

# Phylogeny, population structure and genetic diversity of dog breeds in the Iberian Peninsula and North Africa

Ana Elisabete Pires

Dissertação de Doutoramento em Biologia (Biologia Molecular)

Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

## Resumo

Esta dissertação refere-se a todas as raças caninas autóctones portuguesas e a outras com afinidades históricas e/ou genéticas - Mastim Espanhol, Sloughi, Aidi, e outros cães párias do Noroeste de África. Através de uma abordagem molecular pretendeu-se analisar: a variabilidade genética das raças, a sua estrutura populacional; a sua individualidade genética e o grau de diferenciação relativamente a cães párias; e ainda a sua filogenia. Relativamente aos registos no Clube Português de Canicultura, as raças caninas Portuguesas justificam apenas 17% destes, sendo as raças estrangeiras muito mais populares no nosso país. Todas as raças caninas autóctones são funcionais, consideradas marginais e classificadas como "Em Perigo" ou "Vulneráveis", sendo este critério unicamente baseado no número de fêmeas potencialmente reprodutoras. O Cão da Serra da Estrela, o Podengo Português e o Perdigueiro Português são claramente as raças mais populares. O Cão de Castro Laboreiro e Cão da Serra d'Aires, são, com base nos registos do Clube, as raças mais ameaçadas correndo um risco de extinção elevado, devido a factores demográficos imediatos. A metodologia empregue envolveu a análise de uma secção da região mais variável do ADN mitocondrial destes canídeos, a genotipagem de um conjunto de seis loci de microssatélites e 225 loci de AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms). Todos estes métodos baseiam-se na análise de marcadores neutrais uma vez que: a base molecular da diversidade morfológica e comporta mental destas raças não é inteiramente conhecida, apesar dos avanços no conhecimento do genoma canino e portanto uma análise extensiva unicamente baseada em marcadores codificantes não foi possível; uma vez que a maioria das variações a nível do ADN são não funcionais ou são inconsequentes para o organismo; e porque a maioria da variação intra e interespecífica são maioritariamente resultado de mutações neutrais. Todos estes marcadores moleculares, à excepção da metodologia de AFLPs, foram amplamente utilizados na espécie *Canis familiaris*, e desta forma foi possível a comparação das raças caninas nacionais com outras.

Foram recolhidas amostras de sangue, pêlo ou tecido de 247 indivíduos criteriosamente seleccionados tendo em consideração a sua tipicidade, proveniência geográfica e ascendência. Foram amostrados indivíduos sujeitos a pressões selectivas diferentes - animais de canicultura e de trabalho, uma vez que actualmente é possível recrutar novos indivíduos para a reprodução a qualquer momento. Desta forma pretendeu-se amostrar o máximo da variabilidade de cada raça. No Clube Português de Canicultura foi recolhida informação relativamente à ascendência dos indivíduos, permitindo desta forma evitar-se a amostragem de exemplares com ascendentes comuns, até à terceira geração, e consequentemente evitar a redundância genética.

A análise filogenética de haplotipos do ADN mitocondrial revelou o aparecimento de quatro clados já anteriormente descritos para o cão, tendo sido detectados novos haplotipos, específicos de certas raças, como sejam: Cão de Castro Laboreiro, Cão da Serra da Estrela, Cão da Serra d'Aires, Podengo Português, Mastim Espanhol, Aidi e Sloughi. Alguns destes haplotipos, pertencem a um clado referido como sendo geograficamente restrito, e foram pela primeira vez detectados em Portugal e Marrocos, alargando assim a área geográfica onde este clado é detectado. Dado não

