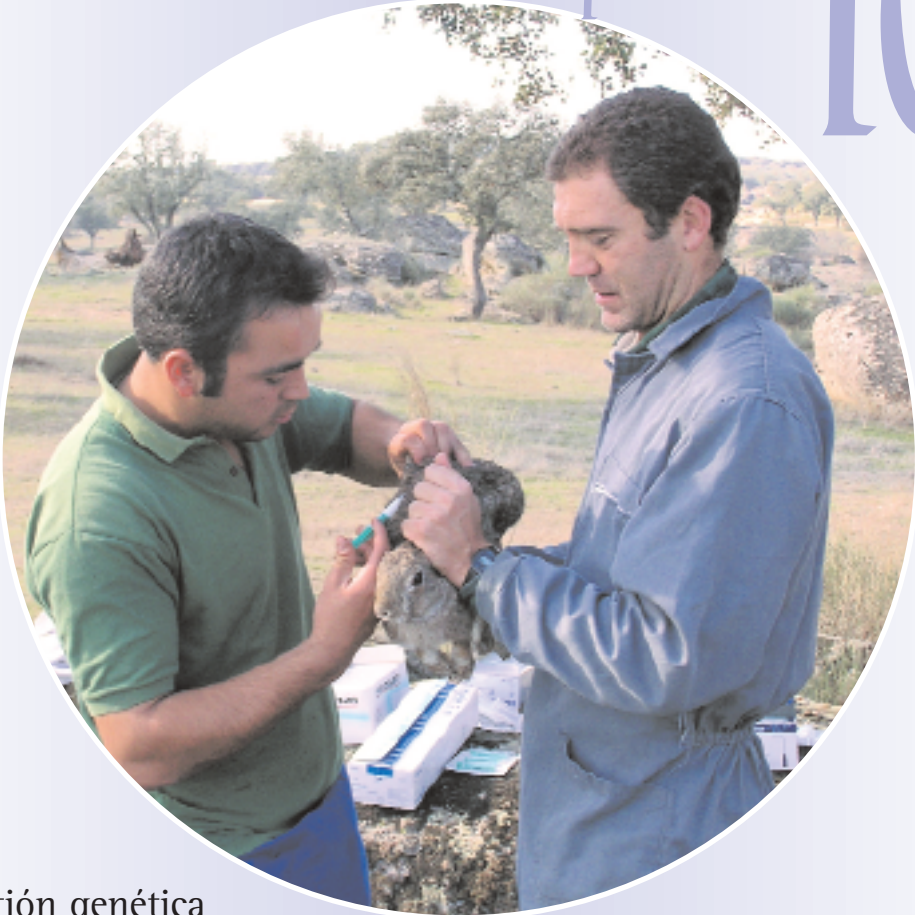


Capítulo 10



Gestión genética
e inmunológica para el manejo de las traslocaciones
y reintroducciones de conejo en España



Capítulo 10

GESTIÓN GENÉTICA E INMUNOLÓGICA PARA EL MANEJO DE LAS TRASLOCACIONES Y REINTRODUCCIONES DE CONEJO (*Oryctolagus cuniculus* L., 1758) EN ESPAÑA

Fernando Alda, Ignacio Doadrio, Mauro Hernández,
Jaime Muñoz, Fernando Silvestre

10.1. INTRODUCCIÓN

Dada la importancia que los aspectos genético-epidemiológicos pueden tener en la viabilidad de las traslocaciones de conejos, se ha considerado adecuado elaborar un capítulo específico en tal sentido en este manual.

Las características genéticas y la ecología epidemiológica de las poblaciones de conejos de la Península Ibérica son, todavía en la actualidad, objeto de estudio científico por diferentes grupos de investigación. Por ello, previamente a la exposición de las recomendaciones propiamente dichas, y como base para las mismas, se presenta una revisión de los conocimientos científicos existentes hasta el momento. Dado el proyecto de investigación desarrollado recientemente por nuestro equipo, esta revisión se ha estructurado en dos partes. Una primera de recopilación y síntesis de los conocimientos previos al desarrollo de nuestro proyecto, y una segunda de exposición y divulgación de las aportaciones específicas de nuestra investigación y de los avances realizados que condicionan las recomendaciones de manejo subsiguientes.

Debido a la relativa complejidad, conceptual y terminológica, de la materia objeto de exposición, la lectura de las bases científicas de las recomendaciones de manejo puede resultar dificultosa para lectores poco familiarizados en la materia, a los que desde el principio queremos pedir disculpas y comprensión. La ya mencionada complejidad de los temas tratados,

sobre muchos de los cuales sigue habiendo controversia a nivel científico, aconseja exponer con cierta profundidad y dialécticamente el estado de conocimientos existente, para que aquellos técnicos o gestores más especializados puedan valorar por sí mismos las recomendaciones de manejo realizadas.

La parte de recomendaciones propiamente dicha se estructura en relación con el Capítulo 7 de este manual "Fomento de la poblaciones de conejo"; capítulo donde, entre otras actuaciones, se describen las técnicas más usuales desarrolladas a la hora de acometer traslocaciones de conejos, bien sean reforzamientos poblacionales, bien sean reintroducciones.

10.2. REVISIÓN DE CONOCIMIENTOS

10.2.1. Introducción a la revisión

El conejo (*Oryctolagus cuniculus* L., 1758) es una especie clave en los ecosistemas mediterráneos. Su abundancia y amplia distribución hacen que en la Península Ibérica existan más de 39 especies de aves y mamíferos depredadores de conejos (Moreno et al., 1996) de las que casi una decena se alimentan casi exclusivamente de ellos (Moreno et al., 1996, Gortázar et al., 2000). Además, dada su abundancia y la excelente calidad de su carne, el conejo ha sido consumido de manera asidua por el hombre, principalmente en el mundo rural, constituyendo históricamente la pieza más común de caza menor en España. El conejo es capaz de soportar esta gran presión de depredadores y cinegética gracias a su gran capacidad de adaptación a diversas condiciones ecológicas y a una alta productividad (Soriguer 1981), lo que a su vez ha favorecido que esta especie presente una alta diversidad y compleja estructura genética en la Península Ibérica (Branco et al., 2000, Queney et al., 2000, Queney et al., 2001, Branco et al., 2002).

Sin embargo, el panorama del conejo en España cambió drásticamente a principios de los años cincuenta con la llegada de la mixomatosis que redujo hasta en un 90% las poblaciones de conejo (Bárcena et al., 2000). Cuando parecía que las poblaciones se recuperaban de esta epidemia, el conejo sufrió un nuevo retroceso, a finales de los años ochenta, con la aparición de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHD, Rabbit haemorrhagic disease) que produjo una mortandad alrededor del 60% de la población peninsular (Argüello et al., 1998).

En total la reducción del conejo puede haber sido de más de un 80% en los últimos 30 años (Virgós et al., 2005). Muchas poblaciones se han extinguido y otras presentan tendencias negativas, y sólo en algunas zonas con hábitats de buena calidad, es posible encontrar todavía poblaciones recuperadas o con altas densidades. A pesar de esta situación, el conejo sigue sufriendo una alta presión cinegética, temporadas de caza no adecuadas (Angulo y Villafuerte 2004), y manejos del hábitat para usos agrarios o para favorecer otras especies cinegéticas que le perjudican. Si bien es cierto que existen actuaciones locales para favorecer a la especie (Ej. Organizaciones no gubernamentales, Federaciones de Caza, Comunidades



Figura 10.1. El conejo de monte es un integrante fundamental de los ecosistemas mediterráneos

Autónomas, etc.), hasta el momento no se ha elaborado un plan de acción a escala nacional, aunque a nivel autonómico algunas comunidades como Castilla La Mancha cuentan con borradores de Planes de Gestión para la especie, en los que se recogen las directrices sobre cómo debe conservarse y gestionarse. Desde el punto de vista de la gestión hay que decir que en los últimos años se han observado localmente nuevas tendencias poblacionales, que quizás en un futuro inmediato nos den una visión más optimista (sobre todo, visto lo ocurrido en cada vez más lugares de España; como por ejemplo el sur de Castilla y León, valle del Ebro, comunidad de Valencia, o Madrid), donde muchas poblaciones de conejo parecen cada vez más numerosas, observándose con mayor frecuencia quejas de agricultores.

