



Congreso Nacional del Medio Ambiente
Cumbre del Desarrollo Sostenible

COMUNICACIÓN TÉCNICA

La contaminación genética de poblaciones autóctonas

Autor: Nuno Henriques-Gil

Institución: Laboratorio de Genética. Universidad CEU San Pablo
E-mail: nhengil@ceu.es

Otros autores: Anne Blank (Laboratorio de Genética. Universidad CEU San Pablo), María Martínez-Fresno (Laboratorio de Genética. Universidad CEU San Pablo) y Pilar Arana (Departamento de Genética, Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid)



RESUMEN:

La conservación de las especies cinegéticas reúne una serie de circunstancias especiales. La fuerte demanda implica extracciones de animales que, con frecuencia, superan ampliamente la productividad de las poblaciones naturales. Tal déficit podría verse compensado por la repoblación con animales criados en granjas, pero ésta suscita múltiples interrogantes y un censo elevado no es sinónimo de estabilidad, variabilidad ni de que los genotipos de los animales liberados sean los más adecuados. De hecho, la cría en cautividad ha dado pie a otro problema muy grave: la introgresión o contaminación genética. La perdiz roja, *Alectoris rufa*, es el ejemplo más claro de este problema. Es sin duda la especie de caza menor más importante en la Península Ibérica: se cobran anualmente varios millones de ejemplares, lo que constituye una fuente muy notable de ingresos, tanto directos como indirectos, sobre todo si se tiene en cuenta que las regiones más adecuadas para la práctica cinegética carecen a menudo de grandes recursos económicos. Pero la perdiz roja puede hibridar con otras dos especies, la perdiz griega (*A. graeca*) y la perdiz turca (*A. chukar*) que son más fáciles de criar en cautividad que la perdiz roja. Por ello, y a pesar de que la legislación prohíbe la liberación de especies, híbridos o razas que pongan en peligro la pureza de las poblaciones autóctonas, la introducción de estas especies ha resultado muy atractiva de cara a aumentar la producción de las granjas de cría. Nuestros estudios con distintos marcadores genéticos han demostrado que, si bien hay una variabilidad considerable en las poblaciones ibéricas de perdiz roja, existe contaminación por perdiz turca: masiva en alguna granja de cría y, en menor frecuencia, en poblaciones salvajes. Los resultados indican que en algún punto de la Península Ibérica o del sur de Francia se están manteniendo ciertos linajes de perdiz turca e igualmente cruzando con la perdiz roja, cuyos descendientes se acabarán liberando en cotos de caza. Puede muy bien suceder que algunos criadores no sean conscientes de la presencia de híbridos en los animales que compran, ni los responsables de cotos en aquellos que están soltando. Se hace muy necesaria y urgente la implantación de controles genéticos que detecten la contaminación y que, recíprocamente, en su caso, demuestren la pureza de determinadas poblaciones. No es, ni mucho menos, sólo un problema de legalidad: detectar y erradicar la hibridación con especies alóctonas sólo puede repercutir para el bien de la conservación de un recurso tan importante como la perdiz roja.



DIFERENTES ESPECIES Y DIFERENTES POBLACIONES

Son de sobra conocidos varios ejemplos de cómo la invasión de especies foráneas ha causado verdaderos desastres en los ecosistemas. Es muy posible que no hubiese intención de causar daño y, de hecho, en casos como el cangrejo de río, se pensó que las especies foráneas podrían paliar las carencias locales, para acabar causando un estrago mayor. No obstante, también se ha actuado – y actúa – con cierta frivolidad sin plantear en ningún momento las consecuencias adversas. Recordemos el ejemplo de la introducción del conejo en Australia que pretendía reproducir un “ambiente” cinegético lo más parecido posible a Gran Bretaña, o la importación a Europa animales o plantas para que proporcionen un ambiente exótico: animales escapados o deliberadamente sueltos por sus dueños han prosperado y dado lugar a plagas con importantes consecuencias negativas para competidores y presas de la fauna local.

