



*RESOLUCIÓN de 17 de octubre de 2022, de la Secretaría General, por la que se da publicidad al Convenio de Colaboración entre la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad de la Junta de Extremadura y la Universidad de Extremadura para el estudio del estado de conservación del Desmán Ibérico (*Galemys Pyrenaicus*), Lobo Ibérico (*Canis Lupus Signatus*), Topillo Nival (*Chionomys Nivalis*) y Topillo de Cabrera (*Microtus Cabrerae*) mediante el uso de herramientas de genética molecular como base de la gestión para la conservación de estas especies y su hábitat. N.º Expte.: 2251999FR001. (2022063095)*

Habiéndose firmado el día 29 de julio de 2022, el Convenio de Colaboración entre la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad de la Junta de Extremadura y la Universidad de Extremadura para el estudio del estado de conservación del Desmán Ibérico (*Galemys Pyrenaicus*), Lobo Ibérico (*Canis Lupus Signatus*), Topillo Nival (*Chionomys Nivalis*) y Topillo de Cabrera (*Microtus Cabrerae*) mediante el uso de herramientas de genética molecular como base de la gestión para la conservación de estas especies y su hábitat. N.º Expediente: 2251999FR001, de conformidad con lo previsto en el artículo 8 del Decreto 217/2013, de 19 de noviembre, por el que se regula el Registro General de Convenios de la Administración de la Comunidad Autónoma de Extremadura.

RESUELVO:

La publicación en el Diario Oficial de Extremadura del convenio que figura como anexo de la presente resolución.

Mérida, 17 de octubre de 2022.

La Secretaria General.
PA, Resolución de 01/03/2021,
DOE n.º 43, de 4 de marzo de 2021.
La Jefa de Servicio de Legislación y
Documentación,
M.ª MERCEDES ARGUETA MILLÁN

**JUNTA DE EXTREMADURA**

Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad



CONVENIO DE COLABORACIÓN ENTRE LA CONSEJERÍA PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA Y SOSTENIBILIDAD DE LA JUNTA DE EXTREMADURA Y LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA PARA EL ESTUDIO DEL ESTADO DE CONSERVACIÓN DEL DESMÁN IBÉRICO (*Galemys pyrenaicus*), LOBO IBÉRICO (*Canis lupus signatus*), TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*) Y TOPILLO DE CABRERA (*Microtus cabrerae*) MEDIANTE EL USO DE HERRAMIENTAS DE GENÉTICA MOLECULAR COMO BASE DE LA GESTIÓN PARA LA CONSERVACIÓN DE ESTAS ESPECIES Y SU HÁBITAT. N.º EXPEDIENTE: 2251999FR001

Mérida, 29 de julio de 2022.

REUNIDAS

De una parte, Dña. Consuelo Cerrato Caldera, Secretaria General para la Transición Ecológica y Sostenibilidad en virtud del Decreto 76/2019, de 16 de julio, por el que se dispone su nombramiento, y facultado para este acto por Resolución de la Excm. Sra. Consejera para la Transición Ecológica y Sostenibilidad de fecha 20 de noviembre de 2019, (DOE n.º 228, de 26 de noviembre de 2019) dictada conforme a lo previsto en los artículos 72 y 73 de la Ley 1/2002, de 28 de febrero del Gobierno y la Administración de la Comunidad Autónoma de Extremadura.

Y de otra, la Universidad de Extremadura, con CIF Q0618001B y sede en Badajoz, Avda. de Elvas, s/n, y en Cáceres, Plaza de los Caldereros, 1, y en su nombre y representación el Rector, D. Antonio Hidalgo García, nombrado por Decreto 2/2019, de 8 de enero (DOE n.º 6, de 10 de enero de 2019), con poderes suficientes, para la celebración de este acto, en virtud de lo establecido en el artículo 93 de los Estatutos de la citada Universidad, poderes que no le han sido derogados ni modificados.

Intervienen ambos en el ejercicio de las facultades que legalmente les confieren los cargos que respectivamente desempeñan, reconociéndose legitimación para la suscripción del presente Convenio de Colaboración y, al efecto

EXPONEN

Primero. El Real Decreto 1997/1995, de 7 de diciembre, por el que se establecen medidas para contribuir a garantizar la biodiversidad mediante la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres (BOE núm. 310, de 28 de diciembre de 1995) tiene como objetivo contribuir a garantizar la biodiversidad en el territorio en que se aplica la Directiva 92/43/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1992, relativa a la conservación de los hábitats



UNIÓN EUROPEA

FONDO EUROPEO AGRÍCOLA DE DESARROLLO RURAL:
Europa invierte en las zonas rurales



naturales y de la fauna y flora silvestres (DOCE núm. 206, de 22 de julio de 1992), mediante la adopción de medidas para la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres en el territorio español.

Las medidas que se adopten en virtud del referido real decreto tendrán como finalidad el mantenimiento o el restablecimiento, en un estado de conservación favorable, de los hábitats naturales y de las especies silvestres de la fauna y de la flora de interés comunitario en el territorio español y tendrán en cuenta las exigencias económicas, sociales y culturales, así como las particularidades regionales y locales.

Segundo. La Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad (BOE núm. 299, de 14 de diciembre de 2007) tiene como objeto establecer el régimen jurídico básico de la conservación, uso sostenible, mejora y restauración del patrimonio natural y de la biodiversidad, como parte del deber de conservar y del derecho a disfrutar de un medio ambiente adecuado para el desarrollo de la persona, establecido en el artículo 45.2 de la Constitución. En su artículo 54 se establece que las comunidades autónomas, en el ámbito de sus respectivas competencias, adoptarán las medidas necesarias para garantizar la conservación de la biodiversidad que vive en estado silvestre.

Tercero. Ley Orgánica 1/2011, de 28 de enero, de reforma del Estatuto de Autonomía de la Comunidad Autónoma de Extremadura (BOE núm. 25, de 29 de enero de 2011) establece en su artículo 10 que la Comunidad Autónoma de Extremadura tiene competencias de desarrollo normativo y ejecución en materia de medio ambiente, que incluye la regulación y protección de la flora, la fauna y la biodiversidad.

Asimismo, asume las competencias que le sean atribuidas, delegadas o transferidas por el Estado, de conformidad con lo previsto en la Constitución, y cualesquiera otras que le puedan corresponder de acuerdo con esta, con los otros títulos del presente Estatuto y con el resto del ordenamiento jurídico.

Cuarto. El Real Decreto 1594/1984, de 8 de febrero, sobre transferencias en materia de conservación de la naturaleza de la Comunidad Autónoma de Extremadura (BOE núm. 219, de 12 de septiembre de 1984), en el marco legislación sobre protección del medio ambiente, y en lo que se refiere a la conservación de la naturaleza, transfiere a la Comunidad Autónoma de Extremadura las funciones relativas al establecimiento y ejecución de programas en materia de protección de especies amenazadas o en peligro de extinción y mantenimiento y reconstrucción de equilibrios biológicos en el espacio natural.





Quinto. Finalmente, el artículo 10 de Ley Orgánica 1/2011, de 28 de enero, de reforma del Estatuto de Autonomía de la Comunidad Autónoma de Extremadura (BOE núm. 25, de 29 de enero de 2011) establece que la Comunidad Autónoma de Extremadura tiene competencias de desarrollo normativo y ejecución en materia de medio ambiente y regulación y protección de la flora, la fauna y la biodiversidad.

Sexto. Por todo ello, la Comunidad Autónoma de Extremadura tiene atribuidas las competencias para la protección del medio ambiente y de los ecosistemas, debiendo adoptar las medidas necesarias para garantizar la conservación, protección y recuperación de los hábitats, y las especies de fauna y flora que viven en el estado silvestre en su territorio.

La Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad tiene atribuidas, por Decreto del Presidente 41/2021, de 2 de diciembre, por el que se modifican la denominación y las competencias de las Consejerías que conforman la Administración de la Comunidad Autónoma de Extremadura, las competencias en materia de conservación de la naturaleza y áreas protegidas y evaluación y protección ambiental.

Conforme se establece en el Decreto 170/2019, de 29 de octubre, (DOE núm. 214 de 6 de noviembre de 2019), modificado por el Decreto 20/2021, de 31 de marzo (DOE núm. 64 de 7 de abril de 2021), entre los órganos directivos que constituyen la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad se encuentra la Dirección General de Sostenibilidad, la cual llevará a cabo la promoción, ejecución y control en materia de conservación de la naturaleza y el medio ambiente. Asimismo, es competente en la programación y propuesta de actuaciones en relación con las áreas naturales protegidas y la biodiversidad. Para el cumplimiento de sus funciones, la DGS contará entre sus órganos administrativos con el Servicio de Conservación de la Naturaleza y Áreas Protegidas.

Séptimo. La Comunidad Autónoma de Extremadura ha venido desarrollando diversas actuaciones tanto legislativas como ejecutivas, en materia de protección ambiental. Entre ellas se encuentra la promulgación de la Ley 8/1998, de 26 de junio, de conservación de la naturaleza y de espacios naturales de Extremadura (BOE núm. 200, de 21 de agosto de 1998), modificada por la Ley 9/2006, de 23 de diciembre (BOE núm. 24, de 27 de enero de 2007), que tiene como objeto el establecimiento de normas adicionales de protección del patrimonio natural de Extremadura, para facilitar su protección, conservación, restauración y mejora y asegurar su desarrollo sostenible y su preservación para las generaciones futuras.

