

Translocações e repovoamentos importância da certificação genética e sanitária do coelho-bravo

Em Portugal, tal como no resto da Península Ibérica, as populações de coelho têm decrescido nas últimas décadas devido à emergência de duas doenças de origem viral.

TEXTO: MARGARIDA DUARTE, CARINA CARVALHO, FÁBIO SANTOS, JÉSSICA MONTEIRO (INIAV); PAULO CÉLIO ALVES, PEDRO MONTERROSO, MUNO SANTOS, ANA SERRONHA, JOÃO QUEIRÓS, JOANA ABRANTES, ANA LOPES, PEDRO ESTEVES (CIBIO-INBIO); PATRÍCIA TAVARES SANTOS, PEDRO MELO (DGAV); GONÇALO LOPES, ANA HORA (ICNF)
FOTOS: ISTOCK



Aliados aos fatores sanitários, a excessiva pressão cinegética, as mudanças no uso do solo e a consequente alteração da cobertura vegetal, bem como o abandono das práticas agrícolas tradicionais e a intensificação da agricultura, reduziram progressivamente as populações selvagens de coelho-bravo, bem como as condições favoráveis de alimentação, reprodução e de refúgio outrora existentes.

Por forma a manter os ecossistemas naturais, os proprietários rurais, os gestores de caça, os caçadores, conservacionistas e investigadores concordam que a sustentabilidade das populações cinegéticas, e da biodiversidade em geral, depende de todos. Para atingir este fim, os intervenientes do mundo rural têm investido meios, disponibilizando frequentemente territórios e proporcionando condições de habitat mais favoráveis ao estabelecimento e equilíbrio das espécies cinegéticas através de múltiplas ações, principalmente focando o fomento de refúgio e a disponibilização de alimento através de sementeiras ou de distribuição de alimento em comedouros artificiais.

Com o propósito de assegurar resultados de exploração mais imediatos, quer para repor rapi-



A excessiva pressão cinegética, as mudanças no uso do solo e a consequente alteração da cobertura vegetal, bem como o abandono das práticas agrícolas tradicionais e a intensificação da agricultura, reduziram progressivamente as populações selvagens, bem como as condições favoráveis de alimentação, reprodução e de refúgio outrora existentes.

damente densidades de coelho-bravo consideradas insuficientes, quer para satisfazer os resultados de exploração, a par de um conjunto de medidas muito positivas para a estimulação do crescimento das populações, são frequentemente adotadas algumas práticas de gestão não

recomendáveis. Disto é exemplo a aquisição e/ou translocação de animais de forma ilegal e sem apoio técnico especializado que são praticadas sem uma prévia avaliação genética e/ou sanitária. Estas práticas de gestão colocam em risco sanitário as populações recetoras, pois

pode ocorrer a introdução inadvertida de agentes patogénicos inexistentes anteriormente, bem como comprometer seriamente a integridade genética da subespécie *O. c. algirus*, conduzindo, a longo termo, a um decréscimo ainda mais pronunciado dessas populações. ▶



É fundamental garantir que os animais introduzidos provenham de regiões de ocorrência da subespécie *O. c. algirus*, respeitando assim o património genético das populações locais. Na foto, um exemplar de *Oryctolagus cuniculus cuniculus*.

RISCOS ASSOCIADOS À TRANSLOCAÇÃO DOS ANIMAIS

A translocação de animais consiste no movimento artificial promovido pelo homem de animais vivos da sua área de origem para libertação numa área recetora. No entanto, o seu sucesso depende da correta avaliação dos animais a serem translocados, da demografia da população recetora, das características do local de destino, e da capacidade dos animais translocados colonizarem a área, isto é, de se instalarem e se reproduzirem. Os aspetos sanitários e genéticos são, pois, de extrema importância na avaliação destes movimentos.

Assim, a **avaliação dos riscos, envolvendo uma análise cuidada das populações fonte e recetoras**, e seus habitats, é um pré-requisito que deve ser garantido em todas as ações de gestão cinegética que envolvem movimentação de animais.

As translocações de animais efetuadas no território nacional movimentam frequentemente espécimes oriundos de Portugal, mas também, e com elevada frequência, de Espanha e mesmo de França. É importante ressaltar que a **entrada de coelhos provindos**

de países terceiros, diretamente para repovoamento, é uma prática proibida por Lei (explanada nos pontos 4, 5, 6, 7 e 8 do artigo 10º da portaria nº464/2001 de 8 de maio). Uma vez que esta prática não é acompanhada das Guias de Transporte de Espécimes Cinegéticos, não está quantificada. É fundamental garantir que os animais introduzidos provenham de regiões de ocorrência da subespécie *O. c. algirus*, respeitando assim o património genético das populações locais. Deve também assegurar-se a boa condição sanitária dos animais e a inexistência de doenças contagiosas, como a mixomatose e a doença hemorrágica viral, através da realização de testes serológicos e virológicos.

