

Protocol de seguiment de rastres i recollida de mostres no invasives per l'anàlisi genètic de gat fer (*Felis silvestris*) a Catalunya



Pau Federico Arché i Àngel Such Sanz

ÍNDIX

1.	INTRODUCCIÓ	3
2.	OBJECTIUS.....	3
3.	METODOLOGIA	4
3.1	Transsectes en zones amb presència de l'espècie objectiu	5
3.2	Punts de recollida de femtes amb fototrampeig.....	5
4.	PROTOCOL DE RECOLLIDA D'EXCREMENTS	6
4.1	Identificació	6
4.2	Recollida.....	7
5.	ADAPTACIÓ DEL PROTOCOL AL PLA DE SEGUIMENT DEL GAT FER I ALTRES MESOCARNÍVORS A CATALUNYA I ENVIAMENT DELS RESULTATS.....	10
6.	BIBLIOGRAFIA	11
	ANNEX I: INDICIS DE GAT FER (<i>FELIS S.SILVESTRIS</i>)	13
	ANNEX II: INDICIS D'ALTRES MESOCARNÍVORS.....	15
	ANNEX III: CODIS.....	17

1. INTRODUCCIÓ

El gat fer o gat salvatge (*Felis silvestris*) és una de les espècies de l'ordre dels carnívors més desconegudes a Catalunya degut al seu comportament esquiu i solitari. Un factor important que explica aquest desconeixement és la seva clara tendència a evitar les zones amb presència humana, dificultant la seva detecció directa.

Els mètodes més coneguts i utilitzats pel seguiment de les diferents espècies de carnívors són la detecció d'indícis i el trampeig fotogràfic, que amb els avenços tecnològics actuals ha esdevingut una eina fonamental per a l'estudi dels carnívors. Un altre mètode de seguiment i monitorització menys conegut, però no menys eficient, és l'anàlisi genètic **amb mostres no invasives**. Amb l'obtenció de les dades de l'anàlisi genètic, és possible individualitzar cada exemplar i, en el cas concret del gat fer, també ens permet obtenir informació sobre possibles encreuaments amb gats domèstic (*Felis catus*), que poden provocar introgressió genètica a les poblacions salvatges. A més a més, aquest mètode obre un gran ventall d'anàlisis que es poden desenvolupar amb la informació obtinguda (sexe, dieta,...).

2. OBJECTIUS

- Obtenir informació genètica de les poblacions de gat fer de tot el territori català on hi sigui present.
- Comprovar que els trets fenotípics que determinen la puresa d'un gat fer concordin amb el genotip obtingut amb l'anàlisi genètic.
- Estudiar l'ecologia tròfica del gat fer i poder entendre les diferències entre sexes, entre les diferents fases del cicle reproductor, entre gats híbrids, domèstics i salvatges, etc.
- Estudiar l'ús de l'hàbitat, i poder entendre les diferències entre sexes i entre gats híbrids, domèstics i salvatges.
- Determinar comportaments d'exemplars híbrids i les causes de la seva aparició en determinades zones.
- Complementar el seguiment de les poblacions de mesocarnívors terrestres a partir de la replicació del comptatge de rastres al llarg de transsectes fixos.

3. METODOLOGIA

A partir de l'estudi "El gat fer a l'Alta Garrotxa: Distribució, densitat i anàlisi genètic" realitzat al llarg dels anys 2018-2019 s'inicia una campanya d'anàlisi genètic de gat salvatge (*Felis silvestris*) per primera vegada a Catalunya amb mostres no invasives. Aquest estudi no pretén definir la genètica de l'espècie sinó confirmar l'eficàcia i eficiència de la tecnologia emprada al laboratori (UAB) per aconseguir informació genètica, no només de la zona d'estudi (Alta Garrotxa) sinó també d'altres indrets de Catalunya. Un cop analitzades les mostres recollides s'obtenen els primers resultats genètics de la població catalana de gat fer, generalment, dels Pirineus orientals i, en menor grau, dels Ports de Tortosa.