Más sutil, pero no por ello menos grave, es la importación de especies filogenéticamente próximas a las autóctonas, subespecies o razas de la misma especie, pero con unas características distintas de las locales. Por su propia definición, las diferencias intraespecíficas son menores y pueden pasar inicialmente desapercibidas.

Una población natural está sometida a múltiples fenómenos capaces de alterar sus características genéticas. En algunos casos, se producen situaciones que hacen necesaria la adopción de medidas de conservación, puesto que las poblaciones o especies se encuentran en riesgo de desaparecer como tales con la consiguiente pérdida de biodiversidad. Entre estas situaciones están, por un lado, la reducción drástica del censo con sus consecuencias de deriva genética y aumento de consanguinidad, y, por otro, la hibridación con otras poblaciones, que conduce a la pérdida de adaptación, lo que se conoce como “depresión por exogamia”. Estos fenómenos ocurren con intensidad mucho más elevada en aquellas poblaciones directa o indirectamente más expuestas a la influencia humana que, a diferencia de lo que sucede a escala evolutiva, tienen efecto a corto plazo. Además, la actividad humana a menudo efectúa una selección dictada por circunstancias artificiales, que conduce a unos resultados distintos de la selección natural. En este contexto, dentro de las especies animales con interés económico, las especies cinegéticas reúnen varias particularidades como modelo de conservación y gestión ya que se trata de especies silvestres pero, a la vez, están sometidas a una fuerte influencia humana que cada vez ejerce más presión hacia un modelo de gestión de tipo ganadero. Por un lado, aunque sólo están incluidas en la lista de especies cinegéticas aquellas que cuentan con un censo apreciable, de modo que la caza no ponga en peligro su supervivencia, la explotación (y, a menudo, sobreexplotación) lleva a que la realidad diste mucho de los ideales de estabilidad poblacional. De hecho, algunas especies cinegéticas están calificadas en España como “vulnerables”, si bien la situación puede variar de una Comunidad Autónoma a otra. Por lo tanto, las especies cinegéticas constituyen un sistema ideal para desarrollar modelos mixtos de gestión en los que se respeten las características originales de las especies, que forman parte del patrimonio natural, pero que, a la vez, permitan su explotación económica.

Nuestro grupo investiga la variabilidad genética en poblaciones naturales. El análisis genético de las poblaciones es uno de los abordajes fundamentales a la hora de diseñar programas de conservación y gestión, además de proporcionar una aproximación a la historia evolutiva de las especies. Tomando por modelo la Península Ibérica y como desarrollaremos más adelante, la contaminación genética puede ocurrir por (1) mezcla



entre distintas poblaciones de la Península más o menos adaptados a condiciones locales, o (2) deberse a la introducción de taxones no existentes de forma natural en la Península Ibérica.

MARCADORES GENÉTICOS MOLECULARES

Los marcadores moleculares son especialmente útiles para abordar este tipo de cuestiones. Así, según Jehle & Arntzen (2002),

- a) facilitan la asignación de un probable origen poblacional o específico a individuos concretos;
- b) permiten medir el flujo genético local y las migraciones;
- c) posibilitan la medición del tamaño efectivo de las poblaciones y su variabilidad;
- d) sirven para detectar los efectos genéticos de la actuación de fuerzas evolutivas como selección y deriva genética detectando cuellos de botella, expansiones poblacionales etc.;
- e) sirven para calcular distancias genéticas y establecer las relaciones evolutivas entre los grupos.

Por estas razones, los marcadores moleculares se han convertido en una herramienta insustituible para abordar la caracterización y el estudio de la dinámica de poblaciones y su evolución. El sistema más moderno y efectivo es la utilización de marcadores de DNA que permite obtener resultados a partir de muestras pequeñas y fáciles de extraer, a menudo obtenidas por métodos no invasivos. Además, existen hoy en día numerosos recursos moleculares disponibles para llevar a cabo este tipo de estudios en multitud de especies animales, incluyendo librerías genómicas y de cDNA, así como mapas de genes y secuencias cada vez más completos.

