



FUNDACIÓN PARA EL ESTUDIO Y LA DEFENSA
DE LA NATURALEZA Y LA CAZA



REAL
FEDERACIÓN
ESPAÑOLA
DE CAZA



Estudio de los métodos genéticos para determinar hibridación en la perdiz roja

Consorcio *Perdiz Roja*
FEDENCA-Laboratorios
de Genética®



FUNDACIÓN PARA EL ESTUDIO Y LA DEFENSA
DE LA NATURALEZA Y LA CAZA

1.ª Edición: marzo 2011

Edita: ©FEDENCA-Real Federación Española de Caza.

Editor: José Luis Garrido Martín, Director General de FEDENCA.

Dirección y coordinación proyecto:

José Luis Garrido Martín, de la EUITI de la UVA.

Dirección científico-técnica del proyecto:

Investigadores de los Laboratorios de Genética:

Pilar Arana Montes, de la Facultad de Biología de la UCM. Javier Cañón Ferreras, Susana Dunner Boxberger y Natalia Sevane Fernández, de la Facultad de Veterinaria de la UCM. José Antonio Dávila García y Pedro José Gómez de Nova, del IREC y la UCLM. Amadeu Francesch Vidal y Romi Pena Subirà, del IRTA. Guillaume Queney, de ANTAGENE (Francia).

Administración proyecto:

Carmen Fernández-Veguez Suárez, secretaria de FEDENCA.

Asesores científicos externos de FEDENCA:

Diseño experimental: Jesús Nadal García y Carolina Ponz Gan, de la ETSEA de la UDL. Carmelo García Romero, de la Asociación para el Desarrollo de la Ganadería Ecológica.

Expertos en genética: Ángel Carracedo Álvarez, del Instituto de Medicina Legal de la USC. Armando Caballero Rúa, de la Facultad de Biología de la UVIGO.

Fotografía: ©Ramón Arambarri Bengoa, ©Leonardo de la Fuente, ©Pilar Arana, ©José Luis Garrido, ©Javier Cañón, ©Amadeu Francesch y ©José A. Pérez Garrido

Diseño: Exlibris Ediciones, S.L.

Realización: Dinarte, S.L.

Imprime: Desk Impresores, S.L.

Depósito legal: M-21364-2011

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad, ni parte de este libro, pueden reproducirse o transmitirse por ningún tipo de procedimiento electrónico y mecánico, incluidos los de fotocopias, grabación magnética o cualquier almacenamiento de información y sistema de recuperación, sin permiso escrito de FEDENCA-Real Federación Española de Caza y los autores.

Índice

1. Presentación	5
2. Antecedentes	7
2.1. Detección de la introgresión mediante métodos moleculares	12
2.2. Proyecto de detección de la hibridación de la perdiz roja	13
3. Descripción y desarrollo	15
3.1. Fase I: evaluación y selección de los métodos diagnósticos de los distintos laboratorios	15
3.2. Fase II: desarrollo de la metodología y el criterio diagnóstico para la determinación de la introgresión de <i>A. chukar</i> en <i>A. rufa</i>	20
4. Conclusiones	25
5. Aplicaciones prácticas	26
5.1. Sobre la toma de muestras	26
5.2. Obtención de muestras en terrenos cinegéticos	27
5.3. Obtención de muestras en explotaciones cinegéticas	28
5.4. Obtención de muestras en vehículos de transporte	29
6. Mapa español de la pureza genética de la perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>) y estudio de la introgresión de genotipos de perdiz turca (<i>Alectoris chukar</i>) en España	31
7. Información complementaria	31



1. Presentación

El resumen que presentamos sobre el proyecto de genética, que ha venido coordinando FEDENCA en los tres últimos años, es una de las aportaciones más importantes de los cazadores federados españoles y de algunos laboratorios europeos para la defensa de los valores biológicos, genéticos y silvestres de la especie reina de la caza menor, nuestra genuina y emblemática perdiz roja.

El proyecto inicial promovido por la Real Federación Española de Caza (RFEC) a través de la fundación FEDENCA, fue elaborado por Jesús Nadal y denominado “Estudio de los métodos genéticos para determinar hibridación en la perdiz roja”. Durante su desarrollo se ha ido adaptando por los laboratorios y su resolución final como aplicación ha supuesto una herramienta esencial para el control de pureza genética de la perdiz roja, que la federación ha puesto en manos de todos los actores con mayor influencia sobre la especie: administraciones, cazadores, gestores y productores de perdices y también de cualquier ente público con responsabilidades en el cuidado y policía de la fauna. Todos los implicados en el mundo de la perdiz roja y en la defensa de la naturaleza disponen por primera vez de un procedimiento internacional, consensuado y aceptado por los principales laboratorios españoles y europeos especializados en perdices, para determinar la introgresión de genoma chukar en la perdiz roja.

La preservación de la diversidad biológica para evitar la hibridación o contaminación genética de las especies y cualquiera de los valores medioambientales en situación de riesgo, han venido siendo protegidos por las legislaciones internacionales y son asuntos de obligado cumplimiento también para todos los cazadores europeos. Las Directivas Europeas, relacionadas con la conservación de la fauna y el medio ambiente, destinadas a proteger la diversidad biológica, que ahora nos ocupa, son la 79/409/CEE, de 2 abril 1979, relativa a la conservación de aves, y la 92/43/CEE, de 21 Mayo de 1992, relativa a conservación de hábitats y fauna y flora. Estas dos directivas, como todas las de la CEE, son leyes para todos los ciudadanos europeos y obligan a todos los estados miembros a cumplirlas y trasponerlas como leyes estatales. Todos los estados de la UE están obligados a legislar atendiendo lo ordenado por estas directivas de rango europeo.

Aquí, en España, la Ley 42/2007, de 13 de diciembre de 2007, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad recoge lo dispuesto por aquellas dos directivas para proteger la pureza genética. Es una ley básica del estado a la que deben supeditarse las que establezcan sobre conservación nuestras comunidades autonómicas. El artículo 52 de esta Ley española de Biodiversidad garantiza la conservación de las especies autóctonas silvestres “Las Administraciones públicas competentes prohibirán la introducción de especies, subespecies o razas geográficas alóctonas cuando estas sean susceptibles de competir con las especies silvestres autóctonas, alterar su pureza genética o los equilibrios ecológicos”. A pesar de ese literal de la Ley, si no nos hubiéramos empeñado los cazadores sacando adelante este proyecto ejemplar para controlar la genética de las perdices, estaríamos en España con una ley sin cumplir, como es evidente que ha ocurrido durante veintidós años, cuatro de vigencia de la actual

42/2007 y dieciocho años que duró la antigua Ley 4/89 de Conservación de los Espacios Naturales y la Flora y Fauna Silvestres, que también ordenaba lo mismo sobre el control genético y nunca se aplicó. Esta misma situación de falta de control genético se da en los demás países europeos donde existe introgresión genética de perdices.

Para aplicar el método genético consensuado de manera uniforme por los laboratorios que han finalizado el proyecto, se ha creado el Consorcio *Perdiz Roja* FEDENCA-Laboratorios de Genética®, que es un ente multidisciplinar y una marca de garantía de calidad que actúa sujeto a una serie de normas y acuerdos que se han dado a conocer a todos los implicados en el control de perdices: poderes públicos, cazadores, científicos, criadores, gestores, conservacionistas y administradores encargados de la custodia del patrimonio biológico nacional.

Con el proyecto que aquí se resume, creemos haber dado un paso firme en la defensa de la naturaleza. Ahora corresponde a las administraciones, responsables del cuidado y policía de la fauna, actuar de manera inmediata legislando la normativa para el control genético y la toma y custodia de muestras en los territorios y los “parques zoológicos productores de aves de corral para reponer existencias de caza” que es como define la Ley de sanidad animal a las granjas de perdices.

Nos parece imprescindible que la normativa y las exigencias de calidad genética sean idénticas en toda España al objeto de permitir el intercambio y la comercialización de perdices en todo el territorio nacional, cuando provengan de cualquier parque zoológico español legalmente constituido y fehacientemente controlado. También debe ser aplicada una normativa común para el control de perdices que entran desde otros países. Esperamos que las administraciones lo cumplan cuanto antes y los cazadores responsables así lo demanden. Las estimaciones de los expertos es que cada año se manejan en los campos españoles unos siete millones de perdices de granja, entre nacionales y foráneas.

