
Evidencia molecular de transporte fraudulento y comercio de *Salamandra salamandra* (Caudata: Salamandridae).

Molecular evidence of fraudulent transport and sale of *Salamandra salamandra* (Caudata: Salamandridae).

AINHOA IRAOLA^{1,2} & MARIO GARCÍA-PARÍS¹



RESUMEN

Se ha detectado la existencia de transporte fraudulento y comercialización de *Salamandra salamandra* desde Europa Occidental, donde la especie está protegida por la legislación, a tiendas especializadas de los Estados Unidos. La identificación de uno de estos ejemplares mediante técnicas de secuenciación (citocromo b del ADN mitocondrial), ha permitido situar la procedencia del ejemplar en los Pirineos Orientales.

• PALABRAS CLAVE: *Salamandra salamandra*, ADN mitocondrial, comercio.

ABSTRACT

We show the fraudulent transport and sale of Western European *Salamandra salamandra*, protected by national or regional laws, to specialized dealers within the United States. Molecular identification based on mtDNA sequencing (cytochrome b) of one specimen, allowed us to locate the source of the specimen in the Eastern Pyrenees.

• KEY WORDS: *Salamandra salamandra*, mtDNA, commerce.

LABURPENA

Estatu Batuetako denda espezializatuetan antzeman da legez babestuta dagoen eta Mendebaldeko Europan jatorria duen *Salamandra salamandra* espeziearen aleen iruzurrezko garraio eta salerosketa. Sekuentziazio teknikei esker (DNA mitokondrialeko b zitokromoa), ale horietako baten jatorria Ekialdeko Pirinioetan kokatu da.

• GAKO-HITZAK: *Salamandra salamandra*, DNA mitokondrial, salerosketa.

¹ Sociedad de Ciencias Aranzadi.
Zorroagaina, 11 • 20014 Donostia-San Sebastián.
e-mail: ainboxiraola@yahoo.es

² Museo Nacional de Ciencias Naturales.
José Gutiérrez Abascal • 28006 Madrid.
Teléfono: (34) 91 411 13 28 (ext.1124)

INTRODUCCIÓN

Entre 1994 y 1995 se detectó la presencia de ejemplares de *Salamandra salamandra* a la venta en tiendas especializadas de California y Arizona en los Estados Unidos.

Salamandra salamandra tiene una amplia distribución en la región Paleártica Occidental, desde las costas del Atlántico en la Península Ibérica en el oeste, hasta Ucrania en el este, y desde el paralelo 53.5° en el norte, hasta las penínsulas de Grecia e Italia en el sur (MONTORI & HERRERO, 2004).

La especie se encuentra subdividida en 11 subespecies, pero la mayor diversidad morfológica y genética se encuentra en la Península Ibérica, donde se han separado nueve subespecies (GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2003; MONTORI & HERRERO, 2004). En la Península Ibérica se encuentran *S. s. bernardezi* localizada en las montañas Cantábricas occidentales, *S. s. fastuosa* en la Cordillera Cantábrica oriental y el suroeste de los Pirineos, *S. s. gallaica* en el oeste ibérico, *S. s. europaea* en el noreste de la Península, Francia y otras áreas de Europa Central, *S. s. bejarae* y *S. s. almanzoris* en torno al Sistema Central, *S. s. crespoi* y *S. s. morenica*, entre los ríos Guadiana y Guadalquivir y *S. s. longirostris*, localizada al sur del Guadalquivir (ALCOBENDAS *et al.*, 1994; MONTORI & HERRERO, 2004). En el resto de Europa se encuentran 2 subespecies más *S. s. gliholii* en Italia y *S. s. salamandra* en el Centro y Este de Europa (THORN & RAFFAËLLI, 2001).

Salamandra salamandra está protegida por la legislación en diversos países europeos. En el Libro Rojo de los anfibios y reptiles españoles está considerada como "Vulnerable (V)" (PLEGUEZUELOS *et al.*, 2002). En la legislación de la Comunidad Autónoma de Catalunya, se encuentra dentro de la lista de especies protegidas de fauna autóctona, Ley 22/2003 (BOE 189, 8 de agosto del 2003) y en la legislación Francesa está presente en la lista de anfibios y reptiles protegidos en todo el territorio (Journal Officiel du 9 septembre 1993- NOR: ENVN93203044). Resulta inexplicable que esta especie aún se halle fuera del Catálogo Nacional de especies amenazadas, y no se encuentre recogida en ninguna categoría, ni siquiera en la de menor amenaza (PLEGUEZUELOS *et al.*, 2002). A pesar de todo, y de acuerdo con las legislaciones catalana, francesa y la ley de conservación de los Espacios Naturales y de la flora y fauna silvestres Ley 4/1989 (BOE núm. 74, de 28 de marzo de 1989) el comercio de ejemplares de *S. salamandra* de estas regiones no puede realizarse.

