



UNIVERSIDAD  
DEL PAIS VASCO

EUSKAL HERRIKO  
UNIBERTSITATEA

**SUSTITUCIÓN DE UNA POBLACIÓN  
HÍBRIDA DE TRUCHA COMÚN POR UNA  
LÍNEA AUTÓCTONA DEL ALTO VALLE DEL  
EBRO EN EL RÍO PURÓN (P.N.  
VALDEREJO). Fase 1. Ampliación del  
estudio genético a un mayor tamaño  
muestral del río Purón (2007).**



**Benjamín Gómez Moliner  
Maria José Madeira**

**Diciembre 2007**

En el presente informe, solicitado y financiado por el Servicio de Conservación de la Naturaleza del Departamento de Urbanismo y Medio Ambiente de la Diputación Foral de Álava, se muestran los resultados del estudio de cuantificación de la introgresión genética en la población de truchas del río Purón, obtenidos a partir de muestras capturadas en dos tramos situados a diferentes alturas, dentro del P. N. de Valderejo.

## **ANTECEDENTES**

Durante los últimos siete años, y a instancias del Servicio de Conservación de la Naturaleza de la Diputación Foral de Álava, el Laboratorio de Zoología de la Facultad de Farmacia de la UPV/EHU viene realizando el estudio de caracterización de las poblaciones de trucha común de Álava mediante técnicas de Biología Molecular. Hasta el momento son 26 las poblaciones caracterizadas mediante el análisis del locus LDH-C\* y el fragmento de ADN mitocondrial NDH 5/6-cit b, con el fin de evaluar el grado de introgresión genética en aquellas poblaciones sometidas a diferentes regímenes de repoblación e identificar los diferentes ecotipos mitocondriales que caracterizan a los ejemplares de trucha de Álava. En estos momentos, y en función de los resultados obtenidos, se tiene un conocimiento muy amplio de los niveles de introgresión genética que persisten en los diferentes cauces fluviales de la provincia, como resultado de los programas de repoblación efectuados con animales de piscifactoría de origen centroeuropeo.

Al mismo tiempo, este laboratorio ha desarrollado un método de análisis, conjugando el estudio de marcadores de microsatélites con tratamientos estadísticos bayesianos, que permite cuantificar con gran precisión y a nivel individual la presencia de alelos foráneos procedentes de la introducción de truchas de piscifactoría o de otra cuenca fluvial diferente a la que pertenece cada ejemplar analizado. Este método nos ha permitido identificar cuáles son las mejores poblaciones alavesas de trucha común autóctona, libres de contaminación genética procedente de ejemplares de repoblación.

## **INTRODUCCIÓN**

Una condición necesaria para poder desarrollar una gestión efectiva en el Territorio Histórico de Álava consiste en realizar un seguimiento de las mejores poblaciones de trucha común autóctona presentes, con el fin de poder establecer

cuáles son los tramos de ríos en los que los persisten poblaciones de trucha común libres de contaminación genética y que, por tanto, requieran una mayor protección, pasando a ser catalogadas como reservas genéticas. Una segunda medida de gestión consiste en recuperar poblaciones de trucha autóctona en aquellos tramos de ríos en los que la hibridación es total, sustituyendo las poblaciones de truchas híbridas por animales de características genéticas nativas. Cualquiera de estas dos medidas precisa de la aplicación de técnicas que nos permitan certificar la naturaleza autóctona de las poblaciones a proteger, o de los individuos a traslocar.

El locus LDH-C\* es uno de los marcadores genéticos conocidos más importantes en el estudio de la filogenia y genética de poblaciones de la trucha común (Hamilton y col., 1989). Hoy en día es el único marcador molecular que permite diferenciar en la península Ibérica los ejemplares alóctonos de trucha común que se emplean en las líneas de piscifactoría de aquellos animales que habitan de forma natural en los ríos ibéricos. Este locus codifica entre otros, los alelos \*90 y \*100 que definen dos linajes diferentes dentro del rango de distribución natural de la trucha común. La variante alélica \*90 aparece fijada en las poblaciones del centro y norte de Europa, de las que proceden los ejemplares que tradicionalmente han sido empleados en la Península como “estocs” de repoblación. La variante \*100 caracteriza a las poblaciones de trucha que habitan de forma natural los ríos del sur de Europa, incluyendo la península Ibérica. En éste y otros estudios previos realizados sobre las poblaciones de trucha común de la C.A.V, también se ha aplicado el análisis del locus LDH-C\*, según el método desarrollado por McMeel y col. (2001), con el fin de determinar el origen alóctono o autóctono de cada uno de los ejemplares analizados y cuantificar el grado de introgresión genética en aquellas poblaciones sometidas a diferentes intensidades de repoblación.

