

HIBRIDACIÓN ENTRE PERROS Y LOBOS; REVISIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS Y ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

C. VILA

Department of Evolutionary Biology, Uppsala University, Norbyvägen 18D.
S-75236 Uppsala, Suecia (carles.vila@ebc.uu.se)

RESUMEN

A menudo se ha asumido que la hibridación entre perros y lobos es un hecho habitual en condiciones naturales. La revisión de estudios genéticos sugiere, en cambio, que es un fenómeno poco común. Extensos muestreos de lobos de todo el mundo y perros de gran variedad de razas han mostrado que las secuencias de ADN mitocondrial están, en general, bien diferenciadas entre ambas especies. Algunos estudios con marcadores para ADN nuclear apuntan en el mismo sentido. Probablemente, la alteración del ciclo reproductivo en perros inducida con la domesticación dificulta la sincronización de los periodos reproductivos en ambas especies. Diferencias ecológicas y de comportamiento también contribuyen a mantener separados a perros y lobos durante la mayor parte del tiempo. Sin embargo, lobos divagantes pueden ser ocasionalmente fecundados por perros. Como los perros no suelen ayudar en la crianza, muy pocos de los cachorros sobreviven y los que lo hacen no están integrados en las poblaciones naturales de lobos y su integración parece difícil. En conclusión, la hibridación entre perros y lobos en condiciones naturales es un hecho excepcional y muy difícilmente lleva a la introducción de ADN de perros en las población de lobos.

Palabras clave: ADN mitocondrial, genética, híbrido, lobo, perro, reproducción.

ABSTRACT

Wolf-dog hybridization: genetic evidence and analysis of the situation in the Iberian Peninsula

It is often assumed that hybridization between wolves and dogs is commonplace in the wild. However, a review of genetic studies suggests that it might be uncommon. Extensive surveys of wolves throughout the world and dogs from a large diversity of breeds have shown that mitochondrial DNA sequences are, in general, well differentiated between species. Some studies involving nuclear markers point in the same direction. One reason for this could be that domestication has induced an alteration in the reproductive cycles in dogs that difficults the synchronization of breeding periods between both species. Additionally, ecological and behavioral differences keep dogs and wolves separated most of the time. Nevertheless, wandering female wolves are occasionally impregnated by male dogs. Since male dogs do not usually help to raise the pups, the survival of such hybrid offspring is very limited. If they survive, their integration into wolf populations may be very difficult for behavioral reasons. Consequently, the hybridization between wolves and dogs is an exceptional event that usually does not translate in the introgression of dog DNA into the wolf populations.

Key words: dog, genetics, hybrid, mitochondrial DNA, reproduction, wolf.

INTRODUCCIÓN

La hibridación entre perros (*Canis familiaris*) y lobos (*C. lupus*) es uno de los problemas más complejos con los que tienen que enfrentarse los responsables de la conservación y gestión de las poblaciones de lobos.

Todas las especies del género *Canis* están íntimamente relacionadas (Girman et al. 1993, Wayne et al. 1997) y se pueden cruzar produciendo descendencia fértil (Gray 1954). La hibridación puede representar una amenaza para la conservación de poblaciones de cánidos silvestres en peligro (Jenks y Wayne 1992). Existen numerosos estudios que mencionan la hibridación entre cánidos amenazados y otros cánidos domésticos o silvestres. Este es el caso del lobo etíope (*C. simensis*), el cánido más amenazado del mundo. Sólo 300-500 ejemplares sobreviven en pequeñas poblaciones fragmentadas en las montañas de Etiopía, por encima de los 3.000 m (Malcolm y Sillero-Zubiri 1997). Análisis genéticos han mostrado la existencia de hibridación generalizada entre este cánido y los perros de habitantes locales que suben a las montañas con el ganado (Gottelli et al. 1994).

En Norteamérica, lobos y coyotes (*C. latrans*) se cruzan habitualmente en la región de los Grandes Lagos (Roy et al. 1994). Hasta el 50 ó incluso el 100% de los lobos de algunas poblaciones de esta zona poseen ADN mitocondrial de coyotes (Lehman et al. 1991). Además, el lobo rojo (*Canis rufus*), especie para cuya conservación se han dedicado ingentes cantidades de dinero en los Estados Unidos, parece no ser una especie con identidad propia sino el resultado de la hibridación entre lobos y coyotes (Wayne y Jenks 1991, Roy et al. 1996).