10.2.2. Origen del conejo

Los restos fósiles han permitido determinar que hace unos 3,6 millones de años, en el Plioceno medio, ya existían dos especies del género *Oryctolagus*, una en el sur de Francia y noroeste de Italia y otra en la Península Ibérica (*O. laynensis*). De esta última especie se cree que descienden todos los conejos modernos (López-Martínez 1989). El conejo quedó aislado en la Península Ibérica durante el Cuaternario en dos refugios, uno al noreste y otro al sur, lo que hizo que se diferenciaron dos linajes. Posteriormente, durante el último periodo postglacial los conejos recolonizaron la Península Ibérica formando una zona de contacto, entre los

dos linajes, en el centro de la Península (Branco et al., 2000). Por tanto, el conejo es un endemismo de la Península Ibérica y quizás del mediterráneo francés y su distribución natural, hasta la Edad Media, se limitaba a estas zonas (Callou 1995). Fue a partir de entonces cuando el hombre introdujo el conejo por toda Europa y de ahí al resto del mundo, dando lugar a las razas domésticas.

A partir de las dos poblaciones diferenciadas en refugios Cuaternarios, a causa de las glaciaciones, surgieron las dos subespecies descritas: *Oryctolagus cuniculus algirus* (Loche, 1858) presente exclusivamente al sur de una franja imaginaria que discurre desde Galicia a Almería en la Península Ibérica y *Oryctolagus cuniculus cuniculus* (L., 1758) distribuido naturalmente por el norte de esta franja, en la Península Ibérica y sur de Francia (para más detalles ver posteriormente la "Estructura genética de la población de la Península Ibérica"). Es esta última subespecie la que se ha propagado con la ayuda del hombre por casi todo el Planeta y la que ha dado lugar a todas las razas domésticas (Biju-Duval et al., 1991). Las razas domésticas y poblaciones europeas presentan una menor diversidad genética debido a la manipulación y selección por parte del hombre, mientras que las poblaciones al sur muestran mayores valores de diversidad genética (Branco et al., 2000). Es de destacar así mismo, que las características genéticas de las poblaciones de la Península Ibérica se han mantenido a pesar de fenómenos históricos tan importantes como las glaciaciones, o la incidencia de las graves enfermedades que redujeron y reducen los tamaños poblacionales.

Los conejos de la Península Ibérica representan las poblaciones originales y deben ser conservadas por su valor cultural, patrimonial e importancia para el funcionamiento de nuestros ecosistemas

10.2.3. Importancia del conejo

La problemática del conejo es diferente según los países. En algunas zonas el conejo es una especie invasora y gracias a su gran capacidad de adaptación y productividad y en ausencia de depredadores es capaz de constituir plagas y producir graves daños. Se estima que en Gran Bretaña y Australia se invierten al año alrededor de 170 y 310 millones de dólares respectivamente para su control (Angulo y Cooke, 2002). En Australia se calcula que el conejo es una de las principales causas de la extinción de animales y plantas autóctonas (Robinson et al., 1997, Fenner y Fantini, 1999). Por ello, la mayoría de la literatura que existe sobre el conejo y principalmente sobre sus enfermedades proviene de aquellos países en donde el conejo es una especie introducida artificialmente, siendo mucho menor el número de estudios sobre las enfermedades del conejo realizados con las poblaciones de la Península Ibérica.

Al contrario que en otros países donde la gestión del conejo se centra en el control de sus poblaciones, en España los esfuerzos se destinan a la conservación y fomento del mismo. Su abundancia y amplia distribución históricas hace que forme parte de la dieta de un gran número de depredadores y de forma muy significativa en la dieta de especies emblemáticas y endémicas de la Península Ibérica como son el lince ibérico y el águila imperial ibérica

Figura 10.2. La paloma torcaz es una especie de caza menor en auge



(Moreno et al., 1996, Gortázar et al., 2000). Además el conejo ejerce una gran influencia en el hábitat para otras especies debido al consumo de la vegetación, dispersión de semillas y construcción de madrigueras (Delibes e Hiraldo, 1981, Soriguer 1986, Gómez-Sal et al., 1999).

El gran número de especies que depredan sobre el conejo, aunque no sean responsables del declive de la especie ya que históricamente han soportado esta presión, impiden que el conejo se recupere, especialmente en las zonas con una baja densidad de conejos. Es lo que se conoce como "trampa del depredador" (Reddiex et al., 2002).

A esta gran presión de depredadores hay que añadir la actividad cinegética. En España el conejo es una de las especies de caza menor más importantes. Tradicionalmente el conejo ha sido apreciado como alimento y por sus pieles. Actualmente su importancia económica se debe principalmente a su valor como especie cinegética. En España alrededor del 70% del territorio son áreas cinegéticas, en las que cazan más de un millón de cazadores al año, cifra que se ha duplicado en los últimos 50 años (REGHAB, 2002). Aunque el conejo ha perdido relevancia frente a otras especies de caza menor como la perdiz o la paloma torcaz, y frente a la cada vez más extendida caza mayor, sigue siendo una pieza apreciada cobrándose aproximadamente 4 millones de conejos al año (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 2006, Virgós et al., 2005).

El hecho de que el conejo sea una especie tradicionalmente explotada cinegéticamente dificulta la protección de esta especie. Teóricamente sólo aquellas poblaciones con una tendencia demográfica positiva deberían ser explotadas puesto que la caza implica una reducción de la abundancia poblaciones (Bennet y Robinson, 2000, Sutherland, 2001). Las poblaciones pequeñas son más susceptibles de sufrir procesos estocásticos los cuales aumentan con la caza, ya que esta provoca una reducción de la estabilidad de la población, por lo que la caza no es aconsejable por debajo de un límite de densidad (Lande et al., 1997).

En España las Comunidades Autónomas determinan los métodos de caza, la temporada y los días en los que está permitido cazar. Posteriormente son los titulares cinegéticos quienes fijan los cupos de caza para regularla. Los criterios seguidos se basan normalmente en su opinión y experiencia sobre la densidad y tendencia de las poblaciones, y pocas veces en criterios científicos. De hecho la normativa legal relativa a los periodos hábiles para la caza del conejo en España no ha cambiado desde 1902, recogida en la actual ley de caza de 1970 (REGHAB 2002). Estas normas fueron establecidas como medida de control del conejo en la respuesta a las enormes pérdidas económicas que producían en la agricultura. El periodo actual de caza coincide con la mejor época para el control de la población, cuando esta presenta una menor densidad dentro del ciclo anual y las hembras reducen la capacidad reproductiva para el periodo de cría siguiente. Sin embargo, los estudios empíricos sobre estas cuestiones siguen pendientes, por lo que quizás solo localmente podría pensarse en cambios en las normativas arriba indicadas, todo ello enmarcado en una situación, muchas veces cambiante pero al día de hoy, de aparente recuperación en un número creciente de lugares (Muñoz 2007, com. pers.).

10.2.4. Aspectos genéticos

Existen dos "tipos" de conejos desde el punto de vista del ADN mitocondrial. Se diferencian conejos Tipo A y conejos Tipo B. La denominación Tipo A o B hace referencia a los linajes maternos identificados a partir de polimorfismos en el ADN mitocondrial (Ennafaa et al., 1987, Biju-Duval et al., 1991). El linaje A se encuentra en el suroeste de la Península Ibérica (Figura 1) y el linaje B en el resto de Europa incluyendo el norte de la Península y las razas domésticas. La distribución geográfica de estos grupos puede superponerse, casi sin excepciones, con la distribución de las dos subespecies definidas por la taxonomía clásica. De modo



Figura 10.3. Mapa con la distribución de los linajes mitocondriales de conejo (extraído Branco et al. 2000). Se demuestra la existencia de una franja de contacto entre los dos linajes que cruza la Península del noroeste a sureste

que el linaje o tipo A se corresponde con la subespecie *O. c. algirus* y el linaje o tipo B con la subespecie *O. c. cuniculus*.