Sin embargo, este locus permite detectar los ejemplares de piscifactoría (LDH-C\* 90/90) y los ejemplares híbridos de primera generación (LDH-C\*100/90), pero no nos permite identificar los ejemplares híbridos de segunda o posteriores generaciones con genotipo LDH-C\*100/100 procedentes, por ejemplo, de un cruce entre ejemplares híbridos (genotipo \*100/90) y un ejemplar nativo (\*100/100). De esta forma, a la hora de certificar que un ejemplar de trucha está completamente libre de genes alóctonos, los estudios no deben basarse únicamente en los resultados obtenidos del análisis del locus LDH-C\*. De manera errónea se podrían estar escogiendo ejemplares portadores del genotipo que caracteriza a las truchas nativas (LDH-C\*100/100) para un locus,

pero que en realidad resultasen ser animales híbridos de segunda o posteriores generaciones y que fueran portadores de genes alóctonos.

En el año 2006 hemos desarrollado un método basado en el análisis de marcadores de microsatélites y la aplicación de métodos estadísticos bayesianos (Madeira (2006), como una herramienta adicional al análisis del locus LDH-C\* para detectar de forma más precisa indicios de introgresión genética, así como para evaluar el grado de introgresión a nivel individual de los ejemplares híbridos. El uso de estos marcadores moleculares no requiere el sacrificio de los animales, al contrario de lo que ocurre cuando se trabaja con algunos loci enzimáticos. En este caso, una única muestra de escamas de cada animal, permite analizar una amplia batería de marcadores de microsatélites. Además su alta tasa de mutación permite detectar alelos diagnóstico o frecuencias alélicas características de cada una de las poblaciones analizadas, lo cual resulta muy útil cuando se pretenden estimar las diferencias genéticas existentes entre las distintas poblaciones de trucha común a escala microgeográfica y evaluar las relaciones genéticas existentes entre las distintas poblaciones.

Según los datos procedentes de los estudios realizados, podemos decir que de las 26 poblaciones analizadas en Álava, únicamente dos están completamente libres de introgresión genética: la población del río Inglares en Peñacerrada y la población del arroyo Uyarra, en Contrasta. Su estructura genética es, por otro lado diferente, de forma que mientras la población de Peñacerrada es monomórfica para el haplotipo BBAAA, la de Contrasta es monomórfica para el haplotipo BBCDA.

En cuanto al río Purón, población objeto de este estudio, se han realizado hasta el momento dos análisis utilizando técnicas moleculares. El primero de ellos se llevó a cabo en 1998 por parte del personal investigador de la Universidad de Oviedo mediante un estudio de electroforesis de isoenzimas sobre la LDH-C\*. De los 20 individuos analizados en ese año, cinco (25%) resultaron ser homocigotos 100/100, otros once (55%) eran híbridos y los otros cuatro (20%) eran homocigotos para el alelo \*90. El segundo se efectuó en el año 2001 en nuestro laboratorio, y los resultados obtenidos del análisis realizado a 20 ejemplares mostraron un elevado porcentaje de ejemplares híbridos (80%), siendo muy bajo el número de ejemplares homocigotos \*100/100 (15%). Además, también se detectó la presencia de un 5% de individuos portadores del alelo \*90 en homocigosis. Se calcula que esta población presentaba en el 2001 un porcentaje de introgresión genética del 45%. En ambos estudios se

observa que el porcentaje de animales heterocigotos es el mayoritario, si bien éste es muy superior en el año 2001, mientras que han descendido los animales homocigotos para ambos alelos.