Lobos y perros son las dos especies de cánidos más emparentadas. Los perros se originaron a partir de lobos (fueron domesticados) hace decenas de miles de años (Vilà et al. 1997). Bajo estas condiciones esperaríamos que la hibridación entre ambas especies fuese muy frecuente. De hecho, muchos criadores y diversas culturas esquimales han intentado incrementar el vigor de algunas razas de perros mediante el cruce con lobos (Schwartz 1997). Estas prácticas han dado lugar, incluso, a la aparición de razas nuevas como el Saarloos Wolfhound (Clark y Brace 1995). Se calcula que más de 10.000 híbridos entre perros y lobos existen en Estados Unidos (García-Moreno et al. 1996). La hibridación entre perros y lobos parece tener una larga historia. Yacimientos arqueológicos en Wyoming (Estados Unidos) sugieren que esta hibridación ya se producía en Norteamérica 8.000 años A.C. (Walker y Frison 1982, en Schwartz 1997).

Habitualmente se supone que la hibridación entre perros y lobos en condiciones naturales se puede producir más frecuentemente cerca de asentamientos humanos, donde los lobos se encuentran en bajas densidades y los perros domésticos y asilvestrados son abundantes (Boitani 1982, 1983, Bibikov 1988, Blanco et al. 1992). Boitani (1984) sugirió que, tras un severo descenso poblacional antes de 1980, los lobos en Italia se hicieron más abundantes gracias a una generalizada hibridación con perros. Sin embargo, esta hipótesis no estaba apoyada en ningún tipo de estudio genético. Más recientemente, Butler (1994) afirmaba que las poblaciones de lobos de Europa están constituidas fundamentalmente por híbridos. Aunque estas opiniones

se basan sólo en evidencias circunstanciales, la pureza de las poblaciones de lobos es una preocupación generalizada entre conservacionistas y gestores de los recursos naturales en Europa (Blanco et al. 1992, Boitani 1993). Sin embargo, hasta ahora no se ha determinado la magnitud de esta hibridación.

En la Península Ibérica se pueden encontrar lobos en áreas dedicadas a la agricultura y ganadería, donde los perros son abundantes y la población es dispersa y con una densidad superior a los 50 habitantes/km² (Blanco et al. 1992). Durante las últimas décadas los lobos se han expandido a áreas especialmente alteradas como la provincia de Valladolid (Barrientos 1989), donde los bosques ocupan menos del 5% de la superficie, la mortalidad inducida por el hombre es muy elevada, y los perros son abundantes. En otras zonas como Sierra Morena, la población de lobos está en franca recesión y su densidad es bajísima, si es que no están extinguidos (ver referencias en este volumen). En consecuencia, muchas regiones de la Península parecen tener las condiciones idóneas para que perros y lobos se crucen de manera espontánea.

Aunque no existen estudios genéticos que traten de evaluar la magnitud de la hibridación entre perros y lobos, existen algunos estudios que ofrecen evidencias al respecto. La mayor parte de los estudios se han basado en ADN mitocondrial, de herencia materna, y pueden detectar el resultado de cruces entre perra y lobo en los que la descendencia se ha integrado en la población de lobos. Los estudios basados en marcadores nucleares (como los microsátélites o aloenzimas) son más escasos y menos concluyentes, pero pueden detectar introgresión de ADN de perros en poblaciones de lobos independientemente del sexo. Para evaluar la magnitud de la supuesta hibridación entre perros y lobos analizaremos estudios recientes en relación con los marcadores genéticos utilizados y al tipo de hibridación que pueden detectar. Sólo vamos a considerar aquí los casos en que los híbridos se integran en las poblaciones de lobos, ya que son estos los que pueden amenazar a la integridad genética de la especie. La atención se centrará especialmente en la situación en la Península Ibérica.