Más recientemente se han realizado estudios más exhaustivos que han demostrado la existencia de una franja de contacto entre los dos linajes que cruza la Península de noroeste a sureste (Figura 10.3, Branco et al., 2000).

La diferenciación de los conejos en A y B, aunque es un buen comienzo para la elección de poblaciones donantes y receptoras, puede resultar un poco simplista ya que únicamente se basa en la discriminación de dos linajes maternos mediante ADN mitocondrial. Sin embargo, estudios más recientes con marcadores de ADN nuclear, con un mayor poder de resolución que el ADN mitocondrial, han corroborado la existencia de estos dos grandes grupos (van der Loo et al., 1991, 1999, Ferrand, 1995) y también han desvelado una complejidad evolutiva y de estructura genética mucho mayor (Gerald et al., 2005, 2006). Además, los genes que codifican para caracteres de eficacia biológica se encuentran en el núcleo, de modo que el uso de este tipo de marcadores sería más adecuado para la selección de individuos ya que podrían estar indicando posibles adaptaciones a las diferentes condiciones ambientales.

10.2.5. Enfermedades

Las enfermedades responsables de la disminución del conejo en las últimas décadas son dos: la mixomatosis y la enfermedad hemorrágica vírica (Muñoz-Goyanes, 1960; Villafuerte et al., 1995; Fenner y Fantini, 1999).

10.2.5.1. Mixomatosis

La mixomatosis apareció en España en 1954. El virus que la produce procede de los conejos americanos del género *Sylvilagus* a los que no causa la muerte. Los virus presentes en España provienen de una cepa original denominada Lausanne que fue aislada en Brasil y libe-



Figuras 10.4 y 10.5. Síntomas externos de las enfermedades de la Mixomatosis (izquierda) y la Enfermedad Hemorrágica Vírica del Conejo (derecha).

rada en Australia en los años 50 para el control de las poblaciones de conejos europeos, donde causó una mortalidad de hasta el 99%. Posteriormente el virus de la mixomatosis fue introducido deliberadamente en Francia y de ahí se extendió ampliamente por toda Europa y llegó a diezmar las poblaciones hasta en un 90% (Bárcena et al., 2000).

El virus mixoma (MV) pertenece a la familia Poxviridae, género *Leporipoxvirus* (Murphy et al., 1995). Esta familia comprende los virus animales más complejos y de mayor tamaño que se conocen. Su genoma está constituido por una molécula de ADN bicatenario con un tamaño de 163 Kb. La enfermedad comienza con una lesión nodular en el punto de inoculación (principalmente producida por picaduras de pulga) así como con inflamación de los párpados, y va evolucionando hasta la aparición de múltiples nódulos por todo el cuerpo del conejo. La muerte ocurre, según la virulencia de la cepa, entre los 9 y 35 días post-infección.

El virus de la mixomatosis está poco estudiado a nivel molecular. Tan sólo algunos trabajos, llevados a cabo en Australia han estudiado su variación, mediante el análisis de fragmentos con enzimas de restricción, demostrando la baja variabilidad de este virus (Fenner y Fantini, 1999). El mayor número de estudios de esta enfermedad han sido realizados para conocer el modelo de coevolución entre el virus de la mixomatosis y los conejos. En Inglaterra se ha estudiado cómo las oscilaciones en la incidencia de la enfermedad se deben a la aparición de cepas de virus atenuadas tras una primera infección de cepas de virus muy virulentas. Esta disminución dio tiempo a los conejos a crear resistencia frente al virus y a medida que la resistencia aumentó también aumentó de nuevo la virulencia de los virus (Ross et al., 1989).

10.2.5.2. Enfermedad Hemorrágica Vírica del Conejo

La enfermedad vírica hemorrágica (RHD) es aún más reciente. La teoría más extendida sobre su origen es que fue detectada por primera vez en el año 1984 en China (Liu et al., 1984) y entre 1987 y 1989 se dispersó por Asia hasta los países continentales europeos, hasta que en 1989 el virus ya se encontraba ampliamente distribuido por Europa (Morisse et al., 1991). En 1988 llegó a España, produciendo mortandades de aproximadamente el 60% de la población peninsular (Argüello et al., 1998). Sin embargo estudios filogenéticos y serológicos más recientes, han demostrado que el RHDV ya se encontraba presente en los conejos europeos, en una forma no virulenta, décadas antes de la gran epidemia de finales de los ochenta (Forrester et al., 2006). Si bien en China fue el primer caso constatado de virus altamente virulentos, según las evidencias filogenéticas éste no fue el único foco de dispersión de la enfermedad, sino que el RHDV apareció en más de una ocasión y en diferentes lugares (Forrester et al., 2006). Posteriormente, la RHD se ha utilizado como método de control en Australia, Nueva Zelanda, Argentina y Chile.

El virus de la enfermedad vírica hemorrágica (RHDV) pertenece a la familia Caliciviridae. Los viriones tienen un genoma ARN de cadena simple de 7,4Kb. El virus se transmite por el aire o bien transmisión oro-fecal. Los síntomas observados en los animales enfermos son: anorexia, postración, signos nerviosos, signos respiratorios... Excepto en la forma sobreaguda



de la enfermedad en la que los animales mueren súbitamente, la viremia ocasiona un fallo orgánico múltiple que provoca hemorragias y congestiones en muchos órganos. Tiene un curso muy rápido y casi siempre fatal. Sin embargo, los conejos jóvenes sufren una forma de la enfermedad mucho menos grave, de modo que la mortalidad se reduce o incluso llega a ser inexistente.

En cuanto a la RHD existen modelos matemáticos que predicen la dinámica de las poblaciones frente a una epidemia (Calvete, 2006b). Estos modelos demuestran que la enfermedad no afecta de la misma manera a todas las poblaciones. En las poblaciones con alta densidad de conejos, el virus se transmite muy fácilmente y los conejos quedan inmunizados a edades muy tempranas, cuando la enfermedad no les afecta tanto. En las poblaciones con baja densidad de individuos los virus no pueden transmitirse de forma eficaz por lo que el impacto de la enfermedad también es bajo. El mayor impacto lo sufren las poblaciones con densidades intermedias, en las que el virus es capaz de transmitirse entre individuos, pero estos se contagian a edades más avanzadas en las que la enfermedad sí es letal (Calvete, 2006a, 2006b).

Aún queda mucho por investigar sobre el efecto de las enfermedades sobre las poblaciones de conejo. Aunque sí existen modelos epidemiológicos para la mixomatosis y RHD, son pocos los trabajos que incluyan información genética de los virus.

En el caso de la RHD la literatura es algo más extensa que en el caso de la mixomatosis. Pero, la mayoría de ella se centra en estudios de epidemiología molecular en áreas como Australia y Nueva Zelanda donde el RHDV se ha utilizado como control biológico (Asgari et al., 1999, Barlow et al., 2002, Cooke y Fenner, 2002). No existen estudios sobre la RHD en España, tan sólo en un estudio sobre la filogenia del virus en Europa se incluyeron secuencias de RHDV aislando algunos ejemplares españoles (Collery et al., 1995, Chasey et al., 1997, Nowotny et al., 1997, Le Gall Recule et al., 2003). Estos estudios vienen a concluir que actualmente existen 7 grupos de virus, en dos de los cuales se encontraron virus de España. En países como Francia y Hungría donde se ha estudiado la evolución del virus en largos periodos de tiempo se ha demostrado que los grupos presentes en cada zona no se mantienen a lo largo del tiempo sino que se extinguen y aparecen otros nuevos, bien derivados de los ya existentes o por la llegada de nuevas cepas de virus de otros lugares (Forrester et al., 2006). A pesar de la alta tasa de mutación del virus y el gran número de genogrupos existentes, no existe una relación geográfica entre los virus de los diferentes grupos, ni tampoco diferencias significativas entre los virus encontrados en animales sanos, enfermos, salvajes ni domésticos (Le Gall Recule et al., 2003, Matiz et al., 2006). Esto indica que el responsable de la enorme área de distribución del virus son los movimientos de conejos por parte del hombre con fines comerciales o cinegéticos.