Dentro de los marcadores moleculares, los microsatélites – secuencias cortas (normalmente de 2 a 4 pares de bases) repetidas en tándem, que generalmente no transcriben - se pueden encontrar distribuidos por todo el genoma y son altamente polimórficos y, por tanto, muy informativos, lo que supone su ventaja frente a otros marcadores (González et al., 2005; Ferrero et al., 2007). Otro tipo de marcadores moleculares DNA que están adquiriendo cada vez mas importancia son los “Single Nucleotide Polymorphisms” (SNPs) (García y Arruga, 2006a). Un SNP es un cambio de una o unas pocas bases en una secuencia de DNA. Existen multitud de ellos en los genomas, normalmente varios por locus. La reconstrucción de haplotipos permite la definición de sistemas multialélicos de gran utilidad en este tipo de análisis. Esta técnica se puede aplicar tanto a fragmentos mitocondriales como a secuencias nucleares: autosómicas, o de los cromosomas sexuales. Cada tipo de secuencias proporciona una información distinta ya que sus características genéticas y de transmisión son diferentes. Por último, el estudio de secuencias, comparando haplotipos individuales, permite una gran variedad de análisis de dinámica poblacional y es clave en la detección de las huellas genéticas que deja la historia evolutiva de las poblaciones y especies. Los marcadores muy polimórficos (Microsatélites o SNPs) son especialmente útiles para estudios de variabilidad mientras que aquellos marcadores que presentan variantes fijadas en distintas especies o grupos taxonómicos, actúan como diagnóstico y son ideales para la asignación. Dentro de estos últimos, juegan un papel importante las inserciones-deleciones, ya que son mutaciones no recurrentes ni revertientes y, por tanto, son buenos marcadores de linaje.



Las secuencias de DNA mitocondrial (mtDNA) se han empleado frecuentemente para estudios de evolución molecular por su alta tasa de sustitución de nucleótidos en ciertas regiones, además el DNA mitocondrial tiene la propiedad única de heredarse tan solo por vía materna, por lo que no hay recombinación entre haplotipos, que permanecen inalterados en el transcurso de las generaciones. En el ámbito de la conservación, la definición de las unidades de conservación (ESUs), se realiza, precisamente, en base a las secuencias mitocondriales. Además, la combinación de filogenias basadas en el mtDNA con la información geográfica proporciona un medio para evaluar la estructura genética de las poblaciones (Avice, 1994; Huang et al., 2005; 2007; Martínez-Fresno et al., 2006; Guerrini et al., 2007; Randi y Lucchini, 1998).

Dentro de las secuencias nucleares, los cromosomas sexuales constituyen un caso especial ya que son parcialmente homólogos presentando una zona (segmento pseudoautosómico) en la que existen genes equivalentes en ambos cromosomas denominándose esos genes "gametólogos". Actualmente se acepta que los genes compartidos por los cromosomas sexuales son una fuente de información muy importante sobre cuándo y cómo se produjo la diferenciación entre estos cromosomas. En los mamíferos (XX-XY), el sexo heterogamético es el masculino, por lo tanto, las secuencias del cromosoma Y se transmiten únicamente por vía paterna y proporcionan información sobre los linajes masculinos; sin embargo, en las aves (ZW-ZZ), el sexo heterogamético es el femenino y las secuencias específicas del cromosoma W son de transmisión materna como las mitocondriales. La diferenciación entre secuencias gametológicas permite la obtención directa de haplotipos sin necesidad de recurrir a clonación. En lo que respecta al resto de las secuencias autosómicas, existen multitud de métodos para abordar su análisis; algunos son inespecíficos, como RAPDs, RFLPs y AFLPs (Negro et al., 2001; García y Arruga, 2006b) y tienen la desventaja de ser poco reproducibles.