La metodologia de recollida de mostres emprada inicialment consistia en la realització de transectes de 2 Km escollits a l'atzar dins l'àrea d'estudi, indiferentment de si s'hi havia detectat la presència de gat fer. Aquest mètode s'ha comprovat que és molt poc eficient, ja que la totalitat de les femtes recollides es trobaven en estacions de mostreig (càmera de fototrampeig) escollides en base a la selecció d'hàbitat de l'espècie objectiu. A més a més, aquestes estacions es revisaven un cop al mes i, per tant, l'esforç en una mateixa zona era més elevat que als transectes esmentats anteriorment, que només es mostrejaven en una ocasió.

Per a la realització d'un estudi més ampli, en quant a mostres recollides i territori a cobrir, s'ha cregut oportú redactar un protocol de recollida d'excrements a camp per a fer anàlisi genètic, basat en estudis i experiències obtingudes en el passat. S'han ideat dues metodologies de mostreig en funció dels objectius a assolir: **Transectes en zones amb presència de l'espècie objectiu i punts de recollida de femtes amb fototrampeig**. Aquestes dues tècniques es desenvoluparan dins les Parcel·les de Seguiment Permanent de Carnívors (PSPC) previstes al Pla de seguiment del gat fer i altres mesocarnívors a Catalunya, i la informació recollida es dividirà en quadrícules de 1 km x 1 km.

Igual que la majoria dels carnívors presents a Catalunya, el gat fer marca el perímetre del seu territori amb orina i femtes. Per facilitar la localització de les femtes, prèviament, cal prospectar bona part de l'àrea seleccionada amb l'objectiu de confirmar la presència de gat fer, ja sigui amb fototrampeig (recomanat) o amb la cerca d'indícis. Un cop identificada la zona de treball, es procedeix a implantar la metodologia de transectes citada anteriorment.

Per a emprar la metodologia de punts de recollida, prèviament, cal identificar dins la zona amb presència de gat fer un o més punts on l'espècie objectiu marqui reiteradament al mateix lloc amb femtes o bé un indret on posant una càmera de trampeig fotogràfic hi apareguin 2 o més individus diferents en un període de 3 mesos (sense esquers).

3.1 Transsectes en zones amb presència de l'espècie objectiu

Els transsectes s'efectuaran en zones on prèviament s'hagi confirmat la presència de gat salvatge (*Felis silvestris*), ja sigui amb trampeig fotogràfic, per indicis de l'espècie o per visualització directe. Generalment, es dissenyaran en senders, pistes de desembosc i pistes forestals poc concorregudes, evitant les pistes forestals amb gran aflluència de pas de vehicles i carreteres asfaltades. La distància del transsecte ha de tenir un **mínim de 400 metres i es farà a pas lent (2-3 km/h)**. Cada transsecte és revisarà un cop al mes durant, idealment, tot el període de zel allargant-lo 2 mesos més (desembre – maig), ja que en estudis anteriors s'ha pogut apreciar que durant el mes de maig l'activitat del gat fer augmenta. Cada any, com a mínim, **s'ha de repetir cada transsecte 3 mesos consecutius durant el període esmentat anteriorment**. Aquests es georeferenciaran (Track GPX o .shp), indicant la seva longitud.

L'objectiu principal d'aquesta metodologia és ampliar la base de dades d'informació genètica sobre la població de gat fer a Catalunya i arribar a tenir prou dades de zones concretes per a poder determinar territorialitats entre individus, distribució, dieta, detecció d'híbrids, etc.