Figura 10.6. Mapa con las frecuencias obtenidas por el proyecto en cada población de conejos del linaje mitocondrial A (en negro) y B (en blanco). La proporción de la subespecie *O.cuniculus* (linaje B) fue mayor para todas las poblaciones del norte y centro de la Península, mientras que en el sur predominó la subespecie *O.c.algirus*

10.3. APORTACIONES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN “ESTUDIO GENÉTICO E INMUNOLÓGICO DEL CONEJO SILVESTRE: IMPLICACIONES EPIDEMIOLÓGICAS Y POBLACIONALES DE LAS TRASLOCACIONES Y REINTRODUCCIONES”

10.3.1. Aspectos genéticos

10.3.1.1. Linajes genéticos

En el marco de nuestro trabajo, la proporción de la subespecie *O.cuniculus* (linaje B) fue mayor para todas las poblaciones del norte y centro de la Península, mientras que en el sur predominó la subespecie *O.c.algirus* (linaje A, Figura 3). En ninguna de las poblaciones del sur se encontraron poblaciones que tuvieran exclusivamente conejos de la subespecie *O.c.algirus*, todas ellas presentaron aunque fueran en baja proporción conejos de la subespecie *O.c.cuniculus*. Sin embargo, en el norte y centro sí se encontraron poblaciones en las que sólo estaba presente la subespecie *O.c.cuniculus*.

El hecho de que los conejos por sí solos se dispersen poco afirma la teoría de que el aumento de conejos de tipo B en las poblaciones receptoras de la mitad sur de la Península se deba a las traslocaciones realizadas por el hombre.

Si comparamos el análisis de ADN mitocondrial realizado en el proyecto con el de Branco et al. (2000) llevado a cabo en las mismas poblaciones pero seis años antes (Figura 10.3.) se obtienen resultados similares pero con algunas diferencias. Las poblaciones del norte y nor-este de la Península presentan en los dos trabajos un modelo muy similar con presencia de la subespecie *O.c.cuniculus* (haplotipo o linaje B) con alguna introgresión del haplotipo presen-

te en *O.c.algirus* (A). Ya en el estudio de Branco et al. (2000) se puede observar como la expansión natural de *O.c.cuniculus* parece más exitosa ya que ha ocupado de forma natural una mayor parte del área de distribución.

Sin embargo, en lo que se refiere a las poblaciones de la mitad sur en nuestro trabajo ha aumentado significativamente el porcentaje de individuos con el haplotipo B presente en *O.c.cuniculus*, con respecto al trabajo de Branco et al. (2000).

En Toledo, zona de contacto entre los linajes A y B, se ha invertido la proporción que existía hace seis años entre ambos. En la actualidad dos tercios de los individuos analizados presentan el haplotipo mitocondrial B, mientras que el linaje más abundante hace seis años era el A. Un aumento menos acusado de este haplotipo se ha producido en las poblaciones de Ciudad Real. En ninguna de las poblaciones analizadas está presente exclusivamente el haplotipo A. de *O.c.algirus*. En Cádiz, donde hace seis años no se encontraron haplotipos mitocondriales B, si han sido detectados por nosotros aunque en baja proporción. Este aumento en cuanto al área de distribución de la subespecie *O.c.cuniculus* puede estar ocasionado por dos factores: el primero es una posible adaptación y mayor resistencia a enfermedades que justifique el mayor número de plagas de conejo en el norte y facilite la colonización de nuevos hábitats hacia el sur, como pueden ser las poblaciones de Toledo; y el segundo es por las campañas de reintroducción de conejos que se llevan a cabo en el sur de la Península, principalmente tomando como donantes poblaciones del haplotipo B o de zonas con mezcla de los dos haplotipos como es el caso de Toledo, lo cual explicaría el aumento de esta subespecie en Ciudad Real y Jaén. Sin embargo, la presencia en Cádiz, una población donante, de haplotipos B debe ser explicada por que en el trabajo de Branco et al. (2000) no se detectaran por estar en bajas frecuencias y/o porque son favorecidas por su mayor resistencia a las enfermedades o mejor adaptación al hábitat disponible.

10.3.1.2. Variabilidad genética

Para el presente estudio se analizaron conejos procedentes de 19 áreas geográficas:

1. Lérida (correspondiente a poblaciones del sureste de la provincia de Lérida principalmente del área de L'Urgell y La Segarra).
2. La Rioja (T.M. Logroño)
3. Valladolid (correspondiente a las poblaciones de la cuenca del río Eresma y río Cega en el sur de la provincia)
4. Madrid 1 (T.T.M.M. Colmenar del Arroyo, Navalagamella y Quijorna, con una población cercana a la cuenca el río Guadarrama)
5. Madrid 2 (T.M. Ajalvir)
6. Toledo 1 (T.M. Toledo, Bargas y Mocejón)
7. Toledo 2 (T.M. Argés)
8. Ciudad Real 1 (T.M. Santa Cruz de Mudela)

9. Ciudad Real 2 (T.M. Torre de Juan Abad)
10. Ciudad Real 3 (T.T.M.M. Almodóvar del Campo y Brazatortas)
11. Albacete
12. Jaén 1 (T.M. Andujar)
13. Jaén 2 (T.M. Vilches)
14. Cáceres 1 (T.M. Valencia de Alcántara)
15. Cáceres 2 (T.M. Cáceres)
16. Cádiz (T.M. Medina Sidonia)
17. Valencia (correspondientes a poblaciones en Vall d'Albadia y de la granja de caza "La Amistad" en el T.M. de Buñol)
18. Mallorca
19. Galicia (esta población sólo se incluyó en los análisis del MV)

Existen poblaciones que presentan mayor variabilidad que otras, aunque, en general, todas las poblaciones presentaron valores altos de diversidad, con altos valores de heterocigosis observada (Alda et al., 2006). En general la variabilidad genética obtenida en todas las poblaciones de conejo ha sido muy elevada y muy similares a las obtenidas por otros autores (Queney et al., 2001) que emplearon nueve de los 11 marcadores analizados por Alda et al., 2006, para poblaciones similares a las nuestras, poblaciones del Noreste y Suroeste de la Península Ibérica.

En general se asume que las poblaciones ancestrales presentan una diversidad mayor que aquellas que han evolucionado o se han dispersado a partir de ellas (Hewitt, 2000). Esto ha sido demostrado también en los conejos, considerando que todos los conejos evolucionaron de un ancestro al sur de la Península Ibérica (López-Martínez, 1989; Callou, 1995), ya que las poblaciones del suroeste han mostrado mayor diversidad genética tanto en marcadores nucleares (Branco et al., 1999, Queney et al., 2001) como mitocondriales (Branco et al., 2000). Esto se ha atribuido a que los mayores tamaños poblacionales han permitido que se mantuvieran alelos en baja frecuencia, mientras que en el norte, donde las poblaciones son más heterogéneas y han sufrido más cambios demográficos, estos alelos raros han desaparecido (Branco et al., 2000).

Estas diferencias de diversidad entre áreas geográficas son mucho mayores al analizar exclusivamente marcadores mitocondriales, ya que evolucionan más lentamente y por tanto reflejan una situación más ancestral que, por ejemplo marcadores con tasas de mutación mucho más elevadas, como los microsatélites. Estudios anteriores han apoyado esta teoría ya que obtenían valores mayores de diversidad para las poblaciones del sur de la Península (Queney et al., 2001). Sin embargo estos estudios no incluyeron las poblaciones del centro de la Península o de la zona de contacto entre los dos linajes mitocondriales.

En nuestro estudio (Alda et al., 2006), concentrado principalmente en el centro de la Península Ibérica, precisamente se han obtenido los mayores índices de diversidad para pobla-



ciones presentes en esta franja de contacto entre los dos linajes mitocondriales identificados, lo cual tiene sentido si consideramos que estas poblaciones poseen características genéticas de las dos poblaciones ancestrales.