MARCADORES GENÉTICOS DE HERENCIA MATERNA

En el estudio de Vilà et al. (1997) se secuenciaron 261 nucleótidos de la región control del ADN mitocondrial de 162 lobos de 27 localidades en todo el mundo, incluyendo una muestra de 65 lobos ibéricos (46 lobos españoles y 19 portugueses), y 140 perros de 67 razas. Se encontraron 27 secuencias diferentes en lobos y 26 en perros. Sólo una secuencia era idéntica en perros y lobos (W6 y D6, para lobos y perros respectivamente, ver Figura 1). Sin embargo, el análisis de un fragmento de ADN más largo mostraba que las dos especies se podían diferenciar. Si la hibridación fuese un

hecho común, perros y lobos deberían compartir secuencias de ADN. Los resultados del mencionado estudio sugieren que las dos especies están bien separadas desde el punto de vista reproductivo. Okumura et al. (1996) también secuenciaron un fragmento de 900 nucleótidos de la región control en 73 perros japoneses de razas nativas y 21 no nativos. La secuencia que estudiaron se solapa en 240 nucleótidos con la estudiada por Vilà et al. (1997). Uniendo los dos estudios se totalizan 35 secuencias diferentes en perros (en 213 animales), y sólo una es idéntica a una secuencia encontrada en lobos (otra vez, W6). Como en el estudio de Vilà et al. (1997), si se considera la secuencia completa (900 nucleótidos) las secuencias de perros y lobos son perfectamente diferenciadas.

Se ha sugerido (Boitani 1993) que entre las europeas, las poblaciones de lobos de países mediterráneos como España, Portugal, Grecia e Israel son las que están en mayor riesgo de hibridación con perros debido a su pequeño tamaño y el extenso contacto que ha existido entre ambas especies durante un periodo de miles de años. Sin embargo, ninguno de los 100 lobos de estos países incluidos en el estudio de Vilà et al. (1997), ni ninguno de los 30 italianos estudiados por Randi (1993) ó 101 estudiados por Randi et al. (2000), presentan genotipos encontrados en perros.

En un estudio más amplio de poblaciones de lobos (Vilà et al. 1999) se ha secuenciado un fragmento ligeramente mayor de la región control (unos 350 nucleótidos) en 103 lobos ibéricos (19 de Portugal y 84 de España), incluyendo los 65 mencionados anteriormente. Este análisis ha permitido la detección de un nuevo genotipo entre los lobos ibéricos además de los tres encontrados en Vilà et al. (1997). Las relaciones de los cuatro genotipos encontrados en la Península (A, B, C y D) con los demás del estudio anterior se muestran en la Figura 1. Sólo uno de estos genotipos, D, encontrado en un lobo portugués, se encuentra también en lobos de otros países. Ninguna de estas secuencias se ha encontrado en perros de pura raza en los estudios mencionados, lo que sugiere que la población ibérica de lobos se encuentra bien separada de las poblaciones de perros. Sin embargo, en algún perro asilvestrado abatido en Asturias se han encontrado secuencias de ADN mitocondrial correspondientes a lobos ibéricos (ver más abajo), sugiriendo que el aislamiento entre las especies no es completo.

El ADN mitocondrial se hereda por vía materna. Por tanto, estos resultados indican que el cruce entre perra y lobo (seguido de la entrada de los híbridos en la población de lobos) es un hecho extraordinario. Si fuese más común encontraríamos secuencias de perros en las poblaciones de lobos. De todos modos, Randi et al. (2000) han observado genotipos de perros en las poblaciones de lobos de Europa del Este sugiriendo que sugieren la existencia de cierto grado de hibridación. Es necesario complementar el estudio de marcadores genéticos de herencia materna con otros marcadores biparentales.