EL ANÁLISIS GENÉTICO APLICADO A INTROGRESIONES

1) LA DIFERENCIACIÓN GENOTÍPICA ENTRE POBLACIONES, RAZAS O GENOTIPOS DE LA PENÍNSULA IBÉRICA MÁS O MENOS ADAPTADOS A CONDICIONES LOCALES.

El territorio por el que se distribuye cualquier especie frecuentemente es bastante heterogéneo, lo que facilita la existencia de diferencias genotípicas de unas poblaciones a otras. En tal caso, cualquier programa de conservación o de repoblación debe tener en cuenta las peculiaridades regionales.

Entre las especies cinegéticas, el caso más estudiado en este sentido es el del conejo (*Oryctolagus cuniculus*): existen dos razas en la Península Ibérica, que queda dividida en dos mitades por una línea de noroeste a sureste. La diferenciación genotípica es lo suficientemente considerable (Branco et al., 2000, 2002; Queney et al., 2001) como para recomendar que las repoblaciones se efectúen con individuos de la misma raza. En otros materiales queda mucho por saber sobre una posible estructuración de la variabilidad intraespecífica, es decir, si las poblaciones dentro de determinadas regiones son genéticamente más afines que entre regiones (Barbanera et al., 2005). En el caso de la perdiz roja, *Alectoris rufa*, se han señalado dos subespecies en la Península Ibérica: *A. r. hispanica*, que ocuparía la región noroccidental, y *A. r. intercedens* en el resto del área peninsular (Blanco-Aguiar et al. 2003). No obstante, faltan estudios que delimiten exactamente sus distribuciones y, dado que se trataría de una diferenciación parapátrica,



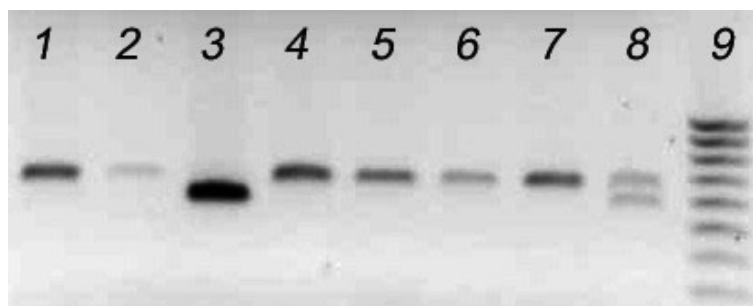
debería existir un cinturón híbrido entre ambas, cuya localización se ignora pero que, de cara a la conservación de las particularidades regionales, es importante estudiar (Randi y Bernard-Laurent, 1999).

Por su parte, la perdiz gris (*Perdix perdix*) es un caso especialmente interesante. Presenta una distribución bastante amplia en Europa y tiene carácter de especie cinagética en varias regiones, incluyendo el noreste peninsular. (En varios puntos de Europa *P. perdix* está expuesta a los problemas comentados en los puntos anteriores, relativos a repoblaciones con animales que no corresponden a las características genéticas de las poblaciones locales (Martin et al., 2002, Liukkonen 2006).) En la Península Ibérica existe un endemismo de esta especie, la perdiz pardilla, que corresponde a la subespecie *P. p. hispaniensis*, poco estudiada desde el punto de vista genético. La caza y las transformaciones del hábitat produjeron una regresión generalizada de sus poblaciones, de modo que en la región cantábrica se prohibió su caza en los años 90. Esta subespecie está repartida en tres regiones separadas – Cordillera Cantábrica, Sistema Ibérico y Pirineos – que, a su vez, se hallan fragmentadas, aunque se requieren estudios más completos para determinar la situación real de la especie (Acevedo et al., 2007). Liukkonen-Attila et al. (2002) sugieren que la Península Ibérica fue un refugio de *P. perdix* durante la última glaciación y que a partir de esta zona se recolonizó una buena parte del continente europeo. Por todo ello, el conocimiento y la conservación de las poblaciones de *P. p. hispaniensis* revestiría especial interés.

