

# Genética de las poblaciones de corzo en el Parque Natural de Peñalara

Fernando Horcajada Sánchez  
Responsable de fauna en el  
Parque Natural de Peñalara

*Durante siglos, las montañas como Peñalara han servido de refugio a las poblaciones de corzo y a otras muchas especies de vertebrados frente al acoso del hombre, que las ha eliminado de enclaves más llanos y accesibles. La presencia de este cérvido en el Pleistoceno Medio fue bastante significativa en esta zona, tal y como atestiguan los restos del yacimiento de Pinilla del Valle (Buitrago, 1992).*

## INTRODUCCIÓN

Los análisis genéticos realizados por el Parque Natural de Peñalara en este estudio revelan que el sistema Central sirvió de refugio durante las últimas glaciaciones del Cuaternario a diferentes poblaciones europeas de corzo, al igual que ocurrió en otras áreas de montaña del sur de Europa. Estas situaciones, junto con la gran diversidad de ambientes en los que habita esta especie, facilitan la existencia de una alta variabilidad morfológica y genética, lo que propicia la aparición de ecotipos locales. Esta gran plasticidad ha motivado discordancias en lo que respecta a su rango taxonómico. No acaban de ponerse de acuerdo los paleontólogos en si su evolución en cuanto a la familia *Cervidae* se refiere es relativamente tardía o si, por el contrario, es uno de los primeros ancestros de este grupo (Braza *et al.*, 1994).

Pocos estudios han aportado datos genéticos sobre el corzo en la Península Ibérica, salvo los de Royo *et al.* (2007). En la Comunidad de Madrid apenas existen datos publicados sobre la variabilidad genética de la especie, el origen de sus poblaciones o

su encuadre filogenético dentro del conjunto de las poblaciones españolas y europeas. Además, las fuertes reducciones sufridas en las poblaciones del sistema Central en los siglos XIX y primera mitad del siglo XX (Tellería y Virgós, 1997) pueden haber dejado huella en los parámetros genéticos de esta población.

El estudio genético desarrollado en Peñalara ha permitido conocer el grado de consanguinidad de los ejemplares analizados, reconstruir su historia genética y detectar diferencias moleculares entre esta población y el conjunto general de la especie. Al elaborar de esta forma un modelo de genética poblacional se podrá predecir la tendencia que seguirá la población en el futuro, planificando adecuadamente su gestión y conservación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La información genética de una especie se puede acceder a través de muestras de sangre o estudiando directamente el genotipo mediante el análisis del ADN de muestras de tejido. Para el análisis de la

variabilidad genética de las poblaciones de corzo de Peñalara se ha contado con 100 muestras de tejido muscular estriado procedentes de ejemplares muertos por caza o por accidentes de tráfico. Con estas muestras se ha podido analizar tanto el ADN mitocondrial como el ADN cromosómico nuclear.

Los análisis fueron realizados a través de una colaboración con el Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC por la Dra. Annie Machordom, utilizando la metodología clásica en la extracción del ADN.

El ADN mitocondrial es el material genético de las mitocondrias, los orgánulos que generan energía en las células. Este ADN se hereda solo por vía materna, lo que facilita el estudio de parentescos y distancias genéticas a otras poblaciones.

Para su amplificación se recurrió a la técnica denominada PCR (por las siglas inglesas de *Polymerase Chain Reaction*).

Para comparar las secuencias obtenidas en los corzos de Peñalara con otras procedentes de distintas poblaciones europeas se ha recurrido al GenBank, banco de datos de acceso libre, en el que se encuentran todas las secuencias génicas estudiadas en otras poblaciones de corzo organizadas por distintos niveles, orden numérico, taxonómico, etc. A través de este procedimiento se ha encontrado una secuencia completa de D-loop para *Capreolus capreolus* procedente de Asiago, en los Alpes italianos, y otras 68 parciales de distintas áreas. Como grupo externo para enraizar el árbol filogenético se han tomado las secuencias completas del corzo asiático o pigargo (*Capreolus pygargus*) y parciales de una de sus subespecies (*Capreolus pygargus ochracea*).