El Consorcio, que tiene todas las potestades para hacer los análisis genéticos a través de los laboratorios que lo componen, los realizará y diligenciará con arreglo a las normas establecidas en este proyecto. Por parte del Consorcio, además de remitir los resultados finales del proyecto a todas las consejerías afectas de las comunidades autónomas, ha enviado y aconsejado las normas básicas de control genético elaboradas por cualificados expertos, únicamente para que sirvan de orientación a las comunidades autónomas, que son quienes tienen la potestad y el deber de legislar y obligar a su cumplimiento.

Deseamos y exigimos que este proyecto que ha costado mucho esfuerzo y dedicación a la Real Federación Española de Caza y a FEDENCA, se empiece a cumplir en España lo más pronto posible. Agradecemos a todos los científicos y colaboradores la dedicación generosa y profesional que ha hecho posible resolver tan felizmente este trabajo que nos llena de orgullo.

José Luis Garrido

Director General de FEDENCA

Andrés Gutiérrez

Presidente de FEDENCA y de la Real Federación Española de Caza

2. Antecedentes

La perdiz roja es la especie más importante de caza menor en España, donde existen multitud de cotos repartidos por toda su geografía. Su explotación constituye una considerable fuente de recursos económicos en áreas rurales, y la enorme actividad cinegética que la rodea genera un gran volumen de negocio en varias comunidades autónomas (figura 1).

Desde el punto de vista ecológico, la perdiz roja ocupa también un lugar crucial, ya que sirve de alimento a varias especies de depredadores, muchas de ellas amenazadas. Sin embargo, a pesar de encontrarse muy extendida en todo el territorio, la perdiz roja ha sufrido un descenso en sus poblaciones, especialmente desde los años 60. Algunos autores han señalado que las dos causas principales de este declive son la pérdida de calidad del hábitat y la excesiva explotación cinegética, aunque las prácticas agrícolas y ganaderas, la presión de depredadores, las repoblaciones incontroladas y la mala gestión también contribuyen (figura 2). Esta situación es preocupante, sobre todo en ciertas áreas del Sur de España, donde se han emprendido planes específicos de recuperación. Así, aunque según el *Libro Rojo de los Vertebrados de España* la perdiz roja está clasificada como especie no amenazada, según la clasificación del grado de amenaza europeo para las aves está considerada una especie vulnerable. La Categoría *Species of European Conservation Concern* (SPEC), que incluye las especies que necesitan medidas de conservación para poder llevar a cabo acciones específicas que contribuyan a mejorar su situación, la clasifica como una especie que tiene un estado de conservación desfavorable en Europa.

Figura 1. Las posibilidades de seguir disfrutando en el futuro de la perdiz roja autóctona dependerán de lo que hoy invirtamos en la calidad genética de los reproductores



Figura 2. El mantenimiento de los ecosistemas, junto con una adecuada gestión cinegética, permitirá garantizar la supervivencia de la perdiz roja



En las últimas décadas, la demanda cinegética ha superado con creces los recursos naturales. Ello ha hecho surgir numerosas explotaciones de cría de perdices en cautividad reparadas por la geografía española, cuya producción se emplea bien en sueltas previas a la actividad cinegética o en repoblaciones de cotos destinadas a mejorar el rendimiento en la temporada siguiente (figura 3). Estimaciones recientes cifran en cerca de 4,5 millones anuales el número de aves producidas en cautividad en España. Además, hay una cantidad muy significativa de perdices que se introducen en España desde otros países europeos. No obstante, es muy difícil conocer con seguridad el número real de animales de granja liberados en cada localidad, al igual que el destino de los mismos en lo que se refiere a supervivencia en condiciones naturales, alcance y competitividad en la siguiente temporada de cría, etc.

Uno de los problemas generados por la liberación de animales de granja es la utilización fraudulenta de perdices de especies diferentes de la perdiz roja. La introducción de especies foráneas está prohibida por la ley y puede acarrear severos problemas ecológicos y sanitarios, ya que las especies introducidas pueden desplazar a las autóctonas de sus nichos ecológicos o portar enfermedades nuevas ante las cuales la fauna local se encuentra indefensa. Pero, además, si la especie introducida es capaz de cruzarse con la autóctona, se crea un grave problema

Figura 3. Granjas cinegéticas de cría de perdiz roja



genético, ya que se forman híbridos, lo cual genera un proceso llamado “introgresión genética” –contaminación del genoma de una especie por la introducción de genes de otra–.

El género *Alectoris*, al que pertenece la perdiz roja (*Alectoris rufa*) (figura 4) comprende varias especies, de las cuales la perdiz griega (*Alectoris graeca*) y la perdiz turca (*Alectoris chukar*)

Figura 4. *Alectoris rufa*

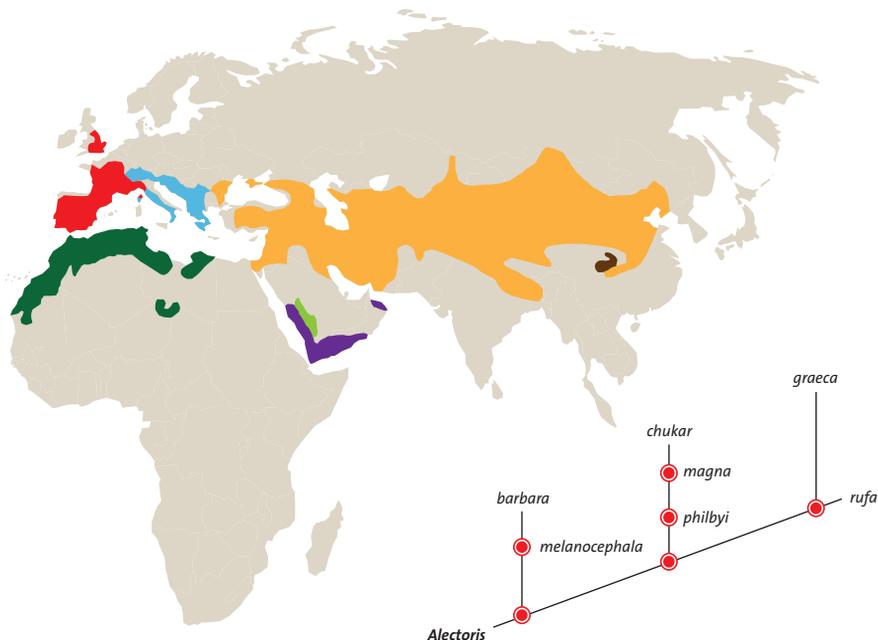


son las más parecidas a ella. La perdiz roja se distribuye en la Península Ibérica, el sur de Francia, las Islas Baleares y Córcega, aunque ha sido reintroducida con relativo éxito en Italia y Gran Bretaña. La perdiz griega se encuentra en la Península Balcánica, Italia y el sur de Francia, y puede hibridar con la perdiz roja. La *A. chukar* se encuentra desde las islas griegas y Turquía, hasta China y, por tanto, su área geográfica está alejada de la de la perdiz roja, aunque también puede hibridar con ella en cautividad y cuando coinciden en el campo (figura 5). La *A. chukar* presenta ventajas frente a la roja para la cría en cautividad, pues es más ponedora y varias hembras pueden convivir y aparearse con un solo macho, por lo que su productividad es mucho más eficiente.

