

# Protocolo no letal para la obtención de muestras de tejido (para estudios genéticos) en la lapa amenazada *Patella ferruginea* (Mollusca, Patellidae)

Javier Guallart<sup>a</sup>, Iván Acevedo<sup>a</sup>, Marta Calvo<sup>a</sup> Annie Machordom<sup>a</sup>

La lapa ferruginosa (*Patella ferruginea*) es una de las especies de invertebrados más amenazadas del mar Mediterráneo, incluida en el Catálogo Español de Especies Amenazadas como “en peligro de extinción”. La Estrategia para la conservación de esta especie en España incluye entre las directrices de conservación la caracterización genética y el estudio del flujo genético entre las distintas poblaciones existentes en la actualidad. Este tipo de trabajos reviste una gran importancia para la especie, no solo como un conocimiento científico básico, sino como una herramienta para la toma de decisiones dirigidas a su conservación. Determinar el grado de conectividad o aislamiento genético entre las poblaciones de diferentes enclaves resulta fundamental para decidir el origen de los ejemplares utilizados en vistas a una eventual repoblación o reintroducción de la especie. Por otra parte, tras llevar a cabo éstas intervenciones, a medio plazo resultaría de gran interés evaluar la suficiencia reproductiva de cada una de estas poblaciones o la existencia de un aporte o flujo de larvas de su entorno, aspectos que pueden evaluarse mediante técnicas moleculares.

La realización de este tipo de estudios genéticos en general requiere la obtención de una muestra de tejido en un determinado número de ejemplares en una serie de poblaciones. En otras especies de invertebrados generalmente la toma de muestras supone la captura y sacrificio de los ejemplares. Sin embargo este planteamiento resulta totalmente desaconsejable en una especie gravemente amenazada.

Se plantea aquí un protocolo de trabajo que tiene como objetivo obtener muestras de tejido en *Patella ferruginea* de volumen suficiente para realizar estudios genéticos pero que suponga una mortalidad mínima para los ejemplares. Se ha ensayado esta metodología en las islas Chafarinas, donde se localiza una población natural que, por su abundancia y renovación regular mediante el reclutamiento anual, posibilita llevar a cabo este tipo de experiencias.

El protocolo de trabajo que se plantea incide en dos aspectos: método para la captura y devolución de los ejemplares al medio

natural y zona donde realizar la extracción de tejido. Este protocolo puede resumirse en los siguientes puntos:

1. La captura de los ejemplares de ejemplares debe realizarse siempre cuando éstos están desplazándose fuera de su “huella” (*home-scar*). Esto tiene lugar preferentemente cuando los ejemplares son batidos por el oleaje y con marea alta (Guallart y Acevedo, 2006)

2. Se debe tener particular cuidado en no dañar el pie al separarlos: si están desplazándose sobre una grieta, en ocasiones es posible capturarlos con la mano; en la mayor parte de ocasiones, se debe utilizar un cuchillo de punta roma, haciendo palanca suave y ejerciendo presión con la punta al avanzar sobre el sustrato, nunca sobre el lateral del pie del ejemplar.

3. Se debe registrar la posición y orientación en el sustrato al ejemplar en el momento de la captura, para ser devuelto después exactamente en su ubicación original.

4. La obtención de la muestra de tejido debe tomarse del borde del manto del ejemplar, realizando un corte limpio mediante un bisturí. En general resulta suficiente extraer una muestra de menos de 10 mm<sup>3</sup> o de 10 mg. Algunos autores han llevado a cabo la obtención de este tipo de muestras en *P. ferruginea* no en el manto sino directamente en la masa muscular del pie (e.g. Casu *et al.*, 2012). Sin embargo no hemos considerado aconsejable este procedimiento, pues la herida causada en el pie puede dificultar la adherencia posterior al sustrato de los ejemplares y, en definitiva, comprometer su supervivencia.

5. El proceso de la manipulación debe ser rápido: desde la separación del sustrato hasta su devolución debe transcurrir el menor tiempo posible, en lo posible menos de 5 minutos.

En noviembre de 2010 se obtuvo muestras de tejido siguiendo este procedimiento en 28 ejemplares de *P. ferruginea*, de un rango de talla entre 41,0 y 89,2 mm DM (diámetro máximo de la concha) y promedio ( $\pm$  desviación estándar) de  $67,2 \pm 13,6$  mm DM. Con el fin de realizar un seguimiento de su supervivencia y en el marco de otros trabajos experimentales se llevó a cabo un marcaje de los ejemplares, adhiriendo sobre la concha piezas de plástico de colores, numeradas, mediante el uso de un adhesivo plástico de secado rápido de cianocrilato. En junio de 2011, unos 8 meses más tarde, se pudieron localizar en el litoral 26 de estos ejemplares. Esto supone una supervivencia del 92,9% de los ejemplares a los que se aplicó esta técnica. Ésta pudiera ser incluso superior si se considera que los 2 ejemplares que no se hallaron pudieran haber desaparecido por causas naturales (e.g. depredadores) o haber perdido la marca a la vez que haber cambiado la huella, lo cual habría imposibilitado su identificación.

<sup>a</sup> Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC) ([javier.guallart@uv.es](mailto:javier.guallart@uv.es), [iacevedo@mncn.csic.es](mailto:iacevedo@mncn.csic.es), [mcalvo@mncn.csic.es](mailto:mcalvo@mncn.csic.es), [annie@mncn.csic.es](mailto:annie@mncn.csic.es))

Se plantea por lo tanto que el protocolo aquí expuesto sea considerado el más recomendable para la obtención de muestras de tejido, para su uso en estudios genéticos o con otros fines, en ejemplares de esta especie protegida.

## Referencias

- Casu, M., G. A. Rivera-Ingraham, P. Cossu, T. Lai, D. Sanna, G.L. Dedola, R. Sussarellu, G. Sella, B. Cristo, M. Curini-Galletti, J.C. García-Gómez y F. Espinosa, 2012. Patterns of spatial genetic structuring in the endangered limpet *Patella ferruginea*: implications for the conservation of a Mediterranean endemic. *Genetica*, 139, 1293–1308.
- Guallart, J. e I. Acevedo, 2006. Observaciones sobre la biología de la lapa *Patella ferruginea* (Mollusca, Patellidae) en las Islas Chafarinas. En: *Libro de Resúmenes XIV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina, Barcelona*.



19(6)

XVII Iberian Symposium on  
Marine Biology Studies  
(SIEBM)

11<sup>th</sup>-14<sup>th</sup> September, 2012.  
Donostia-San Sebastián (Spain)



Ángel Borja  
(Editor)