

IESA



Instituto de Estudios
Sociales Avanzados

Informes y Monografías

Caracterización de las poblaciones de conejo en áreas de daño a la agricultura de Castilla La Mancha



**Expediente (PICOS)/SSCC.EN/111/21
Informe final
Septiembre 2022**



MINISTERIO
DE CIENCIA
E INNOVACIÓN



CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Antecedentes

La presencia del conejo de monte (*Oryctolagus cuniculus*) se asocia en la Península Ibérica al incremento de la riqueza de especies endémicas de flora y fauna. De hecho, en los ecosistemas mediterráneos ibéricos se considera al conejo como "ingeniero de los ecosistemas" y "especie clave" multifuncional (Delibes-Mateos et al. 2008a). Desgraciadamente, la mayor parte de sus poblaciones en áreas naturales han disminuido desde la segunda mitad del siglo XX. La fragmentación y pérdida de hábitat favorable, y especialmente las enfermedades virales, han sido los principales factores asociados a su declive en estas regiones (ej. Delibes-Mateos et al. 2009; Villafuerte et al. 2017; Villafuerte & Delibes-Mateos 2019). Paradójicamente el conejo también juega un papel negativo, siendo un problema creciente en regiones agrícolas de España en las que causa graves daños a la agricultura y a grandes y medianas infraestructuras (vías férreas, carreteras, embalses de riego, etc.). Estos daños a la agricultura no son recientes como demuestra el hecho de que Estrabón ya los citaba en algunas regiones ibéricas y baleares hace más de dos mil años. Sin embargo, el incremento de autovías y vías férreas en las últimas décadas parece haber contribuido de manera importante a la magnificación y extensión del problema de daños (Ríos-Saldaña et al. 2013; Delibes-Mateos et al. 2014, 2018a).

Por todo ello, cada vez es más habitual la captura en vivo de conejos en áreas agrícolas donde la especie es abundante o/y provoca daños y trasladarlos a zonas donde escasea y es demandada para ayudar a la conservación del medio natural o por su interés como especie cinegética (i.e. Ferreira et al. 2009; Rouco et al. 2016). Sin embargo, esta medida de gestión presenta riesgos genéticos y sanitarios asociados, existiendo mucha controversia en su empleo (ej. Carro et al. 2019), hasta el punto de que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) recomienda desde hace años no realizar repoblaciones con animales silvestres (Moreno et al. 2004). Uno de los riesgos genéticos más importantes de esta medida de gestión está relacionado con el hecho de que existen dos linajes que han sido asociados a dos subespecies de conejo (*Oryctolagus cuniculus cuniculus* y *O. c. algirus*). Estas subespecies difieren ampliamente de acuerdo con múltiples marcadores genéticos, por lo que es crucial evitar el mestizaje de ambas a través de repoblaciones (ver por ejemplo Delibes-Mateos et al. 2008b).

Múltiples evidencias genéticas indican que las dos subespecies de conejo de monte evolucionaron de manera independiente durante un periodo de casi dos millones de años, confiriéndoles características genéticas únicas (Alves et al. 2008). De hecho,

son cada vez más los estudios científicos que han ido mostrando diferencias parasitológicas, comportamentales, reproductivas y morfológicas entre las dos subespecies de conejos (ej. Sharples et al. 1996; Ferreira et al. 2015; Vaquerizas et al. 2021). Estas diferencias, junto con la evidencia reciente de incompatibilidades genómicas y aislamiento reproductivo parcial (ej. Geraldès et al. 2009; Carneiro et al. 2013, Rafati et al. 2018), han planteado la cuestión de si *O. c. algirus* y *O. c. cuniculus* son especies nacies o ya pueden incluso considerarse especies distintas (Delibes-Mateos et al. 2018b; 2022).

Sin embargo, la discriminación entre subespecies requiere necesariamente del uso de técnicas moleculares. Este hecho no es realmente sorprendente si se tiene en cuenta el asombroso parecido existente entre muchos géneros muy distantes evolutivamente del Orden Lagomorpha. Un buen ejemplo de parecido entre especies distantes es el caso del conejo de monte con los conejos de cola de algodón americanos (*Sylvilagus floridanus*). Estos últimos, fueron introducidos en algunos países de Europa en los años setenta del siglo pasado, y son muy difícilmente distinguibles de los conejos de monte incluso por especialistas, requiriéndose análisis genéticos para su discriminación (Delibes-Mateos et al. 2018).

En todo caso, al final de la última glaciación, tras los largos periodos de aislamiento de las dos subespecies en sus respectivos refugios glaciares, ambas fueron colonizando de nuevo la Península hasta encontrarse en una zona de contacto que se extiende en una diagonal del NW al SE de la Península Ibérica (Branco et al. 2002; Geraldès et al. 2008; Fig. 1).

A pesar de los miles de años de contacto, Geraldès et al. (2008) han comprobado que existe un elevadísimo nivel de diferenciación en el cromosoma sexual Y entre las dos subespecies a ambos lados de una estrecha zona híbrida. Esto en principio confirmaría la existencia de cierto aislamiento reproductivo entre los dos taxones, lo que contribuiría a mantener relativamente estable la franja de hibridación (Geraldès et al. 2008; Carneiro et al. 2013; Rafati et al. 2018). Es importante tener en cuenta que el mapa de distribución de ambas subespecies ha sido realizado en base a un relativo pequeño número de muestras y poblaciones (ej. 30 poblaciones en el caso de Geraldès et al. 2009), por lo que su definición es todavía mejorable, especialmente en la zona de contacto (ej. Díaz-Ruiz et al. en prensa).