AVALIAÇÃO DO ESTADO SANITÁRIO DOS ANIMAIS

A avaliação do estado sanitário das populações de leporídeos silvestres, nas suas vertentes de vigilância ativa (baseada na análise de órgãos recolhidos de animais caçados em época venatória) e passiva (baseada na análise de cadáveres recolhidos do campo), deve ser efetuada, sempre que possível, nos Laboratórios de

Referência para a Saúde Animal do INIAV, em Oeiras, uma vez que tanto a doença hemorrágica viral como a mixomatose são doenças de declaração obrigatória, na Europa e na comunidade internacional (<https://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2020/>).

A avaliação da condição sanitária dos leporídeos em vida, envolve o exame clínico dos animais (que compreende a avaliação do estado geral do animal, da sua condição corporal, do estado da sua pelagem e da existência de eventual parasitismo externo), e o exame laboratorial (realizado em matrizes passíveis de serem colhidas sem comprometer a integridade e bem-estar animal). Neste contexto, os testes virológicos efetuados a partir de amostras de sangue ou soro (preparado a partir de uma amostra de sangue colhido por punção venosa da veia marginal ou da artéria central da orelha, veia safena ou veia jugular externa (Figura 1)), de urina (recolhida por compressão do abdómen) ou de fezes (recolhidas da ampola retal, ou alternativamente por zaragatoa fecal), permitem detetar agentes



Figura 1. Recolha de sangue em vida. A recolha de sangue da veia jugular externa permite obter um volume maior do que aquele recolhido da veia marginal da orelha, mas constitui um ato médico pelos riscos associados.

patogénicos, ou os seus constituintes, possibilitando verificar se o animal está ou não infetado com agentes patogénicos relevantes, e se ocorre eliminação de vírus pelas fezes.

A eliminação de vírus pelos excrementos ou pela urina, contribui para a transmissão e disseminação da doença, com efeitos potencialmente devastadores para as populações recetoras.

Os métodos virológicos utilizados para o rastreio do vírus da mixomatose e da doença hemorrágica dos coelhos em amostras de sangue, fezes e urina, são essencialmente moleculares pela sua elevada sensibilidade e especificidade, e capacidade de automatização e rapidez de execução (Figura 2.).

AVALIAÇÃO SEROLÓGICA

A avaliação serológica (deteção de anticorpos específicos) dos animais a translocar, é efetuada a partir de amostras de sangue nos LNR do INIAV ou nos laboratórios do CIBIO, e permite avaliar a ocorrência de contacto prévio dos animais com agentes infecciosos. O contacto anterior com um determinado agente, pode constituir

uma mais-valia quando essa imunidade natural é protetora e não coexiste com infeção e eliminação de vírus. A avaliação do estado imunitário dos coelhos-bravos a translocar, ou das populações fonte, permite assim inferir o grau de imunidade às doenças víricas, nomeadamente à doença hemorrágica viral e a mixomatose, o que potencia a sobrevivência dos animais translocados.

A utilização de ferramentas moleculares de genotipagem, disponíveis para a avaliação genética das duas subespécies de coelho-bravo (*O. c. algirus* e *O. c. cuniculus*.) bem como do coelho doméstico, permite certificar previamente a integridade genética dos animais, e assim prevenir a potencial hibridação entre as duas subespécies, e com o coelho doméstico, que conduzirá à destruição do património genético das populações autóctones.

TESTES GENÉTICOS

Os testes genéticos, que envolvem a caracterização de vários marcadores moleculares, podem ser efetuados em laboratórios especializados em genética animal, como por exemplo no laboratório do CIBIO-INBIO, situado no Campus de Vairão em Vila do Conde. No caso dos testes genéticos, deverá ser recolhido tecido biológico, por exemplo uma biópsia da orelha. A amostra deverá ser colocada num pequeno frasco com álcool a 96%, numa proporção com pelo menos três vezes mais de álcool do que de tecido (ver Figura 3.). Deverá

ser colocado o código do animal no rótulo do frasco para posterior correspondência com o resultado da análise. A amostra em álcool deverá ser mantida à temperatura ambiente, e posteriormente enviada para o laboratório, devidamente acondicionada.

Enquanto enquadrados no Projeto +Coelho, estes testes são realizados sempre que necessário, para o cumprimento das medidas previstas.