Las perdices turcas no se utilizan directamente para las sueltas o repoblaciones, pues son fáciles de distinguir a simple vista de la perdiz roja; sin embargo, los híbridos de primera generación se distinguen con mucha mayor dificultad y más ardua aún resulta la identificación de otras generaciones de descendientes; por lo tanto, el fraude es también más difícil

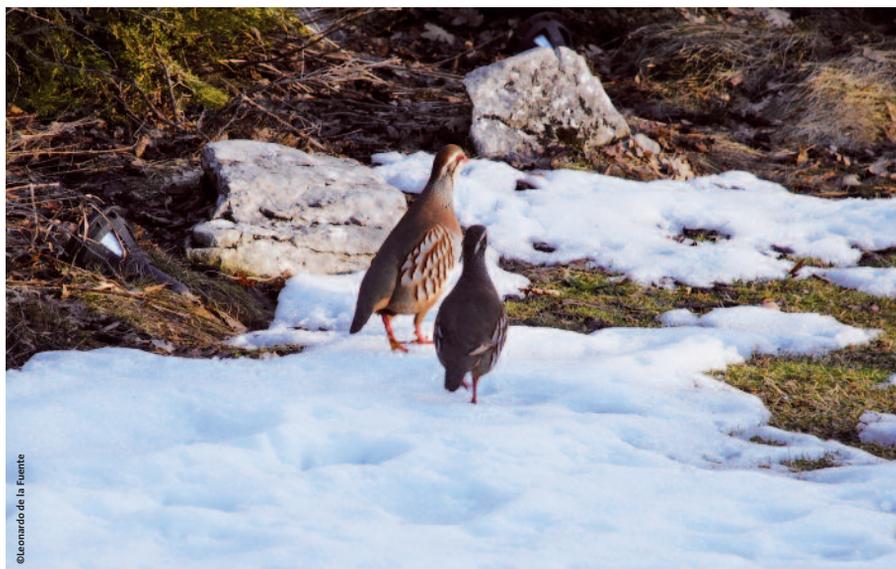
Figura 5. Distribución geográfica del género *Alectoris*

- *A. rufa*
- *A. graeca*
- *A. melanocephala*
- *A. magna*
- *A. barbara*
- *A. philbyi*
- *A. chukar*



Duarte, J. (1998).

Figura 6. Adaptación de las perdices a su hábitat singular



Elcomarado de la Fuente

de detectar. La liberación de perdices turcas o de sus híbridos no está permitida por la ley, pero desde la última década se han empezado a acumular evidencias de que en poblaciones de granja, e incluso en libertad, aparecen genotipos de *A. chukar* que, en ocasiones, han podido identificarse como de origen chino. Es de señalar que, aunque en 2001 se refirieron algunos casos de híbridos con perdiz griega, ninguno de los estudios más recientes ha detectado rastros de tal hibridación que, si efectivamente existió, debe haber desaparecido con el tiempo. Sin embargo, cada vez hay más noticias de hibridación con *A. chukar*.

El problema de la hibridación entre distintas especies surge porque cada especie se encuentra adaptada a su entorno debido a la selección natural. Aquellas variantes genéticas que producen rasgos ventajosos en un determinado ambiente acaban por extenderse a todos los individuos, constituyendo las características de la especie (figura 6). Los individuos de dos especies distintas pueden cruzarse si entre ambas especies no se han desarrollado mecanismos eficientes de aislamiento reproductivo, pero los híbridos que se forman suelen ser inviables. El fenómeno conocido como “vigor híbrido” sucede cuando, al cruzar variedades distintas de una misma especie, los híbridos muestran mayor vigor que las variedades originales. Cuando se cruzan dos especies distintas, el vigor híbrido es poco común, pues el genotipo de los híbridos no es armónico, produciéndose generalmente animales inviables y otras veces inadaptados o ineficientes, lo que se conoce como “depresión híbrida”.



Cuanto más diferentes sean las dos especies que se cruzan, es de esperar que sus híbridos sean más inviables. Como las áreas de distribución geográfica de las perdices roja y turca están bastante alejadas, es probable que los híbridos entre ambas no sean muy eficientes. Por tanto, aunque la cría de dichos híbridos en granja pueda presentar ciertas ventajas productivas, en el entorno natural posiblemente tengan claras desventajas. Esta inadaptación puede revelarse en muchos aspectos: alimentación, movilidad, resistencia al calor o a la sequía, comportamiento, etc.

Sin embargo, aunque los híbridos sean relativamente inadaptados en condiciones de campo, si el número de ellos que se introduce desde las granjas de cría es muy grande en comparación con la población autóctona, no solamente contaminarán sino que acabarán por eliminar del todo aquello que tenemos por perdiz roja, que se extinguirá como especie. El motivo es distinto, pero se llegaría al mismo resultado que si se exterminasen todos los animales.

2.1. DETECCIÓN DE LA INTROGRESIÓN MEDIANTE MÉTODOS MOLECULARES

La perdiz roja y la turca tienen un ancestro común, por lo que, hasta cierto punto, sus genomas son muy parecidos. Sin embargo, diversos procesos evolutivos han hecho que se generen diferencias genéticas entre ellas. Estas diferencias pueden detectarse mediante las herramientas genéticas adecuadas, como el análisis de marcadores moleculares.

Existen varios tipos de marcadores moleculares, pero los más fiables son los marcadores de ADN, que tienen la ventaja de proporcionar resultados a partir de muestras pequeñas y fáciles de extraer. Por otro lado, con ellos se accede directamente al genotipo de los individuos y, además, existen hoy en día multitud de bases de datos moleculares disponibles para este tipo de estudios, incluyendo bibliotecas de genomas completos.

Dentro de los marcadores de ADN, también existen varios tipos. Los microsatélites son secuencias cortas repetidas en tándem, en las que el número de repeticiones es diferente de individuo a individuo. Generalmente presentan muchas variantes y sirven sobre todo para la identificación individual y el control de paternidad.

Otro tipo de marcadores moleculares ADN son los *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP). Un SNP es simplemente un cambio de una o unas pocas bases en una secuencia de ADN y existen multitud de ellos en los genomas. En la búsqueda de SNP, cuando se analiza un fragmento determinado de un genoma se puede encontrar que distintos individuos de una especie presentan diferencias en posiciones concretas de la secuencia del ADN, estas se denominan “posiciones polimórficas”; en otros casos, todos los individuos de una especie son iguales entre sí; estas se denominan “posiciones fijadas”. Cuando se comparan los genomas de dos especies puede ocurrir que en una posición concreta del ADN en la primera especie esté fijada una variante mientras que en la segunda esté fijada una variante distinta, entonces se habla de “divergencias”, que pueden utilizarse como diagnóstico para diferenciar una especie de la otra.

2.2. PROYECTO DE DETECCIÓN DE LA HIBRIDACIÓN DE LA PERDIZ ROJA

Varios laboratorios españoles y extranjeros con experiencia en el estudio de la genética de las perdices fueron convocados por FEDENCA para emprender un proyecto encaminada a la detección de la hibridación en la perdiz roja. Cada laboratorio poseía varios marcadores moleculares de diversos tipos que podían utilizarse para tal fin.

El objetivo de dicho proyecto consistía en elaborar un método molecular fiable para la detección de hibridación en la perdiz roja, que poseyera la suficiente potencia y repetibilidad, y fuese susceptible de convertirse en una herramienta útil para los criadores, gestores y organismos oficiales.

Una vez obtenido el método, el objetivo del presente trabajo es darlo a conocer, así como las fases del estudio que han llevado a ello.



3. Descripción y desarrollo

La consecución de los objetivos del proyecto “Estudio de métodos genéticos para determinar hibridación en la perdiz roja” se llevó a cabo en dos fases: una primera fase en la que se realizó la evaluación de los métodos diagnósticos empleados por los diferentes laboratorios participantes, mediante el análisis de muestras ciegas representativas de las dos especies problema, *A. chukar* y *A. rufa*; y una segunda fase en la que se desarrollaron y consensuaron una metodología y un criterio diagnóstico para la determinación de la introgresión de *A. chukar* en *A. rufa*, comunes para todos los laboratorios.

3.1. FASE I: EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE LOS DISTINTOS LABORATORIOS

En esta primera fase, cada laboratorio aplicó su propia metodología y marcadores, diferentes a los del resto de los participantes, sobre las mismas muestras anónimas de ADN de perdiz transferidas a los laboratorios participantes por GENÓMICA S.A.U. Se trataba de un total de 266 muestras de distinta procedencia, que aportaron FEDENCA (159 muestras) y la ONCFS (107 muestras), y que encontramos detalladas en la tabla 1.

Los diferentes laboratorios aportaron un total de 57 marcadores, de los cuales 55 fueron nucleares y 3 mitocondriales. Del conjunto aportado, 32 fueron del tipo microsatélite y 25 del tipo SNP. El número de marcadores por laboratorio osciló entre 2 y 19.

Al comparar los resultados obtenidos por los laboratorios participantes, se hizo evidente que no todos los métodos mostraban la misma potencia de detección de híbridos, ni las mismas especificidad y sensibilidad.

