



## **ANEXO III.2 (EXPLORACIÓN CINEGÉTICA-PROTOCOLO)**

### **OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS VÁLIDAS EN LOS ANÁLISIS GENÉTICOS REALIZADOS PARA LA EMISIÓN DE CERTIFICACIONES DEL CONSORCIO *PERDIZ ROJA* FEDENCA – LABORATORIOS DE GENÉTICA**

Las muestras biológicas a analizar deberán ser obtenidas por un técnico competente, (designado por la Administración afecta o por el Consorcio), que emitirá un certificado estandarizado explicando las características de los animales, las de las muestras y la forma de recogida de éstas. El técnico debe ser totalmente ajeno e independiente a la entidad propietaria o gestora de la procedencia de las muestras (granja, coto, etc.). La trazabilidad de las muestras y su custodia serán garantizadas por la Administración o entidad competente, hasta su recepción en FEDENCA.

El técnico encargado de la selección de ejemplares y de la obtención de muestras biológicas, deberá estar acreditado como personal investigador o experimentador en la utilización de animales de experimentación y para otras finalidades científicas con la normativa vigente (REAL DECRETO 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos).

En el caso de tratarse de un técnico de la Administración deberá indicar y acreditar:

- la unidad de adscripción
- el número de funcionario

En el caso de tratarse de un técnico independiente, ajeno a la Administración, deberá indicar y acreditar:

- la titulación académica
- el número de colegiado

En cualquier caso, el técnico deberá indicar y acreditar:

- los años de experiencia en el manejo, experimentación o investigación con animales
- el nombre y apellidos
- el DNI
- el teléfono
- el correo electrónico
- la categoría profesional (según Anexo I del REAL DECRETO 1201/2005).

El técnico tiene que ser totalmente ajeno e independiente a la entidad propietaria o gestora de la procedencia de las muestras.



Para ello, deberá presentar una declaración firmada en la que se asegure que no existe ningún tipo de vinculación personal ni profesional con dicha entidad.

El incumplimiento de dicha declaración será causa de la anulación de validez de todos los protocolos de obtención de muestras llevados a cabo por ese técnico, y de todas las certificaciones de análisis genéticos de los lotes de muestras implicados.

Durante el proceso de la selección de los ejemplares a analizar, y la obtención de muestras biológicas de éstos, el técnico estará acompañado por un representante de la entidad. Dicho representante, deberá indicar:

- el cargo que ocupa y la misión que desempeña en la entidad a la que representa
- el DNI
- el nombre y apellidos
- el teléfono
- el correo electrónico
- la dirección postal

El técnico tendrá que adjuntar fotocopia de toda la documentación pertinente que justifique legalmente las acreditaciones y autorizaciones.

El técnico encargado de la selección de ejemplares y de la obtención de muestras biológicas de los mismos, deberá emplear el modelo estandarizado por FEDENCA (adjunto en el ANEJO III.2.1) para describir detalladamente:

1. La procedencia de los huevos o ejemplares a analizar.
2. El número de individuos (huevos o ejemplares) necesarios para la obtención de una muestra representativa de la población a analizar.
3. El registro de las muestras biológicas obtenidas y de las condiciones de extracción.
4. El registro de las características individuales de los huevos o ejemplares a analizar.

El técnico completará obligatoriamente los apartados 1, 2, 3 y 4 del modelo estandarizado (ANEJO III.2.1), siendo el apartado 4.1 opcional.

### **1. La procedencia de los huevos o ejemplares a analizar**

En primer lugar deberá especificarse el tipo de granja de donde proceden los huevos o ejemplares que van a ser analizados. Deberá indicarse:

- el tipo de explotación cinegética (descripción precisa)
- el nombre y apellidos del titular de la entidad
- el DNI del titular



- el nombre de la entidad titular
- el CIF de la entidad titular
- la dirección postal del titular
- el número de registro de la explotación cinegética
- la/s localidad/es, municipio/s y provincia/s donde están ubicada la explotación registrada (en caso de incluir varios municipios, deberá detallarse la ocupación en cada uno de ellos).

Se considera granja o explotación cinegética toda explotación industrial cuya finalidad sea la producción de piezas de caza para su reintroducción en el medio natural o su comercialización, vivas o muertas, independientemente de que en la misma se desarrolle completamente su ciclo biológico o sólo alguna de sus fases.

En el caso de que la entidad de origen sea una **granja cinegética**, deberá describirse el tipo y las características de ésta. En primer lugar deberá indicarse si se trata de una explotación de ciclo cerrado o abierto.