2) CONTAMINACIÓN GENÉTICA POR ESPECIES, SUBESPECIES O RAZAS NO EXISTENTES DE FORMA NATURAL EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

La ley prohíbe la introducción de animales que pongan en peligro las características de las poblaciones autóctonas. Sin embargo, la demanda de trofeos ha llevado a la importación ilegal de ciervos centroeuropeos (principalmente *Cervus elaphus hyppelaphus*), por el mayor tamaño de sus cornamentas, y su hibridación con la subespecie local, *C. e. hispanicus* (Carranza et al., 2003).

Para la caza menor, el atractivo de ciertos materiales foráneos reside en la facilidad de cría en cautividad, problema que es especialmente agudo en la perdiz roja (*Alectoris rufa*), la especie más importante de caza menor en la Península Ibérica. *A. rufa* es la única representante del género en la Península, pero puede hibridar con la perdiz griega o perdiz de roca (*A. graeca*, distribuida por el sureste de Francia, Italia y los Balcanes) y con la perdiz turca (*A. chukar*) que está geográficamente más alejada, extendiéndose desde Grecia hasta China. Las tres especies son morfológicamente distinguibles entre sí, aunque los descendientes híbridos son más difíciles de identificar. Pero mientras que la perdiz autóctona está mejor adaptada, las especies alóctonas, sobre todo la perdiz turca, son más fáciles de criar en cautividad. Así, varios grupos de investigadores, incluyendo el nuestro, hemos demostrado mediante marcadores moleculares una importante contaminación de la perdiz roja española (*Alectoris rufa*), con genotipos de la perdiz turca, *A. chukar* (Baratti et al., 2004; Barbanera et al., 2007; Barilani et al., 2007; Henriques-Gil et al., 2005; Martínez-Fresno et al., 2008; Tejedor et al., 2007, Randi, 2008). La hibridación es masiva en algunas granjas de cría y repoblaciones, pero se detecta también en poblaciones salvajes e, incluso, en algunas localizaciones en principio alejadas de las supuestas áreas de repoblación. Las perdices roja y turca están bien diferenciadas desde el punto de vista genético, como para encontrar marcadores diagnóstico, es decir que las variantes encontradas en una de las especies nunca se



hallen en la otra. Así, pongamos por caso, nuestro grupo ha detectado una inserción de 80 pares de bases que se da en la perdiz roja pero no en la perdiz turca, y que permite la fácil identificación de las dos especies y de los híbridos (figura 1).

Más sorprendente aún es que hemos podido comprobar que los marcadores genéticos de DNA mitocondrial de la perdiz turca que aparecen contaminando la perdiz roja no corresponden, como tal vez cabría esperar, a los existentes en *A. chukar* del Próximo Oriente, sino a los que se hallan en el Extremo Oriente (figura 2). De estos resultados se deduce que en algún punto de la Península Ibérica o del sur de Francia se están manteniendo linajes de perdiz turca procedentes de China e igualmente cruzando con la perdiz roja. Sus descendientes se liberan en cotos de caza y, aunque muchos desaparecerán en la temporada de caza, está claro que un buen número subsiste y acabarán esparciendo genotipos de la perdiz turca mucho más allá del área donde fueron liberados. Es importante notar que es muy posible que algunos criadores no sean conscientes de la presencia de híbridos entre los animales que compran, ni los responsables de cotos en aquellos que están soltando. Se hace muy necesaria y urgente la implantación de controles genéticos que detecten la contaminación y que, recíprocamente, en su caso, demuestren la pureza de determinadas poblaciones. No es, ni mucho menos, sólo un problema de legalidad: detectar y erradicar la hibridación con especies alóctonas sólo puede repercutir para el bien de la conservación de un recurso tan importante como la perdiz roja.

Figura 1. Electroforesis de un segmento genómico de perdiz. En la perdiz roja (muestras 1, 2, 4, 5, 6 y 7) hay una inserción que falta en la perdiz turca (muestra 3); en el híbrido (muestra 8) se aprecian los dos fragmentos. (La muestra 9 corresponde a un marcador comercial de peso molecular.)