Algunas poblaciones presentan menores diversidades por motivos distintos. La población de Mallorca es un ejemplo de efecto fundador en una isla en la que el aislamiento y la ausencia de flujo génico, produce una disminución de la diversidad. Las poblaciones de Cáceres y Jaén, por el contrario, además de contar con pocos individuos analizados, son poblaciones en regresión en la que probablemente la baja diversidad esté provocada por "cuellos de botella" y en las que la introducción de ejemplares de otras poblaciones no parece tener efecto positivo sobre la diversidad total.

Las características genéticas, que presentan las poblaciones de la zona de contacto entre los dos linajes, parecen indicar que lo que se está considerando como una única población realmente son varias. En nuestro caso se han encontrado dos grupos de conejos bien diferenciados en algunas de estas poblaciones procedentes de dos fincas diferentes.

Las poblaciones en aumento y en regresión presentan pocas diferencias en sus niveles de variabilidad genética, mostrando en ambos casos altos niveles de heterocigosis. Igualmente la riqueza alélica es muy similar en los dos tipos de poblaciones.

A la hora de determinar la compatibilidad de las poblaciones donantes y receptoras los parámetros generales de variabilidad genética no son suficientes, ya que aunque las heterocigosis esperadas y números de alelos sean similares, estos alelos no son los mismos en todas las poblaciones ni están presentes en la misma frecuencia. Algunas de estas poblaciones tienen alelos exclusivos, es decir, alelos que únicamente se encuentran en esa población. Generalmente se encuentran en baja frecuencia. Estos alelos caracterizan genéticamente las poblaciones y por tanto deberían ser conservados. Por ejemplo, la población de Toledo1 tiene 7 alelos exclusivos en 5 loci, Ciudad Real1 (Sta. Cruz de Mudela) tiene 6 alelos exclusivos en 4 loci, Cádiz tiene 5 alelos exclusivos en 4 loci y en Jaén1 se encontró 1 alelo exclusivo (Alda et al., 2006).

10.3.2. Estructura genética de la población de la Península ibérica

Todos los análisis realizados para determinar la estructura genética de las poblaciones de conejo han indicado que efectivamente existe una estructuración y por tanto una diferenciación significativa de las poblaciones de conejo. En general se observa que existe una mayor diferenciación entre las poblaciones del norte y el sur de la Península que dentro de ellas (Alda et al., 2006).

Mallorca es la población que presenta mayores valores significativos de diferenciación para todas las poblaciones, especialmente para las poblaciones del sur de la Península. Como ya hemos comentado, el aislamiento geográfico de la isla de Mallorca favorece y acelera esa diferenciación genética. En cambio, la población de La Rioja, no tiene aparentemente ningun-

na barrera geográfica que explique los altos valores de diferenciación que muestra con todas las poblaciones. Los motivos que han propiciado la singularidad genética de esta población no los conocemos.

En general se diferencian dos tipos de poblaciones de conejos, aquellas que son genéticamente homogéneas y diferenciadas del resto (Mallorca, Lérida, La Rioja y Cádiz, las cuales a excepción de Mallorca se encuentran en expansión demográfica) y las que son resultados de mezcla de poblaciones ancestrales o por traslocaciones o reintroducciones más recientes. Dentro de estas poblaciones "mezcla" se podrían considerar dos grupos. El primero incluiría las poblaciones del centro y nordeste de la Península: Valencia, Valladolid, Madrid1, Madrid2 (Ajalvir), Toledo1 y Toledo2 (Argés) y el segundo grupo abarcaría las poblaciones del centro y suroeste ibéricos: Ciudad Real1 (Sta. Cruz de Mudela), Ciudad Real2 (Torre de Juan Abad), Ciudad Real3 (Almodóvar del Campo), Albacete, Cáceres, Jaén1 (Andujar) y Jaén2 (Vilches) (Alda et al., 2006).

El factor que mejor parece explicar la alta estructura genética encontrada en las poblaciones de conejo es la baja tasa de dispersión de la especie. Esto viene indicado por el alto nivel de significación para el aislamiento por distancia, en el que se desvela que el mayor condicionante para la diferenciación genética de las poblaciones es la distancia geográfica a la que se encuentran.

Mediante el programa Structure (Pritchard et al., 2000) se estimó un número de ocho poblaciones teóricas, que se pueden agrupar desde un punto de vista genético. Sólo en algunas poblaciones geográficas los individuos se asignan con una probabilidad $\geq 70\%$ únicamente a una de las poblaciones inferidas. El resto de poblaciones están formadas por una mezcla de otras poblaciones ancestrales.

No existe una correlación entre genotipos puros (con un alto porcentaje de asignación) y poblaciones en expansión y poblaciones donantes o receptoras.

El análisis realizado (Alda et al., 2006) encontró que globalmente existen diferencias significativas en las poblaciones de conejo de España. Al separar los individuos de los linajes mitocondriales A y B de cada población también se encuentra una estructura genética significativa entre los Tipos A y B de conejo. Sin embargo al analizar únicamente los conejos de la zona de contacto (Madrid, Toledo1 y 2, y Ciudad Real 1, 2 y 3, entre los dos linajes, el resultado fue no significativo, por lo que se comprueba que existe una homogeneización de las características genéticas al mezclarse los dos tipos de conejo.

Se demuestra que existe una correlación altamente significativa entre las distancias genéticas y geográficas de las poblaciones analizadas.

Figura 10.7. Conejo mixomatoso, cegado y muy delgado



10.3.3. Enfermedades

10.3.3.1. Mixomatosis

Los resultados de las serologías indican una alta prevalencia de animales positivos (con alto número de anticuerpos) (Alda et al., 2006). Un animal positivo puede estar afectado por la enfermedad en el momento de la recogida del suero o bien tener anticuerpos por vacunación o por contactos previos con el virus. Las pruebas de serología solamente se pueden hacer a partir de animales vivos lo cual reduce el número de poblaciones analizadas. Se observan diferencias notables en el número de positivos de MV en las diferentes poblaciones (Alda et al., 2006).

La presión selectiva existente por la presencia del virus, ha provocado la aparición de poblaciones de conejos con cierta resistencia a la mixomatosis, sobre todo frente a las cepas de virulencia baja o moderada. Además de la resistencia de determinadas poblaciones, existen otros factores como la edad y el estado inmunitario individual que hacen variar el curso de la enfermedad y las manifestaciones clínicas.

Los datos obtenidos de los análisis serológicos (apoyados en el estudio de Alda et al., 2006, que se resume a continuación) indican que un gran número de los conejos han estado expuestos de alguna manera al virus. En algunas poblaciones el porcentaje de individuos con anticuerpos frente al MV es muy alto, lo que indica que prácticamente todos ellos han estado en contacto con la enfermedad y han sobrevivido. En otras poblaciones el número de individuos positivos es muy inferior, siendo la incidencia de la mixomatosis en estas poblaciones menor (Alda et al., 2006). El número de individuos en los que se detectan anticuerpos frente al RHDV es menor comparativamente que para la mixomatosis, y también se encuentran diferencias en los grados de exposición al virus en diferentes poblaciones. En general el menor número de conejos con anticuerpos frente a RHDV puede ser debido a la menor incidencia de esta

enfermedad o a que la mayor virulencia de este virus haga que pocos individuos sobrevivan y por tanto presenten anticuerpos.

Los resultados obtenidos demuestran que el MV es un virus con una variabilidad genética muy baja, como es de esperar en un virus ADN. Esto explica por qué no se obtuvo una estructura ni en el árbol filogenético ni en la red de haplotipos (Alda et al., 2006).

La variación de las cepas dentro y entre poblaciones es baja. A pesar de que se observan diferencias significativas entre poblaciones, la ausencia de una estructura genética en los árboles o la falta de correlación entre las distancias genéticas y geográficas hacen pensar que el MV en España se comporta como una única población. Esto se ve apoyado por el hecho de que 10 de los 24 haplotipos encontrados estaban presentes en más de un individuo y cuatro de ellos también estaban en más de una población.