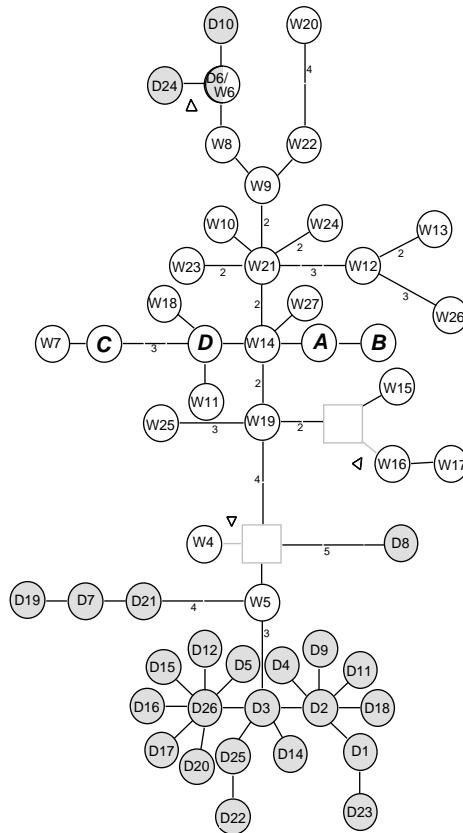


Figura 1. Relaciones entre secuencias de la región control I del ADN mitocondrial de lobos (círculos blancos) y de perros (círculos grises). Se ha construido una red de mínima extensión (“minimum spanning network”, Excoffier et al. 1992) con las secuencias de lobos, uniendo cada genotipo con el más similar. Posteriormente se han añadido las secuencias de perros uniéndolas al punto de la red donde las diferencias eran menores. Junto a las líneas uniendo los genotipos se indica el número de mutaciones implicadas cuando es diferente de uno. Las flechas señalan la inserción de uno o dos nucleótidos. Los cuadros indican genotipos hipotéticos ancestrales al momento de la inserción. No se indican otras uniones alternativas entre los genotipos; la estructura general de la red no se ve afectada si se usan estas uniones alternativas. La nomenclatura para los distintos genotipos se corresponde con la utilizada por Vilà et al. (1997). A, B, C y D son los genotipos observados en lobos ibéricos. Sólo D ha sido encontrada en lobos de otras zonas

Relationship between mitochondrial DNA control region I sequences in wolves (open circles) and dogs (gray circles). A minimum spanning network (Excoffier et al. 1992) was build with wolf sequences, linking each genotype to the most similar one. Dog sequences were added to the network connecting at the point requiring the fewest changes. The number of substitutions, when different from one, is indicated by lines connecting genotypes. Arrows show insertions of one or two nucleotides. Boxes indicate hypothetical genotypes prior to the insertion events. Alternative links are not represented but involve minor changes on the structure of the network. Genotype names correspond to those in Vilà et al. (1997). A, B, C and D are the genotypes found in Iberian wolves. Only D has been found in other areas

MARCADORES GENÉTICOS BIPARENTALES

Podría ser que exista hibridación entre perro y loba, con los híbridos integrándose en la población de lobos, pero que en los estudios utilizando ADN mitocondrial hayan pasado desapercibidos (el ADN del híbrido sería como la del resto de los lobos). Estudios utilizando marcadores genéticos nucleares, como aloenzimas o microsatélites, son los que podrían poner de manifiesto este tipo de hibridación. De hecho, estudios con microsatélites de las poblaciones de lobos y coyotes en Norteamérica han puesto de manifiesto la hibridación entre las dos especies en la región de los Grandes Lagos y la introgresión de los híbridos en las poblaciones de lobos pero no en las de coyotes (Roy et al. 1994). Dos estudios independientes sobre la variación de aloenzimas (otro marcador nuclear) en lobos italianos y perros domésticos (Randi et al. 1993, Lorenzini y Fico 1995) no pudieron mostrar evidencia de hibridación. Del mismo modo, la morfología de unos 600 lobos muertos en España no mostraba evidencia clara de hibridación (Blanco et al. 1992). Sin embargo, no existen estudios genéticos que comparen la población ibérica de lobos con poblaciones de perros.

Un estudio genético muy detallado, comparando lobos escandinavos, finlandeses y rusos con perros, y utilizando microsatélites, secuencias de ADN mitocondrial y marcadores en el cromosoma Y (Vilà et al., en preparación) han permitido confirmar un caso de hibridación en Noruega. Este estudio ha permitido identificar una camada de cánidos silvestres (el primero de ellos fué abatido cuando tenía más de 4 meses de edad) como resultantes del cruce entre una loba de la población escandinava (en lugar de provenir de alguna de las poblaciones limítrofes) con un perro asilvestrado. Sin embargo, si se tiene en cuenta que la población de lobos en Escandinavia es de sólo 50-60 individuos (Ellegren 1999, Wabbaken 1999), muy dispersos y en intenso contacto con perros, y que este estudio no reveló más casos de posible hibridación, se puede concluir que la tasa de hibridación es muy baja. En conjunto, estos resultados sugieren que la hibridación entre perros y lobos es un hecho excepcional, pero no imposible.

OTRAS EVIDENCIAS

Aunque los estudios genéticos sólo han podido mostrar la existencia de hibridación entre lobos y perros de manera concluyente en un caso (más algunos indicios basados en ADN mitocondrial en Europa del Este), en Italia e Israel se han observado grupos familiares resultantes del cruce entre miembros de las dos especies (Randi et al. 1993). Como en el caso confirmado genéticamente (ver más arriba), los grupos familiares resultaron siempre del cruce de perros machos asilvestrados con lobas.