3.2 Punts de recollida de femtes amb fototrampeig

Els punts de recollida, prèviament identificats, consisteixen en la instal·lació d'una o més càmeres de trampeig fotogràfic (sense esquer) en una zona on l'espècie objectiu marca, de manera freqüent, el seu territori amb femtes. **La càmera es col·loca al punt on s'ha trobat una femta, corresponent a un pas (corriol, sender, pista,...) per a la fauna salvatge**. Només es relacionaran amb les imatges captades per les càmeres, les femtes que es trobin a **un diàmetre de 10 metres** d'aquesta, sempre i quan no hi hagi cap desviament o intersecció del pas dins la distància esmentada. La càmera es configurarà perquè faci només fotografies amb un temps entre foto i foto de 30 segons. La revisió del punt es farà un cop al mes, de desembre a maig. Cada punt de recollida es georeferenciarà (waypoint GPX o .shp).

L'objectiu principal d'aquesta metodologia és aconseguir relacionar el fenotip d'un individu amb el genotip obtingut amb l'anàlisi genètic, per tant, s'ha d'aconseguir recollir una femta dins el buffer esmentat anteriorment (10 metres) un cop posada la càmera, i que aquesta faci una o més fotos d'un sol individu entre dues revisions consecutives. En el cas que apareguin més d'un individu entre revisió i revisió, ja no es podrà relacionar el fenotip amb el genotip.

4. PROTOCOL DE RECOLLIDA D'EXCREMENTS

4.1 Identificació

Per a poder identificar un excrement de gat fer cal fixar-se en els trets següents:

- La superfície de l'excrement és brillant i uniforme.
- Un extrem de l'excrement acaba en pinzell.
- Els diferents segments que es generen es poden unir de manera que encaixin, és a dir, una part d'un segment és convex mentre que l'altre és còncava. El nombre de segments pot ser molt variable (1 a 8).
- Està formada per pèl. Si es troben llavors, es descarta com a femta de gat fer. Poden presentar tiges de gramínies.
- La coloració, generalment, és fosca.
- Pel que fa a les mides d'amplada pot anar de 15 a 20 mm, amb una llargada de 45 a 130 mm.



Imatge 1: Excrement de gat fer (*Felis silvestris*)

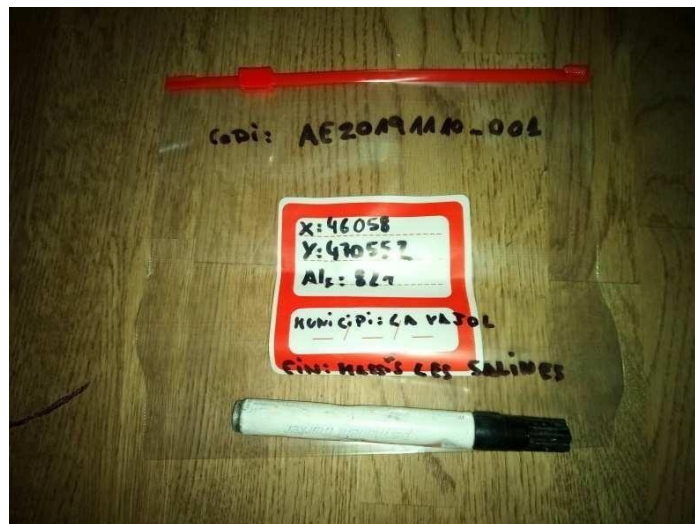
4.2 Recollida

Per a la recollida dels excrements caldrà el material següent:

- Guants de làtex o nitril.
- Bossa hermètica.
- Retolador permanent, bolígraf.
- Llibreta.
- GPS o telèfon mòbil.
- Càmera (telèfon mòbil).
- Cinta mètrica, regle o peu de rei

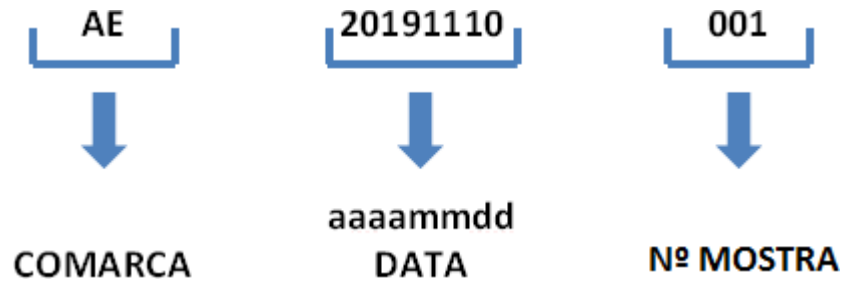
Un cop identificada la femta, es georeferenciarà i **es farà una foto amb una referència al costat** (regle o peu de rei). Tot seguit, abans de recollir la femta, s'apuntaran les dades necessàries a la bossa hermètica:

- Codi de la mostra.
- EIN/ENPE
- Coordenades UTM (Datum ETRS89).
- Alçada (metres).
- Municipi.