Aunque se hace referencia a los conceptos de especificidad y sensibilidad, estrictamente no son tales, ya que en esta primera fase no se trata de una prueba de hipótesis con dos posibilidades, la nula y la alternativa. Por ejemplo, para una muestra concreta pueden existir tres alternativas: roja, turca e híbrida. Aun así, se han mantenido estas definiciones porque pueden resultar útiles.

Para el cálculo de la especificidad (probabilidad de que una perdiz roja sea dada por roja), se han considerado como referencia las perdices rojas salvajes, tanto españolas como francesas ($n = 68$). No se han utilizado las muestras de museo por la existencia, constatada por todos los laboratorios, de problemas en la calidad y la cantidad de ADN, lo que ha imposibi-



© Leonor de la Fuente

Tabla 1. Resumen de las 266 muestras de ADN de perdiz que recibió de GENÓMICA cada laboratorio participante en la primera fase

GRUPO	SUBGRUPO	PROCEDENCIA	N.º DE MUESTRAS	TEJIDO
Perdiz roja granja	Granja grande (A)	España	40	Músculo pectoral
	Granja pequeña (B)	España	40	
Perdiz roja silvestre	España (C)	Vejer (Cádiz)	10	Lengua
		Berceruelo (Valladolid)	10	
		Mués (Navarra)	10	
		Pozondón (Teruel)	9	
	Francia (D)	Córcega	29	Lengua, hígado
Perdiz roja museo (E)	Museo de Ciencias Naturales de Madrid		9	Almohadilla plantar
	Estación Biológica de Doñana, Sevilla		31	
<i>A. chukar</i> (F)	Silvestres	Líbano	31	Lengua
	Repobladas	Chipre	7	
Híbridos (G)	R1: <i>A. rufa</i> x F1 ¹	ONCFS	10	Hígado
	R2: <i>A. rufa</i> x R1		1	
	R3: <i>A. rufa</i> x R2		10	
	R4: <i>A. rufa</i> x R3		19	
Total	–	–	266	–

¹F1: *A. rufa* x *A. chukar*.

litado el genotipado de la mayoría de las muestras. Como puede observarse en el gráfico 1, los valores de especificidad obtenidos por casi todos los laboratorios son muy elevados, casi con una única excepción.

Para el cálculo de la sensibilidad (probabilidad de que una *A. chukar* sea dada por turca), se han tomado como referencia las perdices salvajes turcas (n = 38). Todos los laboratorios clasificaron erróneamente dos de estas muestras como híbridas o rojas, o no las asignaron a ninguna categoría, por lo que se duda de su procedencia. En el gráfico 2 se observa una elevada sensibilidad, con una significativa reducción en el caso de uno de los laboratorios.

Gráfico 1. Especificidad alcanzada por los laboratorios participantes

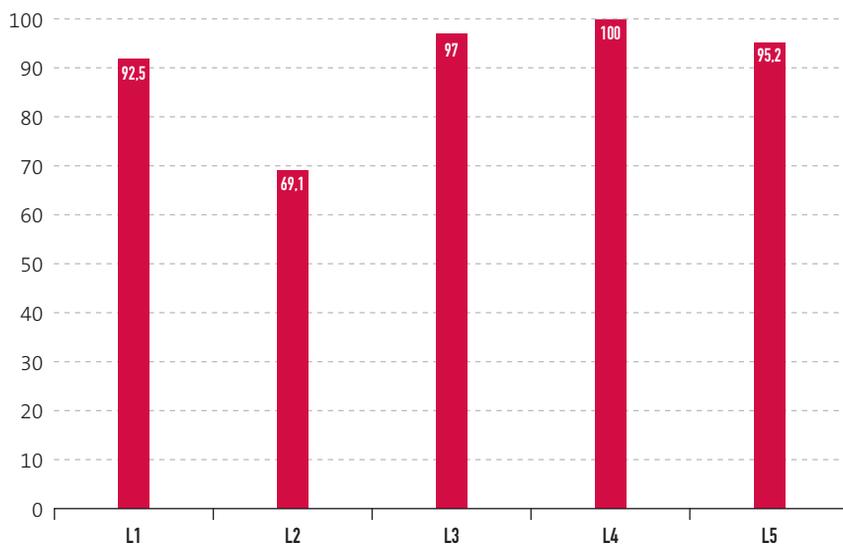


Gráfico 2. Sensibilidad alcanzada por los laboratorios participantes

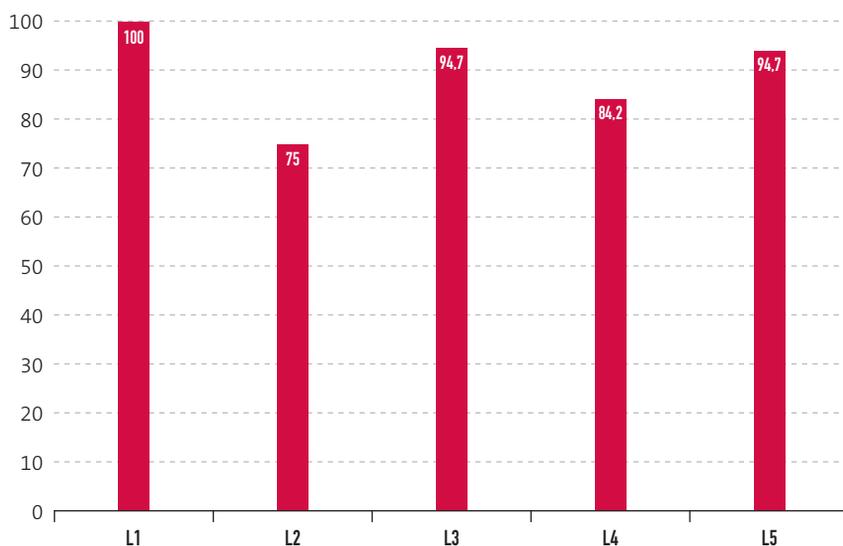
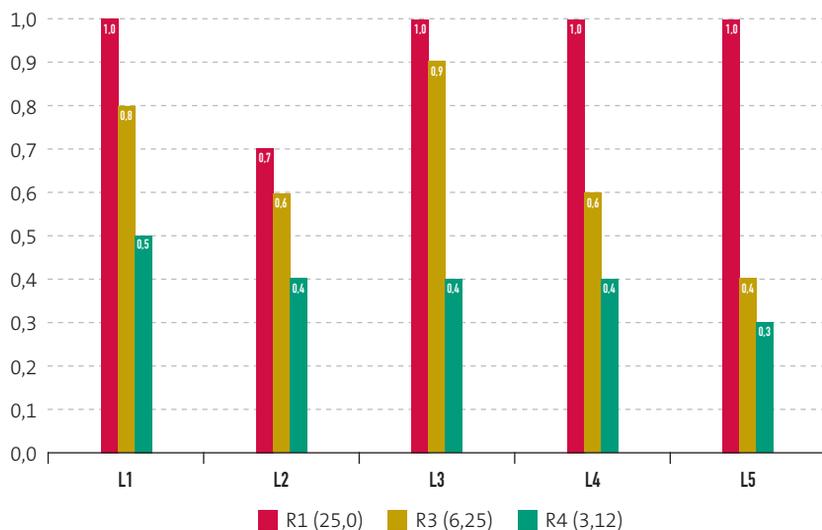


Gráfico 3. Probabilidad de detectar los diferentes tipos de híbridos por cada laboratorio. Entre paréntesis el porcentaje de genoma turco en el híbrido