A raíz de la publicación de estudios moleculares sobre la evolución y diferenciación geográfica de *S. salamandra* (GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2003), se pudo analizar un fragmento del ADN mitocondrial de un ejemplar adquirido legalmente en tiendas especializadas de Estados Unidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ejemplar de *S. salamandra* objeto de esta nota (Fig. 1) fué adquirido en una tienda especializada en Arizona (EEUU). La procedencia del ejemplar tal como figuraba en los

datos del comerciante era el Este de Europa, al parecer de Ucrania, y por lo tanto aparentemente legal a efectos de comercialización.

Se procedió a la extracción y posterior secuenciación de ADN mitocondrial del ejemplar, obteniéndose una secuencia de 372 pares de bases del gen del citocromo b. La extracción de ADN se realizó llevando a ebullición una pequeña cantidad de tejido procedente de la cola de la salamandra (<5mg) en una solución de Chelex (BioRad, Hercules, CA) al 5% (w/v). La amplificación de ADN fue realizada mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; Polymerase Chain Reaction) utilizando los cebadores específicos *cyt-b2* (KOCHER *et al.*, 1989) y *MVZ 15* (MORITZ *et al.*, 1992). Finalmente, la muestra fue secuenciada en un secuenciador automático ABI 377 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

El fragmento secuenciado (GenBank accesión number: AY941196) fue comparado e incorporado a un análisis filogeográfico con las secuencias de ejemplares de *Salamandra salamandra* utilizadas en GARCÍA-PARÍS *et al.* (2003) (GenBank accession numbers: AY196217-AY196292), procedentes de toda la Península Ibérica y Pirineos franceses.

RESULTADOS

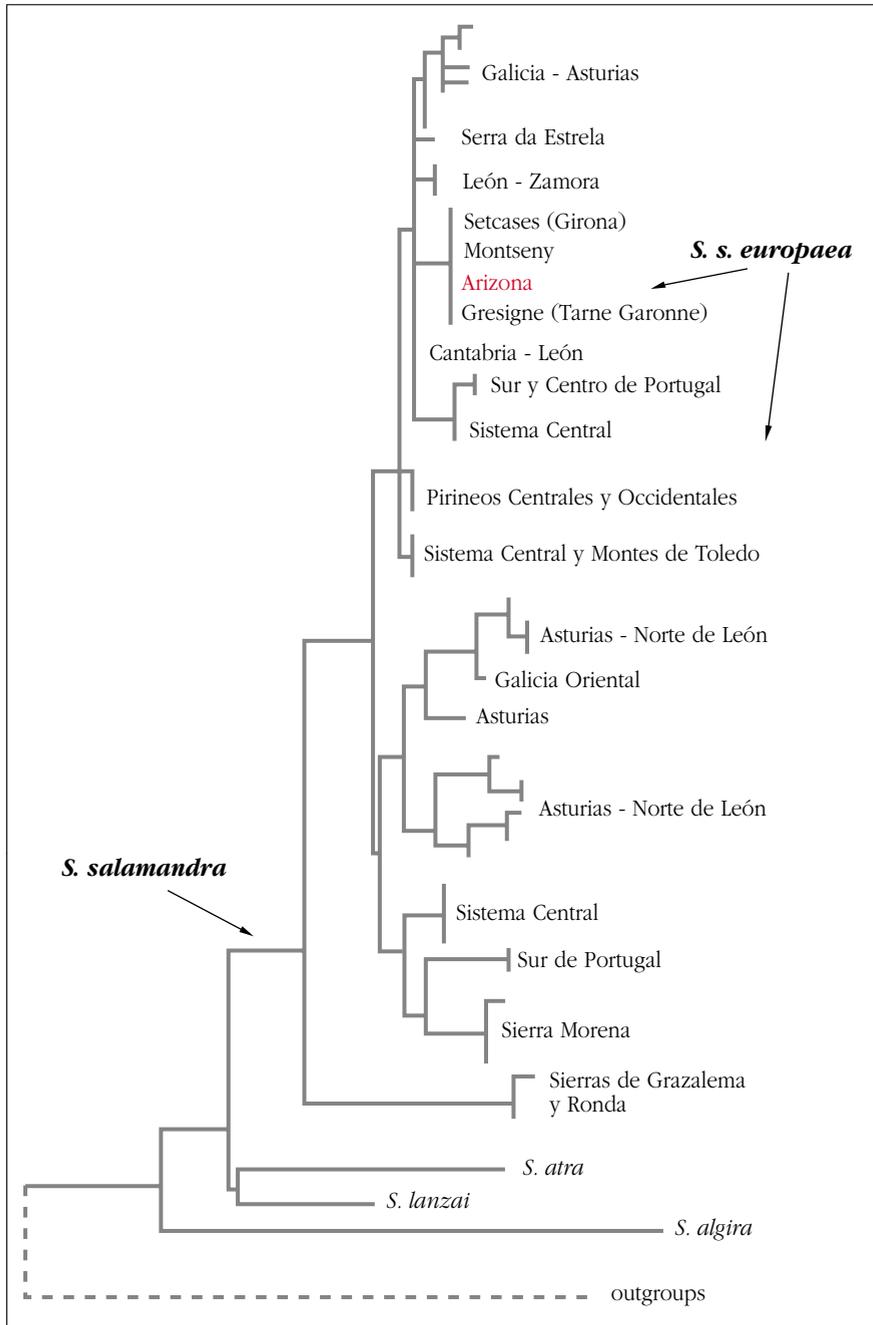
La morfología externa del ejemplar adquirido en Arizona y en particular la disposición de las manchas dorsales, corresponde con las descripciones de *S. s. europaea* (= *S. s. terrestris*) (Fig. 1).