Imatge 2: Bossa hermètica amb les dades de la mostra.

Pel que fa al codi de la mostra, les dues primeres lletres equivalen a la comarca on s'ha recollit la mostra (codis de comarca a l'ANNEX III). A continuació s'indica la data amb format any/mes/dia (aaaammdd), i a continuació el número de mostra.



Imatge 3: Exemple de codi d'una mostra recollida a l'Alt Empordà (AE), el dia 10 de Novembre de 2019 (20191110).

Un cop s'hagi apuntat tota la informació necessària de la mostra, amb guants de làtex o nitril, es recollirà la femta amb una bossa hermètica (sense tocar-la amb les mans) utilitzant-la com un guant, és a dir, donant la volta a la bossa.



Imatge 4: Recollida d'una femta de gat salvatge (*Felis silvestris*) a camp amb el mètode esmentat anteriorment.

El gat fer és una espècie que marca el seu territori amb femtes i orina, per tant, **al recollir la femta es deixarà un segment d'aquesta al lloc on s'hagi trobat**, per evitar qualsevol pertorbació del comportament territorial de l'animal.

Finalment, per a la seva conservació, es congelarà a -2°C (recomanat) o es conservarà en alcohol de 96 °.

A part del marcatge de territori amb excrements independents, **el gat fer també pot fer latrina**. En aquest cas, el procediment de recollida de la mostra serà el mateix esmentat anteriorment, amb la diferència que s'intentarà diferenciar cada excrement (dins una latrina es pot diferenciar excrements vells i recents) i aquests es posaran en bosses hermètiques diferents. Els codis de les mostres seran com si es tractessin de femtes independents però a la bossa s'especificarà que es tracta d'una latrina (per exemple, AE202012004_001 LETRINA01, AE20201204_002 LETRINA 01), en cas de trobar més d'una latrina en un mateix dia, s'especificarà com a "LETRINA02".

Això permetrà esbrinar, a partir de l'anàlisi genètic, si la latrina de gat fer és d'un sol individu o és compartida.

5. ADAPTACIÓ DEL PROTOCOL AL PLA DE SEGUIMENT DEL GAT FER I ALTRES MESOCARNÍVORS A CATALUNYA I ENVIAMENT DELS RESULTATS

Cada Parcel·la de Seguiment Permanent de Carnívors (PSPC) contindrà un **mínim de dos transectes** dissenyats seguint [l'apartat 3.1](#) que es mostrejaran anualment. Els transectes hauran de tenir una longitud mínima de 400 m (tot i que es recomana que mesurin 2 km per tal d'augmentar la probabilitat de trobar excrements de gat fer) i hauran d'estar separats per una distància mínima d'1 km entre ells. En aquests transectes, no només caldrà recollir informació dels rastres de gat fer, sinó també anotar **tots els indicis** de la resta d'**espècies de carnívors** i, en cas que estigui present, de les latrines de **conill**. En cas que es trobin excrements de **gat fer fora dels transectes** establerts, també es recolliran.