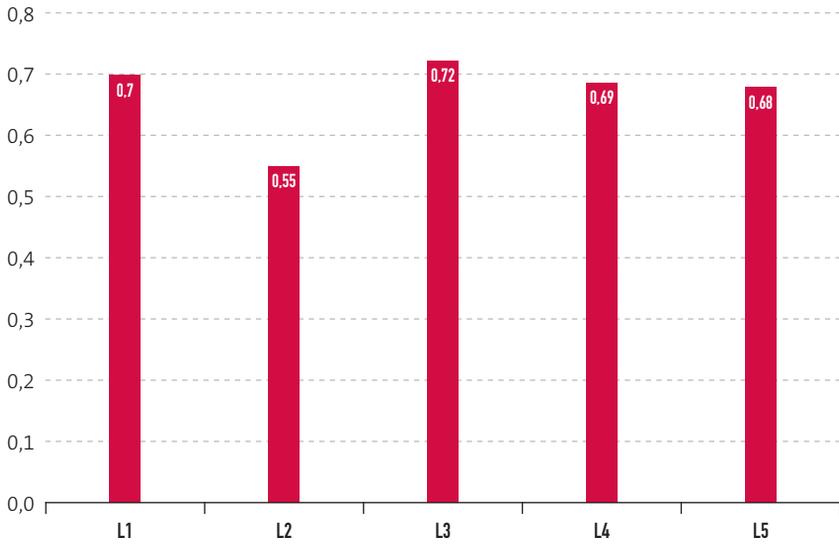


Las muestras informativas para el cálculo de la potencia de detección de cada laboratorio son, fundamentalmente, las de los híbridos conocidos, que fueron producidos y aportados por los participantes franceses. La gráfico 3 muestra la potencia de cada laboratorio para detectar las diferentes clases híbridas (R1, R3 y R4 se refieren al número de retrocruzamientos con perdiz roja). No se muestra la potencia de detección para la R2 al existir un solo ejemplar. Por ejemplo, el Laboratorio 1 tendría una potencia del 100% para detectar como híbridos animales que son R1, es decir, detectaría todos los animales que tuvieran un porcentaje de genoma de *A. chukar* superior al 25%. Así mismo, tendría una potencia del 80% para híbridos R3, es decir, detectaría el 80% de animales que tuvieran un porcentaje de genoma de *A. chukar* superior al 6%. En este sentido, hay que decir que el número de híbridos de cada una de las diferentes clases no era muy elevado, por lo que pueden producirse desviaciones importantes entre la potencia de detección teórica de un conjunto de marcadores y la que se obtiene en la práctica.

El nivel medio de coincidencia que se obtuvo entre cada laboratorio y el resto de los participantes para todas las muestras se refleja en la gráfico 4.

En resumen, estos resultados mostraron que los laboratorios discrepaban en la clasificación de un número importante de muestras, especialmente en aquellas que presentan un porcentaje bajo de genoma de la especie foránea, como son los ejemplares pertenecien-

Gráfico 4. Nivel de coincidencia entre los laboratorios participantes



tes a la R4 y las muestras de granja. Dos factores que podrían explicar en gran medida esas discrepancias son, por un lado, el reducido número de marcadores utilizados por algunos laboratorios y, por otro, las diferentes muestras de referencia empleadas por cada laboratorio para buscar y/o probar su conjunto de marcadores; es decir, es posible que esas muestras de referencia no incluyeran ejemplares de las mismas subpoblaciones turcas en todos los laboratorios.

Estos hechos apoyaron la necesidad de desarrollar un método y un criterio diagnóstico comunes para los laboratorios dedicados a la detección de hibridación *A. chukar* x *A. rufa*, evitando de este modo resultados contradictorios al analizar las mismas muestras laboratorios diferentes, y aumentando la potencia de detección de híbridos al incrementar el número de marcadores. De hecho, si se aplican de forma conjunta los diagnósticos realizados por todos los participantes, solo dos perdices pertenecientes a la R4 (3,12% de genoma turco) quedarían sin diagnosticar como híbridas.



3.2. FASE II: DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA Y EL CRITERIO DIAGNÓSTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INTROGRESIÓN DE *A. CHUKAR* EN *A. RUFA*

Con objeto de desarrollar un método fiable pero a la vez económico para la determinación de hibridación *A. chukar* x *A. rufa*, se optó por la utilización de marcadores de tipo SNP con capacidad diagnóstica (exclusivos) o con frecuencias extremas en las dos especies. Entre otras características de interés, los SNP poseen solo dos variantes, por lo que es posible seleccionar aquellos polimorfismos que presentan una variante en la población de perdiz roja y la otra en la de *A. chukar*. De esta forma, la asignación de una variante o alelo a una especie se realiza con una probabilidad de 1 o 0 (o muy próxima).

Tabla 2. Nombres y abreviaturas de los genes en los que se han descrito SNP utilizados como marcadores para la detección de introgresión de *A. chukar* en *A. rufa*

NOMBRE DEL GEN	ABREVIATURA	NOMBRE DEL GEN	ABREVIATURA
<i>Aru1I68</i>	Aru1I68	<i>Ribosomal Protein L7A</i>	RPL7A
<i>Aru1F32</i>	Aru1F32	<i>Creatine Kinase 6</i>	CKB
<i>Aru1V16</i>	Aru1V16	<i>Cell Division Cycle 2-like1</i>	CDC2L1
<i>ATP-citrate lyase</i>	ACLY	<i>β-Cristalline</i>	CRYB
<i>Adenylate Kinase 1</i>	AK	<i>Glyceraldehyde -3-P dehydrogenase</i>	GAPDH
<i>Alpha-enolase</i>	ENO	<i>Recombination activating gene 1</i>	RAG1
<i>Beta Fibrinogen</i>	FGB	<i>Aggrecan 1</i>	AGC1
<i>Hepatocyte nuclear factor 1 alpha</i>	HNFA1	<i>Parathyroid hormone</i>	PTH
<i>Myelin proteolipid protein</i>	PLP	<i>Thrombospondin 1</i>	THBS
<i>Rhodopsin</i>	RHO	<i>Pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase 2</i>	TCF1
<i>Marcador mitocondrial</i>	DLOOP/CitB	<i>Interleukina 12b</i>	IL12B
<i>Vimentine</i>	VIM	–	–

Para la detección de híbridos procedentes de retrocruzamientos avanzados (con escasa cantidad de genoma turco), se hace necesario el disponer del mayor número posible de polimorfismos, por lo que, entre los marcadores SNP aportados por cada laboratorio, se seleccionaron aquellos que mostraron un máximo de dos “fallos” (variantes no pertenecientes a la especie analizada), asumiendo como perdices rojas puras las muestras de perdiz salvaje recogidas en España y Francia, y como turcas puras las muestras silvestres procedentes de Libia. Estas muestras de referencia, en las que se basaron las decisiones posteriores de aceptación o rechazo de un marcador, se consideran representativas de ambas especies; es decir, se trató de disponer de una representación de todas las posibles subpoblaciones naturales. Teniendo en cuenta este criterio, junto con las propiedades tecnológicas de cada SNP, que son las que permiten la combinación adecuada con el resto de marcadores exclusivos para su análisis simultáneo, 23 polimorfismos fueron validados e incluidos en un sistema de PCR-Multiplex-Extensión del Cebador (tabla 2).

Aunque en los últimos años se han desarrollado numerosas técnicas para el genotipado simultáneo de SNP (TaqMan, MalDI-ToF, SNPlex, chips de SNP...), dado el número de SNP que se manejaba en este proyecto, y los equipos existentes en los distintos laboratorios participantes, se tomó la decisión de utilizar la técnica de minisequenciación, o extensión del cebador (EC), por ser un procedimiento sencillo, rápido, flexible a la hora de añadir o eliminar polimorfismos, y de bajo coste, requisito importante dado el bajo valor económico de un ejemplar de perdiz. Mediante esta técnica se ha logrado la detección simultánea de hasta 52 SNP y el genotipado específico de la mayoría de los SNP en unas condiciones de reacción similares, lo cual resulta muy útil para el genotipado a gran escala, ya que el esfuerzo requerido para el diseño y la optimización de la técnica es inferior al necesario con otras.

3.2.1. Cálculo del poder de detección de híbridos

Los resultados obtenidos con el panel de 23 marcadores cuando se aplicó sobre las 226 muestras válidas facilitadas por FEDENCA, si se considera que una perdiz es híbrida cuando presenta al menos un alelo *chukar*, muestran un poder de detección de híbridos del 100% para todos los grupos híbridos. Si solo cuando aparecen dos alelos *chukar* en un ejemplar se considera como híbrido, siete perdices quedan sin detectar con marcadores nucleares: una de la R3 (el poder de detección de la R3 quedaría en el 90%); y seis de la R4 (el poder de detección de la R4 sería del 70%). Con la información aportada por el marcador mitocondrial, quedarían sin detectar solo tres perdices de la R4 (poder de detección de la R3 del 100% y de la R4 del 85%).

El error Tipo-I asociado es de 0,139 cuando un alelo es suficiente para emitir un diagnóstico de hibridación, y de 0,015 cuando son necesarios dos alelos.