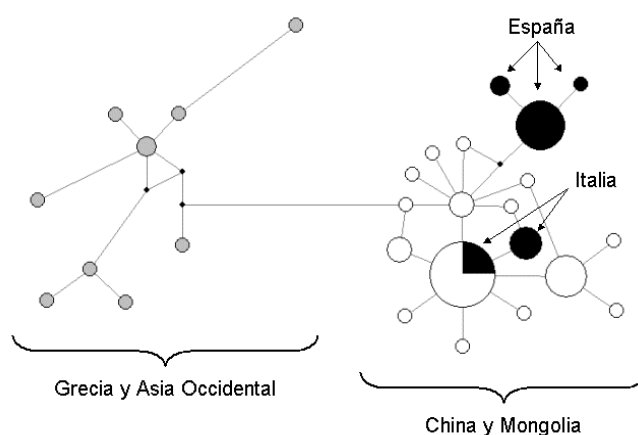




Figura 2. Red de haplotipos de DNA mitocondrial de perdiz turca (*Alectoris chukar*). Cada círculo representa un haplotipo distinto, siendo el diámetro proporcional a su frecuencia; la longitud de los segmentos que los unen refleja el correspondiente número de mutaciones en las que difieren. Las poblaciones de perdiz turca se agrupan en dos clados diferenciados, uno occidental y otro oriental. Los haplotipos de perdiz turca que aparecen contaminando las perdices rojas ibéricas e italianas (en negro) coinciden con los hallados en Mongolia y China.

En la actualidad, se está llevando a cabo un ensayo, auspiciado por la fundación FEDENCA, de distintos métodos genéticos para detectar la introgresión en la perdiz roja, con vistas a diseñar un sistema homologable que se pueda aplicar a la gestión de cotos y granjas de cría. Este tipo de iniciativas es de gran importancia para controlar actuaciones fraudulentas.

Un problema semejante ocurre con la codorniz autóctona española (*Coturnix coturnix coturnix*), que hibrida con la codorniz oriental (*C. c. japonica*) (Barilani et al., 2005). Quizá la diferencia en este caso sea que los últimos datos indican que pese a la también extensa hibridación, los genotipos de *C. c. japonica* no parecen aumentar en las poblaciones naturales, lo que indicaría una escasa competitividad de éstos en las condiciones locales y, en consecuencia, una menor introgresión (Puigcerver et al., 2007). El peligro de contaminación genética afecta también a especies protegidas en las que, como es el caso de la malvasía, protección y caza solapan. La malvasía cabeciblanca (*Oxyura leucocephala*) es una especie europea actualmente en peligro de extinción, cuya situación ha empeorado por la hibridación con animales importados de una especie afín, la malvasía canela, *O. jamaicensis* (Martí, 1993, Torres et al., 1994). Las recomendaciones para la recuperación de la especie autóctona pasan tanto por endurecer la prohibición de su caza (hasta fechas recientes aún se permitía localmente) como por favorecer la caza tanto de la malvasía canela como de los híbridos. Incluso se insta a posponer las repoblaciones en tanto no se tengan diagnosticadas claramente las diferencias entre las dos especies (M. Medio Ambiente, C.N. Especies Amenazadas R.D. 439/1990).

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo P, Alzaga V, Cassinello J, Gortázar C (2006) Habitat suitability modeling reveals a strong niche overlap between two poorly known species, the broom hare and the Pyrenean grey partridge, in the north of Spain. *Acta Oecologica* 31: 174-184.
- Avise JC (1994) *Molecular Markers, Natural History and Evolution* Chapman & Hall, New York, 511 pp.
- Baratti M, Ammannati M, Magnelli C, Dessi-Fulgheri F (2004) Introgression of chukar genes into a reintroduced red-legged partridge (*Alectoris rufa*) population in central Italy. *Animal Genetics* 36: 29-35.
- Barbanera F, Guerrini M, Hagjgerou P, Panayides P, Sokos C, Wilkinson P, Khan AA, Khan BY, Cappelli F, Dini F (2007) Genetic insight into Mediterranean chukar (*Alectoris chukar*, Galliformes) populations inferred from mitochondrial DNA and RAPD markers. *Genetica* (in press).
- Barbanera F, Negro JJ, Di Giuseppe G, Bertoncini F, Cappelli F, Dini F (2005) Analysis of the genetic structure of red-legged partridge (*Alectoris rufa*, Galliformes) populations



