ORIGEN DE LA INTROGRESIÓN GENÉTICA EN LA PERDIZ ROJA ESPAÑOLA CON PERDIZ TURCA

ORIGIN OF THE GENETIC INTROGRESSION IN SPANISH RED-LEGGED PARTRIDGE WITH CHUKAR PARTRIDGE

Cristina Marín Elisa Hernández Paula García-Trapote Pilar Arana

Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid mparana@ucm.es

Resumen

La producción natural de perdiz roja en España no satisface la demanda cinegética, por ello se realizan rutinariamente repoblaciones con perdices criadas en granjas. En ocasiones, se han introducido fraudulentamente especímenes foráneos, sobre todo de perdiz turca, que puede hibridar con la roja, produciéndose un fenómeno de introgresión genética. En este trabajo se analizan secuencias de DNA mitocondrial de perdices híbridas recogidas en granjas y en cotos de localidades repartidas por la geografía española y se comparan con secuencias de perdiz turca de múltiples orígenes. Los resultados corroboran la procedencia oriental detectada previamente e indican que todas las secuencias de perdiz turca dispersas en la geografía española tienen un origen muy restringido.

Palabras clave: Perdiz roja, Perdiz turca, Introgresión Genética, Hibridación.

Summary

The natural production of red-legged partridge in Spain does not meet hunting demand, so stocking with fowl-run reared partridges is routinely performed. Sometimes, specimens of foreign origin, especially the chukar partridge have been fraudulently introduced. Chukar partridge can hybridize with the red-legged partridge, resulting in genetic introgression. In this paper, mitochondrial DNA sequences of partridges collected in fowl-runs and hunting areas throughout the Spanish geography are compared with sequences of chukar partridge from multiple sources. The results of this study corroborate the oriental origin previously reported and suggest that all the chukar partridge sequences scattered in the Spanish geography have a very restricted origin.

Keywords: Red-legged partridge, Chukar partridge, Genetic introgression, Hybridization.

Fecha de recepción: 16/12/2014. Fecha de aceptación: 21/01/2015.

Introducción

La perdiz roja, *Alectoris rufa*, es la especie más emblemática de caza menor en España (Blanco-Aguiar *et al.* 2003). Se cobran anualmente varios millones de ejemplares, lo que constituye una importante fuente de ingresos, sobre todo en áreas rurales que carecen a menudo de grandes recursos económicos.

La escasez de esta especie en los campos, debida principalmente a causas como la progresiva destrucción de su hábitat o a una elevada presión de sus predadores antrópicos y silvestres ha hecho necesario el desarrollo de métodos alternativos, como las sueltas (liberación de animales inmediatamente antes de la partida de caza) y repoblaciones (liberación de animales tras la temporada de caza, con fines reproductivos) con ejemplares criados en granjas. Sin embargo, la perdiz roja presenta una baja adaptabilidad para la cría en cautividad, lo que reduce su potencial reproductivo: los apareamientos tienen que ser monógamos, pues la presencia de más de una hembra con un solo macho hace que se produzcan agresiones entre ellas hasta quedar sólo una, además, el número de huevos por puesta es relativamente bajo. Por estas razones algunos criadores comenzaron a realizar cruces con otras especies del mismo género, como la perdiz griega (Alectoris graeca) (Negro et al., 2001) y, sobre todo, la perdiz turca (Alectoris chukar), debido a que ésta se adapta mejor a la cría en cautividad y tiene mejores índices reproductivos, ya que con un solo macho pueden convivir hasta cuatro hembras (Francesch y Colominas, 2008).

En análisis previos realizados con distintos marcadores moleculares, se han encontrado en la Península Ibérica algunos híbridos de perdiz roja con perdiz griega o turca. La hibridación conlleva problemas genéticos, como son la pérdida de variabilidad y la falta de adaptación al medio y, a la larga, provoca la destrucción del acervo genético de la especie autóctona.

El género *Alectoris* cuenta con siete especies (*A. barbara, A. chukar, A. graeca, A. magna, A. melanocephala, A. philbyi* y *A. rufa*), todas ellas muy similares morfológicamente, distinguiéndose sobre todo por los patrones de plumaje del rostro y el cuello.