Al final de cada campanya anual de mostreig, caldrà enviar els resultats obtinguts a la següent adreça de correu: pau.federico@hotmail.com La finalitat d'aquest enviament és disposar d'una còpia de seguretat de la informació, així com possibilitar la valoració del volum de dades que s'està recollint i del mètode més òptim per tractar-les amb l'objectiu d'ajudar a la gestió i conservació dels mesocarnívors terrestres. Els continguts que cal enviar a l'equip de coordinació són:

- **Taula informativa** on trobem dues pestanyes: Una dels indicis de tots els mesocarnívors detectats als transectes de la PSPC i l'altra de la informació més detallada de les mostres no invasives de gat fer recollides a l'estació, on s'especificarà si s'han recollit fora o dins els transectes proposats.
- **Fotografies**, com s'especifica a [l'apartat 4](#), de cada mostra de gat fer on apareixerà el codi de la mostra com a nom de cada imatge (enviar per Drive, Onedrive, Wetransfer, ...).
- **Tracks** dels transectes de l'estació, en format .gpx o .shp.

Pel que fa a l'entrega de les mostres recollides, prèviament identificades amb la informació esmentada a [l'apartat 4](#), s'efectuarà un cop acabada la campanya consensuant el dia d'entrega amb l'equip de coordinació. Abans de fer l'entrega de mostres, s'ha d'haver enviat la taula i la informació esmentada al paràgraf anterior.

6. BIBLIOGRAFIA

- FEDERICO. P (2019) El gat fer a l'Alta Garrotxa: Distribució, densitat i anàlisi genètic. Beca Oriol de Bolòs 2018
- LOZANO. J (2014) Gato montés – *Felis silvestris*, Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles
- SALVADOR. S (2009). Caracterització de la comunitat de carnívors de l'Alta Garrotxa mitjançant el trampeig fotogràfic. Beca Oriol de Bolòs 2009
- JAVIER PALOMO. L , GISBERT. J y CARLOS BLANCO. J (2007). Atlas y libro rojo de los mamíferos terrestres de España. Ministerio de medio ambiente
- ANILE. S, ARRABITO. C, MAZZAMUTO. MV, et al (2012). A non-invasive monitoring on European wildcat (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Sicily using hair trapping and camera trapping: does scented lure work? *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*
- SAYOL. F (2018). Projecte gat fer. Grup Naturalista d'Osona
- FEDERICO. P (2018). Estudi de la comunitat de carnívors al Massís de Les Salines
- CAMPSOLINAS. A, SALGUÉS. F i POMPIDOR. J.P (2018). El gat salvatge a l'Albera: Fototrampeig i diversitat de mamífers
- OLIVEIRA. T, LÓPEZ MARTÍN. JM, BALLESTEROS. E, et al (2018). Females know better: Sex-biased habitat selection by the European wildcat. *Ecology and Evolution*. DOI: 10.1002/ece3.4442
- LOZANO. J (2010). Habitat use by European wildcats (*Felis silvestris*) in central Spain: what is the relative importance of forest variables. *Animal Biodiversity and Conservation* 33.2
- MOLEÓN. M y GIL-SÁNCHEZ. J.M. (2006). Food habits of the wildcat (*Felis silvestris*) in a peculiar habitat: the Mediterranean high mountain. *ZSL Journal of Zoology*.
- GUIXÉ. D (2010). Els mamífers carnívors d'Andorra. ICHN
- BARJA. I y BÁRCENA. F (2005). Distribución y abundancia de gato montés en el Parque Natural os Montes do Invernadeiro: Factores de habitat implicados y relación con la presencia de zorro i marta. *Galemys* 17: 29-40
- OLIVEIRA R., RANDI E., MATTUCCI F., et al (2015). Toward a genome-wide approach for detecting hybrids: informative SNPs to detect introgression between domestic cats and European wildcats (*Felis silvestris*). *Heredity*, 115,195–205

GANDOLFI B., ALHADDAD H., ABDI M. et al. (2018). Applications and efficiencies of the first cat 63K DNA array. www.nature.com/scientificreports.

KURUSHIMA J. D., LIPINSKI M. J., GANDOLFI B. et al. (2013). Variation of Cats under Domestication: Genetic Assignment of Domestic Cats to Breeds and Worldwide Random Bred Population. *Anim Genet.* Jun; 44(3): 311–324.