- by means of mitochondrial DNA and RAPD markers: a study from central Italy. *Biological Conservation* 122, 275-287.
- Barilani M, Bernard-Laurent A, Mucci N, Tabarroni C, Kark S, Pérez Garrido JA & Randi E (2007) Hybridisation with introduced chukars (*Alectoris chukar*) threatens the gene pool integrity of native rock (*A. graeca*) and red-legged (*A. rufa*) partridge populations. *Biological Conservation* 137: 57-69.
- Barilani M, Deregnacourt S, Gallego S, Galli L, Mucci N, Piombo R, Puigcerver M, Rimondi M, Rodríguez-Teijeiro JD, Spanò S, Randi E (2005) Detecting hybridization in wild (*Coturnix c. coturnix*) and domesticated (*Coturnix c. japonica*) quail populations. *Biological Conservation* 126: 445-455.
- Barilani M, Sfougaris A, Giannakopoulos A, Mucci N, Tabarroni C, Randi E (2007) Detecting introgressive hybridization in rock partridge populations (*Alectoris graeca*) in Greece through Bayesian admixture analyses of multilocus genotypes. *Conservation Genetics* 8: 343-354.
- Blanco-Aguilar JA, Virgós E, Villafuerte R. (2003) Perdiz roja (*Alectoris rufa*). In: Atlas de las aves reproductoras de España (ed. by R. Martí & J.C. del Moral), pp 212-213 DGCNa-SEO, Madrid.
- Branco M, Ferrand N, Monnerot M (2000) Phylogeography of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in the Iberian Peninsula inferred from RFLP analysis of the cytochrome b gene. *Heredity* 85: 307-317.
- Branco M, Monnerot M, Ferrand N, Templeton AR (2002) Postglacial dispersal of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) on the Iberian Peninsula reconstructed from nested clade and mismatch analyses of mitochondrial DNA genetic variation. *Evolution* 56:
- Carranza J, Martínez JG, Sánchez-Prieto C, Fernández-García JL, Sánchez-Fernández B, Álvarez-Álvarez R, Valencia J, Alarcos S (2003). Game species: extinctions hidden by census numbers. *Animal Biodiversity and Conservation*, 26: 81-84.
- Ferrero ME, González-Jara P, Blanco-Aguilar JA, Sánchez-Barbudo I, Dávila JA (2007) Sixteen new polymorphic microsatellite markers isolated for red-legged partridge (*Alectoris rufa*) and related species. *Mol Ecol Notes* 7: 1349-1351.
- García CB, Arruga MV (2006a) Comparative genetic analysis between red-legged partridges (*Alectoris rufa*) and chukar partridges (*A. chukar*): identification of single-nucleotide polymorphisms *Anim. Res.* 55: 335-342.
- García CB, Arruga MV (2006b) Application of RAPD methodology to preserve the purity of wild Red-Legged Partridges (*Alectoris rufa* L.) *Wildl Biol Pract* 2: 13-16.
- González EG, Castilla AM, Zardoya R (2005) Novel polymorphic microsatellites for the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) and cross-species amplification in *Alectoris graeca*. *Molecular Ecology Notes* 5, 449-451.
- Guerrini M, Panayides P, Hadjigerou P, Taglioli L, Dini F, Barbanera F (2007) Lack of genetic structure of Cypriot *Alectoris chukar* (Aves, Galliformes) populations as inferred from mtDNA sequencing data. *Animal Biodiv Cons* 30: 105-114.
- Henriques-Gil N, Martínez-Fresno M, Blank A, Junco E, Arana P (2005) Variability in mitochondrial DNA of the red-legged partridge, *Alectoris rufa*, and introgression from *A. chukar* in reared and natural Spanish populations. XXVII Congress of the IUGB Extended Abstracts: 106-107.
- Huang Z, Liu N, Luo S, Long J (2007) Phylogeography of rusty-necked partridge (*Alectoris magna*) in northwestern China. *Mole. Phyl. Evol.* Doi: 10.1016/j.ympev.2007.01.005