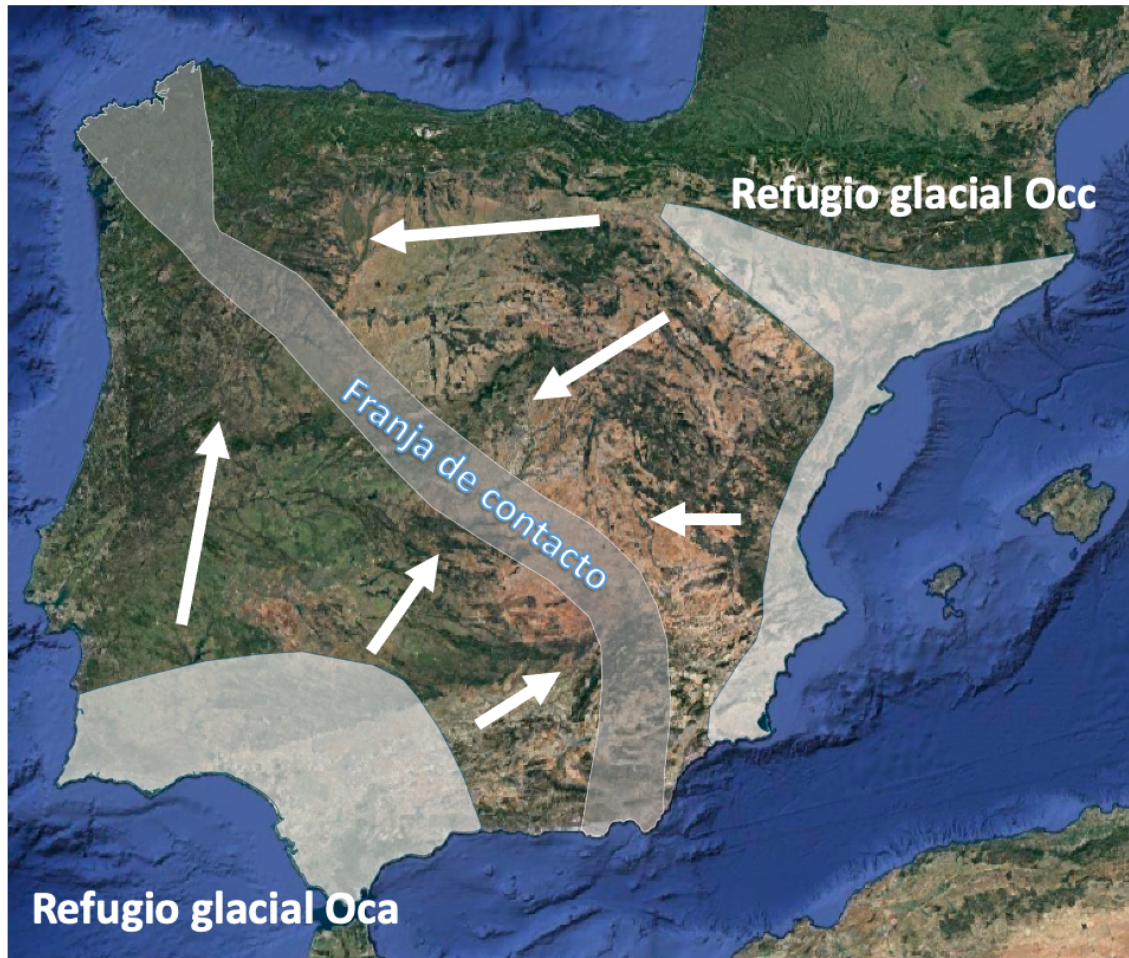


Figura 1. Distribución geográfica aproximada de la franja de contacto propuesta entre las dos subespecies de conejos y que delimita sus áreas de distribución en la península Ibérica (modificado de Geraldès *et al.* 2008). Las áreas marcadas en gris claro representan supuestos refugios glaciares y las flechas blancas indican las rutas de dispersión postglacial propuestas por Branco *et al.* (2002).

De esta forma, Castilla-la Mancha es una de las pocas regiones del mundo donde coexisten las dos subespecies de conejo de manera natural, por lo que es importante caracterizar el mayor número de poblaciones posible, y en especial a las principales poblaciones empleadas como donadoras en repoblaciones. Por este motivo, la Junta de Comunidades de Castilla-la Mancha encargó en 2011 un estudio para la elaboración de análisis genéticos y sanitarios del conejo en la Comunidad (Castro y Villafuerte 2012). En el estudio se caracterizaron genéticamente 35 poblaciones encontrando: a) una presencia generalizada de las dos subespecies en algunas zonas de Toledo, Albacete y Ciudad Real; b) que en Guadalajara y Cuenca (especialmente en la zona norte) predominaba *O. c. cuniculus*; y c) que en la zona suroeste de Ciudad Real existía una mayor preponderancia de *O. c. algirus*. Se trataba claramente de la caracterización

genética más completa que se había realizado de Castilla-La Mancha, siendo una de las más importantes abordadas con la especie hasta la fecha.

Adicionalmente, en 2021 la Consejería de Desarrollo Sostenible de la Junta de Comunidades de Castilla-la Mancha solicitó un nuevo estudio cuyo objetivo principal era caracterizar genéticamente algunas de las principales poblaciones donadoras de conejo en la Comunidad, y mejorar y actualizar el mapa de distribución genética de las poblaciones de conejo. A continuación, se muestra el diseño metodológico y los principales resultados y conclusiones de ese estudio.

Diseño metodológico

Las muestras se han recolectado a partir de animales obtenidos mediante distintos procedimientos. Por un lado, una importante cantidad de muestras se han obtenido aprovechando la captura en vivo de los conejos en sus madrigueras con la ayuda de hurones (*Mustela furo*) durante actividades de control de las poblaciones que causan daños a los cultivos. Por otro lado, gracias a la colaboración de la Federación Castellano-Manchega de caza, o a través del contacto con agentes medio-ambientales, se han podido obtener muestras durante la temporada cinegética o durante jornadas de caza para control de daños. En el caso de muestreos realizados capturando animales en vivo directamente en sus madrigueras, se extraían un número máximo de 4-5 conejos por cada madriguera para evitar pseudo-replicación, es decir, evitar sobre-representar ejemplares de una misma familia, y por tanto con elevados niveles de consanguinidad. Se ha intentado que la muestra de cada población estuviese constituida al menos por 20 ejemplares, lo que ha resultado más difícil en aquellas zonas en las que los conejos eran poco abundantes.

Con la finalidad última de mejorar el mapa genético del conejo, y dado que los muestreos genéticos realizados en el pasado en la Comunidad fueron llevados a cabo por parte de este mismo equipo investigador (Castro y Villafuerte 2012), se han incorporado también algunas de aquellas muestras en este estudio para comprobar los resultados que se obtendrían en la actualidad, pero con las técnicas actuales (ver más adelante). En todos los casos, todas las muestras, tanto las obtenidas en el transcurso de este proyecto como del precedente, han sido obtenidas en presencia de miembros del equipo de investigación. Este es el protocolo que se sigue por nuestro grupo para comprobar que, al menos en el momento de su captura, se trata de muestras obtenidas fehacientemente de las zonas de interés.

Como protocolo básico, cada una de las poblaciones muestreadas se identificaba a través de sus coordenadas geográficas y, si era el caso, también se identificaban y

localizaban geográficamente las madrigueras muestreadas. Las muestras genéticas se basan en una pequeña porción de tejido epitelial obtenida de la oreja de cada conejo (aprox. 5 mm²) y que es preservada en botes individuales con etanol absoluto hasta el momento de la realización de los análisis genéticos. La extracción de muestras, tanto de animales muertos como de ejemplares vivos, es poco invasiva y en todos los casos ha sido realizada por nuestro equipo. En aquellas ocasiones en las que ha sido necesario practicar la eutanasia a los animales, ésta se ha realizado por métodos humanitarios siguiendo las recomendaciones establecidas para el conejo (Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo; *Laboratory Animals*, 1997, 31(1):1-32).

Como viene siendo habitual en nuestro grupo de investigación, los análisis genéticos se han realizado en colaboración con el CBIO-InBIO (Universidad de Oporto). Allí se han desarrollado distintas técnicas moleculares analíticas en las últimas décadas que han ido evolucionando para incorporar mayor número de marcadores y ser más eficientes en la discriminación (i.e. Queirós et al. 2019). En este estudio se han empleado tales técnicas para el análisis de todas las muestras obtenidas este año y el anterior y para re-analizar algunas muestras recolectadas en proyectos previos. En estos casos, el análisis molecular involucra un total de 32 marcadores de ADN, basados en polimorfismos de nucleótido único (SNP), un tipo de polimorfismo que produce una variación en un solo par de bases. Ocho de estos marcadores han sido descritos previamente como discriminantes para la detección de animales de procedencia doméstica, mientras que los 24 SNPs restantes determinan la subespecie (*Oryctolagus cuniculus algerius* y *O. c. cuniculus*; Queirós et al. 2019).