MAIS VALIAS DA CERTIFICAÇÃO

É, pois, importante sensibilizar os gestores de caça, caso pretendam efetuar repovoamentos, para a necessidade de valorizarem e solicitarem aos seus fornecedores evidências documentais da qualidade dos animais que estão a adquirir. De igual forma, é fundamental que os produtores de coelho-bravo, sejam eles próprios também certificados, enquanto produtores desta espécie cinegética, e compreendam as vantagens éticas e comerciais de proporcionarem aos seus clientes, certificados genéticos e sanitários no momento da venda, como prova da qualidade na produção. Apenas o cumprimento do conjunto de boas práticas referidas anteriormente, por parte de todos os intervenientes nas ações de repovoamentos e translocações, ajudarão a preservar as populações puras de *O.c. algirus*, e a combater o hibridismo nas áreas geográficas a que esta sub-espécie está limitada. ■

Recolha de material biológico para análise genética

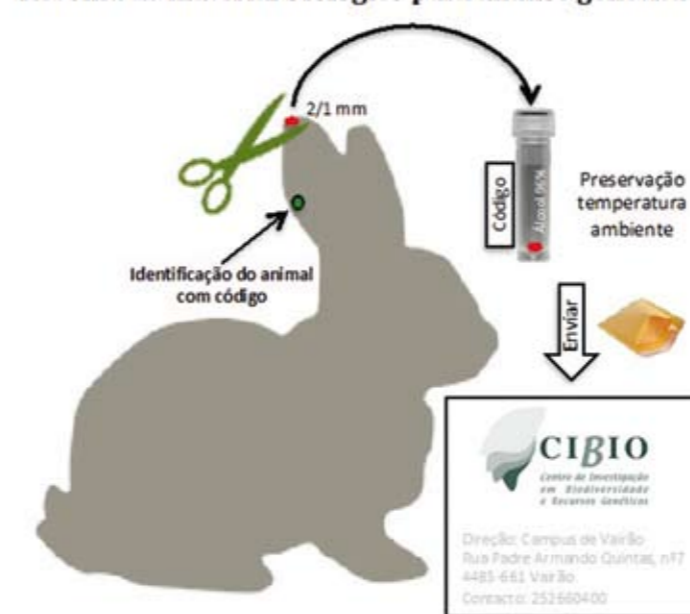


Figura 3. Procedimento para recolha de material biológico para posterior determinação da integridade genética da subespécie *Oryctolagus cuniculus algirus*.



Figura 2. Processamento das amostras no laboratório de Virologia do INIAV. As metodologias moleculares permitem a testagem de um número grande de amostras e pela sua sensibilidade e especificidade, constituem a primeira linha de diagnóstico virológico das doenças dos leporídeos.