La perdiz roja se encuentra en la Península Ibérica, el sur de Francia, y en las Islas Baleares y ha sido introducida con éxito en zonas de Gran Bretaña (Johnsgard, 1988) y de Italia (Baratti et al., 2005); la perdiz griega o perdiz de roca (A. graeca) se distribuye en Italia y en los Balcanes occidentales, incluyendo Grecia continental, mientras que la perdiz turca (A. chucar) ocupa un área más amplia, extendiéndose desde las islas griegas y Turquía hasta el norte de China, a través de Asia Central, además de existir numerosas zonas donde ha sido introducida con éxito, como el Reino Unido (Long, 1981) (Figura 1). Debido a la amplitud de su distribución, existe un cierto grado de diferenciación dentro de la especie Alectoris chukar, de la que se conocen 14 subespecies distinguibles morfológicamente, cada una localizada en un área geográfica concreta.

Se conocen zonas donde estas especies son parapátricas y existe una hibridación natural, A. rufa y A. graeca forman híbridos en el sureste de Francia (Bernard-Laurent 1984) al igual que A. graeca y A. chukar en Bulgaria (Dragoev 1974) y Grecia (Triantafyllidis et al.

2005). Entre *A. rufa* y *A. chukar* no se producen híbridos naturales, ya que su distribución geográfica no se superpone, sin embargo, en áreas donde se ha introducido esta última artificialmente con fines cinegéticos, se ha encontrado evidencia de hibridación, entre *A. rufa* y *A. chukar* en el centro de Italia (Baratti *et al.*, 2005) y en distintas zonas de la Península Ibérica (Martínez-Fresno *et al.*, 2007), que no pertenecen a la distribución natural de la perdiz turca.

La posibilidad de hibridación interespecífica hace aún más grave la introducción de especies alóctonas, ya que existe la posibilidad de introgresión genética. Un ejemplar híbrido entre ambas especies además de ser más productivo (Nadal, 1992), es fértil y, tras retrocruzamientos sucesivos, las diferencias morfológicas entre individuos híbridos y puros se van diluyendo, de tal manera que un retrocruzamiento con perdiz roja de híbridos de F₁ de *A. rufa* y *A. chukar* es prácticamente indistinguible morfológicamente de una perdiz roja. Esto impide que los cazadores puedan diferenciarlas fácilmente y propicia la introgresión en cotos españoles con *A. chukar* y la difusión de sus genes entre la población salvaje.

Aunque la perdiz roja (A. rusa) está clasificada según el Libro Rojo de los Vertebrados de España (Blanco y González, 1992) como especie no amenazada, según la clasificación del grado de amenaza europeo para las aves (Tucker y Heath, 1994) está considerada una especie vulnerable, debido a las circunstancias anteriormente descritas de destrucción de hábitat, sobreexplotación y repoblación indiscriminada con especies alóctonas.

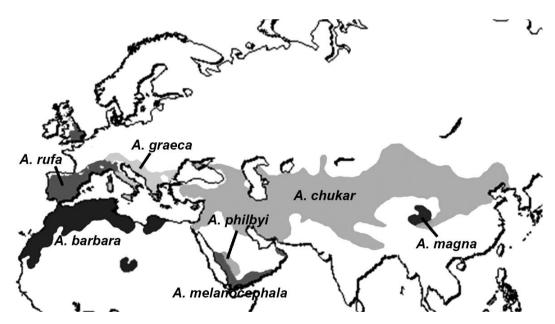


Figura 1. Distribución de las distintas especies de Alectoris según Randi (1996)

La Ley 42/2007 del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, constituye el régimen jurídico básico de la conservación, uso sostenible, mejora y restauración del patrimonio natural y de la biodiversidad española. Dicha ley establece las especies que son objeto de caza y pesca, así como un catálogo de las especies protegidas y las condiciones de su caza. Asimismo hace un inventario de las especies que deben ser objeto de medidas de conservación especiales en cuanto a su hábitat, con el fin de asegurar su supervivencia y su reproducción. Complementariamente, el Real Decreto 1118/1989, establece específicamente la prohibición de introducir ejemplares vivos de especies cinegéticas o subespecies que comporten un riesgo para la pureza genética de las subespecies o razas geográficas autóctonas.