Hasta la fecha, los análisis realizados se realizaban mediante la técnica RFLP (Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción), consistente en realizar una PCR del fragmento deseado y una digestión con enzimas de restricción específicas para cada marcador. Aunque la metodología empleada hasta ahora permitía una buena discriminación entre las dos subespecies, el mayor número de marcadores empleado actualmente implica mayor precisión en la evaluación.

Para simplificar la exposición de los resultados, se presentarán de manera independiente los resultados correspondientes al ADN mitocondrial (heredado exclusivamente de la madre indicando de alguna manera los linajes de las dos subespecies), los correspondientes a los marcadores autosómicos y los del cromosoma sexual X (compartimentos genómicos heredados de padres y madres indistintamente), y por último el cromosoma sexual Y (trasmitido exclusivamente por los padres a los hijos varones).

Resultados y conclusiones

En el transcurso de este proyecto se han analizado muestras obtenidas de más de 1705 conejos castellano-manchegos. De ellos, 279 conejos fueron capturados en vivo en campo en áreas de alta densidad durante este proyecto gracias a la ayuda de técnicos de la Junta de Comunidades, gestores cinegéticos, o empresas dedicadas a la captura en vivo. Otras 680 muestras han sido obtenidas de conejos capturados en vivo o cazados gracias a la colaboración de gestores cinegéticos y cazadores a través de otros proyectos y reanalizados con las nuevas técnicas mencionadas previamente. Adicionalmente, con la intención de mejorar la información relativa a la distribución de las subespecies, se han incluido en los resultados otras 754 muestras obtenidas también en el transcurso de proyectos recientes del equipo investigador tanto en la Comunidad autónoma como en otras zonas del área de distribución natural de la especie (Península Ibérica y sur de Francia; ej. Geraldès et al. 2009, Rafati et al. 2018, Díaz-Ruiz et al. en prensa).

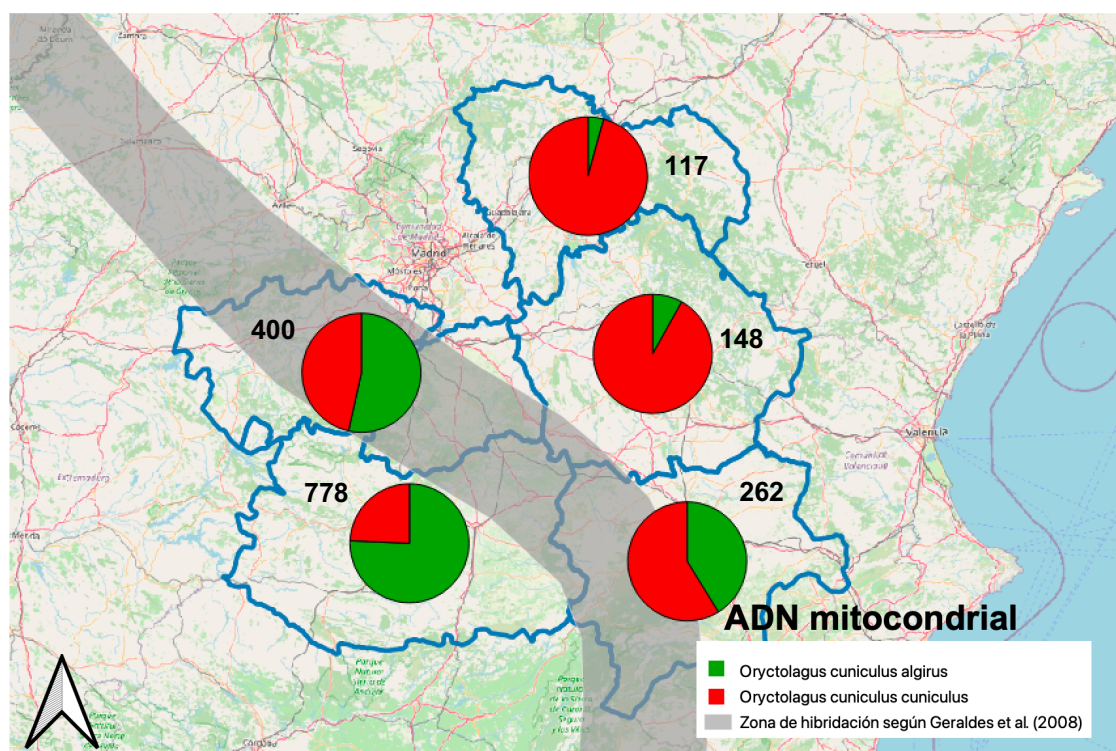


Figura 2. Representación de la proporción de conejos de cada linaje en función de las provincias donde fueron obtenidas las muestras. Se indica el número de conejos analizados. Se representa en gris la zona de hibridación propuesta por Geraldès et al. (2008).

Los resultados del análisis del ADN mitocondrial de 1705 conejos agrupados por provincias se representan en la Figura 2. En general, se aprecia que los ejemplares de

las poblaciones analizadas y localizadas en las provincias de Guadalajara y Cuenca pertenecen mayoritariamente al linaje correspondiente a la subespecie *O.c. cuniculus* (más del 90% en ambos casos), mientras que los conejos analizados procedentes de Ciudad Real pertenecen en su mayor parte (75%) al linaje de la subespecie *O.c. algirus*. Los conejos de las poblaciones de Albacete y Toledo tienen proporciones más parecidas, aunque predominando más la subespecie *O.c. cuniculus* en Albacete y *O.c. algirus* en Toledo (Fig. 2).

En la Figura 3 se representan los resultados de los análisis en función de las 12 comarcas cinegéticas de Castilla-la Mancha. No se dispone de información para tres comarcas cinegéticas (1, 5 y 12), pero se aprecia que en todas las comarcas parecen existir animales de ambos linajes, aunque las frecuencias varían claramente en el mencionado gradiente nordeste-suroeste (Fig. 3).