Entre los objetivos perseguidos por esta Ley se encuentra el mantenimiento de los procesos ecológicos básicos, así como la biodiversidad y la singularidad y diversidad de los paisajes;





así como la óptima utilización de los recursos científicos para la conservación, restauración y mejora, en su caso, de los hábitats y especies amenazadas. Por ello, su artículo 57 establece que el mantenimiento y la preservación de la diversidad biológica del patrimonio natural y del patrimonio genético común se llevarán a cabo en el marco del establecimiento de figuras tanto de protección de hábitats naturales como de conservación, mantenimiento y recuperación de especies animales y vegetales. En este sentido, y entre otros, se considera como objetivo fundamental o criterio de protección dar preferencia a las medidas de conservación y preservación en el hábitat natural de cada especie, considerando la posibilidad de establecer medidas complementarias fuera del mismo.

Asimismo, mediante la aprobación del Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Extremadura (DOE núm. 30, de 13 de marzo de 2001) se catalogaron aquellas especies de flora y fauna silvestres que requieren medidas específicas de protección, atendiendo a su rareza, singularidad, representatividad o excepcionalidad en Extremadura. Entre las especies incluidas en este registro público de carácter administrativo se encuentran el desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*), el topillo nival (*Chionomys nivalis*), el topillo de Cabrera (*Microtus cabrerae*) y el lobo ibérico (*Canis lupus signatus*).

Octavo. El desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*) es un pequeño mamífero insectívoro perteneciente a la familia de los topos, que vive ligado a los cursos de agua corriente por donde se desplaza y busca su alimento; principalmente fases acuáticas de macroinvertebrados reófilos bentónicos (sobre todo efémeras, plecópteros y tricópteros), que están relacionados con la calidad del agua, debido a escasa tolerancia a los niveles de contaminación del medio acuático. Depende, además, de la disponibilidad de oquedades naturales en los márgenes de estos cauces, porque es allí donde encuentran su refugio y sus lugares de reproducción y cría. Por tanto, el hábitat del desmán puede simplificarse como el elemento lineal formado por el lecho del curso fluvial y sus márgenes.

El problema radica en que los cursos fluviales se encuentran entre los ecosistemas más amenazados del planeta, debido a la progresiva degradación y transformación del medio natural, la sobreexplotación de los recursos hídricos, la introducción de especies exóticas invasoras y los efectos del cambios climáticos (por progresivo aumento de las temperaturas, prolongación de los periodos de estiaje y la concentración de lluvias en cortos periodos de descarga torrencial que dan lugar a súbitas y devastadoras avenidas).

Por tanto, aunque la red hidrográfica sea parte de un entramado continuo (a excepción de los cursos intermitentes durante el estiaje), las necesidades ecológicas básicas del desmán (el flujo constante de agua, la comida y el refugio) hacen que habite solo en aquellos fragmentos





fluviales que cuentan con la calidad suficiente (medida tanto del agua como en el grado de naturalidad y heterogeneidad de la ribera).

Además de ser un topo de agua (como le denominan en Portugal), sus adaptaciones al medio acuático le han dado un aspecto realmente singular, destacando especialmente la presencia de una trompa móvil y patas palmeadas. No obstante, no solo destaca por su peculiar apariencia, si no que esta especie tiene gran relevancia a nivel taxonómico, por tratarse del único representante actual del género *Galemys* y por ser, además, un endemismo ibérico, cuya distribución mundial se circunscribe al sur de Francia y mitad septentrional de la Península. La población de la especie en Extremadura forma parte de la población del Sistema Central, que forma un linaje evolutivo claramente diferenciado del resto de los núcleos poblacionales en toda su área de distribución mundial. Hoy en día toda la población perteneciente al Sistema Central está considerada en peligro de extinción conforme al Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas (BOE núm.46, de 23 de febrero de 2011), misma categoría que tiene en el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Extremadura (DOE núm. 30, de 13 de marzo de 2001). Asimismo, esta especie cuenta con su Plan de Recuperación aprobado por Orden de 3 de agosto de 2018 (DOE núm. 158, de 14 de agosto de 2018) con el objetivo de sacar a la especie de tal peligro de extinción.

El problema añadido es que hasta la fecha solo se conocen algunos núcleos en el nordeste de Cáceres (cuena hidrográfica del Tajo) y suroeste de Ávila (cuena hidrográfica del Duero). Se trata de metapoblaciones que persisten de manera fragmentada y en la mayor parte de los casos aislados entre sí (sin posibilidad de intercambio genético entre sus efectivos poblacionales). Además, la población de desmanes cacereños (repartidos por los tramos altos de la cuena de los ríos Ambroz y Jerte, además de algunos tramos altos de las gargantas de la margen derecha del Tiétar) supone el exponente más meridional para el conjunto del área de la distribución mundial, con lo cual, es de esperar que sea la más vulnerable a efectos del cambio climático. Esto, unido al reducido tamaño de la fragmentada red hidrográfica que supone el área de distribución de la especie en Extremadura, hace sospechar que se encuentra realmente al borde de la extinción.

Los esfuerzos llevados a cabo en los últimos años para la conservación del desmán se han basado en la búsqueda de indicios que revelasen la presencia de la especie de forma no invasiva. En concreto, se trataba de recorrer tramos fluviales con características de hábitat a priori favorable para la posible presencia de la especie, en busca de heces de desmán. Estos muestreos, han sido siempre realizados por personal con la capacitación necesaria (en función de su estado de conservación, las heces de desmán pueden ser reconocibles con un alto grado





de confianza de acuerdo a su tamaño, forma, textura, color y olor; especialmente cuando son recientes) que se encargaban de la recolección de los mismos en caso de localizarlos o bien de recoger cualquier otro indicio que pudiese plantear dudas, en aquellos casos en que no se encontrasen heces típicamente atribuibles a las del desmán ibérico. La presencia de la especie se consumaba solo en aquellos casos en que las muestras recogidas en campo pudiesen ser confirmadas en laboratorio (mediante la aplicación de técnicas moleculares) como realmente pertenecientes a la especie *Galemys pyrenaicus*.

Con el objetivo de disponer de información actualizada y continua sobre la evolución de la población de desmán ibérico en Extremadura y su problemática de conservación, en el apartado IV.3 Actividades de Seguimiento e Investigación del referido Plan de Recuperación se plantea la promoción de una serie de actividades de seguimiento e investigación, entre las que se encuentran la realización de estudios de variabilidad genética y grado de parentesco dentro y entre las poblaciones presentes en las distintas subcuencas extremeñas, la valoración del estado de conservación de las poblaciones mediante la obtención de datos demográficos y de abundancia, y el estudio de uso del espacio a lo largo del año, y análisis cualitativo y cuantitativo de los elementos claves (disponibilidad de alimento, refugio y caudales de circulantes).

Noveno. El topillo nival (*Chionomys nivalis*) es una especie relictica en la Península Ibérica ligada a ambientes de alta montaña, donde ocupa canchales de origen glaciar. Esta especie está catalogada como riesgo menor por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (en adelante, IUCN) y, en el ámbito de la Comunidad autónoma de Extremadura, se considera una especie protegida, teniendo la categoría de "interés especial" en el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Extremadura.

La especie estaba descrita en Extremadura, aunque no existían citas contrastadas, en la vertiente noreste de la Sierra de Gredos, colindante con la provincia de Ávila, donde sí existen registros de la especie en las colecciones de museo. Por este motivo, en el año 2021 la Dirección General de Sostenibilidad realizó una evaluación del estado de conservación del topillo nival en Extremadura, realizándose un muestreo para determinar la distribución y abundancia de este microtino en Extremadura. Dicho estudio concluyó que, para reevaluar de la categoría actual de protección en Extremadura "de interés especial" a cualquier otra categoría de amenazada se hace necesario realizar un análisis del estado de conservación de esta especie, dado que no se conoce de forma científica y contrastada el área de distribución histórica.

Décimo. El topillo de Cabrera (*Microtus cabreræ*) es un roedor arvicolino (familia Cricetidae) endémico de la Península Ibérica, donde se encuentra asociado a la región bioclimática mediterránea, repartiendo sus poblaciones por cuatro núcleos geográficos: el Lusocarpetano,





Montibérico, Bético y Prepirenaico. En el ámbito de la Comunidad Autónoma de Extremadura, esta especie se encuentra catalogada como "de interés especial".

Su población global en la actualidad presenta unos rangos de distribución limitados y con baja diversidad genética. Las poblaciones extremeñas (repartidas por el oeste y norte de Cáceres, además de un reducido núcleo al noroeste de Badajoz, en la zona fronteriza con Cáceres y Portugal), están englobadas en el núcleo geográfico Lusocarpetano. No obstante, es necesaria una evaluación actual del estado de conservación de esta especie en Extremadura, debido a la progresiva transformación y pérdida de su hábitat, asociada principalmente a la intensificación de la agricultura, cambios de uso del suelo y desarrollo de nuevas infraestructuras. De hecho, por estos mismos motivos el topillo de Cabrera ha sido recientemente incluido en el Catálogo Español de Especies Amenazadas en la categoría de "vulnerable" en base a la Orden TEC/596/2019, de 8 de abril, por la que se modifica el anexo del Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas (BOE núm. 134, de 5 de junio de 2019).