En un estudio anterior (Martínez-Fresno et al., 2007) se detectó introgresión genética con perdiz turca en dos localidades de Huesca y Toledo respectivamente y en dos granjas localizadas en Palencia y Burgos, pudiendo determinar, a partir de las secuencias, el origen geográfico de la contaminación, que corresponde a la zona más oriental de la distribución de la especie (China, Mongolia y Kirguizistán). En este trabajo se amplía el estudio a ejemplares de otras granjas, híbridos experimentales y a nuevas muestras híbridas obtenidas de animales en libertad, procedentes de cotos de localidades españolas muy variadas y distantes, con el fin de identificar, con mayor precisión, el origen y la extensión de la contaminación genética. Se han empleado para comparación, tanto secuencias depositadas en la base de datos molecular GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI) como secuencias procedentes de Líbano, correspondientes al área mediterránea de distribución de la perdiz turca. Hemos utilizado secuencias de una zona altamente polimórfica –región control– del DNA mitocondrial (DNAmt), para averiguar la procedencia de los ejemplares de A. chukar analizados y así determinar la amplitud de la contaminación y si su origen es el mismo previamente detectado.

Materiales y métodos

Muestras:

Analizamos una serie de muestras de *Alectoris chukar* o de sus híbridos con *A. rufa*, procedentes de diversas localizaciones, incluyendo animales silvestres de Líbano; animales silvestres procedentes de diversos cotos abarcando toda la geografía peninsular (procedentes en parte de la Fundación FEDENCA, 2013) y animales producidos en tres granjas, todas de ciclo completo, es decir, que poseen reproductores: dos granjas cinegéticas, una de gran producción y otra de pequeña producción y una tercera dedicada a la producción de carne, que puede legalmente utilizar cualquier especie de perdiz; además, se analizaron individuos procedentes de una granja experimental francesa dependiente de la *ONCFS* (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Saint-Benoist, Francia) en donde se obtienen híbridos de forma artificial para su estudio. En la tabla 1 se recogen los tamaños muestrales en relación con la procedencia de los individuos.

Las secuencias se compararon con las depositadas en la base de datos GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), del National Center for Biotechnology Information.

Extracción de DNA:

El DNA fue extraído a partir de células procedentes del cañón de las plumas. El marcador seleccionado para el análisis es una secuencia de 234pb comprendida en la región hipervariable I de la región control (D-loop) del DNA mitocondrial de Alectoris. Se utilizaron los cebadores descritos en Martínez-Fresno et al. (2005). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo en un termociclador PTC-150 Mini Cycler TM (MJ Research), con un volumen final de 10μ l por tubo, comprendiendo 2μ l de DNA, 0.2μ l de dNTPs, 0.2μ l de cada uno de los cebadores, 0.4μ l de BSA, 0.08μ l de la polimerasa Taq, 1μ l de 10x y H_2O .

POBLACIÓN	N° INDIVIDUOS
Badajoz	3
Burgos	1
Granada	1
Granja cinegética de baja producción	10
Granja cinegética de producción masiva	1
Granja de producción de carne	7
Híbrido ONCFS	4
Huesca	1
Lérida	1
Líbano	2
Lugo	1
Madrid (Colmenar Viejo)	1
Madrid (Valdaracete)	1
Murcia	1
Toledo (Manzaneque)	1
Toledo (Tembleque)	2
TOTAL	38

Tabla 1. Material biológico analizado en el presente estudio, incluyendo los tamaños muestrales en relación con la procedencia de los individuos.

El programa utilizado en el termociclador constaba de 40 ciclos bajo las condiciones siguientes: 5 min. de desnaturalización a 95°C, 1 min. de hibridación a 53°C y 1 min. de extensión a 72°C, 1 min. de desnaturalización a 94°C, y una extensión final 9 min. a 72°C, tras esto se conservaba a 4°C hasta la finalización manual del programa.

Los resultados de la PCR se comprobaron mediante electroforesis en agarosa al 2% y bromuro de etidio al 0,1% ($1,0~\mu g/ml$) en tampón TBE (45mM tris-borato y 1mM EDTA) a 90~V.

La secuenciación se realizó en La Unidad de Genómica del Parque científico de Madrid, UCM, Campus de Moncloa, con el secuenciador automático 3730 DNA Analyzer, Applied Biosystems®.