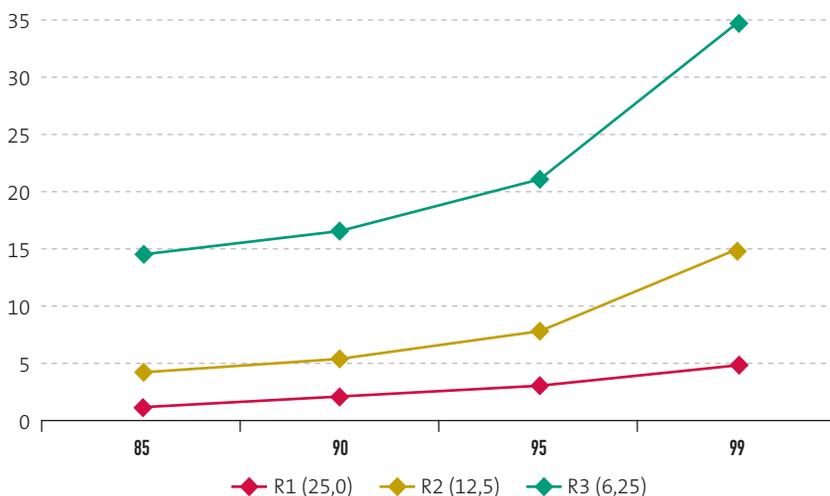
Sin embargo, no hay que olvidar que estos resultados pueden estar sometidos a una gran incertidumbre si se tiene en cuenta el reducido número de muestras híbridas analizadas.

3.2.2. Cálculo teórico del poder de detección de híbridos

En el gráfico 5 se refleja la relación entre el nivel de introgresión considerado, la potencia de detección del híbrido y el número de marcadores exclusivos que son necesarios para detectarlo.

Dado que actualmente el número de marcadores nucleares validados es de 22 (el restante es un marcador mitocondrial con un sistema de herencia no mendeliano), su utilización conjunta proporciona una potencia teórica¹ del 100, el 99,8 y el 94,7% para detectar híbridos con un 25, un 12,5 y un 6,25% de perdiz foránea, respectivamente. Estas cifras indican que de cada 100 perdices R2 (87,5% de perdiz roja) que se analicen mediante este conjunto de marcadores detectaremos como híbridas la práctica totalidad (99,8) y si son R3 (93,75% de perdiz roja), solo cinco de ellas aparecerán como rojas, detectándose como híbridas las otras 95 perdices.

Gráfico 5. Número de marcadores exclusivos necesarios para detectar híbridos con diferentes potencias de detección. Entre paréntesis el porcentaje de genoma teórico de *A. chukar*



1 Al tratarse de marcadores exclusivos (o cercanos a la exclusividad), el cálculo teórico de la potencia total de exclusión (PET), es decir, la probabilidad de detectar híbridos, se realizó aplicando la siguiente expresión:

$$P_{ET} = 1 - (1 - P_e)^n$$
 Donde n es el número de marcadores exclusivos disponibles; $P_e = 2p$, donde p es la proporción de genes de *A. chukar* en la población autóctona.

El poder de detección de híbridos en los cuales se han utilizado perdices turcas para la línea materna se ve incrementado con la utilización del SNP mitocondrial. Este marcador muestra un alelo exclusivo para cada una de las dos especies de perdiz, con lo que la presencia del alelo “turco” en un individuo es indicativa de la existencia de un cruzamiento con esta perdiz foránea en la línea materna.

Este tipo de análisis es conservador, en el sentido de que, en el caso de no detectar ningún alelo *chukar*, asumimos la ausencia de hibridación en la muestra analizada o, lo que es lo mismo, asumimos la integridad genética del ejemplar objeto de análisis. Por otro lado, el rechazo de la pureza del individuo no es probabilístico sino categórico, por lo que, descartados errores de custodia o procesado de la muestra, la presencia de determinadas “marcas” de ADN en un ejemplar permite rechazar la integridad genética del mismo.

Pretender detectar porcentajes de hibridación reducidos (por ejemplo, valores inferiores al 3%) con elevada potencia (por ejemplo, superiores al 95%), implicaría la utilización de un número de marcadores en torno al medio centenar. Teniendo en cuenta que se pretendía obtener un sistema de bajo coste que permitiera el análisis de grandes cantidades de individuos en poco tiempo, no se considera justificado aumentar el poder de detección de los híbridos más allá del retrocruzamiento R4 (3,12% de genoma turco), ya que los beneficios del incremento de la potencia para detectar animales con tan baja hibridación difícilmente compensan el coste de emplear el conjunto de marcadores necesario para lograrlo.

3.2.3. Índice de hibridación

Una de las dificultades que entrañan estos métodos de análisis es la adecuada interpretación de los resultados obtenidos. Aunque el método utilizado reúne un conjunto de características que le proporcionan una elevada calidad, debemos ser conscientes de que la técnica consiste en analizar un número relativamente elevado de genes en cada uno de los ejemplares que se someten a las pruebas. Así, la remisión de 100 muestras de perdiz implica analizar, interpretar y transcribir el resultado de 4.500 alelos. En estas condiciones es necesario ser muy riguroso a la hora de interpretar resultados globales de hibridación, ya que en caso contrario podríamos estar generando unos niveles de hibridación “estadísticos”.

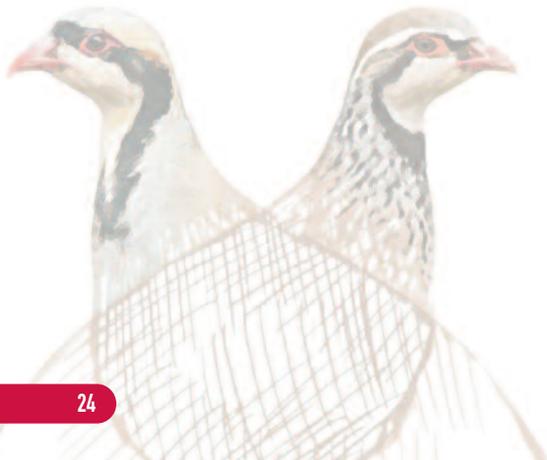
Realizadas estas cautelas, y con el fin de proporcionar información relevante sobre la situación de una explotación o de un territorio, hemos definido el **índice de hibridación** como el cociente, expresado en porcentaje, entre el número de alelos pertenecientes a la especie *A. chukar* detectados en una perdiz o en un conjunto de perdices, y el número total de alelos analizados en dicha perdiz o en el conjunto de perdices. Desde un punto de vista de gestión, en una explotación de ciclo completo el objetivo sería ir reduciendo paulatinamente este índice.

Durante un periodo de cuatro años los criterios que, a juicio del Consorcio, deberían aplicarse para clasificar los planteles de perdices (una explotación, un territorio, una partida, etc.) susceptibles de diferentes actuaciones o consideraciones serían los siguientes:

1. Índice de hibridación = 0%: se asignará la categoría **Ausencia de Hibridación**.
2. Índice de hibridación > 0% y < 2%: se asignará la categoría de **Hibridación muy Baja**, siempre y cuando el porcentaje de perdices con uno o más alelos foráneos sea $\leq 5\%$. En el caso de que dicho porcentaje sea superior, la categoría asignada será la de **Hibridación Baja**.
3. Índice de hibridación $\geq 2\%$ y < 5%: se asignará la categoría de **Hibridación Baja**.
4. Índice de hibridación $\geq 5\%$ y < 10%: se asignará la categoría de **Hibridación Media**.
5. Índice de hibridación $\geq 10\%$: se asignará la categoría de **Hibridación Alta**.

Las categorías **Hibridación Baja** e **Hibridación Media** indican explotaciones o planteles que requieren una acción de eliminación paulatina de reproductores contaminados, de tal forma que sería conveniente analizar su evolución a lo largo de 4-5 años para observar que los porcentajes de hibridación se reducen significativamente. En principio, no deberían ser penalizadas a no ser que se evidencie una falta sistemática y contrastable de reducción del porcentaje de hibridación.

La última categoría, **Hibridación Alta**, implicaría una acción más rigurosa, incluida la posibilidad de condicionar la suelta de animales, repoblaciones, etc., y un plan más intenso de análisis de reproductores para reducir en 3-4 años los actuales niveles de hibridación.