FALUSH D., STEPHENS M., PRITCHARD JK. (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* 7: 574-578.

SAYOL F., VILELLA M., BAGARIA G., et al. (2018) El gat salvatge al Prepirineu oriental: densitat de les poblacions del Lluçanès i el Bisaura. *Butlletí de la ICHN*, 82:185-191.

RUIZ-OLMO J., PINYOL C., SÁNCHEZ D., SUCH-SANZ À. (2018) Breeding pattern of wildcat *Felis silvestris* (Schreber, 1777) studied in captivity in the iberian península. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy. Associazione Teriologica Italiana Volume 29* (2): 202–210, 2018

R LECIS, M PIERPAOLI, ZS BIRO, et al. (2006) Bayesian analyses of admixture in wild and domestic cats (*Felis silvestris*) using linked microsatellite loci. *Molecular Ecology* (2006) 15, 119–131

OLIVEIRA R., GODINHO R., RANDI R., et al. (2008) Hybridization versus conservation: are domestic cats threatening the genetic integrity of wildcats (*Felis silvestris*) in Iberian Peninsula? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008 Sep 12; 363(1505): 2953– 2961.

RANDI E., PIERPAOLI M., BEAUMONT M. (2019) Genetic Identification of Wild and Domestic Cats (*Felis silvestris*) and Their Hybrids Using Bayesian Clustering Methods *Molecular Biology and Evolution*, Volume 18, Issue 9, September 2001, Pages 1679–1693.

NARDELLI M., TÚNEZ J.I., CENTRÓN D., CASSINI M.H. (2011) Técnicas de muestreo no invasivas aplicadas al estudio genético de los mamíferos. *Interciencia* JUN 2011, VOL. 36 nº6.

ECHEREGARAY J., ILLANA A., de LECEA F.M, et al. (2008) Seguimiento de las poblaciones de lobos en la comunidad autónoma del País Vasco mediante el uso de técnicas genéticas no invasivas. *Grupo Lobo de Euskadi*

GODOY J.A. (2009) La genética y la conservación de especies. *Asociación Española de Ecología Terrestre, Ecosistemas* 18 (1): 23-33 Enero 2009.

ANNEX I: INDICIS DE GAT FER (*FELIS S.SILVESTRIS*)





ANNEX II: INDICIS D'ALTRES MESOCARNÍVORS

Guineu (*Vulpes vulpes*)



Fagina (*Martes foina*)



Teixó (*Meles meles*)



Geneta (*Genetta genetta*)



ANNEX III: CODIS

COMARCA	CODI
ALT CAMP	AC
ALT EMPORDÀ	AE
ALT PENEDEès	AP
ALT URGELL	AU
ALTA RIBARGORÇA	AR
L'ANOIA	AN
L'ARAN	VA
EL BAGES	BG
EL BAIX CAMP	BC
EL BAIX EBRE	BB
EL BAIX EMPORDÀ	BE
EL BAIX LLOBREGAT	BL
EL BAIX PENEDEès	BP
EL BARCELONÈS	BR
EL BERGUEDÀ	BU
LA Cerdanya	CE
LA CONCA DE BARBERÀ	CB
EL GARRAF	GF
LES GARRIGUES	GR
LA GARROTXA	GO
EL GIRONÈS	GI
EL MARESME	MA
EL MOIANÈS	MO
EL MONTSIÀ	MN
LA NOGUERA	NO
OSONA	OS
EL PALLARS JUSSÀ	PJ
EL PALLARS SOBIRÀ	PS
EL PLA D'URGELL	PU
EL PLA DE L'ESTANY	PE
EL PRIORAT	PR
LA RIBERA D'EBRE	RE
EL RIPOLLÈS	RI
LA SEGARRA	SE
EL SEGRIÀ	SG
LA SELVA	SV
EL SOLSONÈS	SO
EL TARRAGONÈS	TR
LA TERRA ALTA	TA
L'URGELL	UR
EL VALLÈS OCCIDENTAL	VC
EL VALLES ORIENTAL	VR