Decimoprimer. El lobo gris (*Canis lupus*) es uno de los mamíferos de mayor amplio rango de distribución geográfica más extendidos del mundo (Ripple et al. 2014). En la Península Ibérica habita una subespecie endémica del lobo gris, el lobo ibérico (*Canis lupus signatus*), que, aun asumiéndose vértice en la cadena trófica, se ha sugerido que puede contribuir a restaurar la biodiversidad local y las interacciones tróficas y, de esta manera, a la recuperación del ecosistema (Boyce, 2018). En Europa, su área de distribución original ha ido reduciéndose progresiva y drásticamente a fines del siglo XIX, principalmente debido a la persecución humana, la degradación del hábitat y la disminución de presas (Torres y Fonseca, 2016). Además, se ha considerado una especie que entra en conflicto con los humanos a través, principalmente, de la depredación del ganado (Zlatanova et al., 2014). Esto se agrava principalmente en áreas donde la diversidad y densidad de presas silvestres es baja (Torres et al., 2015). Sin embargo, en las últimas décadas, debido a las políticas de protección legal, la recolonización natural y el aumento de ungulados salvajes, las poblaciones de lobos se han recuperado y ahora están expandiendo sus áreas de distribución en algunos países de Europa (Ripple et al. 2014).

Aunque el lobo se considera un depredador generalista, su ecología alimentaria se ha relacionado principalmente con la abundancia de presas silvestres, la edad y condición física de las presas disponibles y las medidas de protección del ganado (Torres et al., 2015). Aunque en centro y norte de Europa, se abastece de presas salvajes como el ciervo (*Cervus elaphus*), el corzo (*Capreolus capreolus*) y el jabalí (*Sus scrofa*), en el sur de Europa aparecen también el ganado e incluso basura humana (Salvador y Abad, 1987) (Ferretti et al., 2019).





Las últimas manadas extremeñas vivían en zonas de bosque mediterráneo y dehesas de la Sierra de San Pedro. En el ámbito de la Comunidad Autónoma de Extremadura, esta especie se encuentra catalogada como “en peligro de extinción” en el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Extremadura. Asimismo, en Extremadura está extinguido como reproductor, donde se verificó su extinción a finales del siglo XX.

En el año 2021 la Dirección General de Sostenibilidad realizó un estudio para la determinación de la distribución poblacional de esta especie en Extremadura. Este estudio se realizó en las comarcas de la Vera, Hurdes y Sierra de Gredos, obteniéndose como resultado la constatación de la presencia del lobo en territorio extremeño. Este resultado se obtuvo a través del análisis genético de excrementos compatibles con lobo ibérico, por lo que se hace necesario poder continuar con el análisis de muestras fecales compatibles con objeto de poder determinar de forma fehaciente la distribución de esta especie en Extremadura como base de su futura gestión.

Decimosegundo. La Universidad de Extremadura es una Institución de Derecho Público encargada del servicio público de la educación superior, con personalidad jurídica y patrimonio propio e independiente de los del Estado la Comunidad Autónoma de Extremadura y otros Entes Públicos. Como tal, desarrolla sus funciones en régimen de autonomía y de coordinación con las demás instituciones y asume los fines y competencias que le otorgan, entre otros, sus Estatutos aprobados mediante Decreto 65/2003, de 8 de mayo (DOE 3, de 23 de mayo de 2003).

Entre los fines de la Universidad de Extremadura se encuentran la creación, el desarrollo y transmisión crítica de la ciencia, de la técnica y tecnología, de las ciencias humanas y sociales; la difusión, la valoración y la transferencia del conocimiento al servicio de la cultura, de la calidad de vida y del desarrollo económico; la difusión del conocimiento y de la cultura mediante la extensión universitaria y la formación permanente; el apoyo científico y técnico al desarrollo social, económico y cultural, así como el mejor conocimiento en todos sus aspectos de la Comunidad Autónoma de Extremadura; la cooperación para el desarrollo, y el intercambio científico, técnico y artístico con otras instituciones y entidades tanto españolas como extranjeras; y la conservación, incremento y difusión de su patrimonio artístico, científico, técnico, documental e inmobiliario.

Para el cumplimiento de sus fines la Universidad de Extremadura, en el ejercicio de su autonomía, dispondrá necesariamente, y sin otras limitaciones que las que le sean impuestas por las leyes, de competencias entre las que se encuentran: la creación, modificación y supresión de estructuras que actúen como soporte de la investigación; el establecimiento de relaciones





de cooperación con otras entidades e instituciones académicas, culturales o científicas españolas y de cualquier otra parte del mundo, teniendo en cuenta la especial relevancia en Extremadura de los vínculos con Portugal y la Comunidad Iberoamericana; el establecimiento de relaciones y convenios de colaboración con cualesquiera otras entidades públicas o privadas; así como cualesquiera otras competencias necesarias para el adecuado cumplimiento de sus fines que no hayan sido reservadas al Estado o a la Comunidad Autónoma de Extremadura en la legislación vigente.

Decimotercero. La Universidad de Extremadura dispone en su Facultad de Veterinaria de Cáceres de personal y equipamiento especializado en el campo de la biología molecular.

En este sentido, dispone de una Unidad de Genética y Mejora Animal en la cual, a través del Grupo de Investigación de Biología Evolutiva, Etología y Gestión Cinegética (Grupo de Investigación BIOETO con código BBB028 del catálogo de grupos de investigación de la Junta de Extremadura), presenta una amplia trayectoria científica de reconocido prestigio a nivel internacional en el estudio de patógenos y análisis genético molecular.

El personal docente e investigador de esta Unidad cuenta con más de 7 años de experiencia en la determinación genética de las muestras (heces y/o tejidos) pertenecientes a la especie desmán ibérico, el sexado, el genotipado (caracterización del individuo) y la determinación del linaje evolutivo al que pertenezcan las mismas. También cuenta con personal dedicado al análisis de la prevalencia de parásitos en desmán ibérico, siendo pionero en la catalogación de enfermedades en esta especie y dando a conocer el efecto que producen. Esta experiencia en la especie desmán ibérico puede ser aplicada al conocimiento de otras especies, como son dos micromamíferos como el topillo de Cabrera (*Microtus cabreræ*) y el topillo nival (*Chionomys nivalis*), y un mamífero como es el lobo ibérico (*Canis lupus signatus*). Asimismo, dispone del equipamiento necesario para realizar la labor docente e investigadora, entre los que se encuentran un analizador genético, un sistema de PCR en tiempo real, un equipamiento de lectura de ELISA (fotómetro), y un equipo de secuenciación de nueva generación (NGS). Actualmente, la unidad cuenta con tres doctorandos y un graduando que están realizando tres tesis doctorales y un trabajo fin de grado, respectivamente, en especies a micromamíferos, ungulados y mesocarnívoros, incluido el Lince, en el contexto de la identificación genética, de las cuales se han enviado varios artículos para su evaluación en revistas científicas con cualificación JCR (Journal Citation Report), además de otros que está en preparación.

Debido a la continuidad en el desempeño de estas tareas, además del continuo y rápido avance de las técnicas genéticas, ha posibilitado el perfeccionamiento de los protocolos de validación de las muestras pertenecientes a la especie desmán ibérico, así como la caracterización





individual de las mismas (en el caso de ser pertenecientes a *Galemys*) e incluso el desarrollo de protocolos inéditos para esta especie, como es el caso del sexado a través de las heces utilizando equipos de PCR a tiempo real.

En definitiva, todos los nuevos avances técnico-metodológicos se han incorporado a la tesis doctoral titulada "Estudio genético del desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*) usando métodos no invasivos para identificar la especie, sexado y estado de sanitario mediante técnicas moleculares de PCR". Sin embargo, algunos de los resultados preliminares han sido objeto de una comunicación oral en el XV congreso de la SECEM (Sociedad Española Sociedad Española para la Conservación y Estudio de los Mamíferos) celebrada en Córdoba de 4-7 de diciembre de 2021, destacándose la utilidad de las herramientas moleculares, por un lado, en el monitoreo epidemiológico y evaluación de amenazas a la especie, y, por otro lado, arbitrar criterios aplicables a posibles soluciones respecto a dichas amenazas, incluida la predación. Además, todo este trabajo previo permitió actualizar el área de distribución de la especie, conocer los territorios de reproducción y cría e identificar algunas claras barreras al flujo genético entre ejemplares de distintos núcleos poblacionales.

Sin embargo, otros aspectos relacionados con los patrones reproductivos y de estrés pueden ser estudiados usando métodos no invasivos. Por la ausencia de información en el desmán, se hace relevante el estudio de hormonas esteroides (andrógenos, estrógenos y cortisol) dado que son factores determinantes en los patrones conductuales, incluido el reproductor (Valdespino et al., 2002; Soto et al., 2004).

Los avances obtenidos con la especie desmán ibérico pueden ser aplicados al conocimiento de otras especies de micromamíferos como el topillo de Cabrera (*Microtus caberae*) y el topillo nival (*Chionomys nivalis*), especies que no están catalogadas en la misma categoría que el desmán. Sin embargo, muchas especies endémicas son merecedoras de atención, sobre todo en aquellas poblaciones con escasa información general, al objeto de reconocer los orígenes de su estructura genética y así producir prácticas de conservación mejor informadas.

La Península Ibérica es un importante refugio glacial europeo, rico en endemismos de interés para la conservación, incluidos estos pequeños mamíferos, como el topillo de Cabrera (*Microtus caberae*) y, más recientemente observado en Extremadura, el topillo nival (*Chionomys nivalis*). Estos roedores casi amenazados se caracterizan por encontrarse en núcleos geográficos aislados en hábitats herbáceos subhúmedos mediterráneos que desaparecen rápidamente. A pesar de las bajas diversidades de nucleótidos nucleares y mitocondriales de estas especies, se han documentado unos pocos linajes mitocondriales principales bien respaldados, pero hay que confirmar la conservación de tales endemismos y su legado genético (Barbosa et al. 2017).