En el caso de tratarse de una explotación de ciclo cerrado, deberá indicarse:

- el número exacto de reproductores: número de machos y número de hembras
- el número de máquinas incubadoras y la capacidad máxima total de incubación anual

En el caso de tratarse de una explotación de ciclo abierto deberá indicarse:

- si se adquieren huevos de una o varias explotaciones distintas para ser incubados
- el número de huevos adquiridos de cada explotación de procedencia
- los datos de la/s explotaciones de procedencia de los huevos adquiridos:
  - el tipo de explotación/es
  - el nombre del titular/es de la explotación/es
  - el número de registro de la explotación/es
  - la localidad/es, municipio/s y provincia/s de ubicación de la/s explotación/es
  - la calificación sanitaria de la explotación/es
- el número de máquinas incubadoras
- la capacidad máxima total de incubación anual
- si se adquieren ejemplares de una o varias explotaciones distintas para ser engordados
- el número y edad (especificar en días o meses, según convenga) de los ejemplares adquiridos para engorde, de cada explotación de procedencia.
- los datos de la/s explotaciones de procedencia de los ejemplares adquiridos:
  - el tipo de explotación/es



- el nombre del titular de la explotación/es
- el número de registro de las explotación/es
- la localidad/es, municipio/s y provincia/s de ubicación de la/s explotación/es
- la calificación sanitaria de la explotación/es

En cualquier caso (explotaciones de ciclo cerrado y abierto) deberán detallarse las características de los parques de cría y la producción anual de la explotación:

- el tipo de parques de cría: naves, edificios cerrados o parques abiertos
- el número de parques de cada tipo
- las dimensiones (largo x ancho x alto) de los parques de cada tipo
- la concentración de ejemplares (animales por m<sup>2</sup>) en los parques de cada tipo
- la concentración de ejemplares (animales por m<sup>2</sup>) del total de parques
- la producción anual de la explotación

Para aquellas granjas cinegéticas que no se ajusten a los parámetros anteriormente descritos, deberán especificarse las características y particularidades de dicha explotación.

## **2. El número de individuos necesarios para la obtención de una muestra representativa de la población a analizar**

El técnico determinará el número de muestras necesarias en función del tamaño y tipo de población de origen.

En las granjas cinegéticas, tanto las de ciclo cerrado como las abiertas, deberá obtenerse un número representativo de muestras de todas y cada una de las diferentes líneas de origen de los reproductores, huevos, pollos de engorde y juveniles en parques.

Los **tamaños orientativos** de muestra que se proporcionan en este documento se entiende que son para cada una de las poblaciones de referencia o unidades de muestreo (diferentes líneas de origen). El personal responsable en cada actuación, decidirá el número de unidades de muestreo.

En el caso de que el objeto de la actuación sea **comprobar la ausencia de hibridación** en la población de referencia se recomienda que el tamaño de muestra sea tal que se pueda garantizar que un resultado negativo implique que el porcentaje de perdices híbridas es inferior al 5 % con unas probabilidades del 95 o del 99 %. En el primer caso se requiere la toma aleatoria de **58 muestras** de perdices, mientras que en el segundo se requieren **90 muestras**. Se debe



entender que estos tamaños de muestra son independientes del número de perdices de la población (siempre que la muestra se tome al azar, que la distribución de los animales sea uniforme y que la población sea cerrada) de la que se desea la comprobación de ausencia de hibridación. Por otra parte, estos tamaños de muestra se consideran para cada unidad de muestreo<sup>1</sup> que el técnico considere que constituyen una línea genética distinta, debiendo multiplicarse por 2, 3, ..., n, en caso de tratarse de 2, 3, ..., n líneas distintas.

En caso de que el personal responsable del muestreo no disponga de la documentación técnica que le permita determinar el número de unidades de muestreo, se muestreará el 10% de los ejemplares de cada estrato: reproductores, huevos, pollos y juveniles en parques.

En el supuesto de que el interés de la actuación fuera conocer la situación de la explotación, esto es, **conocer el porcentaje medio de perdices híbridas**, en la que se encuentra la población objeto de inspección o estudio, el tamaño de la muestra depende de varios factores cuyo valores *a priori* no son conocidos, por lo que una recomendación que contempla una amplia gama de situaciones es la de tomar entre **100 y 250 muestras al azar** de la población de referencia o unidad de muestreo (siempre que la muestra se tome al azar, que la distribución de los animales sea uniforme y que la población sea cerrada). Bien entendido que tendrá que ser el técnico quien, a la vista de las características de la explotación, tome la decisión sobre cuantas unidades de muestreo o poblaciones de referencia considera que pueden definirse en dicha explotación. Por ejemplo, el técnico puede tener elementos suficientes para considerar que los huevos que se incuban en la explotación no provienen de reproductores de dicha explotación y considerarlos, por lo tanto, como una población diferente al resto de individuos de la explotación que deberá ser sometida a la toma de 100 o 250 muestras como se indica anteriormente.

En caso de que el personal responsable del muestreo no disponga de la documentación técnica que le permita determinar el número de unidades de muestreo, se muestreará el 10% de los ejemplares de cada estrato: reproductores, huevos, pollos y juveniles en parques.