4. Conclusiones

Teniendo en cuenta los datos existentes sobre los niveles de introgresión genética de *A. chukar* a lo largo de todo el rango de distribución de la perdiz roja, así como en granjas cinegéticas de Francia, Portugal y España, parecía justificado el desarrollo de una herramienta molecular para la detección de híbridos de distinto grado de *A. rufa* x *A. chukar* como la que aquí presenta el Consorcio *Perdiz Roja* FEDENCA-Laboratorios de Genética®.

La herramienta molecular reúne las características técnicas necesarias para poder aplicarse en condiciones de campo de forma masiva.

La aplicación de esta herramienta permitirá, por una parte, un conocimiento preciso de la situación de la perdiz roja, tanto silvestre como criada en cautividad, y, por otra parte, prevenir las consecuencias de la introgresión en la perdiz roja salvaje mediante la realización de controles en granjas cinegéticas y la restricción de utilización de individuos híbridos.



5. Aplicaciones prácticas

Los estudios genéticos se emplean cada vez más para tomar decisiones prácticas en la gestión de la fauna silvestre, sobre todo para la protección de especies amenazadas, manejo de recursos pesqueros y, últimamente, para la gestión cinegética. Los resultados de estos estudios genéticos aconsejan decisiones que no solo afectan a las poblaciones o especies bajo consideración, sino también a las actividades humanas que tienen que ver con esas poblaciones o especies. Por ejemplo, estas decisiones podrían conllevar la sanción de granjas cinegéticas que críen perdices híbridas para suelta, de acuerdo con leyes y normativas. Las consecuencias sociales y económicas de los análisis genéticos, como los de hibridación en perdices, son de la suficiente magnitud y afectan a intereses lo bastante dispares como para que se haya creado un debate casi interminable sobre las virtudes o desméritos de los métodos genéticos empleados, de la interpretación de los resultados genéticos y del proceso de control en sí.

Hay varias aplicaciones prácticas del estudio “Métodos genéticos para determinar hibridación en la perdiz roja” y lógicamente, tienen que ver con los casos en que es necesario detectar y cuantificar hibridación en perdices. En estas aplicaciones, el éxito del consejo genético va a depender de varios aspectos prácticos acerca del modo en que se procede para conseguir los datos genéticos. En concreto, depende de: 1) el diseño experimental, incluyendo un muestreo apropiado respecto al número de muestras a tomar y procedencia de las mismas; 2) los protocolos de toma de muestras y su envío al laboratorio de análisis, incluyendo consideraciones sobre el personal que debe tomar las muestras, el correcto etiquetado de las mismas y el modo de conservarlas y de enviarlas al laboratorio hasta su análisis, y 3) el análisis e interpretación apropiados de los datos. Además, a diferencia de la investigación científica académica, cuando se trata de estudios genéticos (o de otro tipo) aplicados a la gestión cinegética, el proceso de obtención de muestras y datos de origen y los resultados de los análisis deben ser transparentes para los beneficiarios (o perjudicados) de los resultados, que a menudo no son genetistas. Por tanto, deben presentarse de modo que puedan ser entendidos y contrastables tanto ante otros científicos, como ante un tribunal, si llegara el caso. Por supuesto, la calidad de los datos genéticos ha de ser adecuada para apoyar las conclusiones alcanzadas, pero además de eso, otros científicos, gestores, cazadores, tribunales y Administraciones tienen que ser capaces de entender y evaluar la calidad de los datos e interpretar sin ambigüedad aspectos técnicos o analíticos que pudieran afectar al resultado de un estudio.

5.1. SOBRE LA TOMA DE MUESTRAS

El primer paso en cualquier estudio genético es realizar un muestreo adecuado, tanto en el tipo de muestra que se extrae y el modo en que se maneja, como en el número de muestras que se toman en cada caso.

Preferentemente, debe tomarse sangre de las perdices, por ser un tejido rico en ADN fácil de extraer. La sangre (0,1-0,5 ml) puede tomarse por punción en la vena braquial o en la femoral, y recogerse con una jeringuilla o bien mediante un capilar, aunque en este último caso no debería estar heparinizado, porque la heparina complica análisis posteriores en el laboratorio. También pueden emplearse plumas como muestra, tomando al menos cinco de ellas, preferentemente en crecimiento. En explotaciones de ciclo completo o en terrenos cinegéticos a veces las muestras pueden ser de otros tejidos o embriones, en cuyo caso pueden cortarse pequeños fragmentos. Tratándose de plumas, estas pueden guardarse en sobres de papel. Sangre, otros tejidos y embriones deben introducirse en viales que contengan un conservante que pueda mantener el ADN con poca o ninguna degradación a temperatura ambiente.

En cualquier caso, las muestras biológicas para analizar deberán ser obtenidas por un técnico competente (designado por la Administración afecta o por el Consorcio), que emitirá un certificado estandarizado explicando las características de los animales, las de las muestras y la forma de recogida de estas. El técnico debe ser totalmente ajeno e independiente a la entidad propietaria o gestora de la procedencia de las muestras (granja, coto, etc.). El técnico encargado de la selección de ejemplares y de la obtención de muestras biológicas deberá estar acreditado como personal investigador o experimentador en la utilización de animales de experimentación y para otras finalidades científicas con la normativa vigente (Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos). Durante el proceso de la selección de los ejemplares para analizar y la obtención de muestras biológicas de estos, el técnico debería estar acompañado por un representante de la entidad.

El modo de proceder y el número de muestras de perdices que se deben tomar variará dependiendo de si las muestras se obtienen en terrenos cinegéticos, en explotaciones o en vehículos.

5.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS EN TERRENOS CINEGÉTICOS

En el supuesto de que el objeto de la actuación sea comprobar la ausencia de hibridación en el terreno cinegético, se recomienda que el tamaño de muestra sea tal que se pueda garantizar que un resultado negativo implique que el porcentaje de perdices híbridas es inferior al 5% con unas probabilidades del 95 o del 99%. En el primer caso se requiere la toma aleatoria de 58 muestras de perdices, mientras que en el segundo se necesitarían 90 muestras (siempre que la muestra se tome al azar, que la distribución de los animales sea uniforme y que la población se encuentre dentro de un área biogeográfica uniforme). Se debe entender que estos tamaños de muestra son independientes del número de perdices que pueda contener el terreno cinegético del que se desea la comprobación de ausencia de hibridación. Por otra parte, estos tamaños de muestra se consideran para cada una de las unidades de

muestreo que el técnico considere que constituyen el terreno cinegético. En caso de que el personal responsable del muestreo no disponga de la documentación técnica que le permita determinar el número de unidades de muestreo, se muestrearán el 10% de los ejemplares abatidos en los diferentes periodos de la temporada de caza:

- Inicios de temporada (desde el primer día de caza hasta 1/3 de los días).
- Medios de temporada (desde el primer día de caza del 2/3 hasta el final del 2/3).
- Finales de temporada (el último tercio del periodo hábil).

En el supuesto de que el interés de la actuación fuera conocer la situación del terreno cinegético, esto es, conocer el porcentaje medio de perdices híbridas, en el que se encuentra la población objeto de inspección o estudio, el tamaño de la muestra depende de varios factores cuyos valores *a priori* no se conocen. Por lo que una recomendación que contempla una amplia gama de situaciones es la de tomar entre 100 y 250 muestras al azar de cada unidad de muestreo (siempre que la muestra se tome al azar, que la distribución de los animales sea uniforme y que la población se encuentre dentro de un área biogeográfica uniforme), aunque, evidentemente, tendrá que ser el técnico quien, a la vista de las características del terreno cinegético, tome la decisión sobre cuántas unidades de muestreo o poblaciones de referencia considera que pueden definirse en dicho terreno cinegético. En caso de que el personal responsable del muestreo no disponga de la documentación técnica que le permita determinar el número de unidades de muestreo, se muestrearán el 10% de los ejemplares abatidos en los diferentes periodos de la temporada de caza.