Decimocuarto. El presente Convenio se financia en un 80% mediante la submedida 7.1. "Elaboración, actualización de planes de protección y gestión de zonas de Red Natura 2000 y zonas de alto valor natural" del Programa de Desarrollo Rural de Extremadura 2014-2022 (FEADER, Europa invierte en las zonas rurales) al incluir actuaciones consistentes en estudios para la mejora en el conocimiento de las especies protegidas.

Por cuanto antecede, es voluntad de las partes suscribir un Convenio que defina la colaboración entre las mismas a los fines que a continuación se describen, a cuyo efecto, otorgan el presente documento en virtud de las siguientes

CLÁUSULAS

Primera. Objeto.

El objeto del presente Convenio es establecer la colaboración entre las partes para mejorar el conocimiento científico sobre el estado de conservación de cuatro especies amenazadas recogidas en el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Extremadura (CREA) como base de la gestión para la conservación de estas especies y su hábitat.

En concreto, las especies objeto del presente Convenio son las siguientes:

- Desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*), catalogado en peligro de extinción.
- Topillo nival (*Chionomys nivalis*), catalogado de interés especial.
- Topillo de Cabrera (*Microtus cabrerae*), catalogado de interés especial.
- Lobo ibérico (*Canis lupus signatus*), catalogado en peligro de extinción.

Segunda. Actuaciones.

El presente Convenio tiene por finalidad la realización de las siguientes actuaciones:

Actuación 1. Diagnósticos moleculares sobre muestras biológicas de desmán ibérico, topillo de cabrera y topillo nival.

Actuación 2. Diagnósticos moleculares sobre muestras biológicas de lobo ibérico.





Tercera. Obligaciones y compromisos de las partes.

La Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad de la Junta de Extremadura, a través de la Dirección General de Sostenibilidad, se compromete a:

- Realizar muestreos de campo para la recogida de muestras biológicas conforme a las directrices establecidas en el Anexo Técnico. Estas tareas serán realizadas mediante medios humanos y materiales existentes en el Servicio de la Conservación de la Naturaleza y Áreas Protegidas de la Dirección General de Sostenibilidad, no generando un gasto adicional para la administración regional. No obstante, la Dirección General de Sostenibilidad podrá requerir a la Universidad de Extremadura la presencia de personal del Grupo de Investigación de Biología Evolutiva, Etología y Gestión Cinegética (BIOETO) en aquellas tomas de muestras en campo que impliquen conocimientos técnicos genéticos especiales.
- Aportar la cantidad de noventa y dos mil euros (92.000,00 €) a la Universidad de Extremadura destinados a financiar los gastos derivados de la realización de las actuaciones contenidas en la cláusula segunda.

La Universidad de Extremadura, a través del Grupo de Investigación de Biología Evolutiva, Etología y Gestión Cinegética (BIOETO), se compromete a:

- Recepcionar, custodiar y analizar las muestras entregadas por el Servicio de Conservación de la Naturaleza y Áreas Protegidas de la Dirección General de Sostenibilidad, desarrollando las actuaciones referidas en la cláusula segunda conforme se establece en el Anexo Técnico del Convenio.
- Colaborar, a requerimiento de la Dirección General de Sostenibilidad de la Junta de Extremadura, en aquellas tomas de muestras en campo que impliquen conocimientos técnicos genéticos especiales.
- Destinar los fondos aportados por la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad de la Junta de Extremadura para sufragar los gastos derivados de las actuaciones descritas en la cláusula segunda. Para ello, aportarán para el desarrollo del Convenio las instalaciones, los materiales y equipos, así como el personal necesario para el correcto desarrollo de las actuaciones previstas.
- Justificar las cantidades recibidas de la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad y presentar las Memorias de las actuaciones realizadas conforme se establece en la Cláusula Cuarta del Convenio.





En este sentido, los contratos que pudiera celebrar la Universidad de Extremadura con terceros para la ejecución de las actuaciones objeto de este Convenio serán de su exclusiva responsabilidad, efectuándose a su riesgo y ventura. Así mismo, si la Universidad de Extremadura contratara personal para la ejecución del presente Convenio, con cargo al mismo, dicho personal no tendrá relación laboral alguna con la Junta de Extremadura.

Cuarta. Forma de pago.

La aportación especificada en la cláusula tercera de la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad se realizará de la siguiente forma:

1. El abono de las cantidades convenidas se realizará mediante certificaciones parciales y final conforme al desglose económico y de anualidades establecido en el apartado 4 del Anexo Técnico.
2. Para cada certificación la Universidad de Extremadura entregará a la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad una acreditación de las actuaciones realizadas consistente en una (1) memoria del estudio establecido conforme a la cláusula segunda y que se concretan en lo siguiente:
 - Estudio genético como herramienta de análisis de la biodiversidad local y conservación del lobo ibérico (*canis lupus signatus*) y tres especies de micromamíferos en Extremadura aplicado a la mejora de conocimiento previo del estado de la población del desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*), incorporando una primera aproximación a las poblaciones del topillo de cabrera (*Microtus cabrerae*) y del topillo nival (*Chionomys nivalis*), que deberá venir firmado por el Dr. José Luis Fernández García, como miembro del Grupo de Investigación BIOETO.

El contenido del mencionado estudio se recoge en el apartado 5 del Anexo técnico del presente Convenio.

La certificación parcial incluirá la memoria intermedia del estudio y la certificación final la memoria final del estudio.

3. Posteriormente las certificaciones serán firmadas por el Director/a Técnico/a del Convenio nombrado en virtud de la cláusula octava, por los trabajos ejecutados conforme al Anexo Técnico, y una vez justificados los gastos y pagos que se efectúen con cargo al Convenio, procediéndose a los pagos que se realizarán de la siguiente forma:
 - Un primer pago correspondiente a la cantidad de 24.000,00 € el 15 de noviembre de 2022, previa certificación parcial.



**JUNTA DE EXTREMADURA**

Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad



- Un segundo pago correspondiente a la cantidad de 43.000,00 € el 15 de noviembre de 2023, previa certificación parcial.
- Un tercer y último pago correspondiente a la cantidad de 25.000,00 € una vez finalizados los trabajos o, en todo caso, a la finalización del Convenio, previa certificación final.

4. Los pagos se realizarán mediante transferencia bancaria a la cuenta corriente IBAN ES39 0049-6744-45-2216163524 del Banco de Santander a nombre de la Universidad de Extremadura, indicando como referencia el título de este convenio.

Quinta. Financiación.

El coste total del presente Convenio de colaboración que asciende a noventa y dos mil euros (92.000,00 €), se financiarán con cargo a los Presupuestos Generales de la Comunidad Autónoma de Extremadura de la siguiente manera:

Anualidad	Centro gestor	Posición	Fondo	Proyecto	Importe
2022	180030000	G/354A/64100	FR14070100	20160218	24.000,00 €
2023	180030000	G/354A/64100	FR14070100	20160218	43.000,00 €
2024	180030000	G/354A/64100	FR14070100	20160218	25.000,00 €
TOTAL					92.000,00 €

La aportación económica al presente convenio de Colaboración, son elegibles y subvencionables y se encuentran cofinanciados con fondos FEADER (Europa invierte en las zonas rurales) del Programa de Desarrollo Rural de Extremadura 2014-2022, con una tasa de cofinanciación del 80%, y están comprendidos en:

Eje P.4 Restaurar, preservar y mejorar los ecosistemas relacionados con la agricultura y la silvicultura. Medida 4.A "Restaurar, preservar y mejorar la biodiversidad (incluido en las zonas Natura 2000 y en las zonas con limitaciones naturales u otras limitaciones específicas), los sistemas agrarios de alto valor natural, así como el estado de los paisajes europeos".



UNIÓN EUROPEA

FONDO EUROPEO AGRÍCOLA DE DESARROLLO RURAL:
Europa invierte en las zonas rurales



Submedida 7.1. "Elaboración, actualización de planes de protección y gestión de zonas de Red Natura 2000 y zonas de alto valor natural", conforme a la ficha de elegibilidad que se adjunta, en el marco de la normativa europea y nacional aplicable, en particular, el Reglamento (UE) N.º 1303/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de diciembre de 2013, el Reglamento (UE) N.º 1305/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de diciembre de 2013, el Reglamento Delegado (UE) n.º 807/2014 de la Comisión de 11 de marzo de 2014, el Reglamento de ejecución (UE) n.º 808/2014 de la Comisión de 17 de julio de 2014 y el Reglamento Delegado (UE) 2015/1367 de la Comisión de 4 de junio de 2015.

Sexta. Propiedad intelectual.

La propiedad intelectual de los trabajos realizados, así como de las muestras biológicas necesarias para ello, corresponde a la Universidad de Extremadura y a la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad dentro de los términos establecidos en el Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia (BOE núm. 97, de 22 de abril de 1996).

No se permitirá la reproducción total de los trabajos ni su tratamiento informático, ni la transmisión por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad de la Junta de Extremadura y de la Universidad de Extremadura, asimismo se incorporarán los logotipos de la Junta de Extremadura, la Universidad de Extremadura y del Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural FEADER.

Séptima. Confidencialidad y protección de datos.

La Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad y la Universidad de Extremadura se comprometen a preservar la confidencialidad de cualquier documento, información u otro material que se produzca o a la que se tenga acceso como resultado de la ejecución de las actividades realizadas en el marco del presente Convenio. Cada una de las partes se compromete, por tanto, a no difundir, sin el consentimiento de la otra parte, las informaciones científicas o técnicas pertenecientes a la otra parte, a las que haya podido tener acceso con ocasión del desarrollo de las actuaciones objeto del Convenio, salvo que esas informaciones sean del dominio público o que la revelación de las mismas sea requerida por ley.