La lectura de las secuencias para designar la secuencia consenso se realizó con el programa Chromas lite 2.01© 1998-2005 Technelysium Pty. Ltd, se editaron con BioEdit Sequence Alignment Editor 7.0.0. ©1997-200 (Hall, 1999) y el alineamiento se llevó a cabo con la aplicación Clustal W multiple alignment (Thompson et al. 1994).

El análisis de haplotipos y puntos polimórficos se realizó con el programa *DNA Sequence Polymorphism DnaSP 5.10*, (Librado y Rozas, 2009). Se elaboró una red de haplotipos con el programa *Network 4.5.1.6* © 2004–2009 Fluxus technology Ltd.

Resultados

En las secuencias analizadas se encontraron dos posiciones variables, ambas transiciones C-T, constituyendo tres haplotipos diferentes, claramente pertenecientes a la especie *Alectoris chukar* y coincidentes con los anteriormente descritos (Martínez-Fresno *et al.*, 2007).

Los haplotipos encontrados muestran las posiciones variables en relación con la secuencia de referencia del DNA mitocondrial de *A. chukar* AF435558 (Wei *et al.*, 2001) tal y como se aprecia en la tabla 2. Los haplotipos 68 y 69 fueron los más frecuentes mientras que el haplotipo 70 es más escaso.

Con los haplotipos encontrados en España y los depositados en la base de datos GenBank, se construyó una red haplotípica mediante el método "median joining", que muestra un claro componente geográfico, con dos grandes grupos de haplotipos: un grupo correspondiente al área más occidental de la distribución de *A. chukar*, con las secuencias procedentes de Líbano, Georgia y las islas griegas; y otro correspondiente a la zona más oriental, con secuencias procedentes fundamentalmente de varias zonas de China, Mongolia y Kirguizistán. Los individuos de ambos grupos están separados en la red al menos por seis segmentos, lo que indica que difieren, al menos, en seis mutaciones distintas. Las únicas excepciones de esta división son las muestras de Pakistán y Afganistán, que se agrupan con los haplotipos orientales, lo que indica una diferenciación local específica (Figura 2).

Los tres haplotipos hallados en este trabajo coinciden con los previamente descritos en España (Martínez-Fresno et al., 2007) y pertenecen al grupo oriental. A pesar de haber ampliado significativamente la muestra, tanto en número como en diversidad de orígenes, no

Posición	16	29	141	234														
AF435558 A. chukar	С	С	С	С	BU	ВА	GR	GrL	GrA	GrS	HU	LE	$T\Omega$	MA	MU	ONFCS	OL	Total
Hap_68	G			G	1	1	1	1	1	8	1		1	1	1	2	2	21
Hap_69	G		Т	G		2		5		1		1		1		1	1	12
Hap_70	G	Т		G				1		1						1		3

Tabla 2. Lista de haplotipos y frecuencias correspondientes al DNA mitocondrial de A. chukar encontrados en poblaciones españolas. Se señalan las posiciones polimórficas utilizando como referencia la secuencia AF435558 descrita por Wei et al. (2001). BU-Burgos, BA-Badajoz, GR-Granada, GrA-Granja A (Burgos), GrL-granja de carne de Lérida, GrS-Granja S (Palencia), HU-Huesca, LE-Lérida, LU-Lugo, MA-Madrid, MU-Murcia, TO-Toledo (Tembleque y Manzaneque).

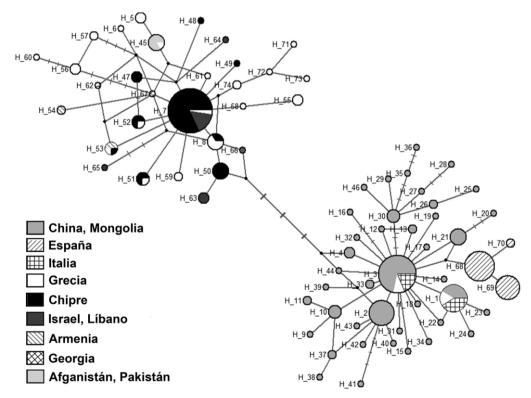


Figura 2. Red de los 74 haplotipos utilizados de *A. chukar*, incluyendo las muestras analizadas y las secuencias depositadas en GenBank. El tamaño de los círculos es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo. Cada segmento de las rectas corresponde a una mutación de diferencia entre los haplotipos conectados.

