

Confirmación de la depredación de nutria paleártica *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) sobre desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) mediante el empleo de técnicas moleculares

Jorge Fernández-López^{1*}, Ángel Fernández-González² & Diego Fernández-Menéndez²

1. C/ Nicolás Soria 21/23 5º C, 33012 Oviedo, Asturias, España

2. BIOSFERA Consultoría Medioambiental, C/ Candamo 5, 33012 Oviedo, Asturias, España

*Autor para correspondencia: jorgefl.jfl@gmail.com

El desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) es un pequeño mamífero semiacuático endémico de la Península Ibérica. Actualmente está catalogado por la UICN como Vulnerable (VU A2ac+3c+4ac) (Fernandes *et al.* 2008) y se encuentra recogido en el listado de especies silvestres en régimen de interés especial y en el catálogo español de especies amenazadas (Real Decreto 139/2011) como especie Vulnerable (VU A4c) (Nores 2007) en todo el territorio español, y en Peligro de Extinción en el Sistema Central. Su área de distribución histórica se extiende por toda la Península Ibérica pero recientemente ha quedado limitada a los macizos montañosos del norte de la península y el Sistema Central, y está en una constante reducción (Nores *et al.* 1992, 2007).

El desmán tiene un gran número de depredadores generalistas, siendo la nutria paleártica *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) uno de los más frecuentes (Nores 2012) estando catalogada como especie de interés especial en el RD 139/2011 (Ruiz-Olmo *et al.* 2007). La nutria se alimenta básicamente de peces, anfibios, culebras de agua, invertebrados y pequeños mamíferos, entre los que está incluido el desmán ibérico (Callejo *et al.* 1979, García *et al.* 2009). La técnica tradicional más utilizada para estudiar la interacción entre depredador y presa consiste en el análisis morfológico del contenido de los excrementos de los primeros, buscando básicamente semillas, pelos y huesos, que permitan determinar la especie presa. Actualmente, los avances que se han ido produciendo en el campo de la genética molecular, han permitido desarrollar nuevas técnicas para determinar a qué especie o especies corresponden los restos contenidos en un excremento (Symondson 2002, Deagle *et al.*

2005). En este trabajo, se utilizaron conjuntamente técnicas moleculares y técnicas de identificación morfológica, para constatar la depredación de la nutria sobre el desmán ibérico, dos especies que comparten el hábitat.

En este estudio se analizaron 32 muestras de excrementos recogidas en la cuenca del río Ulla (Galicia), mediante técnicas tradicionales de identificación morfológica y mediante técnicas moleculares más modernas. Por un lado, se analizaron los pelos de las muestras encontradas buscando los que presentaban características semejantes a los de desmán, [punta ensanchada en forma de lanza y sin estructura medular definida, y médula escaliforme en el resto del pelo (Fig. 1) (Poduschka & Richard 1985)]. Además, se efectuó una búsqueda de restos mandibulares (Fig. 2A) en las muestras que habían dado positivas para pelos de desmán, realizándose un análisis comparativo de estos restos con mandíbulas modelo de un ejemplar de colección (Fig. 2B). Al no tratarse de una hemimandíbula completa no pudieron llevarse a cabo todas las comprobaciones morfológicas (dentarias y métricas). Aún así, la fórmula dentaria coincide (3-1-4-3) con la de la especie, aunque falta la porción que soporta los incisivos. Por otro lado, la longitud de la serie dentaria es de 13,5 mm, valor dentro de la longitud dentaria habitual de la especie (14,8-17,8 mm) (Nores 2012). Si tenemos en cuenta que falta la porción anterior donde se alojan los incisivos, la mandíbula podría alcanzar los 15,0 mm de longitud. Al superponerse las fotografías de las figuras 1 y 2 se aprecian bastantes similitudes entre ambas hemimandíbulas.

Por otro lado, se realizó la extracción de ADN a partir del pelo y hueso mandibular contenido en las

Figura 1. A) Fotografía de pelo característico de desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* contenido en un excremento de nutria paleártica *Lutra lutra*. Se aprecia la punta ensanchada y aplanada en forma de punta de lanza y sin estructura medular definida; y la médula escaleriforme del resto del pelo. B) Fotografía en detalle de la zona apical del pelo. C) Fotografía en detalle de la zona medular del pelo. Se puede ver la médula escaleriforme con las células medulares apiladas horizontalmente. Las fotografías fueron tomadas con una cámara réflex (Canon EOS 450D) acoplada a un microscopio óptico (modelo XSZ-139) a 12,8 (A) y 32 X (B) y (C) respectivamente.