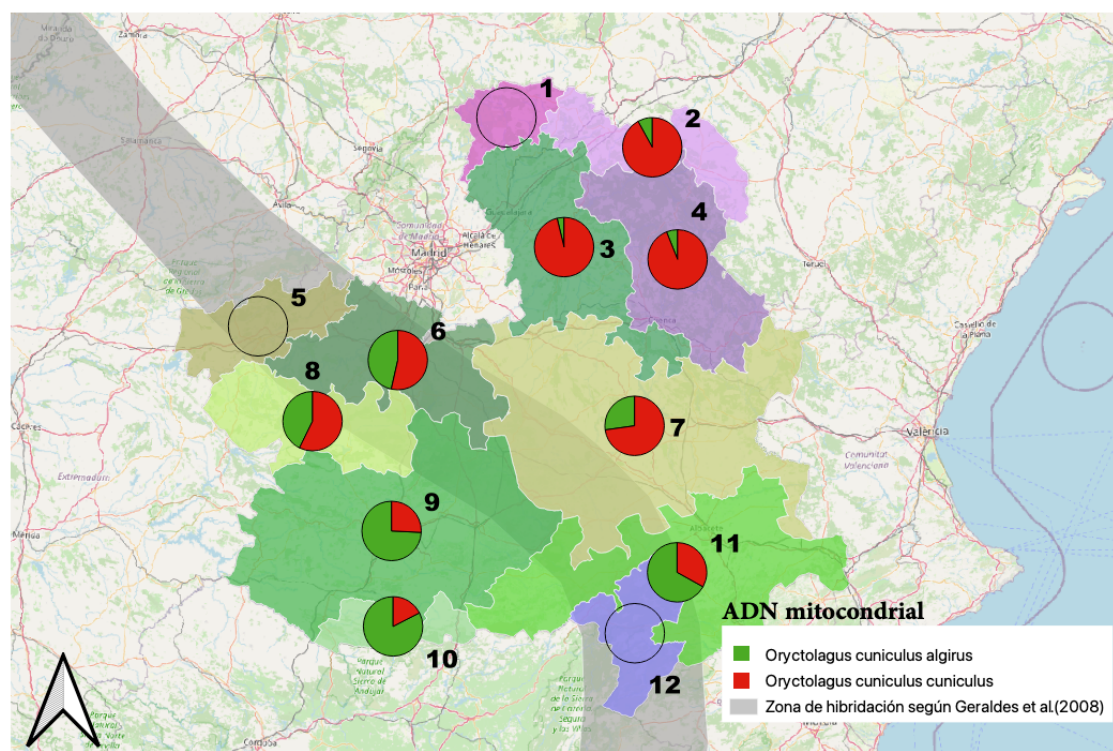


Figura 3. Representación de la proporción de conejos de cada linaje en función de las comarcas cinegéticas donde fueron obtenidas las muestras. Se indica en gris la zona de hibridación propuesta por Geraldès et al. (2008).

Con la salvedad de las cuatro comarcas del norte de la Comunidad, que básicamente corresponden al linaje *O.c. cuniculus* (rango 92 - 94%), todas las demás comarcas muestran altas proporciones de ambos linajes, pareciendo además que se corresponde en gran medida con la superficie que ocupan sobre la zona híbrida (Fig. 3).

Cuando se representan espacialmente y de manera individual la frecuencia de *O.c. algirus* y *O.c. cuniculus* de cada una de las 70 poblaciones muestreadas, se aprecia la existencia de un patrón algo más definido en la distribución de ambos linajes (Fig. 4). Es interesante indicar que casi el 80% de las poblaciones en las que se ha analizado el ADN mitocondrial muestran la existencia de ejemplares de ambos linajes, aunque la ocurrencia de uno de ellos se produzca en ocasiones en bajísima proporción. A pesar de ello, se distingue claramente la tendencia a que las poblaciones localizadas más al nordeste de la Comunidad correspondan mayoritariamente al linaje atribuible a la subespecie *O.c. cuniculus*, mientras que las poblaciones del suroeste tienden a pertenecer mayoritariamente al linaje *O.c. algirus* (Fig. 4). Los resultados están en plena concordancia con los estudios realizados con anterioridad en la Península (Branco et al. 2002; Geraldès et al. 2008; Díaz-Ruiz et al. en prensa), y especialmente con el estudio realizado en Castilla-la Mancha por Castro y Villafuerte en 2012.

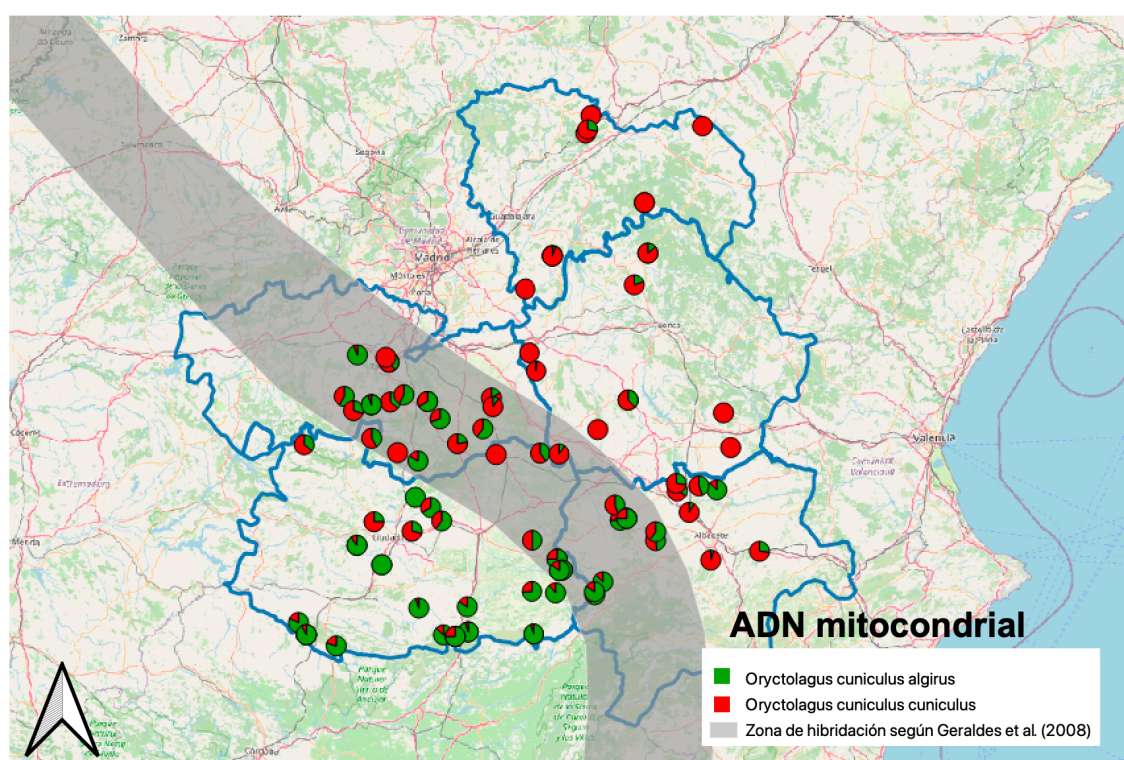


Figura 4. Representación espacial de los resultados del análisis del ADN mitocondrial indicando la proporción de animales de cada linaje en cada población. Se indica en gris la zona de hibridación propuesta por Geraldès et al. (2008).

Debe tenerse en cuenta que la introgresión de ADN mitocondrial de una subespecie (o especie) sobre la otra no es necesariamente un indicador de que exista una importante hibridación entre ambas subespecies (o especies). Un ejemplo de esto

se encuentra en otros lagomorfos ibéricos. Así, se ha comprobado que tanto la liebre ibérica (*Lepus granatensis*) como la liebre común (*Lepus europaeus*) de la Península presentan un ADN mitocondrial propio de la liebre variable o blanca (*Lepus timidus*), una especie propia del norte de Europa, pero que antes del último periodo glacial estuvieron en contacto permitiendo esta introgresión (i.e. Alves et al. (2003). Por tanto, el que se mantenga aparentemente la segregación de ejemplares de ambos linajes no hace más que apoyar que las dos unidades evolutivas (*O.c. cuniculus* y *O.c. algirus*) son realmente únicas y debe evitarse su mestizaje de manera artificial, por ejemplo, mediante repoblaciones cinegéticas de animales procedentes de poblaciones diferenciadas (ej. Delibes-Mateos et al. 2008b).