se han encontrado haplotipos nuevos. Es de señalar que, en la granja de producción de carne (GrL), que no tiene restricción legal para utilizar perdiz turca, así como entre los híbridos experimentales de la ONFCS, se han encontrado los tres haplotipos (Tabla 2). Entre las secuencias extraídas de la base de datos *GenBank*, procedentes de Italia y Grecia, se han encontrado otros haplotipos distintos de los españoles, pero también del grupo oriental (Figura 2). Al igual que en España, en Grecia, Italia y Francia se han realizado introducciones de perdiz turca, que aquí revelan un origen similar. Las muestras procedentes de Líbano, por el contrario, muestran, como corresponde, un haplotipo perteneciente al grupo occidental.

Discusión

Las poblaciones de perdiz roja han sufrido un declive, especialmente desde los años 60 (Rocamora y Yeatman-Berthelot, 1999). Las causas principales de este declive son la pérdida de calidad del hábitat y la excesiva presión cinegética, influyendo también factores como las prácticas agrícolas y ganaderas, repoblaciones incontroladas y la mala gestión (Garrido, 2006). Esta situación ha llevado a implantar planes específicos de recuperación, (Nadal, 1992; Vargas y Duarte, 2002).

Varios autores apoyan un modelo de reciente radiación y especiación incompleta para el género Alectoris (Voous, 1960; Watson, 1962a, b; Blondel, 1988) basándose en la distribución alopátrica de las especies, la hibridación natural, la segregación de ambientes ecológicos en zonas de simpatría y las similitudes morfológicas dentro del género. Esto podría explicar la ausencia de barreras que impidan la hibridación natural dentro de algunas especies del género; la llamada perdiz griega o perdiz de roca, A. graeca, se encuentra en toda la península balcánica, incluyendo Grecia continental, en Italia y en el sudeste de Francia, donde existe una zona de parapatría con A. rufa, hibridando ambas especies de manera natural (Bernard-Laurent, 1984; Randi y Bernard-Laurent, 1999), aunque parece existir una cierta selección en contra de los híbridos, y la introgresión no se extiende más allá de un cinturón en la zona limítrofe de las distribuciones (Randi y Bernard-Laurent, 1999). En la Península Ibérica el caso es diferente, ya que la única especie autóctona representante del genero Alectoris es A. rufa, por ello, no es posible la hibridación natural, aunque A. chukar sí que puede hibridar con A. rufa cuando se crían en cautividad (Baratti et al., 2005). Por lo tanto, la única posible fuente de contaminación genética es la introducción en la naturaleza de especies alóctonas o híbridos para su explotación cinegética o comercial.

El problema de la introgresión interespecífica surge porque cada especie se encuentra adaptada a su entorno debido a la selección natural. Por consiguiente, la hibridación produce individuos inadaptados, proceso conocido como "depresión híbrida" (Edmands, 2007). Estos híbridos no son capaces de desplazar a las especies puras porque éstas últimas están mejor adaptadas a las condiciones del territorio. Las áreas geográficas que ocupan la perdiz roja y la perdiz turca están muy alejadas, por lo que se espera que los híbridos tengan claras desventajas de adaptación (Randi y Lucchini, 1998; Martinez-Fresno et al., 2007), a pesar de mostrar ciertas ventajas productivas para la cría en cautividad. Sin embargo, aunque los híbridos sean inadaptados en las condiciones naturales, si el número de

ellos que se sueltan desde las granjas de cría es muy grande en comparación con la población autóctona, podrían acabar eliminando completamente a la perdiz roja pura.