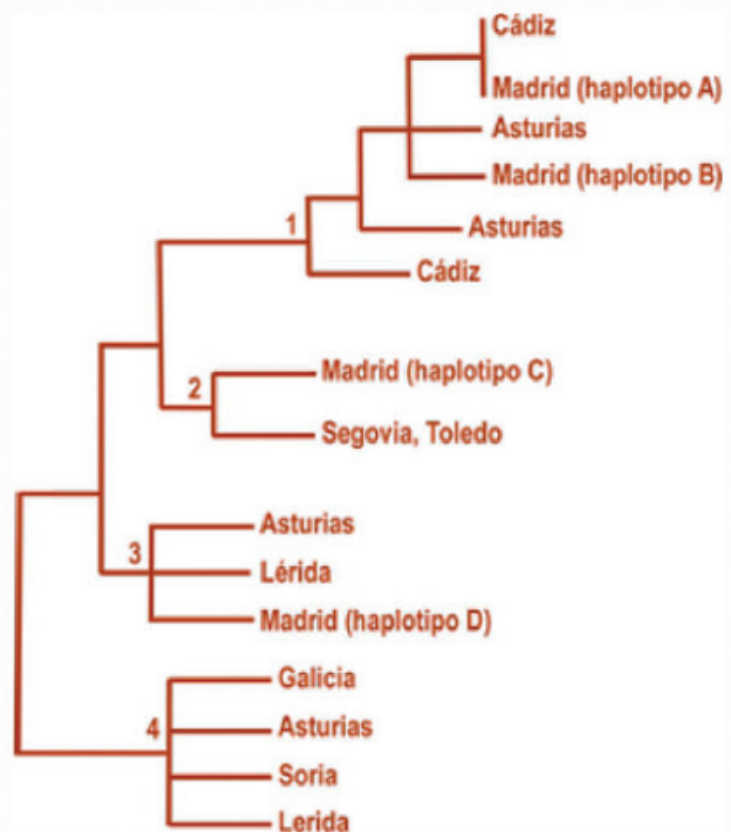
La región elegida, D-loop o región control del ADN mitocondrial, fue seleccionada por su adecuado tamaño (algo más de 900 pares de bases) y variabilidad relativamente elevada para poder emprender análisis poblacionales.

Para el análisis de las relaciones de los individuos o haplotipos por su similitud y el estudio de relaciones filogenéticas o agrupaciones basadas en la relación ancestro-derivado se utilizaron los paquetes estadísticos PAUP y TCS.

En lo que respecta a la segunda técnica utilizada, el análisis del ADN nuclear, se utilizaron marcadores micro-



Pareja de corzos en las charcas del Pico, en el Parque Natural de Peñalara



Árbol filogenético en el cual se observa los haplotipos de Peñalara en el conjunto de la población española

satélites, secuencias de ADN cromosómico del núcleo celular en las que un fragmento, cuyo tamaño va desde uno hasta seis nucleótidos, se repite de manera consecutiva.

En las muestras de corzos de la sierra se seleccionaron doce parejas de cebadores para el análisis de igual número de microsatélites. Estos mi-

cro-satélites han sido empleados con anterioridad (Galan *et al.*, 2003; Coulon *et al.*, 2005), y en ambos casos se ha estimado que no están sometidos a desequilibrios de ligamiento.

Para procesar la información obtenida mediante los marcadores micro-satélites se utilizaron métodos de agrupación bayesianos, permitiendo inferir

unidades genéticas utilizando sólo los genotipos de los individuos. La base de estos métodos consiste en analizar la probabilidad de que existan distintos grupos de individuos que estén en el llamado “Equilibrio de Hardy-Weinberg” (este principio establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras no actúe la selección natural ni ningún otro factor como mutaciones o introducción de ejemplares de otras zonas), combinándola después con información geográfica (Guillot *et al.*, 2005). Además de otros, se utilizó para ello el programa Geneland 0.3. Al incluir la información geográfica, este programa tiene mayor sensibilidad a la hora de analizar la estructura poblacional.

### RESULTADOS

— *Análisis del ADN mitocondrial:* Los primeros resultados mostraron que entre los 100 ejemplares analizados pudieron distinguirse cuatro linajes (haplotipos) distintos, variando entre ellos hasta cerca del 1,3 %, lo que supone una divergencia relativamente alta en la comparación con otros estudios. De hecho, alcanza el mayor valor de los que hemos podido hallar (estos no superan el 1,2 %).

Un resultado curioso es que entre los 100 especímenes se encontraban cuatro heteroplásmicos, es decir, con más de un tipo de ADN mitocondrial, lo que indica que proceden de dos poblaciones diferentes, demostrando que no hay incompatibilidades entre esos dos haplotipos cuando incluso están “conviviendo” en un mismo ejemplar.