5.3. OBTENCIÓN DE MUESTRAS EN EXPLOTACIONES CINEGÉTICAS

Se considera granja o explotación cinegética toda explotación industrial cuya finalidad sea la producción de piezas de caza para su reintroducción en el medio natural o su comercialización, vivas o muertas, independientemente de que en la misma se desarrolle completamente su ciclo biológico o solo alguna de sus fases. En las granjas cinegéticas, tanto las de ciclo cerrado como las de abierto, deberá obtenerse un número representativo de muestras de todas y cada una de las diferentes líneas de origen de reproductores, huevos, pollos de engorde y juveniles en parques. Para determinar los tamaños de muestra que deben tomarse, se puede atender a lo recomendado anteriormente en los terrenos cinegéticos, aunque en este caso la unidad de muestreo no es el terreno cinegético sino las distintas líneas genéticas dentro de la granja. Tendrá que ser el técnico quien, a la vista de las características de la explotación, tome la decisión sobre cuántas unidades de muestreo o poblaciones de referencia considera que pueden definirse en dicha explotación. Por ejemplo, el técnico puede disponer de elementos suficientes para considerar que los hue-

vos que se incuban en la explotación no provienen de reproductores de dicha explotación y considerarlos, por lo tanto, una población diferente al resto de individuos de la explotación. En caso de que el personal responsable del muestreo no disponga de la documentación técnica que le permita determinar el número de unidades de muestreo, se muestrearán el 10% de los ejemplares de cada estrato: reproductores, huevos, pollos y juveniles en parques. Finalmente, si los responsables del muestreo advirtieran la existencia de algún tipo de estratificación en las unidades de muestreo, deberían intentar repartir las muestras de forma proporcional a la importancia de cada estrato. Así, por ejemplo, si a la hora de diseñar un muestreo los responsables observan que en una unidad de muestreo hay un 80% de perdices adultas y un 20% de pollos, deberán intentar mantener proporciones parecidas en el muestreo que realicen en dicha unidad. En caso de que el personal responsable del muestreo no disponga de la documentación técnica que le permita determinar el número de unidades de muestreo, se muestrearán el 10% de los ejemplares transportados de cada estrato.

En aquellas explotaciones en las que se disponga de análisis previos realizados con el método homologado y el protocolo exigido para la certificación, y además pueda garantizarse la trazabilidad de los ejemplares o huevos adquiridos, el técnico podrá ajustar el muestreo atendiendo a la situación particular de cada explotación.

En cualquier caso, los informes o certificados harán referencia única y exclusivamente a la granja muestreada. Los muestreos realizados en una granja, así como los resultados que se desprendan de los análisis genéticos, no podrán extrapolarse al resto de granjas que la persona o entidad titular tenga en otras ubicaciones geográficas.

5.4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS EN VEHÍCULOS DE TRANSPORTE

En el caso de que la entidad de origen sea un vehículo de transporte, la autoridad competente (Guardia Civil, Policía Autonómica, etc.) deberá comprobar el cumplimiento de la legislación vigente sobre la comercialización, transporte y suelta de piezas de caza vivas. Los agentes requerirán y revisarán la documentación exigida para cada tipo de traslado: en la misma comunidad autónoma, desde otras comunidades, desde otros países de la UE o desde países terceros. Todo transporte de piezas de caza viva deberá estar amparado por la correspondiente guía de origen y sanidad pecuaria (u otro tipo de documentación de traslado autorizado). La responsabilidad del cumplimiento de este precepto corresponde a la granja cinegética de origen y subsidiariamente al transportista. Todos los cajones, jaulas o embalajes de cualquier índole que se empleen en este proceso comercial deberán llevar, en lugar bien visible, etiquetas en las que figuren la denominación de la explotación industrial de origen y su número de registro, así como el terreno cinegético o granja cinegética de destino.

El técnico determinará el número de muestras necesarias que, en el caso de los vehículos de transporte, deberá ser representativo de muestras de los huevos o ejemplares transportados, atendiendo al muestreo propuesto también para explotaciones cinegéticas.

En todos los casos, la trazabilidad de las muestras y su custodia serán garantizadas por la Administración o entidad competente.

La palabra “trazabilidad” existe en castellano y significa la posibilidad de identificar el origen y las diferentes etapas de un proceso de producción y distribución y el reflejo documental de esas etapas. La trazabilidad son protocolos de actuación que permiten conocer la historia de una muestra, esto es, su origen, localización en cada momento y la trayectoria seguida desde su toma hasta la obtención de los resultados genéticos. Es imprescindible que exista un registro de los pasos que sigue la muestra mientras se mueve por la cadena del proceso desde su obtención hasta los resultados, movimiento que puede ir en sentido inverso si, pongamos por caso, se requiriera un contraanálisis.

La cadena de custodia es el manejo y control de las muestras desde su toma hasta la obtención de resultados que garantice la imposibilidad de manipulación de las muestras biológicas y de la documentación. Como ya se ha dicho, es imprescindible que una persona ajena e independiente a las partes sometidas a la prueba, con la autoridad y formación requeridas, tome las muestras y verifique la identidad y características de lo sometido a la prueba genética, reflejándolo en las correspondientes copias firmadas de los documentos de identificación. Muestras y documentos pueden pasar por varias manos desde que son tomados hasta su valoración y, mediante una cadena de custodia, el trasiego de ambos se hace de modo que no se pueda viciar el manejo que se haga de ellos, evitando así contaminaciones, alteraciones, daños, reemplazos, destrucciones o cualquier alteración accidental o intencionada de muestras y documentos. Una cadena de custodia sigue los pasos de muestras y documentos desde su toma, pasando por su almacenaje y conservación, transporte, traspaso de los mismos a FEDENCA, los laboratorios o fiscalías, hasta su custodia y preservación.

La gestión administrativa y las normas que puedan regular el modo en que se toman y custodian muestras para análisis genéticos y la manera en que pueden hacerse inspecciones de terrenos cinegéticos, explotaciones y transportes de perdices están en manos de las diferentes Administraciones. Esta exposición no es más que una serie de criterios básicos para aconsejar en el modo que se deberían realizar estudios genéticos con fines prácticos.



6. Mapa español de la pureza genética de la perdiz roja (*Alectoris rufa*) y estudio de la introgresión de genotipos de perdiz turca (*Alectoris chukar*) en España

Este proyecto es una aplicación práctica del estudio “Métodos genéticos para determinar hibridación en la perdiz roja” que pretende dar utilidad en campo a los análisis genéticos, valorando la calidad genética de las perdices que hay en los cotos de España durante la temporada de caza. Planteado con una ejecución a cuatro temporadas cinegéticas (2010/2011, 2011/2012, 2012/2013 y 2013/2014), los objetivos primordiales del mismo son establecer el mapa español de pureza genética de la perdiz roja por comarcas provinciales y, por otro lado, determinar las posibles diferencias genéticas y morfológicas entre perdices de diferentes latitudes de nuestra geografía. La caracterización de la extensión de la hibridación en perdices rojas que pretende el mapa de la pureza genética de la perdiz roja en España no solo nos permitiría conocer la situación en la naturaleza en el momento actual, sino que los datos de hibridación podrían tomarse como referencia en un estudio similar posterior, que nos daría información del resultado en las poblaciones silvestres de un posible control genético de las sueltas de perdices, pasados algunos años.

7. Información complementaria

Página web: www.fecaiza.com

Otros estudios y trabajos relacionados:

- Estudios actuales:
 - Estudio etológico y niveles hormonales para la determinación del inicio de la puesta en la perdiz roja (Dr. Francisco Fuentes García, Universidad de Murcia, noviembre 2007/2010).
 - Mapa de pureza genética de la perdiz roja (*Alectoris rufa*) y estudio de la introgresión de genotipos de perdiz chukar (*Alectoris chukar*) en España (José Antonio Pérez Garrido, colabora Fundación Biodiversidad, enero 2010/2014).
 - Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España (Rafael Mateo, IREC, UCLM, enero 2010-2013).

• Estudios anteriores:

- Recuperación y gestión de la perdiz roja en España (Mario Sáenz de Buruaga/Antonio Lucio, 1994/2000).
- Estudio parasitológico de las poblaciones de perdices silvestres y sus ciclos biológicos de transmisión (Javier Lucientes, Universidad de Zaragoza, 1996).
- Marcadores genéticos de la perdiz roja (José Antonio Dávila, IREC, Fundación Biodiversidad, 2002).
- Situación de la perdiz con reclamo (Asesoría Jurídica de la RFEC, 2002).

Publicaciones relacionadas:

- “La perdiz roja” I Curso. Edita: Fundación FEDENCA, año 1998, 239 páginas.



© José Luis Carrido

Entidades colaboradoras

