CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE TRUCHA COMÚN AUTÓCTONA EN ARAGÓN

Larrayad, R.[1,2], Villalta, M.[1,3], Marín, C.M.[1] y Blasco, J.M.[1]
[1]Unidad de Sanidad Animal, S. I. A./ D.G.A. (Zaragoza)
[2]Dirección General del Medio Natural, D.G.A. (Zaragoza)
[3]Servicios Veterinarios Oficiales de Salud Pública, D.G.A. (Albarracín-Teruel)

INTRODUCCION

La trucha común, *Salmo trutta L.*, es una especie originaria de Eurasia y Norte de Africa con una amplia distribución natural que presenta distintas variantes ecológicas, así como una enorme plasticidad fenotípica. En nuestra Comunidad Autónoma los estudios de caracterización en esta especie son mínimos y, en consecuencia, se desconoce la estructura genética de las distintas poblaciones de trucha común que existen, su relación filogenética y, en última instancia, la distribución de su variabilidad genética. A su vez, estos parámetros diagnósticos del estado de conservación de nuestras poblaciones autóctonas son de gran interés -si no imprescindibles- para catalogar esta especie e implementar cuantos programas de protección, conservación o recuperación sean necesarios. En las últimas décadas la destrucción de hábitats, la disminución de caudales, la introducción de especies exóticas y, en particular, una excesiva presión de pesca, han contribuido a un considerable declive de los efectivos poblacionales de trucha autóctona. Esta circunstancia condujo a las distintas administraciones de gestión de pesca fluvial a realizar repoblaciones masivas con líneas domesticadas de trucha importadas de Centroeuropa -genotipos atlánticos, fundamentalmente -, para mantener una masa pescable. Sin embargo, estas medidas lejos de mejorar la situación introducen un grave problema derivado de la introducción de profundas modificaciones en el acervo genético de nuestras poblaciones originales mediterráneas que se traduce, desde una óptica conservacionista, en una progresiva dilución de sus genes adaptativos autóctonos (García-Marín et al., 1996; Giuffra et al., 1996). En este trabajo se han caracterizado distintas poblaciones de trucha común existentes en determinados ríos aragoneses, identificando las autóctonas para un posterior análisis de su estado de conservación. Para ello, se ha utilizado como marcador molecular DNA mitocondrial (mtDNA) (Bernatchez et al., 1992) y un método analítico "no invasivo" basado en tecnología PCR-RFLPs (Villalta et al., 1998).

MATERIAL Y MÉTODOS

Nuestro trabajo se ha basado en el estudio de diferentes dominios del mtDNA que suponen un 40% de la extensión de este genoma. En particular, utilizando tecnología PCR, se han amplificado 2 regiones: *i)* un fragmento ***a*** de 2.75 Kb, que incluye el extremo 3' del gen citocromo b (78% de la secuencia), la zona de control o D-loop que regula la transcripción y replicación de la molécula, el extremo 5' del gen RNA ribosómico 12S (rRNA 12S) (67% de la secuencia) y diferentes RNAs de transferencia (tRNAs) y, *ii)* un fragmento ***b*** adyacente de 3.8 Kb, que comprende el extremo 3' del gen rRNA 12S (33% de la secuencia), el gen rRNA 16S, el de la subunidad ND-1 y distintos tRNAs. La posterior caracterización de estos fragmentos se llevó a cabo mediante digestión con enzimas de restricción (RFLPs) (Villalta et al., 1998). Para ello, se utilizó un procedimiento analítico que no comprometía la supervivencia de las truchas estudiadas, consistente en: 1) captura mediante electronarcosis, 2) biopsia de su aleta adiposa, 3) fotografiado y 4) devolución al río. La extracción del DNA se realizó mediante un método de digestión con proteinasa K y purificación con fenol-cloroformo (Villalta et al., 1997). Se han muestreado distintos tramos pertenecientes a 12 ríos aragoneses de la cuenca del Ebro: Huecha, Pancrudo, Veral, Eriste, Isábena, Jiloca, Llisat, Isuela, Esera, Mesa, Piedra y Guadalaviar. Además se muestreó una piscifactoría oficial del Gobierno de Aragón

(río Ara). Como control externo, se analizaron ejemplares procedentes de otras cuencas: el río Pedroso de la cuenca del Duero (Burgos) y la Ría de Camariñas en la cuenca Atlántica (La Coruña). Finalmente, también se estudiaron ejemplares de un río de la cuenca del Ebro, localizado en otra Comunidad Autónoma (río Rudrón en Burgos).