En la Figura 5 se representan los resultados de los marcadores autosómicos y del cromosoma sexual X. Como es lógico por tener un origen evolutivo común, siempre existe cierta presencia de marcadores de ambas subespecies en todas las poblaciones. Sin embargo, la proporción de ambas es máxima en la zona de hibridación, decayendo rápidamente a medida que se ubican adentrándose hacia los dominios propios de cada subespecie (Fig. 5). En conjunto, se aprecia de nuevo una diferenciación clara entre las subespecies en el mismo sentido que aparecía al analizar el ADN mitocondrial (ver Figura 4).

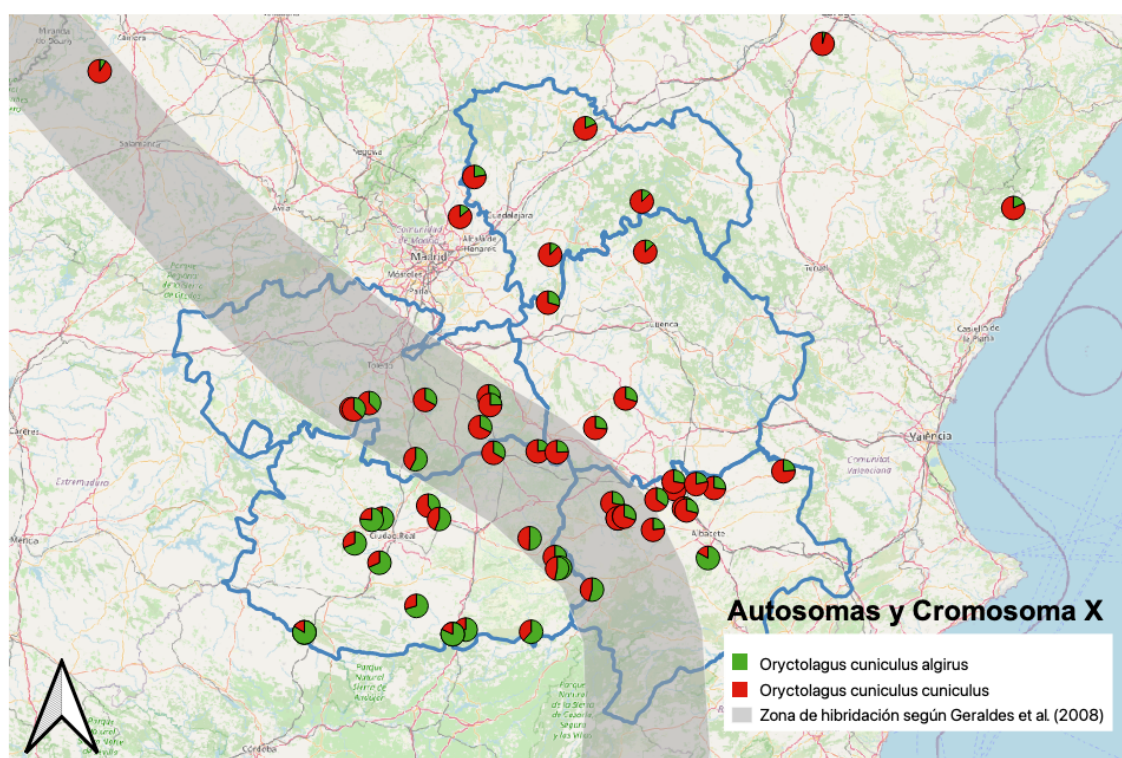


Figura 5. Representación espacial de los resultados del análisis poblacional con los marcadores autosómicos y del cromosoma sexual X, indicando la proporción de animales de cada subespecie en cada población. Se indica en gris la zona de hibridación propuesta por Gerales et al. (2008).

Los resultados correspondientes a los análisis con el ADN del cromosoma sexual Y se representan en la Figura 6. Estos resultados parecen ratificar todavía más claramente que la franja de transición o coexistencia entre ambas subespecies atraviesa la Comunidad en sentido noroeste-sureste. El cromosoma sexual Y es mucho más discriminante geográficamente que los obtenidos al analizar los otros compartimentos genéticos mostrados anteriormente. De hecho, sólo el 37% de las poblaciones analizadas mantienen simultáneamente animales varones de ambas subespecies, dejando nueva constancia a favor de la existencia del mencionado mecanismo de aislamiento reproductivo y del avanzado proceso de la especiación entre ambas formas genéticas.

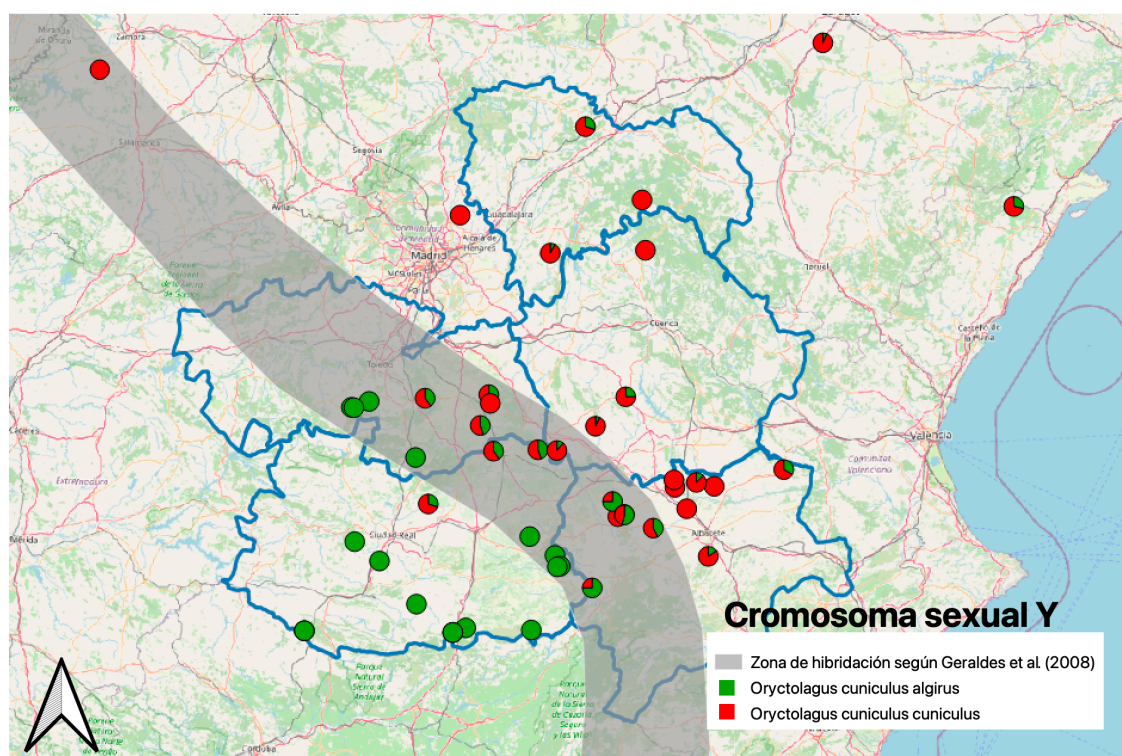


Figura 6. Representación espacial de los resultados del análisis del cromosoma sexual Y indicando la proporción de animales de cada subespecie en cada población. Se indica en gris la zona de hibridación propuesta por Geraldès et al. (2008).