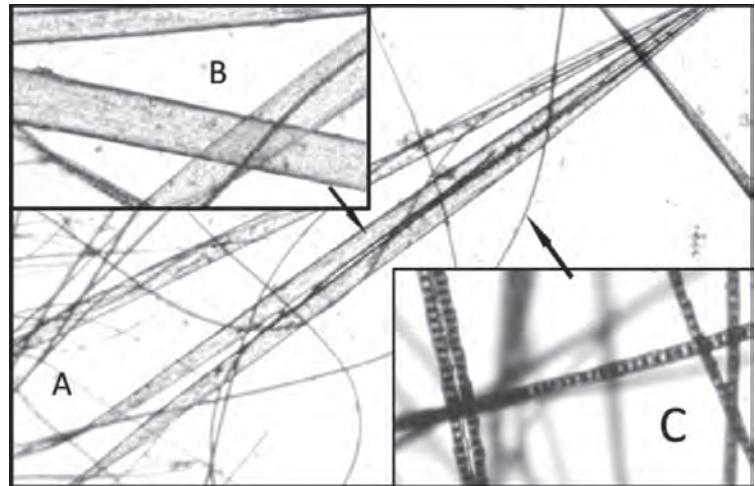


Figura 2. A) Fotografía escalada en milímetros de la mandíbula de un ejemplar de desmán ibérico encontrado en las muestras de excremento de nutria. La fotografía fue tomada con una cámara réflex (Canon EOS 450D) acoplada a una lupa estereoscópica trinocular (modelo XTL-VI) a 2,24 X. B) Fotografía escalada en milímetros de la hemimandíbula derecha de un ejemplar de desmán ibérico (Museo de Zoología, Universidad de Michigan).

muestras de heces, mediante el uso del kit comercial de DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN). El pelo se tomó de las heces y el ADN se extrajo mediante un protocolo detallado por el fabricante

para extracciones a partir de excrementos (Igea *et al.* 2013) al igual que en la extracción a partir de la hemimandíbula, aunque en este caso se realizó una homogenización previa con nitrógeno líquido para facilitar la extracción. El ADN extraído fue amplificado por PCR mediante la utilización de cebadores específicos para desmán, descritos por Igea *et al.* (2013). En nuestro caso se utilizaron dos cebadores, ambos para el citocromo b, el PD2, FW (22pb) y RV (24pb), cuya secuencia es 5' TCT TAC CAT GGG GTC AAA TAT C 3' y 5' AGA TAA TTA GAA TGA GGA TTA GTG 3' respectivamente, y el PD3 (23pb), cuya secuencia es (FW) 5' GGA TTA TCA TCC GAC ACT GAT AA 3' y (RV) 5' TTT TCG TTT TTG GTT TAC AAG AC 3' (Igea *et al.* 2013). De esta forma sólo se obtendrían resultados positivos, es decir se produciría la amplificación de ADN, y por tanto se verían bandas en el gel de electroforesis, si la muestra de pelo o hueso pertenecía a un desmán (Igea *et al.* 2013).

Se obtuvieron resultados positivos para esta especie en 4 de las 32 muestras analizadas, obteniéndose los mismos positivos tanto con los métodos morfológicos (estructura característica del pelo de desmán y estudio comparativo de la hemimandíbula encontrada) como genéticos (extracción de ADN tanto de pelos como de hemimandíbula) (Fig. 3). Al igual que en estudios anteriores (Callejo *et al.* 1979, García *et al.* 2009, Nores 2012), en el presente estudio se confirmó la depredación de la nutria sobre el desmán, pero utilizando tanto técnicas tradicionales como modernas.

Una de las ventajas que ofrece el uso de técnicas moleculares frente a las tradicionales es el ahorro de



Figura 3. Fotografía del gel de electroforesis bajo luz de leads azul y filtro de metacrilato naranja. En la columna situada en la izquierda de la imagen se aprecia el marcador de tamaños (M.T.) (300-2000 pb). En la imagen se ven bandas de ADN amplificado mediante PCR con cebadores específicos de desmán ibérico. Las bandas A pertenecen a ADN extraído de pelo de desmán y las bandas B pertenecen a ADN extraído de la hemimandíbula de desmán. La banda de la izquierda corresponde a ADN amplificado con el cebador PD3, (23pb); y la banda de la derecha corresponde a ADN amplificado con el cebador PD2 FW (22pb) y RV (24pb).

tiempo cuando los tamaños muestrales son grandes. Además, se evita el posible error derivado del factor humano a la hora de identificar los restos en las muestras y por lo tanto el resultado que se obtiene es más fiable.