También existen tipos de virus que sólo aparecieron en una única población, entre los que cabe destacar los virus de Mallorca y Galicia que fueron exclusivos de esas poblaciones y además idénticos entre todos los individuos de la población, lo que podría indicar un mayor aislamiento de estas poblaciones. Este aislamiento y diferenciación, lógico en el caso de Mallorca, debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar las traslocaciones ya que los virus pueden tener características determinadas que no se sabe como puedan afectar a otras poblaciones de conejo, no debiéndose traslocar estas poblaciones a otras regiones. Igualmente, esta precaución debe tenerse en cuenta en el caso de que se introdujeran conejos de la Península en Mallorca, ya que se desconoce la respuesta que pueden tener los individuos residentes ante cepas de virus de la Península.

De las poblaciones estudiadas, el MV se detecta en individuos distribuidos en todas ellas. Las secuencias obtenidas resultan ser poco variables entre poblaciones y muy similares entre sí y a la cepa Lausanne. Entre todos los fragmentos del MV amplificados se encontraron tan sólo 14 posiciones variables.

Los haplotipos encontrados son muy similares entre sí, difiriendo en muy pocas pares de bases. Sin embargo ninguno de ellos es idéntico al de la cepa Lausanne, que fue teóricamente la causante de la primera infección de mixomatosis en la Península Ibérica. De hecho algunas cepas de MV de España son más diferentes entre sí que respecto a la cepa Lausanne por lo que ha existido un tiempo suficiente para que los virus que circulan en España difieran más entre sí que respecto a la cepa original. Esto es debido probablemente a la gran expansión que ha tenido el MV en España, la cual está apoyada por los tests demográficos realizados.

Esta diferenciación de los virus se debe tener en cuenta a la hora de realizar las vacunaciones, ya que las cepas españolas no tienen por qué ser iguales a las cepas europeas o la cepa Lausanne, por lo que este tipo de vacunas deberían obtenerse a partir de virus que circulen de forma natural en las poblaciones autóctonas de conejo.

Los haplotipos de virus se diferencian entre 1 y 7 bases, lo que supone una similitud superior al 99.99%. La cepa original Lausanne se diferencia de los virus de España entre 1 y 5 bases.

Entre las 80 secuencias de virus analizadas se encontraron 24 haplotipos de virus diferentes. Diez de estos haplotipos se encontraron en más de un individuo y cuatro de los cuales se encontraban también en diferentes poblaciones. Los otros seis haplotipos compartidos entre varios individuos fueron exclusivos de una única población (como ocurrió en poblaciones de Madrid, Jaén1 Albacete y Ciudad Real3. En Ciudad Real3 (Almodóvar del Campo) se encontraron 3 de estos haplotipos exclusivos, mientras que en Mallorca y Galicia todos los virus analizados fueron idénticos entre sí y hallados exclusivamente en esas localidades. El tipo de virus más frecuente (MV1) se encontró en el 32.5% del total, la mayoría de ellas pertenecientes a la población de Almodóvar del Campo y las muestras de Andujar (Jaén). El segundo tipo de virus más frecuente (MV2) se encontró en un 17.5% del total, procedentes de Madrid y Toledo1.

La población que más diversidad de tipos de virus presentó fue Jaén1 (Andujar), en la que todas las muestras resultaron ser haplotipos diferentes (dos de ellos también presentes en Ciudad Real3), seguida del sur de Ciudad Real (Ciudad Real3, Almodóvar del Campo) con 16 tipos de virus. En cualquier caso las diferencias entre los tipos de virus encontrados dentro de cada población son muy bajas.

En los parámetros demográficos estimados para el MV se demuestra que los datos se ajustan a un modelo de población en expansión y que no existen varios linajes de MV. Igualmente, no hay correlación entre distancias geográficas de las poblaciones con presencia de virus y distancias genéticas de los virus.

10.3.3.2. Enfermedad hemorrágica vírica

La variabilidad encontrada en este virus es más alta que para el MV. Tan sólo en alguna población se encuentra el mismo haplotipo en todos los ejemplares. La mayoría de poblaciones muestran valores altos de diversidad haplotípica. En total se han encontrado 16 haplotipos distintos para el RHDV. En el suroeste de Madrid (Madrid1) se encontró la única población que no compartió ninguno de sus haplotipos con el resto de las poblaciones.

El fragmento del gen VP60 del RHDV muestra una mayor variabilidad que el virus de la mixomatosis. Esta mayor variabilidad es lógica en un virus de tipo ARN debido a que presentan una mayor tasa de mutación. En total se encuentran 16 tipos de RHDV. El número de tipos de virus no es mucho más elevado en comparación con los obtenidos para el MV, pero la diferencia radica en que los tipos de virus de RHDV son mucho más diferentes entre sí.

El árbol filogenético obtenido para los haplotipos de RHDV muestra que los virus españoles forman un grupo monofilético. Es decir todos los virus españoles tienen un mismo origen y proceden de una misma infección. El virus AST89 aislado en Asturias, se considera que procede de uno de los primeros focos de infección de RHD en España (Boga et al., 1994). La secuencia de este virus en el árbol filogenético no rechaza la hipótesis de que todos los tipos de virus existentes en la actualidad en España deriven por mutación del AST89.

Se ha observado, tanto en el árbol filogenético como en la red de haplotipos, que los virus obtenidos se agrupan, aunque sin soporte, en dos clados. El Clado I contiene virus de la mayoría de las poblaciones analizadas, mientras que el Clado II, mucho menos frecuente, contiene únicamente 3 haplotipos de virus procedentes de algunas poblaciones muy concretas. El Clado I representa la variabilidad del RHDV en España, mientras que los tipos de virus del Clado II son tipos de virus poco frecuentes que probablemente se hayan visto favorecidos por las explotaciones cinegéticas del centro de España.

Las traslocaciones podrían estar sesgando los tipos de virus presentes en las poblaciones, de ahí la importancia de un control sanitario de las poblaciones donantes de conejos. Así, por ejemplo, es muy probable que en las poblaciones de conejos donantes existiera este tipo de virus poco frecuente en el sur de España y haya sido introducido involuntariamente en estas poblaciones sureñas mediante la traslocación de ejemplares, donde existen además otros tipos de virus propios de esta área como los situados en el Clado I. Este caso se debe tener muy en cuenta por dos razones. En primer lugar las poblaciones donantes, pueden estar favoreciendo la permanencia en la naturaleza de virus que de otra manera serían poco frecuentes de los que desconocemos su virulencia. Cuando sea necesario un reforzamiento de alguna de estas poblaciones se sugiere reforzarlas con conejos silvestres de zonas próximas.

A pesar de la existencia de estos dos grupos de RHDV no existen diferencias significativas entre ninguna de las poblaciones de RHDV por lo que se puede decir que todos los virus se comportan como si pertenecieran a una única población.

Los datos obtenidos sobre la tendencia demográfica del RHDV desde su aparición en España sugieren que ni todo el conjunto de datos, ni los clados considerados por separado se ajustan a un modelo de población en expansión. Esto puede ser debido a varias causas. Bien a que el tiempo transcurrido desde la aparición de la RHD en España no sea suficiente para detectar este tipo de eventos. Que verdaderamente se mantenga un número más o menos constante de virus circulantes entre las poblaciones de conejo. O lo que es más probable, que debido a las características epidémicas de este virus, no se ajuste a un modelo clásico de población que aumenta o disminuye de forma continua en el tiempo. Esto es debido a que el RHDV produce brotes epidémicos muy locales y luego parece desaparecer hasta que se da otro brote, a diferencia de la mixomatosis que aunque con picos de enfermedad en el verano se mantiene durante todo el año. Al comparar los datos de los dos clados de virus se deduce que el Clado II ha tenido un aumento del tamaño efectivo de virus más bajo desde la expansión, por lo que probablemente sea un tipo de virus menos extendido que los del Clado I.