COELHO-BRAVO: DUAS SUBESPÉCIES

O coelho-bravo, *Oryctolagus cuniculus*, é um pequeno mamífero herbívoro, pertencente à ordem dos Lagomorfos. Com origem na Península Ibérica, o coelho-bravo desempenha um papel chave na preservação dos ecossistemas mediterrânicos e da biodiversidade. Existem duas sub-espécies: *Oryctolagus cuniculus algirus*, com uma distribuição geográfica limitada ao Sudoeste da Península Ibérica, à Macaronésia e ao Norte de África, e *Oryctolagus cuniculus cuniculus*, que ocorre na região nordeste da Península Ibérica, além de extensas áreas geográficas onde foi introduzido, nomeadamente na Inglaterra, Europa Central, Austrália, Nova Zelândia e também na América do Sul, e da qual derivam todas as espécies domésticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Matthee, C.A., van Vuuren, B.J., Bell, D., Robinson, T.J., 2004. A molecular supermatrix of the rabbits and hares (Leporidae) allows for the identification of five intercontinental exchanges during the Miocene. *Syst. Biol.* 53, 433-47.
- Delibes-Mateos, M., Delibes, M., Ferreras, P., Villafuerte, R., 2008. Key role of European rabbits in the conservation of the Western Mediterranean basin hotspot. *Conserv. Biol.* 22, 1106-17.
- Branco, M., Ferrand, N., Monnerot, M., 2000. Phylogeography of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in the Iberian Peninsula inferred from RFLP analysis of the cytochrome b gene. *Heredity* (Edinb). 85, 307-317.
- Ferrand, N., Branco, M., 2007. The evolutionary history of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): major patterns of population differentiation and geographic expansion inferred from protein polymorphism, in: *Phylogeography of Southern European Refugia*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 207-235.
- Fenner, F.; Ratcliffe, FN. 1965. *Myxomatosis*. Cambridge University Press
- Ferreira, C.M.A. de C., Delibes-Mateos, M., 2010. Wild rabbit management in the Iberian peninsula: state of the art and future perspectives for Iberian lynx conservation. *Wildl. Biol. Pract.* 6.
- Cancelotti, F.M., Renzi, M., 1991. Epidemiology and current situation of viral haemorrhagic disease of rabbits and the European brown hare syndrome in Italy. *Rev. Sci. Tech.* 10, 409-22.
- Le Gall-Reculé, G., Zwingelstein, F., Boucher, S., Le Normand, B., Plassiard, G., Portejoie, Y., Decors, A., Bertagnoli, S., Guérin, J.-L., Marchandeu, S., 2011. Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France. *Vet. Rec.* 168, 137-8. doi:10.1136/vr.d697
- Duarte, M.D., Henriques, A.M., Barros, S., Luís, T., Fagulha, T., Ramos, F., Fevereiro, M., 2014a. New insight into the epidemiology of rabbit hemorrhagic disease viruses in Portugal: retrospective study reveals the circulation of genogroup 5 (G5) in Azores and discloses the circulation of G1 and G6 strains in mainland until 2008. *Infect. Genet. Evol.* 27, 149-55.
- Abrantes, J., Lopes, A.M., Dalton, K.P., Melo, P., Correia, J.J., Ramada, M., Alves, P.C., Parra, F., Esteves, P.J., 2013. New variant of rabbit hemorrhagic disease virus, Portugal, 2012-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 19, 1900-2.
- Moreno, S., Villafuerte, R., 1995. Traditional management of scrubland for the conservation of rabbits *Oryctolagus cuniculus* and their predators in Doñana National Park, Spain. *Biol. Conserv.* 73, 81-85.
- Trout, R.C., Tittensor, A.M., 1989. Can predators regulate wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* population density in England and Wales? *Mamm. Rev.* 19, 153-173.
- Ferreira, C., Alves, P., 2009. Influence of habitat management on the abundance and diet of wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus algirus*) populations in Mediterranean ecosystems. *Eur. J. Wildl. Res.* 55: 487.
- Beja, P., Pais, M., Palma, L., 2007. Rabbit *Oryctolagus cuniculus* Habitats in Mediterranean Scrubland: The Role of Scrub Structure and Composition. *Wildlife Biol.* 13, 28-37. doi:10.2981/0909-6396(2007)13[28:ROCHIM]2.0.CO;2
- Delibes-Mateos, M., Farfán, M.A., Olivero, J., Vargas, J.M., 2010. Land-use changes as a critical factor for long-term wild rabbit conservation in the Iberian Peninsula. *Environ. Conserv.* 37, 169-176.
- Monterroso, P., Queirós, J., Santos, N., Rodrigues, T.M., Rodrigues, M.M., Santos, E., Gonçalves, D. & Alves, P.C. 2016. Boas práticas na gestão cinegética. CIBIO/InBIO, ICNF & Câmara Municipal de Mértola.
- Ferreira, C. & Alves, P.C. 2006. Gestão de populações de Coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus algirus*). Federação Alentejana de Caçadores. 188pp.
- Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. 2010. Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother.* Jul;1(2):87-93.
- Abade dos Santos FA, Carvalho CL, Peleteiro MC, Gabriel SI, Patrício R, Carvalho J, Cunha MV, Duarte MD. 2019. Blood collection from the external jugular vein of *Oryctolagus cuniculus algirus* sedated with midazolam: live sampling of a subspecies at risk. *Wildlife Biology*: wlb.00588.
- Kurién BT, Everds NE, Scofield RH. 2004. Experimental animal urine collection: a review. *Lab Anim.* Oct;38(4):333-61.
- Duarte MD, Carvalho CL, Barros SC, Henriques AM, Ramos F, Fagulha T, Luís T, Duarte EL, Fevereiro M. 2015. A real time Taqman RT-PCR for the detection of rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDV2). *J. Virol. Methods.* 219, 90-95.
- Duarte MD, Barros SC, Henriques AM, Fagulha MT, Ramos F, Luís T, Fevereiro M. 2014b. Development and validation of a real time PCR for the detection of myxoma virus based on the diploid gene M000.5L/R. *J. Virol. Methods.* 196, 219-224.
- Esteves, P., Alves, P.C. & Ferrand, N. 2006. O uso de marcadores na gestão e conservação de populações de coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus algirus*): 11-30. In: C. Ferreira & P.C. Alves (Coord.). Gestão de populações de coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus algirus*). Federação Alentejana de Caçadores.
- 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 (CICARC), 1-4 de julho de 2019, Ciudad Real, Espanha.