El uso de estas técnicas no es exclusivo para el desmán ibérico, sino que puede utilizarse para cualquier especie para la que previamente se hayan sintetizado los *primers* o cebadores específicos (García-Garitogaitía *et al.* 2003, Echegaray *et al.* 2009). A pesar de las ventajas que ofrece el uso de las técnicas moleculares, cuando el tamaño de muestra es pequeño, el ahorro en tiempo desaparece y resulta económicamente más viable el uso de técnicas tradicionales. Además, éstas nos proporcionan una información más completa en el caso de que no sólo nos interese la presencia o no de una especie, sino también conocer la dieta completa de la especie estudiada.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte de un estudio más amplio encargado por la Xunta de Galicia a BIOSFERA Consultoría Medioambiental S.L. dentro del proyecto MARGAL ULLA, cofinanciado con un 49,68% por el programa LIFE+ Naturaleza y Biodiversidad. Fue realizado como trabajo fin de prácticas de la Licenciatura en Biología, en la empresa BIOSFERA Consultoría Medioambiental.

Agradecemos la ayuda desinteresada prestada por Mario Quevedo de Anta y María Jesús Cañal Villanueva (Universidad de Oviedo) e Inés Fernández Alameda (Biosfera Consultoría Medioambiental S.L.).

Referencias

- Callejo A., Guitián J., Bas S., Sánchez-Canals J.L. & de Castro A. (1979). Primeros datos sobre la alimentación de la nutria (*Lutra lutra*) en aguas continentales de Galicia. *Doñana, Acta Vertebrata*, 6 (2): 191-202.
- Deagle B.E., Tollit D.J., Jarman S.N., Hindell M.A., Trites A.W. & Gales N.J. (2005) Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions. *Molecular Ecology*, 14: 1831-1842.
- Echegaray J., Martínez de Lecea F., Covela I., Hernando A., de la Torre J.A., Illama A. & Paniagua D. (2009). *Seguimiento de las poblaciones de lobos (Canis lupus L., 1758) en la Comunidad Autónoma del País Vasco en 2008 mediante el uso de técnicas genéticas no invasivas*. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito. 75 pp.
- Fernandes M., Herrero J., Aulagnier S. & Amori G. 2008. *Galemys pyrenaicus*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 25 March 2014.
- García P., Lizana M., Morales J., Gutiérrez J., Acera F., Báez R., García-González A., Pérez-Alonso J.C., Prieto O. & Díez-Frontón D. (2009). Nuevos datos sobre la distribución y dieta de la nutria paleártica (*Lutra lutra*) en la provincia de Salamanca. *Ecología*, 22: 117-125.
- García-Garitogaitía J.L., Rey-Fraile I., Doadrio I. 2003. Estudio genético del oso pardo cantábrico en Asturias. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Museo Nacional de Ciencias Naturales), Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio e Infraestructuras (Principado de Asturias). PÁGINAS
- Igea J., Aymerich P. Fernández-González J., 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.
- Nores C. (2007). *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811). Pp. 96-98. En: L.J. Palomo, J. Gisbert & J.C. Blanco (eds.). *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*. Dirección General para la Biodiversidad – SECEM – SECEMU, Madrid. 586 pp.

- Nores C. (2012). Desmán ibérico - *Galemys pyrenaicus*. En: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. A. Salvador & J. Cassinello (eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Nores C., Ojeda F, Ruano A., Villate I., González-Esteban J., Cano & García E. (1992). *Aproximación a la metodología y estudio del área de distribución, estatus de población y selección de hábitat del desmán (Galemys pyrenaicus) en la Península Ibérica*. Informe inédito. Univ. Oviedo / ICONA: 103 pp.
- Poduschka W & Richard B. (1985). Hair types in the fur of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) Geoffroy, 1811 (Insectivora: Talpidae: Desmaninae). *Oesterr. Akad. Wiss. Math-Naturwiss. Kl. Sitzungsber. Abt. I*, 194 (1-5): 39-44.
- Ruiz-Olmo J. (2007). *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758). Ficha Libro Rojo. Pp 332-334. L.J. Palomo, J. Gisbert & J.C. Blanco (eds.). *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*. Dirección General para la Biodiversidad – SECEM – SECEMU, Madrid.
- Symondson W.O.C. (2002), Molecular identification of prey in predator diets. *Molecular Ecology*, 11: 627-641. doi: 10.1046/j.1365-294X.2002.01471.x

Associate Editor was Benjamín Gómez