se ter verificado o aparecimento de nenhum novo clado filogenético, não há evidências de fenómenos de domesticação do lobo independentes para as raças estudadas, dos já anteriormente descritos por outros autores. Foram incluídos haplotipos de lobo ibérico e verificou-se que estes segregam num clado com representação de todas as raças com excepção do Cão de Castro Laboreiro, Cão da Serra d'Aires, Aidi e Perdigueiro. A raça Cão de Castro Laboreiro revelou ser monomórfica, apresentando um haplotipo único e exclusivo, que pode ser, provisoriamente, considerado um marcador racial. Estes resultados enquadram-se com a história demográfica desta raça: um possível efeito fundador e deriva genética, um efectivo muito baixo ao longo do tempo, e uma reduzida área de distribuição geográfica. Não se verificou uma maior semelhança genética entre as raças de cães de gado - Cão de Castro Laboreiro, Cão da Serra da Estrela, Rafeiro do Alentejo e Mastim Espanhol, conforme esperado, devido aos fenómenos de transumância do passado. Durante as migrações anuais, de pastores, ovelhas e cães, em busca de melhores pastagens, os cães de várias raças podiam entrar em contacto, sem qualquer isolamento reprodutor, podendo este fluxo genético ter permitido uma maior indiferenciação genética entre estas raças, mas tal não foi evidente. As raças caninas autóctones Portuguesas não apresentaram uma elevada diferenciação genética relativamente aos cães párias, que foram amostrados na sua região de origem.

Apesar de terem sido encontrados haplotipos exclusivos nas raças ibéricas e da África do Norte, não foi detectada uma forte estrutura geográfica. Não há evidência de introgressão de ADN mitocondrial e nuclear canino vindo do Norte de África, ao contrário do que foi descrito para outras espécies domésticas tal como o gado bovino.

Os marcadores nucleares sugerem alguma diferenciação a nível genético entre as raças, tendo-se detectado uma certa estruturação genética, estatisticamente significativa, na população canina autóctone. O Cão de Castro Laboreiro e o Cão da Serra d'Aires apresentaram a menor diversidade genética. O Cão de Fila de S. Miguel apesar de ser uma raça insular, apresentou uma elevada variabilidade genética e tal pode dever-se à sua origem, provavelmente muito diversa. Apesar de muito popular o Podengo Português demonstrou uma mais reduzida heterozigotia. Tal pode dever-se ao facto de dentro da raça haver estrutura genética, pois o Podengo Português apresenta vários tipos de cães (variedades), consoante o tamanho e tipo de pêlo, com algum isolamento reprodutor entre eles. A raça Cão d'Água apesar de ter estado à beira da extinção por duas vezes no século passado, com um efectivo de 50 animais em 1974, não demonstra evidência de uma elevada perda de variabilidade genética, em comparação com outras raças autóctones muito mais populares. A dimensão populacional é pois, um fraco indicador da variabilidade genética de uma raça.

Relativamente à espécie *Canis familiaris*, e à conservação da sua diversidade genética global, é importante identificar e proteger raças que constituem linhas evolutivas originais ou detentoras de alelos exclusivos. As medidas de conservação devem basear-se não só nos aspectos zootécnicos, mas também, nos aspectos genéticos, sócio-económicos e culturais. Toda a informação dos pedigrees deverá ser validada por certificação individual molecular, e deverão promover-se cruzamentos que minimizem o parentesco e conseqüentemente o endocruzamento das gerações futuras. A escolha de reprodutores com ascendência desconhecida deverá ser criteriosa, e analisar-se a sua tipicidade morfológica, composição genética e impacto na diversidade genética da raça. O Cão de Castro Laboreiro e o Cão da Serra d'Aires devem ser indicados como raças prioritárias para conservação, devido à sua homogeneidade e individualização genéticas, história demográfica e periclitante dimensão populacional. A partir deste estudo foi assim possível identificar as raças prioritárias em termos de conservação e identificar novos haplotipos nestas raças pouco populares com distribuições limitadas. Estas por apresentarem uma distribuição muito restrita deverão ser alvo de medidas de conservação precisas. Uma vez que todas as raças são funcionais, sugere-se fortemente a dinamização de actividades rurais e afins que envolvam a utilização e a necessidade de utilização destas raças.