Al analizar las relaciones entre los linajes de Peñalara y otros previamente obtenidos por diferentes autores (Wiehler & Tiedemann, 1998; Vernesi *et al.*, 2002; Randi *et al.*, 2004) se constató el carácter único de algunos de los haplotipos de Peñalara y su mayor o menor relación con otros haplotipos europeos.

Al analizar la situación de los corzos de Peñalara en el conjunto europeo, pudo comprobarse la no monofilia (origen común), ya que algunos ejemplares aparecían más relacionados con otros corzos europeos que entre sí. Fundamentalmente, los dos linajes más frecuentes en Peñalara se encontraban relacionados con otros corzos procedentes de España y Portugal, pero tam-

bién con algunos de Francia e Italia. El tercer linaje se relacionaría con haplotipos procedentes de Alemania, Polonia, Eslovaquia, Holanda, Serbia, Italia y Francia, mientras que también procederían del centro y norte de Europa los grupos hermanos del 4.º linaje encontrado: Francia, Alemania, Italia, Serbia, Suecia y Noruega.

Por su parte, en el análisis de las relaciones filogenéticas de los corzos de Peñalara con otras poblaciones de la Península Ibérica, los ejemplares estudiados se distribuyeron en tres grupos diferentes. En el primero se encontraban los individuos de los dos linajes mayoritarios, coincidiendo exactamente con secuencias descritas por otros autores (Royo *et al.*, 2007) en corzos procedentes de Los Alcornocales (Cádiz), Asturias (Sueve y Picos de Europa) y Asturias (Muniellos), así como de Burdeos, aunque esta última localidad no es determinante, ya que ha sufrido reintroducciones de distintas procedencias. El tercer linaje de Peñalara se encontraría relacionado con corzos procedentes de la sierra de Guadarrama (Segovia) y Montes de Toledo. Por último, el cuarto coincidiría con ejemplares analizados por Royo *et al.* (2007) procedentes de localidades norteñas, como Picos de Europa o Muniellos.

— *Análisis del ADN cromosómico nuclear:* El primer resultado obtenido a través de esta técnica indica que la sierra madrileña albergaría probablemente una única población genéticamente homogénea. Cuando se combinó la información genética obtenida con los programas estadísticos que infieren la estructura de las poblaciones, se llegó a la conclusión de que no hay suficiente información como para determinar la existencia de más de una población.

Del análisis en profundidad de la variabilidad genética destaca que la población se desvía del equilibrio Hardy-Weinberg, por lo que se está violando alguna de las asunciones de tal principio. Esto se debe a que cinco de los doce marcadores analizados presentan más homocigosis de lo que se esperaría si la población estuviera bajo el mencionado equilibrio, lo cual apunta a una cierta endogamia en la población. Otros estudios realizados en poblaciones de corzo (Wand & Schreiber, 2001; Coulon *et al.*, 2005) también

encuentran desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg debido a un déficit de heterocigotos. Estos resultados parecen indicar que, en comparación con otras poblaciones, la variabilidad genética de la población de corzos de la sierra está algo empobrecida.

### DISCUSIÓN

El análisis combinado de dos tipos de marcadores enriquece el conocimiento de la población en estudio. Los datos procedentes de los genomas mitocondriales (de herencia materna) y nucleares (procedentes de ambos progenitores) se complementan, y en ocasiones, como en el presente estudio, muestran ciertas contradicciones.

De esta forma, el genoma mitocondrial nos indica una tasa de variación relativamente elevada con respecto a lo encontrado en otras poblaciones europeas, ya que se han detectado hasta cuatro linajes diferentes entre la centena de ejemplares analizados. Tras los análisis filogenéticos, la relación de estos haplotipos con otros procedentes tanto de la Península Ibérica como del resto de Europa mostraron resultados inesperados. Estos han puesto en evidencia que los haplotipos encontrados están relacionados tanto con los corzos del centro-sur de España como con los del noroeste. De igual forma, los distintos haplotipos no presentan un origen común, sino que están más relacionados con otros haplotipos europeos que entre sí, lo cual rebate la hipótesis de diferentes grados de subespeciación dentro de la Península.

Por su parte, los microsatélites proporcionan evidencias sobre el relativo empobrecimiento de la población, evidenciado por un déficit de alelos heterocigotos que apunta hacia una cierta endogamia. La heterocigosis observada está en la mayoría de los marcadores por debajo de lo esperado y la riqueza alélica es, en general, inferior a la de otras poblaciones.