El tratamiento de datos de carácter personal será conforme a las previsiones contenidas en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los





derechos digitales. Con carácter general, durante la ejecución del Convenio, ha de procurarse la debida protección de los datos de carácter personal, debiendo estarse a lo dispuesto, en primer lugar, en el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la directiva 95/46/CE (Reglamento General de Protección de Datos o RGPD) y asimismo a lo dispuesto en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y en la restante normativa aplicable en la materia, siendo recomendable que la documentación que se proporcione para el desarrollo de las mismas contenga datos disociados (artículo 5,1,e) y p) del RD 1720/2007, de 21 de diciembre), cuando ello sea posible.

Octava. Vigencia del convenio.

La duración de este Convenio se fija en dos años a partir de su firma. No obstante, de conformidad con lo dispuesto en el artículo 49.h) de la Ley 40/2015, de 1 de octubre de Régimen Jurídico del Sector Público, las partes podrán acordar de mutuo acuerdo su prórroga por un periodo de hasta cuatro años adicionales o su extinción mediante la firma de una adenda al mismo, la cual deberá suscribirse antes de la finalización del plazo de vigencia del Convenio. En caso necesario, y de mutuo acuerdo en el seno de la Comisión de Seguimiento constituida según cláusula décima del presente Convenio, y siempre de forma expresa, la ampliación de plazo de vigencia del Convenio podrá llevar aparejada la ampliación de su presupuesto.

Novena. Modificación, extinción y resolución.

El Convenio podrá ser modificado por mutuo acuerdo de las partes. Se extinguirá por el cumplimiento de las actuaciones que constituyen su objeto, o por incurrir en causa de resolución. Serán causas de resolución las previstas en el artículo 51 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, y en particular:

- a) El vencimiento del plazo de vigencia.
- b) El acuerdo unánime de las partes.
- c) Por incumplimiento de las obligaciones y compromisos asumidos por parte de alguno de los firmantes. En este caso, cualquiera de las partes podrá notificar a la parte incumplidora un requerimiento para que cumpla en un determinado plazo con las obligaciones o compromisos que se consideran incumplidos. Este requerimiento será comunicado al responsable del mecanismo de seguimiento, vigilancia y control de la ejecución del convenio y a las demás partes firmantes.





Si trascurrido el plazo indicado en el requerimiento persistiera el incumplimiento, la parte que lo dirigió notificará a las partes firmantes la concurrencia de la causa de resolución y se entenderá resuelto el convenio. La resolución del convenio por esta causa dará lugar al reintegro de las cantidades que se hubiese recibido, así como los intereses legales que hubieran devengado las citadas cantidades.

Décima. Comisión de seguimiento.

De acuerdo con lo establecido en el artículo 49.f de la de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, se constituye una Comisión de seguimiento de composición mixta para el seguimiento, vigilancia y control del presente Convenio, evaluando su aplicación, garantizando su calidad y promoviendo las líneas de seguimiento, control e investigación, así como aquellas actuaciones de coordinación que se consideren necesarias.

La Comisión estará formada por un representante de cada una de las entidades firmantes:

- Por parte de la Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad su Directora de Programas de Conservación, María Jesús Palacios González, que ejercerá las funciones de Director Técnico del Convenio,
- y por parte de la Universidad de Extremadura el Dr. José Luis Fernández García, como miembro del Grupo de Investigación BIOETO.

Dicha Comisión se constituirá en el plazo de treinta días, contados a partir de la fecha de la firma del presente Convenio. Esta Comisión se reunirá, al menos, una vez durante el plazo de vigencia del Convenio.

Tanto la convocatoria de las sesiones que celebren como el funcionamiento interno y la adopción de acuerdos se regirán con arreglo al procedimiento general de actuación de los órganos colegiados que contempla el artículo 15 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público.

Décimoprimer. Información y publicidad.

El presente convenio está cofinanciado por el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural por lo que la Universidad de Extremadura se compromete a dar adecuada publicidad del carácter público de la financiación objeto de subvención, teniendo en cuenta las consideraciones de información y publicidad previstas en el artículo 66 del Reglamento (UE) n.º 1305/2013, del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de diciembre de 2013, relativo a la ayuda al desa-





rollo rural a través del Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) y por el que se deroga el Reglamento (CE) n.º 1698/2005 del Consejo y el Anexo III del Reglamento (UE) n.º 808/2014, de la Comisión de 17 de julio de 2014, por el que se establecen las disposiciones de aplicación del Reglamento anterior, Asimismo, se compromete a adoptar las medidas de identificación, información y publicidad reguladas en el artículo 3 del Decreto 50/2001, de 3 de abril, sobre medidas adicionales de gestión de inversiones financiadas con ayudas de la Junta de Extremadura.

En este sentido, los informes de resultados de los análisis, así como los estudios derivados del Convenio realizados deberán incluir el logotipo FEADER (Europa invierte en las zonas rurales), el logotipo de la Junta de Extremadura y el logotipo de la Universidad de Extremadura.

Décimosegunda. Régimen jurídico e interpretación.

El presente Convenio tiene naturaleza administrativa y se encuadra en el tipo establecido en el artículo 47.d) de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, siéndole aplicable el régimen jurídico contenido en dicha Ley.

Las discrepancias, así como, las controversias sobre la interpretación y ejecución del presente Convenio de colaboración y las cuestiones litigiosas a las que pueda dar lugar la interpretación, modificación, efectos o resolución del presente Convenio, y que no sean resueltas en el seno de la Comisión de Seguimiento previstas en la cláusula novena, quedarán sometidas al conocimiento y resolución de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa, de conformidad con la Ley 29/1998, de 13 de julio, reguladora de dicha jurisdicción, una vez agotada la vía de la Comisión de Seguimiento prevista en el mismo.

En prueba de conformidad, las partes firman el presente Convenio de Colaboración por duplicado ejemplar y a un solo efecto en lugar y fecha indicados en el encabezamiento.

La Consejera para la Transición Ecológica y
Sostenibilidad,
PA, (Resolución de 20 de noviembre de 2019,
de la Consejera,
DOE n.º 228, de 26 de noviembre de 2019).
La Secretaria General,
CONSUELO CERRATO CALDERA

El Rector Magnífico de la Universidad de
Extremadura,
ANTONIO HIDALGO GARCÍA





ANEXO TÉCNICO

ESTUDIO GENÉTICO COMO HERRAMIENTA DE ANÁLISIS DE LA BIODIVERSIDAD LOCAL Y CONSERVACIÓN DEL LOBO IBÉRICO (*CANIS LUPUS SIGNATUS*) Y TRES ESPECIES DE MICROMAMÍFEROS EN EXTREMADURA APLICADO A LA MEJORA DE CONOCIMIENTO PREVIO DEL ESTADO DE LA POBLACIÓN DEL DESMÁN IBÉRICO (*GALEMYS PYRENAICUS*), INCORPORANDO UNA PRIMERA APROXIMACIÓN A LAS POBLACIONES DEL TOPILLO DE CABRERA (*MICROTUS CABRERAE*) Y DEL TOPILLO NIVAL (*CHIONOMYS NIVALIS*)

1. Objetivo.

El estudio tiene como objetivo general la generación de conocimiento científico sobre el estado de conservación de la fauna en Extremadura y, en especial, de las especies amenazadas conforme al Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Extremadura (CREA), como base de la gestión para la conservación de estas especies y su hábitat. En concreto, el estudio tiene como objetivo la generación de conocimiento científico en relación con las siguientes especies:

- Desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*), catalogado como en peligro de extinción según el CREA.
- El topillo nival (*Chionomys nivalis*) y topillo de Cabrera (*Microtus cabreræ*), ambos catalogados de interés especial según CREA.
- Lobo ibérico (*Canis lupus signatus*), en peligro de extinción según CREA.

Para la consecución de estos objetivos se realizarán diagnósticos moleculares sobre muestras biológicas de desmán ibérico, incorporando una primera aproximación a las poblaciones del topillo de Cabrera y del topillo nival, así como diagnósticos moleculares sobre muestras biológicas de lobo ibérico.

2. Metodología.

2.1. Toma de muestras.

La toma de muestras biológicas a analizar se realizará en campo por personal de la Junta de Extremadura. No obstante, cuando se considere necesario, la Dirección General de Sostenibilidad podrá requerir a la Universidad de Extremadura la presencia de personal del Grupo de Investigación de Biología Evolutiva, Etología y Gestión Cinegética (BIOETO)





en aquellas tomas de muestras en campo que impliquen conocimientos técnicos genéticos especiales.