Geraldès et al. (2008) convinieron asignar una anchura aproximada de unos 70 Km a la franja de hibridación entre ambas subespecies ante el desconocimiento de tal información en esa fecha. Los resultados del presente estudio indican que, aunque podría asumirse que los trazos globales de esa franja servirían para definir las zonas de transición entre una y otra subespecie, ciertamente no puede hablarse de límites

perfectamente claros. Precisamente, el estudio reciente de Díaz-Ruiz et al. (en prensa), basado en mayor número de poblaciones y empleando la lógica difusa, ha llegado a conclusiones muy similares en la región castellano manchega.

Como es lógico, la velocidad de expansión en la colonización de cada subespecie tras los periodos glaciares determinó la distribución de ambas formas, pero también entrarían en juego fenómenos biológicos y ambientales. Parece que tras establecerse un contacto entre ambos linajes se debieron originar distintos procesos de exclusión competitiva, entre los que estaría el aislamiento reproductivo parcial mencionado previamente. Por el momento desconocemos si la presencia de una subespecie en un área podría tal vez evitar la colonización de la otra, como fue testado en el Noreste de Estados Unidos con los conejos de cola de algodón de Nueva Inglaterra (*Sylvilagus transitionalis*) y de florida (*S. floridanus*) introducidos estos últimos por los cazadores (i.e. Probert y Litvaitis 1996; Litvaitis et al. 2018). También es destacable que las dos subespecies de conejo de monte parecen tener tendencias poblacionales recientes muy distintas en España. Por ejemplo, Vaquerizas et al. (2020), a través de un cuestionario dirigido a todos los técnicos provinciales de caza de España, comprobaron que la tendencia de la subespecie *O. c. algirus* era negativa de manera generalizada, mientras que era estable o positiva para la subespecie *O. c. cuniculus*.

Es evidente que las repoblaciones de conejo han hecho que con frecuencia muchos animales de una subespecie hayan sido liberados fuera de su área de distribución (ej. Delibes-Mateos et al. 2008b). Por desgracia, la facilidad de obtener animales de una u otra subespecie (distancia al lugar de origen, precio de venta, etc.) podrían influir más que sus propias características genéticas a la hora de seleccionar los animales. En general, en España son pocos los casos en los que se emplean conejos criados en cautiverio para ser liberados al medio natural. Además, los conejos criados en cautiverio suelen ser de origen doméstico y, afortunadamente, tienen una baja supervivencia una vez han sido liberados (Pioro et al. 2015). Por ello, en general los conejos empleados en repoblaciones para la conservación o la actividad cinegética provienen de poblaciones de conejo silvestre (Moreno et al. 2004; Cotilla y Villafuerte 2007; Carro et al. 2019).

Como es lógico, estas poblaciones donadoras deben tener conejos en relativa alta densidad, aunque esto puede variar con el tiempo. De hecho, muchas de estas poblaciones que antaño fueron donadoras de conejo requieren ahora de planes de recuperación (Cotilla y Villafuerte 2007). En la actualidad suele recurrirse a la captura de conejos de áreas donde producen daños a la agricultura o a las infraestructuras de

transporte como carreteras o vías férreas (ej. Delibes-Mateos et al. 2018a; Rouco et al. 2019).

Para permitir el control de los conejos de manera extraordinaria en esas zonas, el gobierno de Castilla-la Mancha delimita los municipios afectados declarando la "Comarca de Emergencia Cinegética Temporal por daños causados por el conejo". La Figura 7 es una repetición de la anterior (Fig. 6) en la que se incluye la zona de emergencia temporal declarada en 2022 (Resolución 2022/1361 de 16/02/2022).

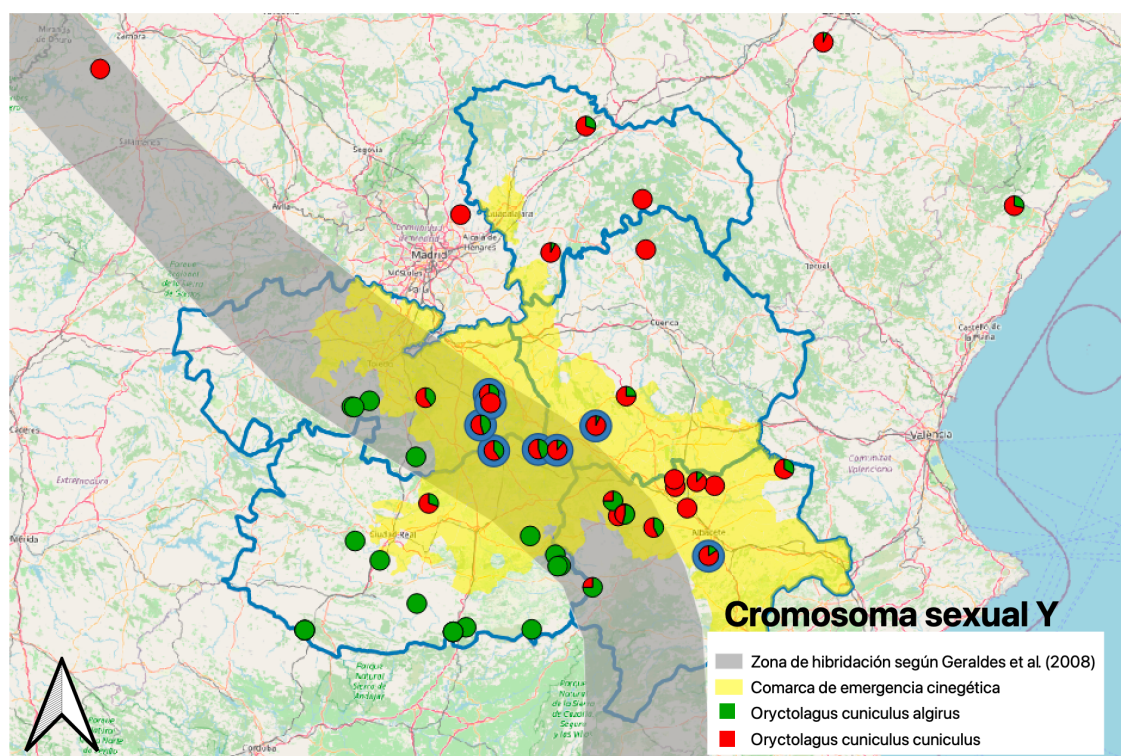


Figura 7. Representación espacial de los resultados del análisis del cromosoma sexual Y (ver Figura anterior para más detalles). Se indica en amarillo la comarca de emergencia cinegética de Castilla-la Mancha de 2022. En Azul se marcan algunas de las poblaciones de conejo donadoras muestreadas en este estudio.