RESULTADOS Y DISCUSION

Del análisis de restricción (RFLPs) realizado en cada uno de los fragmentos ***a*** y ***b*** amplificados, se identificaron 7 y 8 enzimas informativos, respectivamente, que producían un perfil electroforético característico (haplotipo) de mtDNA. Para el fragmento ***a***, los enzimas HpaII, AluI, TaqI, DdeI, FokI y HinfI mostraron la existencia de 2 haplotipos mitocondriales (denominados A y B), mientras que el enzima MboI identificó 3 haplotipos diferentes (A, B y C). En el caso del fragmento ***b***, los enzimas Sau96I, TaqI, DdeI, FokI y HaeIII permitieron identificar 2 haplotipos (A y B), los enzimas HpaII y AluI 3 (A, B y C) y, finalmente, el enzima RsaI, que fue el más resolutivo, identificó 4 haplotipos característicos (A, B, C y D). Los "genotipos mitocondriales" para cada individuo analizado se asignaron como la sucesión de letras que representaban los distintos haplotipos de mtDNA detectados para ambos fragmentos amplificados. Utilizando esta nomenclatura, se han definido 7 genotipos de mtDNA de los que 4 corresponden a poblaciones autóctonas y 3 a poblaciones alóctonas o de piscifactoría (Tabla). En particular, el genotipo denominado AAAAAAA-AAAAAAAA se asocia con la trucha común autóctona del Ebro de origen macrogeográfico mediterráneo, mientras que el genotipo BABAAAA-CABBBAAB es exclusivo de poblaciones autóctonas de la cuenca del Duero (río Pedroso). Ambos tipos de trucha autóctona mostraron rasgos fenotípicos distintivos bien diferenciados de los que caracterizan a las truchas de repoblación. A su vez, también se identificaron dos genotipos (ABBBABB-DBABABBA y ACBBABB-DBABABBA) asociados presumiblemente con poblaciones autóctonas de origen atlántico (Ría de Camariñas), al presentar genotipos diferentes a los de la trucha de repoblación de origen atlántico. Por el contrario, en el caso de truchas de repoblación o alóctonas se han identificado 2 genotipos atlánticos (ABBBBBB-DBBAAABA y BBBBABB-DCBCAABA) que presentan rasgos fenotípicos muy similares entre sí pero muy diferentes de los de exhiben las truchas autóctonas anteriores. Asimismo, hemos encontrado otro genotipo alóctono, ABBBAAA-BBAAAABA, con rasgos fenotípicos propios que difieren de los exhibidos tanto por truchas autóctonas como alóctonas de origen atlántico y cuyo origen macrogeográfico es todavía desconocido. Como se deduce de la Tabla, 5 de los ríos aragoneses presentaron truchas autóctonas exclusivamente, otros 4 truchas autóctonas y alóctonas en proporción variable y, finalmente, 3 de ellos sólo poseían ejemplares repoblados. En el ríos usados como control externo (Rudrón y Pedroso) se identificaron igualmente frecuencias variables tanto de truchas autóctonas como de repoblación. Debe añadirse que en aquellos ríos donde coexisten poblaciones autóctonas y alóctonas, la introgresión genética (hibridación) es un hecho bien documentado en España (García-Marín et al., 1996). En consecuencia, este estudio confirma el alto poder de resolución del marcador molecular utilizado (mtDNA), así como su enorme utilidad práctica para una rápida caracterización genética, con la ventaja de que el método no supone el sacrificio del ejemplar. En contrapartida, este marcador no resulta útil para la detección de híbridos al ser de transmisión materno-clonal. De hecho, los individuos identificados como autóctonos en la piscifactoría estudiada resultaron ser híbridos de trucha autóctona mediterránea con los 3 tipos de trucha de repoblación, siendo indiferenciables desde el punto de vista fenotípico. Finalmente, nuestros resultados coinciden con los de otras Comunidades Autónomas (García-Marín et al., 1996) y ponen en evidencia el delicado estado de conservación de esta especie y el grave problema derivado de las repoblaciones.

