identificaron 7 genotipos mitocondriales diferentes. Los haplotipos autóctonos mediterráneos (ME-1 y ME-2) fueron identificados en cuencas mediterráneas aragonesas (del Ebro y Júcar). Los haplotipos autóctonos atlánticos AT-1 fueron identificados en cuencas fluviales de Aragón (río Tajo en Teruel) y de las rías gallegas (AT-2). Los haplotipos AT-3 y AT-4 son alóctonos de origen centroeuropeo, que fueron usados en las repoblaciones. El DU-1 es un haplotipo autóctono procedente de ríos de la cuenca del Duero.

La representación gráfica de las distancias genéticas revela tres agrupamientos filogenéticos principales: 1) un grupo Mediterráneo (ME-1 y ME-2) que incluiría la trucha común autóctona en los ríos de las cuencas del Ebro y Júcar, 2); otro de origen «atlántico» constituido por genotipos autóctonos del río Tajo en Teruel (AT-1) y de las cuencas del norte de España (AT-2), así como por genotipos alóctonos (AT-3 y AT-4) importados de Centroeuropa; y, finalmente, 3) un linaje «autóctono» exclusivo para la cuenca del Duero (DU- 1) que posiciona entre los dos agrupamientos anteriores.

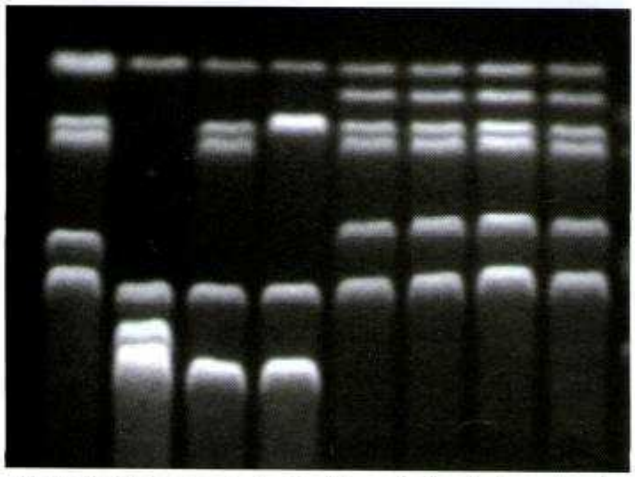

Figura 6. Patrones electroforéticos de los distintos haplotipos mitocondriales encontrados tras amplificación del fragmento B del ADNmt.

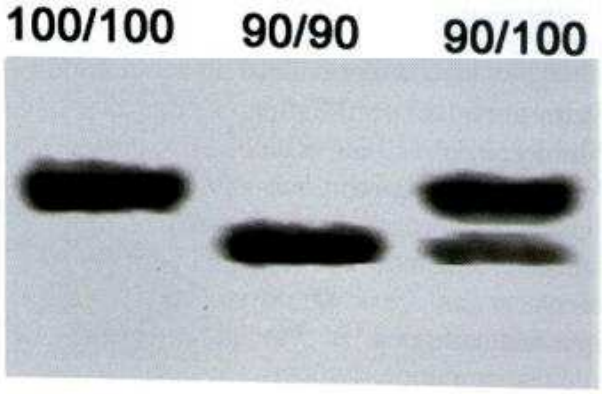

Figura 7. Patrón de bandas del gen LDH-C1.

Análisis de ADN nuclear

Se trabajó con el locus de la lactato deshidrogenasa. En este locus, las truchas autóctonas son homocigóticas para el alelo *100, mientras que las alóctonas presentes en las piscifactorías lo son para el alelo *90. De esta manera, la frecuencia relativa del alelo *90 en las poblaciones naturales permite estimar los efectos de las repoblaciones sobre los patrimonios genéticos nativos. Consideraremos la presencia del alelo *90 como un indicador evidente de introgresión genética en las poblaciones de trucha autóctona.

A través del estudio del gen que codifica para la LDH-C1* se puede determinar el grado de pureza o hibridación entre los distintos linajes. El alelo C1*100 es el mas ancestral presente en las truchas ibéricas autóctonas. El alelo C1*90 (moderno) es característico de las truchas centroeuropeas que han sido introducidas mediante repoblaciones. Las truchas de origen atlántico autóctonas, localizadas en las cuencas del Tajo, Duero, cantábricas y gallegas, presentan el alelo C1*100.

Los individuos analizados con esta técnica pueden presentar los siguientes patrones:

- Alelos 100/100: en ausencia de evidencias probando que el alelo 90* no fuese identificado en la cuenca muestreada, el individuo en cuestión se considera como autóctono.
- Alelos 90/100: el individuo es considerado un híbrido.
- Alelos 90/90: el individuo es considerado de origen atlántico y centroeuropeo.

Estos trabajos han permitido definir los linajes genéticos presentes en Aragón, y el grado de introgresión que presentan las poblaciones de trucha de nuestras subcuencas hidrológicas, así como la localización de los reservorios genéticos de las poblaciones autóctonas en pureza los cuales deberán constituir, sin duda, la base de trabajos posteriores para conocer la evolución genética de las mismas, siendo un soporte imprescindible en la toma de decisiones mas ajustadas y sostenibles para la gestión de estas poblaciones y de las actividades que sobre ellas se realizan.

Referencias bibliográficas

CORTEY, M. 2005. *Filogeografia de la truita comuna* (Salmo trutta) *basada en la diversitat molecular del DNA mitocondrial*. Tesis Doctoral. Universitat de Girona.

ELLIOT, J. M. 1989. Wild brown *Salmo trutta*: an important nacional and internacional resource. *Freshwater biology*, **21**, pp. 1-5

SUÁREZ, J., BAUTISTA L., ALMODOVAR A. and MACHORDOM, A. 2001. Evolution of the mitochondrial control region in Palaeartic brown trout (*Salmo trutta*) populations: the biogeographical role of the Iberian Peninsula. *Heredity*, **87**, pp. 198-206.

Nota:
Trabajo realizado a partir de la tesis doctoral de O. MITJANA NERÍN (2010):
Caracterización genética, Reproducción, Adaptación a la cría en cautividad y respuestas a Medidas de Gestión de la trucha común autóctona.
Facultad de Veterinaria
Universidad de Zaragoza. 265 pp.

llenar de vida el territorio

Comarcalización de Aragón

GOBIERNO DE ARAGON
Departamento de Presidencia y Relaciones Institucionales