Figura 1.- Ejemplar de *S. salamandra* adquirido en Arizona (EEUU) y utilizado en este estudio.
Figure 1.- Specimen of *S. salamandra* purchased in Arizona (EEUU) and used for this study.



Figura 2.- Árbol filogeográfico (NJ) simplificado de GARCÍA-PARÍS et al., (2003).

Figure 2.- Phylogeographic tree (NJ) simplified from GARCÍA-PARÍS et al., (2003).



La secuencia del citocromo b del ejemplar estudiado difiere de la de todos los ejemplares examinados (Fig. 2), excepto de las de los ejemplares del Montseny, Pirineos catalanes (Setcases) y otros puntos cercanos de la vertiente francesa de los Pirineos (Gresigne). El porcentaje de divergencia con respecto a otras poblaciones del Pirineo Central es de 0.8% (GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2003).

En la Figura 2 se muestra un árbol filogeográfico (basado en algoritmos de Neighbor Joining (CAVALLI-SFORZA & EDWARDS, 1967), simplificado de GARCÍA-PARÍS *et al.* (2003), con la posición del ejemplar de Arizona (secuencias idénticas a las de Montseny, Gresigne y Setcases).

DISCUSIÓN

La alta diversidad de haplotipos del ADN mitocondrial identificados dentro de la especie *S. salamandra* en Europa Occidental (ALCOBENDAS *et al.*, 1994; GARCÍA-PARÍS *et al.*, 1998, 2003; STEINFARTZ, 2000), que además se encuentran estructurados geográficamente, permiten asignar individuos aislados a una población de referencia concreta, facilitando por lo tanto la identificación precisa de los ejemplares. En el caso que nos ocupa, la morfología externa del ejemplar estudiado (típicamente *S. s. europaea*) permitía sospechar que su procedencia de origen no era Ucrania ni ningún otro país de Europa Oriental, donde la subespecie presente es *S. s. salamandra*. Sin embargo, *S. salamandra* es una especie con alta variabilidad morfológica intrapoblacional, en la que, con cierta frecuencia, aparecen a nivel local variantes fenotípicas que no corresponden a las esperables por procedencia geográfica pero que presentan fenotipos similares a los de otras subespecies (MONTORI & HERRERO, 2004). Por lo tanto, la identificación de la procedencia de un ejemplar aislado basándose únicamente en caracteres morfológicos no es definitiva.