- Huang Z, Liu N, Zhou T, Ju B (2005) A comparative study of genetic diversity of peripheral and central populations of chukar partridge from Northwestern China. *Biochem. Gen.* 43: 613-621.
- Jehle R, Arntzen JW (2002) Microsatellite markers in Amphibian conservation genetics: A review. *Herpetological Journal* 12: 1-9.
- Liukkonen T (2006) Finnish native grey partridge (*Perdix perdix*) population differs clearly in mitochondrial DNA from the farm stock used for releases. *Ann. Zool. Fennici* 43: 271-279.
- Liukkonen-Attila T, Uimaniemi L, Orell M, Lumme J (2002) Mitochondrial DNA variation and the phylogeography of the grey partridge (*Perdix perdix*) in Europe: from Pleistocene history to present day populations. *J. Evol. Biol.* 15: 971-982.
- Martí R (1993) The spreading of the Ruddy Duck *Oxyura jamaicensis* in Europe and its effect on conservation of the White-headed Duck *Oxyura leucocephala* in Spain. Madrid: SEO/BirdLife Spain.
- Martin JF, Novoa C, Blanc-Manel S, Taberlet P (2002) Les populations de perdrix grise des Pyrénées (*Perdix perdix hispaniensis*) ont-elles subi une introgression génétique à partir d'individus d'élevage? Analyse du polymorphisme de l'ADN mitochondrial. Actes du Colloque BRG, La Châtre, 14-16 oct. 2002 (sous presse)
- Martínez-Fresno M, Henriques-Gil N, Arana P (2008). Mitochondrial DNA sequence variability in red-legged partridge, *Alectoris rufa*, Spanish populations and the origins of genetic contamination from *A. chukar*. *Conservation Genetics* 9: 1223-1231.
- Martínez-Fresno M, Junco E, Arana P, Henriques-Gil N (2006) Mitochondrial DNA variability in populations of *Alectoris rufa*: a Single-stranded conformation polymorphism (SSCP) approach. *Wildlife Biology in Practice* 2, 1-7.
- Negro JJ, Torres MJ, Godoy JA (2001) RAPD analysis for detection and eradication of hybrid partridges (*Alectoris rufa* x *A. graeca*) in Spain. *Biological Conservation* 98, 19-24.
- Puigcerver M, Vinyoles D, Rodríguez-Teijeiro JD (2007) Does restocking with Japanese quail affect native populations of common quail *Coturnix coturnix*? *Biological Conservation* 136: 628-635.
- Queney G, Ferrand N, Weiss S, Mougél F, Monnerot M (2001) Stationary distributions of microsatellite loci between divergent population groups of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*).
- Randi E (2008) Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. *Molecular Ecology* 17: 285–293.
- Randi E, Bernard-Laurent A (1999) Population genetics of a hybrid zone between the red-legged partridge and rock partridge. *The Auk* 116: 323-337.
- Randi E, Lucchini V (1998) Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris*. *Journal of Molecular Evolution* 47: 449-462.
- Tejedor MT, Monteagudo LV, Mautner S, Hadjisterkotis E, Arruga MV (2007) Introgression of *Alectoris chukar* genes into a Spanish wild *Alectoris rufa* population. *J Hered* 98: 179-182.
- Torres, J. A., Moreno, B. and Alcalá-Zamora, A. (1994) La Malvasía Canela (*Oxyura jamaicensis*) en España y su relación con la Malvasía Cabeciblanca (*Oxyura leucocephala*). *Oxyura* 7: 5–27.