En Asturias, en la Sierra de la Bobia, fueron abatidos tres cachorros de perro asilvestrados cuya secuencia de ADN mitocondrial se correspondía con la secuencia más habitual en los lobos españoles (secuencia A en la Figura 1) y no encontrada en ningún perro en los estudios de Okumura et al. (1996) ni Vilà et al. (1997). Lo mismo sucedía con un ejemplar adulto capturado en la Sierra del Suevo, también en Asturias y que debido a su aspecto intermedio existían discusiones sobre si se trataba de un perro o de un lobo. La secuencia de su ADN mitocondrial se correspondía con las de la mayor parte de los lobos ibéricos (A). Tanto las muestras de los animales de la Sierra de la Bobia como de la Sierra del Suevo fueron cedidas por Luis Llaneza (Universidad de Oviedo). Por tanto, observaciones directas y el ADN mitocondrial de algunos animales silvestres capturados sugieren que las lobas (hembras) pueden cruzarse con perros (machos) en condiciones naturales.

A pesar de que existe evidencia de que lobos y perros se pueden cruzar en la naturaleza, parece ser que las poblaciones de lobos y perros están en gran medida aisladas y que estos cruces ocasionales no han afectado de modo significativo a la pureza genética de las poblaciones de lobos.

AISLAMIENTO REPRODUCTIVO ENTRE PERROS Y LOBOS

En la mitad o más de los lobos muestreados en la región de los Grandes Lagos de Norteamérica se encuentran secuencias de ADN mitocondrial de coyotes (Lehman et al. 1991). Sin embargo, nunca se encuentran en coyotes secuencias de lobos. Probablemente esto refleja una asimetría en los apareamientos interespecíficos debida a la diferencia en tamaño entre las dos especies: los machos de lobo, aprovechando su mayor tamaño, se aparean con hembras de coyote, pero hembras de lobo y machos de coyote no se cruzan (Lehman et al. 1991). Por tanto, si la hibridación entre lobos y perros es análoga a la que se produce entre lobos y coyotes (en general los lobos son mayores y más fuertes que los perros asilvestrados), el cruce predominante debería ser entre lobo y perra. Los estudios de ADN mitocondrial no han mostrado que se produzca este cruce, y el único cruce que ha sido observado (ver los apartados anteriores) es el recíproco: perro con loba.

Las diferencias entre los ciclos reproductores de lobos y perros pueden justificar que la asimetría observada en los apareamientos interespecíficos sea inversa a la observada para apareamientos entre lobos y coyotes. En los lobos etíopes (*C. simensis*) se ha observado una asimetría similar a la de los lobos en los cruces interespecíficos con perros: sólo hembras se cruzan con perros (Gottelli et al. 1994, Wayne y Gottelli 1997). Lobos y lobos etíopes siguen el patrón reproductivo típico para los cánidos del género *Canis*: las hembras tienen un sólo estro cada año y los

machos presentan incrementos estacionales del nivel de testosterona, tamaño de los testículos y producción de espermatozoides (Asa 1997). Muchos perros son una excepción a este patrón: las hembras de la mayor parte de las razas pueden producir dos camadas por año y los machos mantienen niveles de testosterona elevados a lo largo de todo el año (Asa 1997). Al mismo tiempo, las poblaciones de cánidos tienden a sincronizar sus ciclos reproductivos (Asa 1997). En consecuencia, debido al relativo aislamiento ecológico y conductual entre las dos especies, el ciclo reproductor de los lobos (machos) pocas veces está sincronizado con el de las perras como para hacer posible la hibridación. Por contra, los perros pueden perfectamente cubrir a las lobas cuando éstas entran en celo, especialmente cuando se trata de hembras divagantes, que no pertenecen a ningún grupo social. En el caso de los lobos etíopes, evidencias genéticas y morfológicas sugieren que hasta el 8-17% de algunas poblaciones pueden tener un origen híbrido.