Ante la localización de una muestra biológica (muestras fecales, tejidos, cadáveres y/o pelos) compatible con las especies desmán ibérico, topillo nival, topillo de Cabrera y lobo ibérico se actuará según se indica:

- Para cada muestra se deberá anotar su geolocalización (coordenadas UTM, en el datum ERTS89, zona 30N), además de diversas variables en relación a la misma, los descriptores del hábitat del tramo realizado, las amenazas detectadas, así como cualquier información de interés.
- Para la recogida de datos se establecerá en un protocolo estandarizado que será implementado mediante su incorporación a una base de datos o una hoja de cálculo como producto de este convenio.
- La recogida se realizará mediante un bote de capacidad 1,5 a 2 ml de volumen (superior hasta 100 ml en caso de muestras grandes), esterilizado, hermético y adecuado para su conservación a temperatura de -80°C.
- La muestra recogida se cubrirá completamente con etanol al 96%-100% (si la muestra va destinada a detección de hormonas, el volumen deberá ajustarse a la masa recogida según protocolo entregable), etiquetándose convenientemente (en base a los protocolos internos del convenio) y tratará de conservarse preferentemente en congelación (-20°C) si existe la posibilidad, o en su caso, refrigerada en nevera si esta posibilidad no fuera posible por deficiencia de medios técnicos, y siempre y cuando la entrega de las muestras se realice dentro de los dos días siguientes a su recolección para los diagnósticos moleculares.
- Si pasan pocas horas (menos de 24 horas) hasta que puedan enviarse al laboratorio las muestras podrán permanecer refrigeradas o congeladas (-20°C) si fueran a transcurrir más de 24 horas hasta su envío para los diagnósticos moleculares por parte del Laboratorio BIOETO en la Facultad de Veterinaria de Cáceres.
- Finalmente, las muestras serán remitidas al Grupo BIOETO de la Facultad de Veterinaria, quien será el responsable de recepción y custodia. Así mismo, será la responsable de conservar todo el material genético extraído de las muestras que resulten validadas como pertenecientes a desmán ibérico, topillo nival, topillo de Cabrera y lobo ibérico. Dicho material, seguirá siendo propiedad de la Junta de Extremadura.





2.2. Acciones del estudio.

Para la realización del estudio se desarrollarán las siguientes acciones.

- Confirmación de muestras mediante técnicas moleculares (test PCR)

La confirmación se realizará mediante técnicas moleculares (test PCR), de las muestras compatibles con las especies desmán ibérico, topillo nival y topillo de Cabrera.

- Para ello se comenzará por la extracción del ADN genómico de cada muestra y la aplicación de técnicas moleculares (análisis PCR) para validar la procedencia del material genético, utilizando controles para las especies *Galemys pyrenaicus*, *Microtus cabrae*, *Chionomys nivalis* y musgaño de Cabrera (*Neomys anomalus*). Para la confirmación mediante técnicas moleculares (test PCR) del *Galemys pyrenaicus* ya se dispone de un protocolo en fase de publicación. Sin embargo, se deben desarrollar nuevos protocolos qPCR y/o PCR convencional (incluyendo secuenciación Sanger) para la confirmación de las especies topillo nival y topillo de Cabrera, a partir de muestras de individuos de Extremadura, pues no se dispone de esta técnica aún.

En caso de que la PCR no rinda a ninguna de estas especies, se tratará de volver a extraer ADN (siempre que no se haya agotado en su totalidad en la primera extracción).

- Caracterización individual y sexado de las muestras que resulten positivas a *Galemys*.

En caso de que el resultado de la PCR sea positivo a desmán ibérico (es decir, se verifica mediante genética molecular que la muestra analiza pertenecía inequívocamente a esta especie) se realizará una identificación individual que requerirá de material genético (principalmente pelo, sin descartar otro tipo de muestras) de ejemplares capturados en cada zona de distribución de la especie desmán, para determinar aquellos marcadores de tipo microsatélites que resulten específicamente polimórficos hasta un máximo 18, al ser este número de ellos que se encuentra actualmente disponible en la bibliografía y en datos propios.

No se descarta, si aparece nueva información genómica en el transcurso de estos estudios, utilizar marcadores genómicos del tipo SNPs que incrementen la capacidad de la identificación individual propuesta. En relación con los microsatélites, se pretende mejorar su rendimiento en PCR reduciendo el tamaño de los fragmentos amplificables (se pretenden que no superen 160-165 pares de bases, dependiendo del rango de tamaños de las repeticiones característico en desmán de Extremadura) en base a re-secuencia-





ción de los disponibles en la bibliografía y que se viene usando en estudios previos. Estos microsatélites re-secuenciados se agruparán en tandas múltiples, de acuerdo con la compatibilidad entre grupos de cebadores y tamaños, esperando un óptimo de 3 grupos de 3-5 marcadores polimórficos entre o dentro de grupos de población.

- Delimitación de unidades evolutivas (linajes genéticos) y adscripción de cada individuo a las mismas mediante comparación con muestras de desmán ibérico en toda su área de distribución en Extremadura de acuerdo con los resultados de trabajos previos.

Se continuará con la delimitación de unidades evolutivas (linajes genéticos), pero para ello se extenderá el estudio al mitogenoma completo (genoma mitocondrial) de un ejemplar de cada zona (Ambroz, Jerte y Vera) si se dispone de ADN de calidad. Actualmente se dispone de una pequeña cantidad de ADN de un individuo de Ambroz, aunque podría ser insuficiente, y el de un cadáver de la Vera sobre el cual se comenzarán los trabajos en el curso del año 2022.

- Determinación del grado de endogamia de los genotipos individuales y grado relativo de aislamiento entre los núcleos de población conocidos.
- Estimación de parámetros de variabilidad genética a nivel individual (heterocigosidad) y de los núcleos de población conocidos.
- Determinación de relaciones de parentesco entre los distintos individuos, de acuerdo a las muestras genotipadas, y su aplicación al análisis de grado de dispersión, conectividad entre núcleos de población y establecimiento de redes de parentesco.
- Valoración de la conexión entre núcleos de población y su posible expansión desde el rango actual de la especie en Extremadura a otros tramos fluviales adecuados, en base a la estructura poblacional actual, estimas de abundancia relativa y tamaño efectivo de la población, combinando información de marcadores moleculares nucleares (microsatélites) y mitocondriales.
- Investigación del estado sanitario del desmán mediante análisis molecular usando diseños de qPCR (PCR en tiempo real o cuantitativa) de un panel de parásitos y microorganismos potencialmente patógenos para vertebrados, de acuerdo con estudios previos.

Para ello se utilizaran, además, metodologías NGS (Secuenciación de nueva generación) utilizando un equipo de minisequenciación (iseq100, Illumina corporation) para secuenciar librerías del gen 16SrRNA mitocondrial (paired-end, lo que implica un ta-





maño de lecturas de 300 pares de bases de dicho gen) para evaluar la microbiota total, pretendiéndose además implementarlo para la identificación genética de parásitos, especialmente *Eimeria* spp., dado el elevado de porcentaje de muestras positivas en estudios previos. Es más, se incluirán las muestras positivas a *Neomys anomalus* para conocer las implicaciones y relaciones comunes de las eimierias detectadas ya que ambos micromamíferos comparten el mismo hábitat.

Se cuantificarán las hormonas esteroides sexuales (Testosterona y Estradiol) y las indicadoras de estrés (Cortisol) en muestras fecales de desmán con objeto evaluar sus concentraciones y asignar estados fisiológicos sexuales y describir los niveles actuales de estas hormonas, por primera vez en el desmán. Los resultados se compararán entre sexos para aquellas muestras con información molecular de sexado. Se tendrá en cuenta que es la primera vez que se realiza esta acción en desmán.

Se utilizarán los tejidos ya disponibles, y se mantendrá la valoración de la incidencia de depredación sobre el desmán, mediante análisis molecular de excrementos de mesocarnívoros y se incluirá un análisis genético de la identificación de depredación en el lobo (*Canis lupus signatus*) utilizando la patente molecular desarrollada para la identificación de cérvidos (Cód. de referencia: 201230824 N.º de solicitud: patente 201230824) a la que se añadirá, cuando posible análisis NGS en equipo de minisequenciación (iseq100, Illumina corporation) para secuenciar librerías del gen 16SrRNA mitocondrial (paired-end) como ya se ha descrito anteriormente.

- Valoración de la incidencia de depredación sobre el desmán, mediante análisis molecular de excrementos de mesocarnívoros (especialmente de mustélidos semiacuáticos como nutria o visón americano) que se hayan podido encontrar en los cauces donde habita el desmán y que se hayan recogido por presentar restos de micromamíferos.
- Valoración del estado de conservación y densidades relativas en los núcleos de población de la especie en Extremadura.

2.3. Descripción metodológica.

El análisis de las muestras comenzará con el proceso para la obtención de ADN genómico presente en las mismas, utilizando para ello Kit comerciales específicamente diseñados para este propósito en heces o tejidos, y para la extracción de hormonas se seguirá el procedimiento recomendado por la empresa fabricante de los Kit de análisis basado en test de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).





Las concentraciones hormonales se calcularán de acuerdo con el software desarrollado por la empresa o, en su defecto, la fórmula de cálculo recomendada por el fabricante, y se expresarán en ng/g de excremento seco.

El ADN extraído será procesado con el objetivo, en primer lugar, de verificar a través de técnicas de qPCR si la muestra pertenece al desmán ibérico o bien proviene del musgaño de Cabrera (*Neomys anomalus*) y en su defecto, se usarán publicaciones o estudios inéditos previamente realizados (por ejemplo, Gillet et al. 2014 o Fernández-García y Vivas, 2017).

Las muestras positivas a musgaño de Cabrera, se usarán ahora para realizar análisis de parásitos que pudiera compartir con el desmán, especialmente *Eimeria* spp. Para aquellas muestras atribuidas a la especie desmán ibérico (en base a las pruebas PCR), se procesarán, en una primera vez, usando secuenciación de, al menos, un segmento de d-loop descritos previamente (Igea et al., 2013, Fernández-García et al. 2015) como consecuencia del hallazgo de variación genética en la especie en Extremadura y, si se observase alguna región polimórfica en el genoma mitocondrial completo de al menos dos individuos diferentes, se seleccionará una de ellas para completar la información sobre Linajes genéticos mitocondriales.