Los análisis mediante redes filogenéticas han demostrado una clara diferenciación entre los individuos de *A. chukar* según su procedencia, obteniéndose dos grupos, uno perteneciente a la parte más oriental de su distribución (China, Mongolia, Kirguizistán, etc.) y el otro a la parte más occidental (Georgia, Líbano, Israel, Islas griegas, etc.). En un primer trabajo realizado por Martínez-Fresno *et al.* (2007) se observó en dos granjas y en una población toledana, la presencia de secuencias mitocondriales de perdiz turca, encontrándose tres haplotipos relacionados con los del área oriental de la distribución geográfica de la especie. Las muestras analizadas en este trabajo, corresponden todas ellas a estas mismas secuencias. Los tres haplotipos son muy similares entre sí, difiriendo únicamente en dos transiciones C-T, lo que indica que la contaminación probablemente proviene de un área restringida de la distribución de la especie, o incluso de un único proveedor, aunque no se puede concretar la subespecie a la que pertenecen los individuos introducidos. El origen oriental de los haplotipos encontrados incide aún más en la lejanía de los orígenes entre los animales autóctonos y los introducidos, y puede tener impacto en una mayor falta de adaptación a las condiciones locales.

El hecho de que los haplotipos de *A. chukar* encontrados en Grecia e Italia y de los híbridos experimentales franceses sean asimismo característicos de la región oriental indica que la contaminación no es un suceso aislado ni afecta sólo a la perdiz roja, sino también a zonas donde la especie autóctona es diferente, como *A. graeca*. Probablemente, las razones para su introducción son las mismas que en España: la facilidad para la cría en cautividad y la mayor tasa de reproducción de la perdiz turca. Posteriormente, este éxito reproductivo de la perdiz turca ha provocado la expansión de la contaminación por diversos puntos de la geografía española, francesa y también italiana.

Es de señalar que la frecuencia con que se encuentran los haplotipos de *A. chukar* puede ser muy diferente dependiendo del origen de las muestras. Aunque en este trabajo no se pretende estimar la frecuencia de contaminación, sino sólo averiguar el origen de la misma, se puede apuntar que en los cotos, la contaminación sólo se encuentra ocasionalmente, mientras que en algunas de las granjas casi la mitad de los individuos pueden llevar secuencias mitocondriales de *A. chukar*.

Es posible que las granjas productoras de carne, que tienen autorización legal para la cría de diferentes especies de *Alectoris*, fueran las primeras en llevar a cabo la producción de híbridos entre *A. rufa* y *A. chukar*, por las diferencias entre especies en cuanto a la competitividad y la tasa de reproducción, y de ahí surgiera la exportación de esa práctica a la cría de perdices con fines cinegéticos.

En este trabajo se demuestra la utilidad de los marcadores moleculares para trazar las huellas no sólo de la historia evolutiva sino también de la intervención humana en las especies animales, poniendo de manifiesto también su importancia para los programas de conservación las mismas.

Agradecimientos

Agradecemos a la Fundación para el Estudio y Defensa de la Naturaleza y la Caza (FEDENCA), las facilidades para la recolección y utilización de las muestras de material biológico que forman parte del proyecto: Mapa de pureza genética de la perdiz roja (*Alectoris rufa*) y estudio de la Introgresión de genotipos de perdiz Chukar (*Alectoris chukar*) en España y al Dr. Amadeu Francesch, del IRTA (Mas de Bover, Tarragona), su amabilidad en proporcionarnos las muestras de la granja de producción de carne.