Finalmente, si los responsables del muestreo advirtieran de la existencia de algún tipo de estratificación en las unidades de muestreo deberán intentar repartir las muestras a tomar de forma proporcional a la importancia de cada estrato. Así, por ejemplo, si a la hora de diseñar un muestreo los responsables observan que en unidad de muestreo hay un 80% de perdices adultas y un 20% de pollos, deberán intentar mantener proporciones parecidas en el muestreo que

<sup>1</sup> Se debe entender por unidad de muestreo el conjunto de reproductores, huevos, pollos, o juveniles de los que se tienen evidencias técnicas de un origen o composición genética homogéneos.



realicen en dicha unidad. En caso de que el personal responsable del muestreo no disponga de la documentación técnica que le permita determinar el número de unidades de muestreo, se muestreará el 10% de los ejemplares transportados de cada estrato.

En aquellas explotaciones en las que se disponga de análisis previos realizados con el método homologado y el protocolo exigido para la certificación, y además se pueda garantizar la trazabilidad de los ejemplares o huevos adquiridos, el técnico podrá ajustar el muestreo atendiendo a la situación particular de cada explotación.

En cualquier caso, los informes o certificados harán referencia única y exclusivamente a la granja muestreada. Los muestreos realizados en una granja, así como los resultados que se desprendan de los análisis genéticos, no podrán ser extrapolados al resto de granjas que la persona o entidad titular tenga en otras ubicaciones geográficas.

### **3. El registro de las muestras biológicas obtenidas y de sus condiciones de extracción**

Todas las muestras biológicas obtenidas, deberán etiquetarse con el código individual de identificación asignado por el técnico a los huevos o ejemplares seleccionados.

El técnico empleará etiquetas autoadhesivas, cubiertas por cinta adhesiva transparente para evitar cualquier posible problema de borrado, que pudiera dificultar su identificación. En caso de emplearse códigos alfanuméricos, éstos se escribirán con letras mayúsculas, y el tamaño de letras y números será igual o superior a 10 puntos.

Para los análisis genéticos el técnico procederá a la extracción de cualquiera de las siguientes muestras biológicas:

- sangre: la sangre extraída del animal (0,5 cc) se introducirá en los viales homologados por el Consorcio.
- pluma: se arrancarán al menos 5 plumas (en la zona ventral o dorsal), preferentemente en crecimiento y se introducirán en un sobre de papel.
- hígado, lengua, músculo (u otro tipo de tejido), o embrión: se cortarán fragmentos pequeños y finos, y se introducirán 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 ésta esté bien bañada por el conservante de ADN. Para almacenamientos más largos (meses o años) se recomienda mantener los tubos refrigerados (5-8°C).

En aquellos casos que sea requerido, el técnico también extraerá las muestras biológicas necesarias para los análisis sanitarios y poblacionales:

- para los análisis sanitarios, el técnico procederá a la obtención de heces de los ejemplares, que serán recogidas en condiciones de asepsia e introducidas en un bote estéril.
- para los análisis poblacionales, el técnico procederá a la obtención de un ala, que se introducirá en un sobre específico.

#### **4. El registro de las características individuales de los huevos o ejemplares a analizar**

El técnico asignará un código individual de identificación a cada uno de los huevos o ejemplares a analizar, que es el que constará en la etiqueta de identificación de todas las muestras biológicas que se extraigan de dicho huevo o ejemplar.

El técnico registrará la identificación y la condición del animal:

- número de pareja o jaula
- número de anilla o similar
- sexo, edad (huevo, pollo, joven, adulto) y estatus (reproductor o producto)

Cuando se desee que el análisis genético esté acompañado de datos biométricos, es conveniente que el técnico registre las siguientes variables:

- en ejemplares:
  - peso (en gramos)
  - longitud corporal (en mm)
  - envergadura alar (en mm)
  - diámetro del pecho (en mm)
  - diámetro del tibiotarso (en mm)
  - anchura del tibiotarso (en mm)
  - longitud el tibiotarso (en mm)
- en huevos
  - peso (en gramos)
  - longitud máxima (en mm)
  - anchura máxima (en mm)



- tipo de coloración: describiendo el fondo y el moteado

En estos casos, el técnico también realizará un registro fotográfico de los ejemplares y huevos analizados:

- a cada ejemplar se le realizarán al menos tres fotografías:
  - lateral de la cabeza
  - ventral de cuerpo entero (con el animal en decúbito supino)
  - dorsal de cuerpo antero (con el animal en decúbito pron)
- a cada huevo se le realizará al menos 1 fotografía que permita evaluar la coloración descrita.

Las fotografías se nombrarán con el código individual de identificación, y en el caso de los ejemplares, dicho código irá seguido de la posición (\_lateral, \_ventral, \_dorsal, \_otra).

Consorcio *Perdiz Roja* FEDENCA-Laboratorios de Genética