La diferencia en el grado de introgresión de genes de perros en las poblaciones de lobos (prácticamente nula) y lobos etíopes (8-17%) pueden ser resultado de los diferentes sistemas de apareamiento y estructura social de las dos especies. En el lobo etíope el periodo de celo es muy corto y durante este tiempo los machos intentan cubrir a hembras fuera de su propio grupo, relajando la vigilancia de la pareja. De la misma manera, las hembras abandonan sus grupos natales para copular con machos de territorios aledaños (Sillero-Zubiri et al. 1996). En las zonas donde se han observado híbridos entre perros y lobos etíopes el número de perros es claramente mayor que el de lobos etíopes (Laurenson et al. 1997). De este modo, las hembras que salen de sus grupos buscando con quien aparearse a menudo pueden encontrarse con perros. Tras aparearse, las hembras regresan a su manada original para parir y reciben ayuda del resto de los miembros del grupo para criar a los cachorros. En consecuencia, los híbridos se integran en la población de lobos etíopes y se socializan con ellos. De hecho, se han observado grupos de lobos etíopes en los que el individuo dominante (alfa) es un híbrido (Sillero-Zubiri, com. pers.).

Entre los lobos la situación es diferente. Las hembras divagantes no vuelven a sus manadas originales ya que la pareja dominante es la que controla la reproducción (Mech 1987). Las hembras divagantes intentan formar un grupo nuevo con su pareja (Smith et al. 1997). Esto hace que la supervivencia para la progenie de cruces entre estas lobas y perros sea más difícil: las hembras carecen de la ayuda del resto de miembros de la manada, y además, los perros no ayudan en la crianza y cuidado de los cachorros (Boitani et al. 1995) ni forman lazos permanentes con las hembras. La falta de ayuda durante la crianza puede ser una de las razones para la elevada mortalidad de cachorros observada en las manadas de perros asilvestrados italianas (Boitani et al. 1995, L. Boitani com. pers.). Por otro lado, los

híbridos, si sobreviven, pueden no estar suficientemente bien desarrollados o socializados como para poder establecer manadas nuevas con otros lobos.

CONCLUSIONES

Aunque perros y lobos pueden cruzarse, y este tipo de cruces es una práctica habitual entre animales en cautividad, la hibridación no parece ser un problema grave para la conservación de las poblaciones de lobos silvestres. Los análisis de ADN mitocondrial y algunos estudios utilizando marcadores nucleares sugieren que la introgresión de material genético de perros en las poblaciones silvestres de lobos puede no ser importante ni tan siquiera en poblaciones amenazadas cercanas a asentamientos humanos. Barreras fisiológicas y de comportamiento se encargan de hacer que los cruces con perros sean improbables y que la descendencia, en caso de producirse, tenga pocas posibilidades de integrarse con éxito a la población de lobos.

Sin embargo, los estudios con marcadores nucleares son todavía escasos y poco concluyentes. Es necesario potenciar los estudios de microsátélites en lobos y perros a escala global para tener una idea más exacta del éxito reproductor de los híbridos que se puedan generar y de su impacto en las diferentes poblaciones de lobos. Áreas en las que los lobos lleguen sólo de forma esporádica y se puedan mezclar con una población importante de perros asilvestrados merecen una especial atención, así como las áreas para las que ya se ha detectado hibridación. Parece posible que se pueda dar, si las dos especies llegasen a establecer suficiente contacto, una sincronización de los ciclos reproductores (Asa 1997) que reduciría de modo importante la magnitud de las barreras reproductivas interespecíficas. Si además existen suficientes recursos tróficos de fácil acceso (por ejemplo basuras de origen humano), podrían incrementarse las posibilidades de supervivencia de los híbridos y de su unión con otros lobos divagantes, y la hibridación podría convertirse en un problema.

AGRADECIMIENTOS

Una versión simplificada de este texto, sin el análisis de la situación en la Península Ibérica, ha sido publicado en la revista *Conservation Biology* en colaboración con el Dr. Robert K. Wayne (Vilà y Wayne 1999). Las discusiones con Claudio Sillero-Zubiri, Luigi Boitani, Carolina Valdespino y Cheryl Asa han sido decisivos para la elaboración de las ideas presentadas en este trabajo.

Muchos biólogos y naturalistas han ayudado a la recogida de muestras de lobos españoles, en especial Luis Mariano Barrientos, Luis Llaneza, Pedro Alonso, Felipe Bárcena, Guillermo Palomero, Jorge Soto y José Luis Vicente.

Parte de este trabajo ha sido subvencionada por una beca postdoctoral del Ministerio de Educación y Ciencia, y por un proyecto del Ministerio de Medio Ambiente (Secretaría General de Medio Ambiente-Dirección General de Conservación de la Naturaleza) y la Asociación Amigos de Doñana (Sevilla).