Por otra parte en el año 2001, además del análisis del locus LDH-C\*, también se llevó a cabo un análisis del ADNmt con el fin de describir el ecotipo de las truchas del río Purón, según la metodología desarrollada por Machordom y col. (2001). Los resultados mostraron una presencia mayoritaria del haplotipo AAAAA (65%) propio de las truchas centroeuropeas, mientras que el 35% de individuos restantes portaban el haplotipo BBCDA característico de las truchas mediterráneas de la Península Ibérica. Sin embargo, la totalidad de ejemplares de ecotipo mediterráneo (BBCDA) resultaron ser híbridos (35%). Atendiendo a este dato y teniendo en cuenta el elevado número de individuos AAAAA portadores del alelo \*90, el origen de las truchas portadoras del haplotipo mediterráneo e híbridas ha sido consecuencia del cruzamiento entre ejemplares autóctonos y centroeuropeos. Estos datos demuestran que se ha producido una introgresión genética que afecta a toda la población de truchas del Purón, no quedando ejemplares autóctonos inalterados. Por otro lado, se aprecia una alta proporción de animales AAAAA, lo que manifiesta que se está produciendo una sustitución de los animales nativos del Purón por animales de origen centroeuropeo.

El origen de esta introgresión genética se debe a la repoblación que se efectuó en los años 1985/1986. No existen datos sobre repoblaciones posteriores, lo que indica que la introgresión ha perdurado a lo largo de los últimos 20 años, no habiendo indicios de una recuperación natural de las características genéticas propias de las truchas de este río.

## **OBJETIVO DEL ESTUDIO**

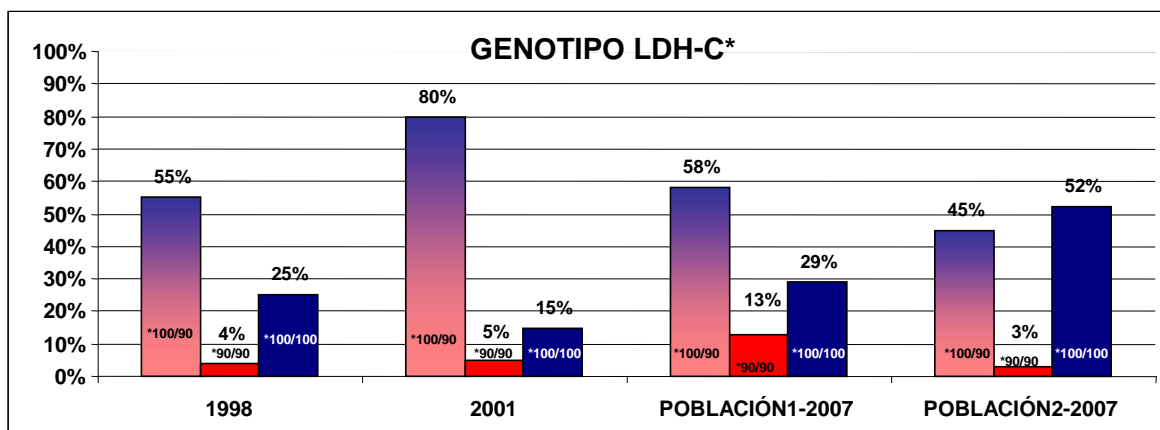
Dado que hasta el momento el número de ejemplares analizados para esta población se reduce a 20 ejemplares para el año 1998 y otros 20 para el 2001, con este estudio se pretende examinar un mayor número de ejemplares procedentes del río Purón y capturados en diferentes zonas, lo que permitirá evaluar si los problemas de introgresión genética por parte de ejemplares centroeuropeos de piscifactoría son extensibles a toda la población de truchas de este río.

Para ello se ha procedido a caracterizar mediante el análisis del locus LDH-C\* y la región mitocondrial ND 5/6-cit b a 62 individuos capturados en dos tramos diferentes dentro del río Purón en el interior del P. N. de Valderejo. Estos animales fueron pescados mediante el método de la pesca eléctrica con ayuda de D. Ramiro Asensio, Biólogo de la Federación Territorial de Pesca de Álava y del Servicio de Guardería del Parque. Inmediatamente después de su captura fueron anestesiados, tras lo que se procedió a recoger una muestra de escamas, reanimados y devueltos al río.

De confirmarse los datos de introgresión genética del 2001 para este mayor tamaño muestral, quedaría justificado el despesque o extracción de toda la población de truchas del río Purón con el fin de sustituir la actual población fuertemente introgresada, por una nueva establecida mediante la traslocación de ejemplares reproductores autóctonos del Alto Valle del Ebro y su posterior reproducción en condiciones naturales en este nuevo enclave.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para el locus LDH-C\* se muestran en el siguiente gráfico, donde además se reflejan también los resultados obtenidos anteriormente en los años 1998 y 2001:



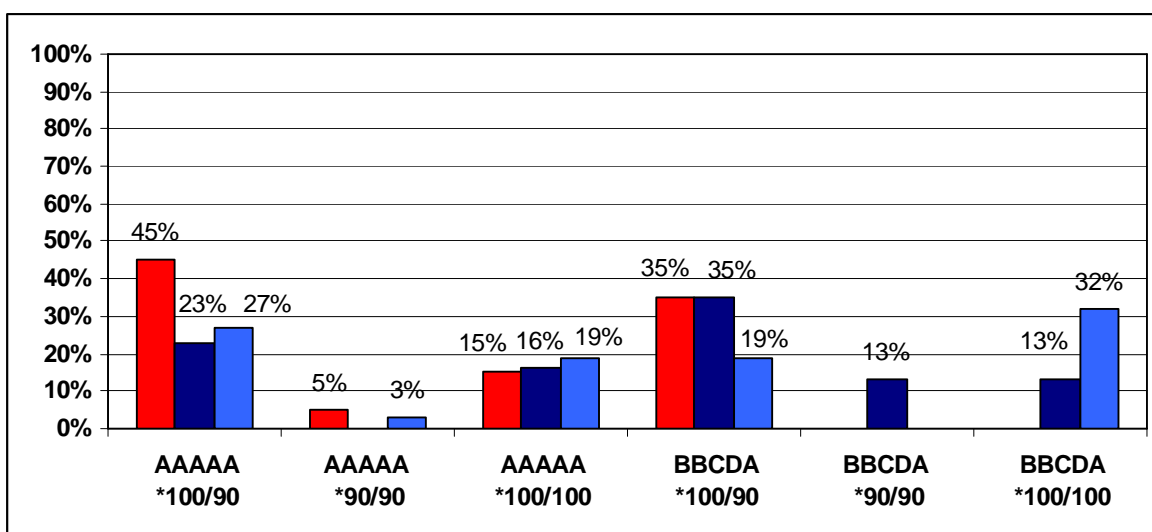
**Figura 1. Proporción de los genotipos obtenidos para el locus LDH-C\***

Para la Población 1, situada en la localidad de Ribera (UTM: VN8128.4493), se observa un porcentaje de introgresión genética del 42%, muy cercano al 45% detectado en 2001 por este mismo laboratorio. Esta introgresión es debida

principalmente a la presencia de un 58% de ejemplares híbridos \*100/90, inferior al 80% detectado en 2001, pero superior al índice del 55% señalado en 1998 por la Universidad de Oviedo. Cabe destacar el 13% de ejemplares homocigotos \*90/90 detectado en esta población que supera el 4% y 5% de años anteriores y que demuestra la prevalencia de este alelo alóctono en la población.

En la Población 2, situada aguas arriba de la anterior (UTM: VN8125.4359) el índice de introgresión genética disminuye hasta un 26%, debido principalmente a que se detecta un mayor número de ejemplares homocigotos \*100/100 (52%), genotipo que caracteriza a los ejemplares de trucha ibérica. Del mismo modo, el porcentaje de ejemplares híbridos \*100/90 (45%) y homocigotos \*90/90 (3%) es el más bajo de los 4 análisis realizados hasta el momento. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el hecho de que un 45% de los ejemplares de esta población muestre el genotipo \*100/90, supone que casi la mitad de los ejemplares están contaminados genéticamente por alelos de piscifactoría y que por lo tanto sus descendientes también lo estarán.

A continuación se muestran los resultados correspondientes al análisis de la región ND 5/6-cit b que permite detectar si los ejemplares con genotipo LDH-C\*100/100, a priori considerados como nativos, realmente muestran el haplotipo que caracteriza a los ejemplares mediterráneos (BBCDA) o por el contrario muestran el haplotipo característico de los ejemplares de piscifactoría (AAAAA):



**Figura 2. Porcentajes de los tres genotipos identificados, en combinación con los haplotipos mitocondriales.** ■ Población de Rivera. Año 2001; ■ Población 1, año 2007; ■ Población 2, año 2007.

En el análisis realizado en el año 2001, el haplotipo mitocondrial mayoritario que caracterizaba a los ejemplares de esta población era el haplotipo AAAAA (65%), característico de los ejemplares centroeuropeos de piscifactoría empleados en las repoblaciones. El resto de los ejemplares (35%) presentaba el haplotipo característico de los ejemplares mediterráneos (BBCDA), sin embargo todos ellos portaban el genotipo LDH-C\* 100/90, siendo considerados por lo tanto ejemplares híbridos fruto de un cruce entre un ejemplar nativo y una trucha de origen de piscifactoría.