En cuanto a la estructura, no cabe rechazar que solo se pueda considerar una población genética para los ejemplares analizados. La existencia de una única población entra dentro de lo esperado, puesto que se tiene constancia de que en épocas recientes la misma ha sufrido algunos “cuellos de botella”, sobre en todo la primera mitad del siglo XX. Por suerte, estos resultados implican también que el flujo génico

entre los distintos grupos de corzo es adecuado y que, en principio, no hay grandes barreras en la sierra madrileña que impidan la adecuada dispersión de los individuos.

La combinación de ambos resultados nos presenta parte de la compleja historia de los corzos en la Península y, en especial, en la sierra madrileña. Distintos momentos de la paleohistoria de la población pueden explicar estos resultados: las etapas glaciales-interglaciales del Pleistoceno y la reducción y posterior recuperación de las poblaciones a lo largo del siglo XX. Los dos tipos de marcadores utilizados, con diferentes formas de herencia y una tasa de mutación desigual, reflejarían por separado cada una las etapas que han condicionado la evolución reciente de la población.

Como resumen final, se podría decir que la población estudiada pertenece a una única población que presenta semejanzas con las restantes poblaciones de la Península, con una ligera endogamia pero con una riqueza mitocondrial notable. **F**

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAZA, F.; SAN JOSÉ, C.; DELIBES, J.R.; ARAGÓN, S. (1994). "El corzo andaluz". Estación Biológica de Doñana, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Sevilla.

BUITRAGO, A.M. (1992). Estudio de los artiodáctilos del yacimiento de Pleistoceno Medio de Pinilla del Valle (Madrid). Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid.

COULON, A.; COSSON, J.F.; ANGIBAULT, J.M.; CARGNELUTTI, B.; GALAN, M.; MORELLET, N.; PETIT, E.; AULAGNIER, S. Y HEWISON, A.J. (2005). Landscape connectivity influences gene flow in a roe deer population inhabiting a fragmented landscape: an individual-based approach. *Molecular Ecology*, 13: 2841-2850.

GALAN, M.; COSSON, J.-F.; AULAGNIER, S.; MAILLARD, J.C.; THÉVENON, S. Y HEWISON, A.J.M. (2003). Cross-amplification tests of ungulate primers in roe deer (*Capreolus capreolus*) to develop a multiplex panel of 12 microsatellite loci. *Molecular Ecology Notes*, 3: 142-146.

GUILLOT, G.; MORTIER, F. Y ESTOUP, A. (2005). Geneland: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*, 5: 708-711.

ROYO, L.J.; PAJARES, G.; ÁLVAREZ, I.; FERNÁNDEZ, I. Y GOYACHE, F. (2007). Genetic variability and differentiation in Spanish roe deer (*Capreolus capreolus*): A phylogeographic reassessment within the European framework. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42: 47-61.

TELLERÍA, J.L. (1998). *La diversidad de vertebrados del Valle del Paular (Madrid)*. Primeros Encuentros Científicos del Parque Natural de Peñalara. Consejería de Medio Ambiente. Comunidad de Madrid.

TELLERÍA, J.L. AND VIRGÓS E. (1997). "Distribution of an increasing roe deer population in a fragmented Mediterranean landscape". *Ecography*, 20: 247-252.

WANG, M. Y SCHREIBER, A. (2001). Impact of the habitat fragmentation and social structure on the population genetics of roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in Central Europe. *Heredity*, 86: 703-715.

WIEHLER, J. Y TIEDEMANN, R. (1998). Phylogeography of the European roe deer (*Capreolus capreolus*) as revealed by sequence analysis of the mitochondrial control region. *Acta Theriologica*, suppl. 5: 187-197.

## BOLETÍN DE SUSCRIPCIÓN A FORESTA

D.....

Domicilio..... Población.....

Provincia..... C.P..... Tel:.....

SE SUSCRIBE, hasta nuevo aviso en contra, a "FORESTA"

Coste por 3 números al año: 23 euros (IVA incluido).

Números sueltos: 8 euros (IVA incluido). Monográficos: 11 euros. Suscripción al extranjero: 40 euros

#### FORMA DE PAGO

Talón nominativo a nombre del Colegio Oficial de Ingenieros Técnicos Forestales. C/ Menéndez y Pelayo, 75-Bajo izq. 28007 Madrid

Transferencia Bancaria a la cuenta corriente n.º 3025 0003 98 1400005386 de la Caja de Ingenieros de la calle María de Molina, 64. Madrid.

En (ciudad).....a (día).....de (mes).....de 2011

Firmado