Tabla 1. Frecuencia (%) y origen macrogeográfico (ME: mediterráneo; AT: Atlántico; ----: desconocido) de los genotipos de mtDNA encontrados, su asociación con el tipo de trucha (A: Autóctona; R: Repoblación) y porcentaje de repoblación inferido en los ríos muestreados.

Ríos	Genotipo mitocondrial	Frecuencia de genotipos (%)	Origen	Tipo de trucha	% truchas repoblación
Huecha	AAAAAAA-AAAAAAAA	100%, n=10	ME	A	0 %
Pancrudo	AAAAAAA-AAAAAAAA	100%, n=8	ME	A	0 %
Veral	AAAAAAA-AAAAAAAA	100%, n=13	ME	A	0 %
Eriste	AAAAAAA-AAAAAAAA	100%, n=24	ME	A	0 %
Isabena	AAAAAAA-AAAAAAAA	100%, n=26	ME	A	0 %
Jiloca	AAAAAAA-AAAAAAAA	58.1%, n=18	ME	A	41.9%*
	ABBBBBB-DBBAAABA	41.9%, n=13	AT	R	
Rudrón	AAAAAAA-AAAAAAAA	44.4%, n=8	ME	A	55.6%*
	ABBBAAA-BBAAAABA	16.7%, n=3	---	R	
	ABBBBBB-DBBAAABA	16.7%, n=3	AT	R	
	BBBBABB-DCBCAABA	22.2%, n=4	AT	R	
Llisat	AAAAAAA-AAAAAAAA	33.3%, n=7	ME	A	66.7%*
	ABBBAAA-BBAAAABA	66.7%, n=14	---	R	
Isuela	AAAAAAA-AAAAAAAA	30.8%, n=8	ME	A	69.2%*
	ABBBAAA-BBAAAABA	23.1%, n=6	---	R	
	ABBBBBB-DBBAAABA	46.1%, n=12	AT	R	
Esera	AAAAAAA-AAAAAAAA	9.1%, n=1	ME	A	90.9%*
	ABBBAAA-BBAAAABA	63.6%, n=7	---	R	
	ABBBBBB-DBBAAABA	27.3%, n=3	AT	R	
Mesa	ABBBAAA-BBAAAABA	100%, n=12	---	R	100%
Piedra	ABBBAAA-BBAAAABA	60%, n=6	---	R	100%
	ABBBBBB-DBBAAABA	40%, n=4	AT	R	
Guadalaviar	ABBBAAA-BBAAAABA	70 %, n=7	---	R	100%
	ABBBBBB-DBBAAABA	30 %, n=3	AT	R	
Pedroso	BABAAAA-CABBBAAB	82.4%, n=14	---	A	17.6%*
	ABBBBBB-DBBAAABA	17.6%, n=3	AT	R	
Camariñas	ABBBABB-DBABABBA	50%, n=5	AT	A	0 %
	ACBBABB-DBABABBA	50%, n=5	AT	A	
Piscifactoría (río Ara)	AAAAAAA-AAAAAAAA	31.1%, n=14	ME	R	100%
	ABBBAAA-BBAAAABA	31.1%, n=14	---	R	
	ABBBBBB-DBBAAABA	28.9%, n=13	AT	R	
	BBBBABB-DCBCAABA	8.9%, n=4	AT	R	

[a] los porcentajes de trucha autóctona indicados podrían ser menores por la posible existencia de híbridos y, en consecuencia, los porcentajes de repoblación indicados con * podrían ser superiores.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bernatchez et al., 1992, Molecular Ecology, 4:285-397.

García-Marín et al., 1996; Heredity, 77: 313-323.

Giuffra et al., 1996, Molecular Ecology, 5:2, 207-220.

Villalta et al., 1997, Theriogenology, 41 (1): 410 (abstract).

Villalta et al., 1998, Cahiers Options Méditerranéennes, 34: 247-264.