En la Figura 7 se aprecia bastante claramente que las poblaciones de los municipios enclavados en la comarca de emergencia cinegética corresponden mayoritariamente a la subespecie *O. c. cuniculus*, o mixtas (i.e. con ejemplares de *O. c. cuniculus* y *O. c. algirus*). Salvo algunas excepciones, las poblaciones castellano-manchegas muestreadas en la zona situada al norte de la comarca de emergencia pertenecen básicamente a *O. c. cuniculus*, mientras que las del sur de esta comarca de emergencia corresponden mayoritariamente a la especie *O. c. algirus* (Fig. 7).

Por consiguiente, los animales analizados capturados en zonas de daños a la agricultura pertenecen en gran medida a poblaciones de la subespecie *O.c. cuniculus* o bien son mixtas. Sin embargo, ninguna de las poblaciones analizadas de alta abundancia en la zona de daños corresponde mayoritariamente a la subespecie *O. c. algirus*. Este dato es muy importante, puesto que si se pretende incrementar poblaciones de esta subespecie (que como hemos visto estarían situadas en el suroeste de la Comunidad), en principio no deberían emplearse animales provenientes de los municipios de la comarca de emergencia cinegética sin análisis genéticos previos confirmatorios. Sin embargo, estos animales sí que podrían ser potencialmente liberados dentro de esta misma comarca.

Si bien deberían identificarse genéticamente todas las poblaciones (tanto donadoras como receptoras de conejos en repoblaciones), es evidente que algunas de estas zonas de daños podrían servir para recuperar poblaciones de buena parte de la Comunidad (puesto que existen poblaciones donadoras claramente pertenecientes casi en exclusividad a *O. c. cuniculus*), pero nunca las de la zona perteneciente a *O. c. algirus*.

Desde hace años, el conejo de monte en la Península Ibérica está incluido en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN como "Amenazada", debido al acusado descenso de sus poblaciones observado en las últimas décadas (Villafuerte & Delibes-Mateos 2019). Sin embargo, ya se ha mencionado que esta tendencia no parece haber sido igual para ambas subespecies (más acusada para *O. c. algirus*; Vaquerizas et al. 2020). Puesto que las repoblaciones son una de las medidas de gestión más empleadas por los gestores cinegéticos y de conservación, es crucial que se regule con cuidado esta práctica para evitar la pérdida del acervo genético de los conejos o interferir en la ya compleja diferenciación genética que tienen las dos subespecies de conejo en este avanzado estado de su especiación. En este sentido no debe olvidarse que incluso se plantea su diferenciación en dos especies distintas debido a sus múltiples diferencias (ej. Rafati et al. 2018; Vaquerizas et al. 2020; Piorno et al. 2020). Permitir la hibridación artificial, es decir, provocada por los traslados de los conejos por los humanos, no hace más que suponer una importante amenaza a la conservación de esta especie.

Desde el mundo científico se está insistiendo desde hace pocos años en la necesidad de mantener una doble gestión (para cada subespecie), dadas las evidentes diferencias entre ambos linajes (ej. Vaquerizas et al. 2020; 2021; Delibes-Mateos et al. 2018b; Díaz-Ruiz et al. en prensa). Evidentemente, este es un problema realmente importante en áreas como Castilla-la Mancha, donde las dos subespecies cohabitan desde hace miles de años de manera natural.

A modo de breve resumen de lo anteriormente expuesto, se recomienda:

- 1) Realizar mayores muestreos en las áreas poco estudiadas hasta la fecha. Se trata básicamente de una buena parte de Guadalajara y Cuenca, el oeste de las provincias de Toledo y Ciudad Real, y el sur de Albacete.
- 2) Identificar las áreas donde se encuentran las poblaciones donadoras más importantes, y teniendo en cuenta que se trata de áreas dinámicas en el tiempo y el espacio, realizar análisis genéticos en todas las que sea posible.
- 3) Aun teniendo en cuenta que posiblemente se trate de zonas de baja densidad, se debe promover que se realicen análisis genéticos de las poblaciones receptoras, pero teniendo en cuenta que en la zona han podido existir previamente repoblaciones, por lo que los resultados tendrán que analizarse con cautela.
- 4) Evitar las repoblaciones de animales de poblaciones de las comarcas de emergencia cinegética en las áreas que presumiblemente deberían estar ocupadas por *O. c. algirus* (sur de Ciudad Real y oeste de Toledo). Para estas zonas, debería intentar buscarse posibles poblaciones donadoras de *O. c. algirus* que deberían ser debidamente analizadas.
- 5) Evitar en la medida de lo posible liberar animales de poblaciones mixtas en áreas alejadas de la zona de contacto entre las dos subespecies, y nunca en la zona exclusiva de *O. c. algirus* mencionada previamente.
- 6) La simple diferenciación de poblaciones por provincias o comarcas cinegéticas (ej. para permitir el traslado dentro de la misma comarca), no es en absoluto aconsejable dada la alta variabilidad de los conejos dentro de cada una de estas regiones y la falta de poblaciones donadoras apropiadas.
- 7) Ante la duda, debería al menos prevalecer la liberación de animales provenientes de poblaciones silvestres donadoras ubicadas en las proximidades.