10.3.4. Correlación entre virus y hospedador

Los diferentes análisis factoriales de correspondencias realizados demuestran que no existen diferencias significativas entre los genotipos de conejos sanos y enfermos (Alda et al., 2006). Tampoco existieron diferencias entre un genotipo determinado de conejo y un haplotipo determinado de RHDV, excepto entre los genotipos de los individuos de Mallorca y el tipo



de virus por el que estaban infectados. En las redes de haplotipos de los virus tampoco se observó que existiera una correspondencia entre los haplotipos virales y los linajes mitocondriales del conejo. En general todos los análisis realizados para intentar desvelar una asociación entre los conejos y los virus han resultado no significativos. Las características genéticas de los conejos, en cada población por separado, no parecen condicionar la supervivencia o la susceptibilidad a padecer la enfermedad. Tampoco condicionarían las características genéticas de los conejos el hecho de ser infectados por un determinado tipo de virus. Todos los tipos de virus tienen la misma capacidad de producir la enfermedad en todos los conejos, lo que no se conoce es si todos los tipos de virus identificados producen una enfermedad igualmente virulenta. Únicamente se observó una cierta correlación en el AFC entre los genotipos de conejos de Mallorca y el tipo de MV que portaban. Esta asociación probablemente es debida al hecho de que en Mallorca se encontró únicamente un tipo de MV y los conejos de Mallorca, debido a su aislamiento, sean muy homogéneos genéticamente entre sí y a su vez diferentes del resto.

Otras evidencias procedentes de otros estudios indican que, en el caso del RHDV, tampoco existen diferencias entre los virus encontrados en individuos sanos y enfermos (Moss et al., 2002).

El MV no presentó ninguna estructura genética ni ninguna asociación con los linajes de conejo. Esta homogeneidad de todos los tipos de virus en las poblaciones españolas sugiere que el MV está adaptado a una baja virulencia para producir una baja mortalidad en su hospedador y así proliferar. A diferencia de Inglaterra, donde después de un equilibrio entre la virulencia del MV y la resistencia de los conejos se han producido nuevos picos de la enfermedad con cepas más virulentas (Best y Kerr, 2000, Forrester et al., 2006), en España ese caso todavía no se ha producido (Forrester et al., 2007).

El RHDV presenta una mayor heterogeneidad en los tipos de virus pero tampoco existe una estructura genética. Se debe destacar la presencia de dos grupos de virus. La presencia del mismo haplotipo de virus en algunas poblaciones es una evidencia de que las traslocaciones introducen tipos de virus en otras poblaciones.

10.4. RECOMENDACIONES DE GESTIÓN GENÉTICO-SANITARIAS

10.4.1. Nociones generales sobre vacunas y desparasitaciones

En cuanto al manejo de las poblaciones de conejo, la lucha contra las enfermedades juega un papel importante en España. Dentro de esta estrategia se podrían incluir las desparasitaciones y las vacunaciones. Tanto las vacunaciones como las desparasitaciones (internas y externas) son herramientas básicas asociada a las translocaciones de individuos. Son necesarias para evitar la diseminación de agentes patógenos y sus vectores de unos lugares a otros (Spalding y Forrester, 1993; Woodford, 1994; Calvete et al., 1997). Sin embargo, el control de las enfermedades mediante la desparasitación de madrigueras, que fue efectivo en Gran



Figura 10.7. Vacunación de conejo de monte previo a su suelta para repoblación en un área de presencia ocasional de lince ibérico

Bretaña (Trout et al., 1992), no ha tenido éxito en España (Osácar et al., 1996), posiblemente debido a una mayor cantidad de vectores en los ecosistemas mediterráneos y a su diferente presencia y fenología por los factores abióticos que los controlan (Cooke, 1990, 1999).

Las campañas de vacunación son más costosas. Son efectivas a corto plazo, alrededor de seis meses, evitando el contagio de los animales cuando entran en contacto con la enfermedad (Gortázar et al., 2000). Algunos consideran que no son efectivas para su uso en el campo, puesto que los métodos de captura para la vacunación implican estrés y mayores mortalidades en la población que las causadas por las propias enfermedades (Letty et al., 2000). Algunos autores han establecido efectos negativos de las vacunaciones sobre los conejos. Twigg et al. (1998) observaron reacciones leves en el punto de inoculación, mientras que otros observan una mayor mortalidad de los conejos vacunados durante los primeros días tras la traslocación. Por este motivo actualmente se ensaya la utilización de virus vivos genéticamente modificados como vacunas recombinantes. Su dispersión en el campo sería en principio la misma que el propio virus, permitiendo teóricamente una inmunización permanente en la población y transmisible entre los diferentes individuos de la población (Bárcena et al., 2000; Torres et al., 2001).

A pesar de la alta carga de parásitos que presentan los conejos, ésta no parece tener un efecto directo sobre la supervivencia de las poblaciones, ya que las desparasitaciones, tanto internas como externas, no parecen aumentar el éxito en las campañas de reintroducción (Osácar et al., 1996).

Igualmente las campañas de vacunación de animales salvajes, requieren que los conejos sean capturados de algún modo, a veces con hurón, cuyos efectos (por ejemplo lesiones no apreciables a simple vista) deben añadirse a los efectos secundarios de la vacunación. Esto hace

que el efecto beneficioso de la vacunación sea puesto en duda por algunos autores (Calvete, 2006b).

Actualmente existen dos tipos de vacunas frente a la mixomatosis:

- a) Vacuna homóloga: son vacunas obtenidas a partir del virus de la mixomatosis. Su eficacia media oscila alrededor del 90%. El principal inconveniente que presenta son los fuertes efectos secundarios, ocasionando a veces formas leves de la enfermedad, lo que predispone a los conejos a ser depredados.
- b) Vacuna heteróloga: se denomina así porque no se obtiene del virus de la mixomatosis, sino a partir de un virus similar pero menos patógeno (Virus del fibroma de Shope). Su eficacia de inmunización en los conejos silvestres es menor que las vacunas homólogas (60-70%), pero sus efectos secundarios también son inferiores. Es la vacuna que se recomienda actualmente.

El tiempo de inmunización de estas vacunas es limitado y no son transmisibles a la descendencia, por lo que para asegurar su eficacia sería necesario vacunar periódicamente (anualmente para la homóloga y semestralmente para la heteróloga) a una elevada proporción de la población.

A diferencia de las vacunas de la mixomatosis que son virus vivos, la vacuna de la RHD se realiza con virus inactivados. Presentan una alta eficacia (80-90%) y pocos efectos secundarios comparados a los que producen las vacunas de la mixomatosis.

Además de estas vacunas se ha desarrollado una vacuna recombinante a partir de virus de la mixomatosis que expresan la proteína VP60 presente en la cápside del RHDV (Barcena et al., 2000), de modo que es posible inmunizar a los conejos simultáneamente frente a las dos enfermedades. La administración de esta vacuna podría realizarse mediante vectores infectados con el virus recombinante (i.e. pulgas), o administrando el virus por vía parenteral y que posteriormente se produzca la inmunización de otros conejos ya que está probada la transmisión horizontal de la inmunidad (Torres et al., 2001). Esta vacuna aún se encuentra en periodo de experimentación y su aprobación es difícil debido a las consecuencias que puede suponer el hecho de liberar virus modificados en la naturaleza. Ya sea por el hecho de que el virus se propague a lugares en los que el conejo es una especie que produce plagas, por los efectos del virus sobre otras especies o por la posibilidad que el virus modificado mute (Angulo, 2001, Angulo y Cooke, 2002). Un ejemplo sencillo de los problemas que podría suponer la liberación de un virus en la naturaleza lo podemos obtener de un caso opuesto al que se presenta en España. En Australia como una medida para el control de las poblaciones invasoras de conejo se ha modificado el virus de la mixomatosis de manera que exprese un gen responsable de la unión del óvulo y el espermatozoide. Una vez infectado, el conejo produce anticuerpos frente a esta proteína produciendo infertilidad en las hembras. Del mismo modo que la liberación de un virus de este tipo en Australia podría hacer que llegara, como ya ha ocurrido anteriormente, a la Península Ibérica con efectos desastrosos, un virus-vacuna podría tener efectos igualmente negativos en otros países.