Aunque en relación a clados o linajes se puede asumir lo descrito por Igea et al. (2013), la nueva información permite atribuir una distribución más precisa e informativa a nivel filogeográfico de los distintos linajes encontrados (dos en Extremadura; Ripa et al., en preparación) en base a secuenciación analítica de productos PCR del genoma mitocondrial. Las PCR se analizarán en un equipo analizador genético modelo ABI 3130 (Applied Biosystems™) perteneciente a nuestro equipo de investigación. La delimitación de las unidades o linajes evolutivos (atribuible en base a ADN mitocondrial) se obtendrá por métodos bioinformáticos basados en redes de haplotipos usando la información de variabilidad de secuencias de ácidos nucleicos del Cyt b y del D-loop mitocondriales de este proyecto, pero añadiendo además secuencias disponibles en las bases de datos públicas del NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica, USA). Los resultados se expondrán mediante redes filogenéticas que representan de forma exhaustiva todas las posibles vías o trayectos más cortos que establecerán dichas las relaciones filogenéticas que subyacen en los datos genéticos mitocondriales y, además, aplicando la información de su ubicación geográfica.

También y cuando los ADN sean genéticamente atribuidos a desmán ibérico, serán objeto de genotipado individual usando métodos moleculares de STR (Single Tandem Repeat), también conocidos como microsatélites, procurando obtener los más variables de una





colección de dieciocho marcadores genéticos nucleares que serán re-secuenciados para adaptarlos a la población extremeña, y se incluirá el sexado mediante procedimientos desarrollados en acciones previas. En relación con el procedimiento de sexado, se fundamentará en análisis de diseños de qPCR (PCR en tiempo real) (Ripa et al. en preparación - Tesis doctoral), desarrollados durante etapas previas dado su sensibilidad y especificidad técnica. Si no se obtiene suficiente ADN de desmán en el excremento, se priorizarán los procedimientos, primero, de sexado, y segundo, de identificación individual.

Los datos genotípicos moleculares (multilocus) recogidos permiten medir como se distribuye en el espacio la variación genética y, de este modo, delimitar unidades evolutivas y adscripción de cada individuo a las mismas o la identificación de grupos familiares y asignación de relaciones paterno-filiales. Además, este tipo de información genética permitirá el análisis de eventos de fragmentación de los núcleos poblacionales (o metapoblaciones) y comparación de los genotipos individuales usando muestras de desmán ibérico en toda su área de distribución en Extremadura. Se mantendrán los análisis previos consistentes en el estudio estadístico de los datos moleculares bajo la asistencia de programas informáticos disponibles o libres. Entre estos programas se aplicarán GenePop (Rousset, 2008) y CERVUS (Marshall et al. 1998) que permiten realizar distintas pruebas en el contexto de la genética de poblaciones, tanto para analizar parámetros genéticos básicos, como para estimar si las distribuciones genotípicas vienen determinadas por las frecuencias alélicas.

También, se realizará la estimación de los índices de diversidad genética parcial (fragmentos de secuencias obtenidas de excrementos) o global, usando las dos secuencias de las que dispone el ADN, ya que se pretende delimitar subpoblaciones en base la información genética individual, incluido la correspondiente a linajes. Además, esto permitirá disponer de conocimientos de la variabilidad genética mitocondrial explotable en términos de conservación de la especie. Ahora usando microsatélites y variabilidad genética mitocondrial, las determinaciones de los índices de diversidad y distancia genética intra-poblacionales e inter-poblacional, que son estimadores del grado de endogamia y grado relativo de aislamiento de las poblaciones, se van a poder obtener usando diversas funciones de correlación genética en programas como ARLEQUIN. Sin embargo, la mencionada asignación de individuos a poblaciones más probables en base a marcadores microsatélites se realizará usando el método de Evanno et al. (2005) a través de varias aplicaciones informáticas, principalmente STRUCTURE (Pritchard et al., 2002) y STRUCTURE HARVESTER (Earl, 2012).

Los estimadores de diversidad genética tradicionales a nivel individual (heterocigosidad) y poblacional (F_{st} , F_{it} y F_{is}) permiten establecer la estructura genética de cada población e





incluso valorar su grado de endogamia y flujo genético, pero con un enfoque indirecto muy global. Sin embargo, para propósitos relativos a la distribución espacial de las poblaciones, la información sobre variación genética se aplicará a la prospección de la distribución espacial de los individuos mediante análisis específicos, en particular las pruebas de asignación en base a la probabilidad de que un individuo pertenezca a un grupo o población y, con ello, evaluar la magnitud de la separación entre grupos usando las diferencias en probabilidades de asignación entre los mismos. Además, estas estimas de probabilidad de las diferencias genéticas de los individuos de una población se realizarán también usando el programa MM-DIST, pues tiene la consideración de ser útiles para planificar estudios que utilizan ADN no invasivo para identificar individuos (Kalinowsky et al, 2008). Por otro lado, la información geoespacial de los cursos fluviales y la localización de las muestras será analizada mediante el programa STREAMTREE SOFTWARE (Kalinowsky et al, 2008) ya que está diseñado específicamente para tratar de mapear las diferencias genéticas entre poblaciones de organismos de agua dulce en relación a las secciones de corrientes que los conectan, dotando de mayor rigor a los resultados. No se descartan realizar estos análisis con programas alternativos como ALLELE IN SPACE (Miller, 2005) que ha sido utilizado satisfactoriamente en estudios de correlación entre variables genéticas y del paisaje.

Sin embargo, la asignación probabilística de un individuo a población no especifica la posible relación de parentesco entre miembros de un tramo fluvial, grupo poblacional o cualquiera otro criterio con aceptable grado de objetividad con el que pretendamos agrupar individuos, esto es, no permite concretar las genealogías de forma más precisa. Por ello, la asignación de posibles relaciones de parentesco entre individuos y las posibles inferencias de genealogías (relaciones de hasta el segundo grado de consanguinidad), serán estimadas fundamentalmente mediante métodos probabilísticos usando ML-RELATED a escala de tramos fluviales y núcleo poblacional, exceptuando los casos en que la elevada endogamia no permita estas valoraciones, como ya se ha observado puntualmente en estudios previos. Ello no solo va a permitir deducir relaciones de parentesco sino además inferir escenarios de parentesco y filiación que serán representados en formatos gráficos de árboles genealógicos a modo de pedigrí, usando los valores de probabilidad de parentesco entre pares de individuos lo que sin dudas contribuirá a detectar el grado de dispersión y conectividad funcional (termino aplicado al contexto del análisis del flujo migratorio entre poblaciones que implique reproducción fuera del ámbito de nacimiento de un individuo) entre grupos de población. Además, los escenarios genealógicos serán de utilidad en la construcción de redes de parentesco que serán representadas sobre el mapa de la zona. Los pedigrís inferidos usando los resultados en ML-RELATED se dibujarán usando la aplicación informática PEDI-GRAPH u otro alternativo que surja durante el desarrollo del proyecto. Todos los programas





citados hasta ahora también son aplicables a la valoración de la capacidad de dispersión entre núcleos de población (áreas críticas descritas en el Plan de Recuperación del desmán en Extremadura) y posibilidades de expansión desde el rango de distribución actual conocido para la especie en Extremadura hacia otros tramos fluviales habitables para la especie (áreas favorables, según el Plan de Recuperación del desmán en Extremadura) en base a las información y estimas de abundancia relativa y tamaño efectivo de la población.

La investigación del estado sanitario del desmán ibérico (Ripa et al. pendiente de revisión y aceptación de los autores para su envío) se realizará usando técnicas basadas en diseños de ensayos qPCR (usada aquí por su mayor sensibilidad y especificidad) disponibles en el mercado en forma de kits. Las pruebas se realizarán usando un equipo StepOnePlusT-MReal-Time PCR (Applied Biosystems) perteneciente a nuestro equipo de investigación. Entre ellos, se pueden utilizar Kits de los parásitos *Cryptosporidium* spp., áscaridos (*Ascaris* spp.) y *Eimeria* spp. de los microorganismos *Salmonella* spp. y *Listeria* spp. entre otros. También se emplearán los procedimientos qPCR desarrollados en convenios previos para el estudio molecular de la presencia *Omphalometra* spp. (Fernández-García et al. 2021, Ripa et al. In prep) de la cual se ha desarrollado durante el año 2022 un protocolo, posiblemente universal para trematodos, basado PCR a tiempo final usando la secuencia del gen 18sDNA que abarca a más de 500 especies (incluido el parásito trematodo *Maritrema* spp; también posible parásito de los desmanes) de los órdenes Plagiorchiida y Opisthorchiida. Además, se incorporará las técnicas de NGS descrita en párrafos anteriores al ser más informativas sobre la microbiota, extendiendo así el análisis qPCR y se diseñará un protocolo que permita evaluar la alta frecuencias de muestras positivas a *Eimeria* spp., recientemente observado en la especie (Fernández-García et al. 2021). Por ello, este trabajo pretende ser pionero para evaluar el estado sanitario del desmán abarcando dos causas fundamentales en su estado de salud, parasitarias e infecciosas; máxime al tratarse de una especie en peligro de extinción en Extremadura y con grados elevados de endogamia.