Referencias

- Alves, P.C., Ferrand, N., Suchentrunk, F., & Harris, D.J. (2003). Ancient introgression of *Lepus timidus* mtDNA into *L. granatensis* and *L. europaeus* in the Iberian Peninsula. *Molecular phylogenetics and evolution*, 27(1), 70-80.
- Alves, P.C., Ferrand, N., Hackländer K. (eds) (2008) Lagomorph biology: evolution, ecology and conservation. Springer, Berlin
- Branco, M., Monnerot, M., Ferrand, N., & Templeton, A.R. (2002). Postglacial dispersal of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) on the Iberian Peninsula reconstructed from nested clade and mismatch analyses of mitochondrial DNA genetic variation. *Evolution*, 56(4), 792-803.
- Carro, F., Ortega, M., & Soriguer, R.C. (2019). Is restocking a useful tool for increasing rabbit densities?. *Global Ecology and Conservation*, 17, e00560.
- Castro, F. & Villafuerte, R. (2012). Elaboración de análisis genéticos-sanitarios del conejo de monte en Castilla-La Mancha. Proyecto LIFE07/NAT/E/000742 "Priorimancha".
- Cotilla, I., & Villafuerte, R. (2007). Rabbit conservation: models to evaluate the effects of timing of restocking on recipient and donor populations. *Wildlife Research*, 34(4), 247-252.
- Delibes-Mateos, M., Delibes, M., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2008a). Key role of European rabbits in the conservation of the Western Mediterranean basin hotspot. *Conservation Biology*, 22(5), 1106-1117.
- Delibes-Mateos, M., Ramírez, E., Ferreras, P. & Villafuerte, R. (2008b). Translocations as a risk for the conservation of European wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* lineages. *Oryx*, 42(2), 259-264.
- Delibes-Mateos, M., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2009). European rabbit population trends and associated factors: a review of the situation in the Iberian Peninsula. *Mammal review*, 39(2), 124-140.
- Delibes-Mateos, M., Ferreira, C., Rouco, C., Villafuerte, R. & Barrio, I.C. (2014). Conservationists, hunters and farmers: the European rabbit *Oryctolagus cuniculus* management conflict in the Iberian Peninsula. *Mammal Review*. 40: 190-203
- Delibes-Mateos, M., Farfán, M. Á., Rouco, C., Olivero, J., Márquez, A. L., Fa, J. E., Vargas, J.M. & Villafuerte, R. (2018a). A large-scale assessment of European rabbit damage to agriculture in Spain. *Pest Management Science*, 74(1), 111-119.
- Delibes-Mateos, M., Villafuerte, R., Cooke B et al (2018b) *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758). In: Smith AT, Johnston CH, Alves PC et al (eds) Lagomorphs: pikas, rabbits and hares of the world. John Hopkins University Press, Baltimore, pp 99–104
- Delibes-Mateos, M., Castro, F., Piorno, V., Ramírez, E., Blanco-Aguilar, J. A., Aparicio, F., ... & Villafuerte, R. (2018c). First assessment of the potential introduction by hunters of eastern cottontail rabbits (*Sylvilagus floridanus*) in Spain. *Wildlife Research*, 45(7), 571-577.
- Delibes-Mateos, M., Arroyo, B., Ruiz, J., Garrido, F.E., Redpath, S. & Villafuerte, R. (2020). Conflict and cooperation in the management of European rabbit *Oryctolagus cuniculus* damage to agriculture in Spain. *People and Nature*, 2(4), 1223-1236.
- Delibes-Mateos, M., Rödel, H.G., Rouco, C., Alves, P.C., Carneiro, M. & Villafuerte, R. (2022). European Rabbit *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758). In *Handbook of the Mammals of Europe* (pp. 1-39). Cham: Springer International Publishing.

- Díaz-Ruiz, F., Vaquerizas, P.H., Márquez, A.L., Delibes-Mateos, M., Piorno, V., Castro, F., Ramírez E., Farfán, M.A., Olivero, J., Real, R. & Villafuerte, R. (en prensa). Unravelling the historical biogeography of the European rabbit subspecies in the Iberian Peninsula. *Mammal Review*.
- Ferreira, C., Ramírez, E., Castro, F., Ferreras, P., Alves, P.C., Redpath, S. & Villafuerte, R. (2009). Field experimental vaccination campaigns against myxomatosis and their effectiveness in the wild. *Vaccine*, 27(50), 6998-7002.
- Ferreira, C.C., Castro, F., Piorno, V., Barrio, I.C., Delibes-Mateos, M., Rouco, C., ... & Villafuerte, R. (2015). Biometrical analysis reveals major differences between the two subspecies of the European rabbit. *Biological Journal of the Linnean Society*, 116(1), 106-116.
- Geraldes, A., Carneiro, M., Delibes-Mateos, M., Villafuerte, R., Nachman, M.W., & Ferrand, N. (2008). Reduced introgression of the Y chromosome between subspecies of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in the Iberian Peninsula. *Molecular Ecology*, 17(20), 4489-4499.
- Litvaitis, J.A., Barbour, M.S., Brown, A.L., Kovach, A.I., Litvaitis, M.K., Oehler, J.D., ... & Villafuerte, R. (2008). Testing multiple hypotheses to identify causes of the decline of a lagomorph species: the New England cottontail as a case study. In *Lagomorph biology* (pp. 167-185). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Moreno, S., Villafuerte, R., Cabezas, S. & Lombardi, L. (2004). Wild rabbit restocking for predator conservation in Spain. *Biological Conservation*, 118(2), 183-193.
- Piorno, V., Villafuerte, R., Branco, M., Carneiro, M., Ferrand, N., & Alves, P.C. (2015). Low persistence in nature of captive reared rabbits after restocking operations. *European Journal of Wildlife Research*, 61(4), 591-599.
- Piorno, V., Arroyo, B., Delibes-Mateos, M., Castro, F. & Villafuerte, R. (2020). European rabbit hunting: Management changes and inertia in the governance system in a period of population fluctuations. *Journal for Nature Conservation*, 56, 125832.
- Probert, B.L. & Litvaitis, J.A. (1996). Behavioral interactions between invading and endemic lagomorphs: Implications for conserving a declining species. *Biological Conservation*, 76(3), 289-295.
- Queirós, J., Carneiro, M. Lopes, S. & Alves, P.C. (2019). Selvagem ou doméstico? *algirus* ou *cuniculus*? uma nova análise para inferir a integridade genética das subespécies de coelho-bravo em Espanha e Portugal. I Congresso Ibérico de Ciência Aplicada aos Recursos Cinegéticos. Ciudad Real, 1-4 Julio 2019.
- Rafati, N., Blanco-Aguilar, J.A., Rubin, C.J., Sayyab, S., Sabatino, S.J., Afonso, S., ... & Carneiro, M. (2018). A genomic map of clinal variation across the European rabbit hybrid zone. *Molecular ecology*, 27(6), 1457-1478.
- Ríos-Saldaña, C.A., Delibes-Mateos, M., Castro, F., Martínez, E., Vargas, J.M., Cooke, B.D. & Villafuerte, R. (2013). Control of the European rabbit in central Spain. *European journal of wildlife research*, 59(4), 573-580.
- Rouco, C., Farfán, M.A., Olivero, J., Arias de Reyna, L., Villafuerte, R. & Delibes-Mateos, M. (2019). Favourability for the presence of wild rabbit warrens in motorway verges: Implications for the spread of a native agricultural pest species. *Ecological Indicators*, 104, 398-404.
- Sharples, C.M., Fa, J.E. & Bell, D.J. (1996). Geographical variation in size in the European rabbit *Oryctolagus cuniculus* (Lagomorpha: Leporidae) in western Europe and North Africa. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 117(2), 141-158.

Vaquerizas, P.H., Delibes-Mateos, M., Piorno, V., Arroyo, B., Castro, F. & Villafuerte, R. (2020). The paradox of endangered European rabbits regarded as pests on the Iberian Peninsula: trends in subspecies matter. *Endangered Species Research*, 43, 99-102.

Vaquerizas, P.H., Santoro, S., Delibes-Mateos, M., Castro, F. & Villafuerte, R. (2021). Keeping an eye on the use of eye-lens weight as a universal indicator of age for European wild rabbits. *Scientific Reports*, 11(1), 1-8.

Villafuerte, R., Castro, F., Ramírez, E., Cotilla, I., Parra, F., Delibes-Mateos, M., ... & Rouco, C. (2017). Large-scale assessment of myxomatosis prevalence in European wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) 60 years after first outbreak in Spain. *Research in Veterinary Science*, 114, 281-286.

Villafuerte, R. & Delibes-Mateos, M. (2019) *Oryctolagus cuniculus*. The IUCN red list of threatened species 2019: e.T41291A45189779.