En los análisis realizados en el presente estudio, los ejemplares de la Población 1 y Población 2 aparecen mayoritariamente caracterizados por el haplotipo mediterráneo BBCDA (61% y 51%, respectivamente). Sin embargo, un elevado porcentaje de individuos analizados portan el haplotipo AAAAA (39% y 49%, respectivamente), considerado alóctono en la vertiente mediterránea y que denota un alto grado de introgresión genética en ambos tramos.

Los valores reales de introgresión genética se hacen más patentes al conjugar los datos de los haplotipos mitocondriales con los resultados obtenidos para el locus LDH-C\*. Así, a los valores de introgresión obtenidos con este locus, hay que sumar los correspondientes a los individuos LDH-C\* 100/100, pero portadores del haplotipo mitocondrial atlántico (AAAAA), que representa el 16% en la Población 1 y el 19% en la Población 2. Los resultados obtenidos para la Población 1 muestran, por otro lado la presencia de ejemplares caracterizados por el haplotipo BBCDA, propio de truchas mediterráneas de la península Ibérica, y portadores tanto del genotipo LDH-C\* 100/90 (35%) como LDH-C\* 90/90 (13%). Del mismo modo, la Población 2 presenta un 19% de individuos portadores del haplotipo mediterráneo BBCDA y del alelo alóctono LDH-C\*90 en heterocigosis.

En resumen, estos datos reflejan unos muy altos niveles de sustitución genética, en la población de truchas del río Purón por genes centroeuropeos. Los ejemplares de características propias de las truchas del Ebro para ambos marcadores (LDH-C\* 100/100 y haplotipo BBCDA) constituyen tan sólo el 13% en la población 1 y el 32% en la población 2. Pero, seguramente incluso estos ejemplares de características genéticas autóctonas para ambos loci se encuentren introgresados, y la combinación de los dos marcadores autóctonos en ellos se deben a las propias leyes de segregación mendeliana.



Aunque el origen de esta introgresión genética parece deberse a una única repoblación que se efectuó en los años 1985/1986, los resultados indican que la introgresión genética ha perdurado a lo largo de los últimos 20 años y no existen indicios para pensar en una posible recuperación natural de las características genéticas propias de las truchas de este río.

Estos resultados justifican plenamente la propuesta inicial de despesque o extracción de toda la población de truchas del río con el fin de proceder seguidamente a repoblar el río Purón con ejemplares reproductores procedentes de tramos de ríos del THA, libres de contaminación genética. En caso de que se consiga un establecimiento de la población resultante de estas traslocaciones, se conseguiría una población de truchas nativas que podría considerarse como una reserva genética de trucha común del Alto Valle del Ebro. Posteriormente, se podrían iniciar diferentes programas de repoblación, a partir de las truchas nativas del río Purón, con el fin de ir recuperando los ríos alaveses más afectados por problemas de introgresión genética, causados por las sucesivas repoblaciones que se han venido sucediendo en el territorio alavés hasta el año 2006.

## BIBLIOGRAFÍA

**Gómez-Moliner, B.J., Madeira, M.J. 2004.** Estudio de la fauna ictiológica de los lugares de interés comunitario (LICs) de la provincia de Álava. Contribución a la conservación y mejora del hábitat fluvial. Informe correspondiente a los estudios de salmónidos desarrollados durante las campañas de muestreos 2001-2003. Informe inédito.

**Hamilton K.E., Ferguson A., Taggart J.B., Tomasson T., Walker A., Fahy E. (1989).** Post-glacial colonization of brown trout, *Salmo trutta* L.: LDH-5 as a phylogeographic marker locus. *J. Fish Biol.* 35: 651-664.

**Machordom A., Suárez J., Almodóvar a., Bautista J.M. (2000).** Mitochondrial haplotype variation and phylogeography of Iberian brown trout populations. *Molecular Ecology* 9: 1325-1338.

**McMeel O.M., Hoey E.M., Ferguson A. (2001).** Partial nucleotide sequences, and routine typing by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, of the brown trout (*Salmo trutta*) lactate dehydrogenase, LDH-C1\* 90 and \*100 alleles. *Molecular Ecology* 10: 29-34

**Madeira, M.J. (2006).** Caracterización molecular y variabilidad de las poblaciones de trucha común (*Salmo trutta* L.) del norte de la península Ibérica. Tesis Doctoral. Departamento de Zoología y Biología Celular Animal. Universidad del País Vasco.