BIBLIOGRAFIA

- BARATTI M., AMMANNATI M., MAGNELLI C., DESSI-FULGHERI F. (2005): Introgression of chukar genes into a reintroduced red-legged patridge (*Aletoris rufa*) population in central Italy. Animal Genetics 36 (1): pp. 29-35.
- BERNARD-LAURENT A. (1984): Hybridation naturelle entre Perdrix bartavelle (*Alectoris graeca saxatilis*) et Perdix rouge (*A. rufa rufa*) dans les Alpes Maritimes. Gibier Faune Sauwage 2: 79-96.
- BLANCO-AGUIAR J. A., VIRGÓS E., VILLAFUENTE R. (2003): Perdiz roja (*Alectoris rufa*). In: Martí R, del Moral JC (eds) Atlas de las aves reproductoras de España. DGCoNa-SEO, Madrid: pp. 212-213.
- BLANCO J. C., GONZÁLEZ J. L. (1992): Libro rojo de los vertebrados de España. ICONA. Madrid.
- BLONDEL (1988): Biogeographie evolutive à diferentes échelles: l'histoire des avifaunes méditerranéennes. Pp 155-188. En H. Ouellet (Ed), Acta XIX Congreso Internacional de Ornitología, Ottawa, 1986.
- DRAGOEV P. (1974): On the population of the rock partridge (*Alectoris graeca* Meissner) in Bulgaria and method of census. Acta Ornithologica, 30: pp. 251-255.
- EDMANDS S. (2007): Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. Molecular Ecology 16: pp. 463-475
- FEDENCA (2013): 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 (Coord.) 1-11. http://www.fecaza.com/images/stories/R-PROYECTO MAPA GENETICO.pdf
- FRANCESCH A., COLOMINAS J. A. (2007): Calidad genética de la perdiz roja en España y propuestas para su conservación y mejora. Selecciones Avícolas 10: pp. 667-672
- GARRIDO J. L. (2006). Conclusiones sobre perdiz roja. Así se ve el futuro de la perdiz roja FederCaza. 243: pp. 42-48.
- GENEBANK: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/
- HALL T. A. (1999): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series 41: pp. 95-98.
- JOHNSGARD P. A. (1988): The Quails, Partridges, and Francolins of the world. Oxford University Press, New York.
- LIBRADO P., ROZAS J. (2009): DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25: pp. 1451-1452
- LONG J. L. (1981): Introduced birds of the world: the worldwide history, distribution and influence of birds introduced to new environments. A.H. & A.W. Reed. Sydney, Australia.

- MARTÍNEZ-FRESNO M., HENRIQUES-GIL N., ARANA P. (2007): Mitochondrial DNA sequence variability in red-legged partridge, Alectoris rufa, Spanish populations and the origins of genetic contamination from A. chukar. Conservation Genetics 9: pp. 1223-1231.
- NADAL J. (1992): Problemática de las poblaciones de perdiz roja, bases ecoetológicas para tener éxito en las repoblaciones. In: La perdiz roja. Gestión del hábitat. Fundación la Caixa, editorial Aedos, Barcelona: pp. 87-100.
- NEGRO J. J., TORRES MJ & GODOY JA (2001): RAPD analysis for detection and eradication of hybrid patridges (*Alectoris rufa x A. graeca*) in Spain. Biological Conservation 98: pp. 19-24.
- RANDI E. (1996). A mitochondrial cytochrome B phylogeny of the Alectoris partridges. Molecular Phylogenetics and Evolution 6 (2): pp. 214-27.
- RANDI E., BERNARD-LAURENT A. (1999): Population genetics of a hybrid zone between the redlegged partridge and rock partridge. The Auk 116: pp. 324-337
- RANDI E., LUCCINI V. (1998): Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus Alectoris. Journal of Molecular Evolution 47: pp. 449-462.
- ROCAMORA G., YEATMAN-BERTHELOT D. (1999): Oiseaux menacés et ásurveilles en France. Listes rouges et recherche de priorités. Populations. Tendances. Menaces. Conservation. Société d'Etudes Ornithologiques de France/Ligue pour la protection des oiseaux.
- THOMPSON J. D., HIGGINS D. G. & GIBSON T. J. (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties, and weight matrix choice. Nucleic Acids Research. 22: pp. 4673-4680.
- TRIANTAFYLLIDIS A., KARATZAS D., GEORGIADOU M., DRIKOS L., ANDREAKOU E., LAPPA M., CHIATZINIKOS E., MANIOS N., PAPAGEORGIOU N., TRIANTAPHYLLIDIS C. (2005): Genetic identification of Greek partridges *Alectoris graeca* and *Alectoris chukar*. XXVII Congress of the International Union of Game Biologists. Hannover, Germany.
- TUCKER G. M., HEATH M. F. (1994): Birds of Europe: their conservation status. BirdLife international. Cambridge, UK: BirdLife International (Conservation Series No. 3).
- VARGAS J. M., DUARTE J. (2002): Dos modelos discrepantes de gestión de la perdiz roja en España. In: Lucio A, Sáenz de Buruaga M (eds) Aportaciones a la gestión sostenible de la caza en España. FEDENCA-EEC, Madrid: pp. 93-119.
- VOOUS K. H. (1960): Atlas of European birds. Nelson, London.
- WATSON G. E. (1962a): Sympatry in Palearectic Alectoris patridges. Evolution 16: pp. 11-19.
 - (1962b): Three sibling species of Alectoris patridges. Ibis 104: pp. 353-367.