En estos casos, el empleo de técnicas moleculares permite asegurar una correcta identificación del origen del material de estudio. En esta ocasión, no podemos determinar si el ejemplar procede de la vertiente española o francesa de los Pirineos Orientales, ya que todas las poblaciones del área comparten el mismo haplotipo para el fragmento secuenciado. En cualquier caso, *S. salamandra* se encuentra protegida al amparo de las legislaciones Francesa y de la de la Comunidad Autónoma de Catalunya, por lo tanto el comercio con ejemplares de esa procedencia no está permitido.

Desconocemos cuáles son las vías por las que se produce este tráfico de especies protegidas, pero el hecho de su existencia es fácilmente detectable a un coste relativamente bajo mediante la aplicación de técnicas moleculares, especialmente en aquellos casos en los que existen estudios de ADN mitocondrial a nivel de poblaciones.

En especies con amplia distribución geográfica el grado de amenaza de unas poblaciones es diferente al de otras y en consecuencia, es frecuente encontrar países en los que su legislación reconozca la especie como "especie protegida" y otros en los que la especie no esté protegida. En estos casos, se hace patente la importancia y necesidad de la

existencia de estudios moleculares a nivel poblacional que permitan identificar la estructuración genética de las poblaciones a una escala geográfica detallada. Esta información puede resultar imprescindible a la hora de detectar el tráfico ilegal de animales y constituye una herramienta importante para diseñar metodologías de conservación en especies amenazadas con amplia distribución geográfica.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Steve Deban la información y ayuda prestada para la obtención de los datos utilizados en este trabajo y a Marina Alcobendas la revisión del manuscrito. Este estudio ha sido parcialmente financiado por el proyecto 07M/0090/2002 de la Comunidad de Madrid.

BIBLIOGRAFÍA

- ALCOBENDAS, M., DOPAZO, H. & ALBERCH, P. 1994. Genetic structure and differentiation in *Salamandra salamandra* populations from the northern Iberian Peninsula. *Mertensiella*, 4: 7-23.
- CAVALLI-SFORZA, L.L. & EDWARDS, D.W.F. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, 21: 550-570.
- GARCÍA-PARÍS, M., ALCOBENDAS, M. & ALBERCH, P. 1998. Influence of the Guadalquivir river basin on mitochondrial DNA evolution of *Salamandra salamandra* (Caudata: Salmnandridae). *Copeia*, 173-176.
- GARCÍA-PARÍS, M., ALCOBENDAS, M., BUCKLEY, D. & WAKE, D.B. 2003. Dispersal of viviparity across contact zones in Iberian populations of fire Salamanders (*Salamandra*) inferred from discordance of genetic and morphological traits. *Evolution*, 57 (1): 129-143.
- KOCHER, T.D., THOMAS, W.K., MEYER, A., EDWARDS, S.V., PÄÄBO, S., VILLABLANCA, F.X. & WILSON, A.C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86: 6196-6200.
- MONTORI, A. y HERRERO, P. 2004. *Caudata*. En: *Amphibia, Lissamphibia*. García-París, M., Montori, A. y Herrero, P. *Fauna Ibérica*, vol. 24. Ramos M.A. et al. (eds.): 43-275. Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid.
- MORITZ, C., SCHNEIDER, C.J. & WAKE, D.B. 1992. Evolutionary relationships within the *Ensatina eschscholtzii* complex confirm the ring species interpretation. *Syst. Biol.*, 41:273-291.
- PLEGUEZUELOS J.M., MÁRQUEZ R. Y LIZANA M., eds., 2002. *Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España*. 584 págs. Dirección General de Conservación de la Naturaleza-Asociación Herpetológica Española, Madrid.
- STEINFARTZ, S., VEITH, M. & TAUTZ, D. 2000. Mitochondrial sequence analysis of *Salamandra* taxa suggests old splits of major lineages and postglacial recolonizations of Central Europe from distinct source populations of *Salamandra salamandra*. *Mol. Ecol.*, 9: 397-410.
- THORN, R. & RAFFAELLI, J. 2001. *Les Salamandres de l'ancien monde*. Chimaira, Alemania. 449 pp.

- Fecha de recepción/Date of reception: 28/02/2005

- Fecha de aceptación/Date of acceptance: 19/06/2005