Figura 10.8. El huroneo o bicheo es una práctica habitual para capturar conejos en las traslocaciones

10.4.2. Recomendaciones concretas en traslocaciones y reintroducciones de conejos

10.4.2.1. Traslocaciones dentro de un mismo coto

En el apartado 7.2. del capítulo 7 se menciona que una práctica habitual en cotos con una distribución heterogénea de conejo es la traslocación de individuos entre zonas de alta y baja abundancia.

Se debe procurar, al realizar este tipo de acciones, que la zona de procedencia y las de suelta estén suficientemente próximas entre sí para favorecer el flujo de individuos entre ellas y evitar la fragmentación de las poblaciones.

Desde el punto de vista genético-epidemiológico la época más adecuada para la traslocación de individuos sería a finales del verano y principios del otoño. De este modo ya habría pasado la época más exigente de verano y los conejos tendrían mayor tiempo de aclimatación antes de la llegada del invierno y posteriormente de los posibles brotes de RHD.

Dentro de un mismo coto la vacunación de los animales no sería necesaria. De este modo se minimiza el estrés de los conejos y se favorece la libre circulación del virus dentro de una población y por tanto la inmunización natural de los conejos.

10.4.2.2. Reintroducciones

El apartado 7.4. del capítulo 7 es específico de reintroducciones de conejo en zonas donde éste ha desaparecido o sus densidades son tan bajas que no es esperable una autorecuperación a corto-medio plazo. En el mencionado apartado se especifican las técnicas más usua-

Figura 10.9. Suelta de conejos en una repoblación en área de presencia ocasional de lince



les a la hora de acometer estas repoblaciones de conejo: forma de capturar los conejos en la zona donante, manejo de éstos hasta la liberación en la zona receptora, tipo y número de madrigueras artificiales a construir en la zona receptoras y operaciones posteriores de mantenimiento.

En todo este proceso, y una vez decididos a repoblar una zona (llamada receptora), hay que tomar decisiones de tipo genético-epidemiológico. La primera es seleccionar la zona "donante más adecuada". La recomendación más consensuada hasta la fecha era tomar la zona más próxima geográficamente a la población receptora y manteniendo siempre los linajes mitocondriales A y B. Sin embargo, este método no es del todo adecuado ya que el ADN mitocondrial no contiene información que influya sobre la capacidad de adaptación al medio, por lo que es más adecuado basarse en otro tipo de marcadores. Los microsatélites pueden dar una idea más adecuada de las características genéticas de los conejos.

Si se va a traslocar siempre será mejor hacerlos atendiendo a su estructura genética basada en una combinación de ADN nuclear (microsatélites) y mitocondrial.

Genéticamente los resultados obtenidos muestran que existen poblaciones homogéneas y diferenciadas del resto. En estas poblaciones no es adecuada la introducción de conejos de otras zonas ni la extracción y repoblación de áreas que no sean geográficamente cercanas. Dentro del linaje mitocondrial B existen 3 poblaciones de este tipo: Mallorca, Lérida y La Rioja. Mientras que dentro del linaje A destacamos la población de Cádiz.

El resto de poblaciones analizadas proceden de una mezcla de diversas poblaciones ancestrales. Grosso modo podemos diferenciar dos grupos de poblaciones. 1) Valladolid, Madrid1 y

2 y las dos poblaciones analizadas en Toledo (Toledo y Argés). 2) Albacete, tres poblaciones de Ciudad Real (Sta. Cruz de Mudela, Campo de Montiel, Torre de Juan Abad), dos poblaciones de Jaén (Andújar y Vilches) y dos poblaciones de Cáceres (Valencia de Alcántara y Cáceres). No se deberían realizar reintroducciones ni traslocaciones entre poblaciones que no pertenezcan a un mismo grupo. Las acciones que se lleven a cabo dentro de un mismo grupo se podrán realizar teniendo en cuenta únicamente el linaje mitocondrial. Siempre que se pueda se intentará que la población donante y receptora sean lo más próximas posible, ya que estas son más similares genéticamente.

Dentro de este tipo de poblaciones "mezcla" de otras ancestrales, se desaconseja el uso de la población de Valencia procedente del Vall d'Albadia como donante, debido a la alta heterogeneidad genética de sus individuos, probablemente por haber sufrido sucesivas reintroducciones de conejos domésticos y de otras poblaciones.

Desde el punto de vista inmunológico se debe tener en cuenta que la distribución geográfica de las muestras no es tan completa como para los datos genéticos, por lo que las conclusiones deben tomarse con precaución ya que puede que no representen toda la diversidad de virus presente en España.

Se ha comprobado, en el caso de la enfermedad hemorrágica, que las repoblaciones juegan un papel importante en la dispersión de los virus. Este hecho es de una gran relevancia por los efectos que puede tener sobre la supervivencia de los conejos, tanto de los introducidos como de los residentes.

Tanto desde el punto de vista genético como inmunológico se desaconseja el empleo de conejos procedentes de Toledo¹ para la repoblación de zonas fuera del grupo mencionado



Figura 10.10. Grupos de poblaciones compatibles establecidos durante el estudio

anteriormente (Valladolid, Madrid1 y 2 y Toledo1 y 2). Esto se debe a que todos los cotos analizados de Toledo1 no son genéticamente homogéneos, ya que se han encontrado diferencias genéticas considerables entre ellas, y a que éstas pudieran estar favoreciendo la dispersión de virus, lo cual se deduce por haber encontrado en Jaén1 y 2 un tipo de RHDV únicamente presente en Toledo1.

Igualmente, según los datos inmunológicos, el uso de la población de Ciudad Real 3 (Almodóvar del Campo) como donante de conejos, incluso dentro de su mismo grupo genético, debe realizarse con cautela debido a las diferencias significativas encontradas entre sus tipos de virus de la mixomatosis y los de otras poblaciones.

Conocer el número de individuos necesarios para formar una nueva población es una cuestión difícil. El número inicial de fundadores necesario dependerá de la variabilidad genética existente en la población donante. Afortunadamente, las poblaciones de conejo analizadas presentan altos valores de variabilidad, pero esto no significa que no sea un factor a tener en cuenta a la hora de realizar las repoblaciones. Igualmente, el hecho de que exista una alta variabilidad genética en las poblaciones de conejo, supone que el número de conejos necesario para formar una población que contenga un porcentaje significativo de esta variabilidad deberá ser elevado. La nueva población, además, deberá ser capaz de mantener esta variabilidad, ya que en el caso de que no exista contacto con otras poblaciones se perderá variabilidad genética en cada generación. Una estrategia adecuada sería la creación de núcleos interconectados, los cuales una vez asentada la población, alcancen un tamaño efectivo mínimo de 250 individuos. Esto supondría 125 parejas reproductoras por generación. Ahora bien, si la razón sexual no fuese 1 y uno de los sexos fuese más abundante que el otro, el número de ejemplares que se necesitaría sería mayor. Además, en las poblaciones naturales el censo real (N) puede ser entre 2 y 5 veces al del tamaño efectivo (N_e) de la población que son los que contribuyen realmente al mantenimiento de la diversidad (Soulé, 1980, Macé, 1986).

La mayoría de los estudios en los que se basan estos cálculos se realizan con poblaciones en cautividad en las que es posible controlar los cruces y la contribución de cada individuo a la siguiente generación. En este caso, al tratarse de poblaciones en libertad, no es posible controlar estos factores y por tanto minimizar el efecto de la deriva génica y pérdida de la diversidad. Como alternativa se recomienda que en los 3 años posteriores a la primera liberación se reintroduzcan ejemplares suficientes para que se consiga el asentamiento de entre 5 y 6 individuos reproductores por cada núcleo, ya que está demostrado que este tipo de actuaciones tienen un efecto beneficioso para el mantenimiento y recuperación de la diversidad genética. Igualmente esta actuación favorecería la circulación natural de los virus, por lo que no es conveniente la vacunación.

