



ANEXO III

LA TOMA DE MUESTRAS

Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra dependerá del objetivo que se persiga, y en el caso de tratarse de una explotación, a su vez, dependerá del tipo y objetivos de la explotación.

Para el cálculo el tamaño de la muestra se considera que el método de análisis es infalible, es decir, siempre que exista una muestra híbrida será detectada como tal.

Dos situaciones:

1) En el caso de explotaciones que sólo se dedican a la cría, es decir, adquieren perdigones, o en el caso de sociedades de cazadores, o entidades públicas que adquieren animales para cría, repoblación, "refuerzo", etc., el interés será garantizar que el proveedor les proporciona un producto de calidad. La forma de muestrear en este caso tendrá como objetivo la detección, con una cierta probabilidad, de un determinado nivel de perdices híbridas. Por ejemplo, se desea saber si entre los ejemplares que se adquieren, el porcentaje de híbridos no supera el 5%, y se desea que esa detección se realice con una potencia o probabilidad del 95%. Si nos fijamos en la tabla que se adjunta, el número de animales que se debería de muestrear es de 58. De forma práctica, cifras de animales muestreados entre 30 y 60 podrían cubrir un amplio abanico de necesidades. Este tamaño de muestra serviría tanto para aceptar como buena la situación en el supuesto de que no se encontrara ninguna muestra híbrida, o también para considerar como no adecuada la situación al haber sido detectada alguna muestra híbrida, es decir, se sospecha de un nivel de hibridación (porcentaje de perdices híbridas) superior al umbral aceptado.

Potencia de detección	Porcentaje de híbridos a detectar	
	0,05	0,1
0,90	45	22
0,95	58	28
0,99	90	44

$$n > \ln(1 - \text{potencia}) / \ln(1 - \text{frecuencia híbridos})$$



2) Explotaciones de ciclo completo. En este caso suponemos que el interés es ir garantizando, de forma paulatina, la calidad de los reproductores. En una primera fase, para conocer la situación en la que se encuentra, podrá tomar una muestra, siempre entre los reproductores más jóvenes, cuyo número no es posible de indicar a priori ya que depende de varios factores, entre ellos de la frecuencia de híbridos que pueda tener en la explotación (ver tablas).

d=0,05		Porcentaje de hibridación									
		0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5
Número de reproductores	500	64	109	141	165	183	196	206	212	216	217
	1000	68	122	164	198	224	244	259	270	276	278
	2000	70	129	179	219	252	278	298	312	320	322
	5000	72	135	189	234	272	303	327	344	354	357
	10000	72	136	192	240	280	313	338	356	366	370

d=0,10		Porcentaje de hibridación									
		0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5
Número de reproductores	500	18	32	45	55	63	70	75	78	80	81
	1000	18	33	47	58	67	75	80	84	87	88
	2000	18	34	48	60	70	78	84	88	91	92
	5000	18	34	49	61	71	79	86	91	93	94
	10000	18	34	49	61	72	80	87	91	94	95

Los valores que aparecen en las tablas se calculan mediante la expresión:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

en la que: **N** es el número de reproductores; **Z_α** es el valor de de la distribución normal que deja a su derecha una proporción **α** de la distribución; **p** es el porcentaje de hibridación; **q** es el porcentaje de no híbridos (1-p); **d** es la diferencia entre el porcentaje de hibridación verdadero y el estimado.

Como resumen, un tamaño de muestra entre 100 y 250 podría contemplar una amplia gama de situaciones.

Este análisis permitiría conocer la situación en la que se encuentran y tomar decisiones en consecuencia.

Finalmente, en este mismo supuesto se pueden incluir gestores de cotos o administraciones interesadas en conocer la situación de la perdiz en su territorio.

Toma de las muestras

Sangre (preferentemente): En la vena braquial o en la femoral, y se puede realizar o bien una punción con una aguja y recoger la sangre con un capilar o bien mediante jeringa. Añadir la sangre extraída del animal (0,5 cc) en los viales que homologue el Consorcio. Cerrar el vial y mezclar invirtiendo el vial



cuidadosamente dos o tres veces. Identificar el tubo y remitirlo por correo ordinario o por mensajería sin olvidar adjuntar la hoja de datos.

Pluma: Arrancar al menos 5 plumas (en la zona ventral o dorsal), preferentemente en crecimiento y remitirlas introducidas en un sobre de papel.

Hígado, lengua o embrión: A veces se dispone de este tipo de material después de determinadas actividades cinegéticas, o en explotaciones de ciclo completo. En estos casos, se cortan fragmentos pequeños y finos, y se introducen en los viales homologados por el Consorcio, de tal manera que queden bien bañados por el líquido conservante.

Aquellos viales que contengan conservante de ADN apto para trabajar a temperatura ambiente, se podrán almacenar y enviar a temperatura ambiente bien cerrados e identificados. La remisión de muestras en este tipo de viales se podrá hacer por correo ordinario a temperatura ambiente. No existe riesgo de degradación de la muestra siempre que esta esté bien bañada por el conservante de ADN. Para almacenamientos más largos (meses o años) se recomienda mantener los tubos refrigerados (5-8°C).

Muestras custodiadas

Respecto al envío de muestras "custodiadas", las situaciones que se pueden dar son muy diversas, y siempre debe quedar claro cual es el objetivo que se persigue para los resultados de los análisis que se solicitan (gestión de explotación, comprobación de situación, proceso judicial, etc).

Como norma general, los resultados de los análisis se enviarán al pagador de los mismos. En casos en los que sea la administración quien los solicite, y aunque sean remitidos y abonados por el propio particular, el resultado de los análisis se enviará tanto al particular como a la administración.

El procedimiento de custodia deberá ser establecido por quien tiene autoridad para ello, de la misma forma que las consecuencias, jurídicas o administrativas, de los resultados de los análisis podrán ser impuestas por quien detenta la autoridad para ello. En el caso de las administraciones, y cuando del resultado de los análisis se pueda iniciar algún tipo de procedimiento que conlleve acción sancionadora, se deberá tener especial cuidado tomando muestras por triplicado, de tal forma que quedará una muestra convenientemente lacrada en poder del propietario, importador, transportista, etc., junto con la muestra que quedaría en poder de la administración, siendo la tercera la que se envía a FEDENCA para su análisis.

Consorcio Perdiz Roja FEDENCA-Laboratorios de Genética