En relación con el estudio de predación en lobo, se utilizarán excrementos identificados de la especie, y en caso contrario, se procederá a su identificación en nuestro laboratorio usando el gen IRBP o mediante NGS que asigna a cánidos. Alternativamente, se puede obtener una asignación más robusta usando secuenciación del D-loop y/o *Cyb* para obtener los SNP asignados a lobo. El análisis de la presa se realizará en dos etapas. Para animales domésticos, se usará secuenciación Sanger o fragmentos-RFLP del gen 12S y/o 16S rRNA, y para animales silvestres se utilizará la patente molecular desarrollada por nosotros para la identificación de cérvidos (Cód. de referencia: 201230824 N.º de solicitud: patente 201230824). Cuando sea necesario, se añadirá análisis NGS en el equipo de minisequenciación (iseq100, Illumina





corporation) para secuenciar librerías del gen 16SrRNA mitocondrial (paired-end) como ya se ha descrito.

3. Bibliografía.

Barbosa S, Paupério J, Herman JS, Ferreira CM, Pita R, Vale-Gonçalves HM, Cabral JA, Garrido-García JA, Soriguer RC, Beja P, Mira A, Alves PC, Searle JB. (2017). Endemic species may have complex histories: within-refugium phylogeography of an endangered Iberian vole. *Mol Ecol.*, 26(3):951-967.

Boyce M. S. Wolves for Yellowstone: dynamics in time and space. *J Mammal.* 2018, 99(5), pp. 1021–1031.

Earl, D.A. (2012) Structure Harvester A Website and Program for Visualizing Structure Output and Implementing the Evanno Method. *Conservation Genetics Resources*, 4, 359-361.

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620.

Fernández-García JL, Díaz Caballero JA, Palacios-González MJ (2015). Linajes mitocondriales de *Galemys pyrenaicus* presentes en el LIC "Sierra de Gredos y Valle del Jerte". XII congreso SECEM. Burgos. España.

Fernández-García, J. L., & Cedillo, M. D. P. V. (2017). Faecal DNA template as non-invasive tools in order to distinguish the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*, Eulipotyphla, Talpidae) from Mediterranean water shrews (*Neomys anomalus*, Soricomorpha, Soricidae). *Hystrix*, 28(1), 92.

Fernández-García, JL, Diaz-Caballero, JA, Palacios González, MJ, Zalba Bescos, J, Ripa Perez-Barrantes, A, Espinosa-Sánchez, A, Gómez-Martin, A. qPCR en el diagnóstico y en la vigilancia de la salud del desmán ibérico: estudio preliminar. SECEM (Sociedad Española Sociedad Española para la Conservación y Estudio de los Mamíferos) Córdoba de 4-7 de diciembre de 2021.

Ferretti F., Lovari S., Mancino V., Burrini L., & Rossa M. Food habits of wolves and selection of wild ungulates in a prey-rich Mediterranean coastal area. *Mamm Biol.* 2019, 10.1016/j.mambio.2019.10.008.

Gillet et al. (2014). PCR-RFLP identification of the endangered Pyrenean desman, *Galemys pyrenaicus* (Soricomorpha, Talpidae), based on faecal DNA. *Mammalia* 79(4); 473-477.





Igea J, Aymerich P, Fernández-González A, González-Esteban J, Gómez A, Alonso R, Gosálbez J, Castresana J (2013) Phylogeography and postglacial expansion of the endangered semi-aquatic mammal *Galemys pyrenaicus*. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 115

Kalinowski ST, MH Meeuwig, SR Narum, ML Taper (2008) Stream trees: a statistical method for mapping genetic differences between populations of freshwater organisms to the sections of streams that connect them. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* (65:2752-2760).

Marshall, TC, Slate, J, Kruuk, LEB & Pemberton, JM (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7: 639-655.

Miller, M.P. (2005) Alleles in space (AIS) Computer software for the joint analysis of inter-individual spatial and genetic information. *Journal of Heredity*, 96, 722- 724.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.

Torres R. T., & Fonseca C. Perspectives on the Iberian wolf in Portugal: population trends and conservation threats. *Biodivers Conserv.* 2016, 25(3), pp. 411-425.

Ripa et al. in prep. Non-invasive wildlife disease surveillance using commercial and new developed qPCR assays for major pathogens: the case of the endangered *Galemys pyrenaicus* populations from sistema central (Extremadura, Spain).

Ripple W. J., Estes J. A., Beschta R. L., Wilmers C. C., Ritchie E. G., Hebblewhite M., et al. (2014). Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science.*, 343(6167).

Rousset F. (2008) genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 8(1):103-6.

Salvador A., Abad P.L. Food habits of a wolf population (*Canis lupus*) in León province, Spain. *Mammalia.* 1987, 51, pp. 45-52.

Soto, M.A., Salame-Méndez, A., Ramírez, A., Ramírez-Pulido, J., Yañez, L. and Armella, M.A. (2004): "Valoración de hormonas esteroides en heces de una pareja de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio". *Acta Zoológica Mexicana* 20(2): 187-196.

Torres R. T., Silva N., Brotas G., & Fonseca C. To eat or not to eat? The diet of the endangered Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) in a human-dominated landscape in central Portugal. *PloS one*, 2015. 10(6), e0129379 10.1371/journal.pone.0129379.





Valdespino, C., Asa, C.S. and Bauman, J. (2002): "Estrous cycles, copulation and pregnancy in fennec fox (*Vulpes zerda*)". *Journal of Mammalogy* 83: 99-109.

Zlatanova D., Ahmed A., Valasseva A., & Genov P. Adaptive diet strategy of the wolf (*Canis lupus L.*) in Europe: a review. *Acta Zool Bulgar.* 2014, 66(4), pp. 439-452.

4. Detalle, Planificación y Costes de los Trabajos a Realizar.

DESCRIPCIÓN	IMPORTE (€)	CERTIFICACIÓN (€)		
		Parcial 2022	Parcial 2023	Final 2024

Estudio genético como herramienta de análisis de la biodiversidad local y conservación del lobo ibérico (*canis lupus signatus*) y tres especies de micromamíferos en Extremadura aplicado a la mejora de conocimiento previo del estado de la población del desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*), incorporando una primera aproximación a las poblaciones del topillo de cabrera (*Microtus cabrerae*) y del topillo nival (*Chionomys nivalis*)

Desglose económico:				
1. Recursos materiales: equipos y material inventariable	1.515,00	1.515,00	0,00	0,00
2. Recursos materiales: material fungible	38.635,00	10.985,00	18.850,00	8.800,00
3. Servicios: mantenimiento/repación de equipos/instalaciones	3.000,00	3.000,00	0,00	0,00
4. Recursos humanos	42.000,00	7.000,00	21.000,00	14.000,00
5. Viajes y dietas	6.850,00	1.500,00	3.150,00	2.200,00
TOTAL	92.000,00	24.000,00	43.000,00	25.000,00





5. Contenido del estudio genético a elaborar en el marco del presente convenio.

El contenido del Estudio establecido en la cláusula 4 del Convenio, y que servirá como base para la elaboración de las memorias parciales y finales, será el siguiente:

ESTUDIO GENÉTICO COMO HERRAMIENTA DE ANÁLISIS DE LA BIODIVERSIDAD LOCAL Y CONSERVACIÓN DEL LOBO IBÉRICO (*Canis lupus signatus*) Y TRES ESPECIES DE MICROMAMÍFEROS EN EXTREMADURA APLICADO A LA MEJORA DE CONOCIMIENTO PREVIO DEL ESTADO DE LA POBLACIÓN DEL DESMÁN IBÉRICO (*Galemys pyrenaicus*), INCORPORANDO UNA PRIMERA APROXIMACIÓN A LAS POBLACIONES DEL TOPILLO DE CABRERA (*Microtus cabrerae*) Y DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*).

ÍNDICE

1. Evaluación y seguimiento de la toma de muestras por parte de la Junta de Extremadura.
2. Confirmación, mediante técnicas moleculares (test PCR) de las muestras procedentes de la especie *Galemys pyrenaicus*, *Microtus cabrerae*, *Chionomys nivalis* y musgaño de Cabrera (*Neomys anomalus*).
3. Identificación individual y sexado de las muestras positivas a *G. pyrenaicus*.
4. Delimitación de unidades evolutivas (linajes genéticos) y adscripción de cada individuo a las mismas mediante comparación con muestras de desmán ibérico en toda su área de distribución en Extremadura de acuerdo con los resultados de trabajos previos.
5. Determinación del grado de endogamia de los genotipos individuales y grado relativo de aislamiento entre poblaciones conocidos.
6. Estimación de parámetros de variabilidad genética a nivel individual (heterocigosidad) y de los núcleos de población conocidos.
7. Determinación de relaciones de parentesco entre los distintos individuos, de acuerdo a las muestras genotipadas, y su aplicación al análisis de grado de dispersión, conectividad entre núcleos de población y establecimiento de redes de parentesco.
8. Valoración de la conexión entre núcleos de población y su posible expansión desde el rango actual de la especie en Extremadura a otros tramos fluviales adecuados combinando información de marcadores moleculares nucleares (microsatélites) y mitocondriales.



**JUNTA DE EXTREMADURA**

Consejería para la Transición Ecológica y Sostenibilidad



9. Investigación del estado sanitario del desmán mediante análisis molecular usando diseños de qPCR (PCR en tiempo real o cuantitativa) de un panel de parásitos y microorganismos potencialmente patógenos para vertebrados, de acuerdo con estudios previos.
10. Cuantificación de hormonas esteroides e indicadoras de estrés en muestras fecales de desmán.
11. Análisis genético de la identificación de predación en el lobo (*Canis lupus signatus*) y sobre el desmán, mediante análisis molecular de excrementos.
12. Valoración del estado de conservación y densidades relativas en los núcleos de población de la especie en Extremadura.



UNIÓN EUROPEA

FONDO EUROPEO AGRÍCOLA DE DESARROLLO RURAL:
Europa invierte en las zonas rurales