REFERENCIAS

- ASA, C. S. (1997). Hormonal and experiential factors in the expression of social and parental behavior in canids. Pages 129-149. En: N. G. Solomon y J. A. French (eds.) *Cooperative breeding in mammals*. Cambridge University Press, Cambridge.
- BARRIENTOS, L. M. (1989). Situación del lobo en la provincia de Valladolid. *Quercus*, 45: 22-26.
- BIBIKOV, D. I. (1988). *Der Wolf*. Die Neue Brehm-Bucherei. A. Ziemsen, Wittenberg Lutherstadt.
- BLANCO, J. C., S. REIG Y L. DE LA CUESTA (1992). Distribution, status and conservation problems of the wolf *Canis lupus* in Spain. *Biological Conservation*, 60: 73-80.
- BOITANI, L. (1982). Wolf management in intensively used areas of Italy. Pages 158-172. En: F. H. Harrington, y P. C. Paquet (eds.) *Wolves of the World*. Noyes Publications, New Jersey.
- BOITANI, L. (1983). Wolf and dog competition in Italy. *Acta Zoologica Fennica*, 174: 259-264.
- BOITANI, L. (1984). Genetic considerations on wolf conservation in Italy. *Boll. Zool.*, 51: 367-373.
- BOITANI, L. (1993). Wolf management action required for conservation. Pages 114-118. En: C. Promberger y W. Schröder (eds.) *Wolves in Europe, status and perspectives*. Wildbiologische Gesellschaft München e.V., Munich.
- BOITANI, L., F. FRANCISCI, P. CIUCCI Y G. ANDREOLI (1995). Population biology and ecology of feral dogs in central Italy. Pages 217-244. En: J. Serpell (ed.) *The domestic dog: its evolution, behaviour, and interactions with people*. Cambridge University Press, Cambridge.
- BUTLER, D. (1994). Bid to protect wolves from genetic pollution. *Nature*, 370: 497.
- CLARK, A. R. Y A. H. BRACE (eds.) (1995). *The international encyclopedia of dogs*. Howell Book House. New York, USA.
- ELLEGEN, H. (1999). Inbreeding and relatedness in Scandinavian grey wolves *Canis lupus*. *Hereditas*, 130: 239-244.
- EXCOFFIER, L., P. E. SMOUSE Y J. M. QUATTRO (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- GARCÍA-MORENO, J., M. D. MATOCQ, M. S. ROY, E. GEFFEN Y R. K. WAYNE (1996). Relationships and genetic purity of the endangered Mexican wolf based on analysis of microsatellite loci. *Conservation Biology*, 10: 376-389.
- GIRMAN, D. J., P. W. KAT, G. MILLS, J. GINSBERG, J. FANSHAW, C. FITZGIBBON, M. BORNER, V. WILSON, K. LAURENSEN Y R. K. WAYNE (1993). A genetic and morphological analysis of the African wild dog (*Lycaon pictus*). *The Journal of Heredity*, 84: 450-459.
- GOTTELLI, D., C. SILLERO-ZUBIRI, G. D. APPLEBAUM, M. S. ROY, D. J. GIRMAN, J. GARCIA-MORENO, E. A. OSTRANDER Y R. K. WAYNE (1994). Molecular genetics of the most endangered canid: the Ethiopian wolf *Canis simensis*. *Molecular Ecology*, 3: 301-312.
- GRAY, A. P. (1954). *Mammalian hybrids; a check-list with bibliography*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks.
- JENKS, S. M. Y R. K. WAYNE (1992). Problems and policy for species threatened by hybridization: the red wolf as a case study. Pages 237-251. En: D. R. McCullough y R. H. Barrett (eds.) *Wildlife 2001*. Elsevier Applied Science, New York.
- LAURENSEN, K., F. SHIFERAW Y C. SILLERO-ZUBIRI (1997). Disease, domestic dogs and the Ethiopian wolf: the current situation. Pages 32-40. En: C. Sillero-Zubiri, D.W. Macdonald and the IUCN/SSC Canid Specialist Group (eds.) *The Ethiopian wolf - Status survey and conservation action plan*. IUCN, Gland, Switzerland.

- LEHMAN, N., A. EISENHAWER, K. HANSEN, D. L. MECH, R. O. PETERSON Y R. K. WAYNE (1991). Introgression of coyote mitochondrial DNA into sympatric North American gray wolf populations. *Evolution*, 45: 104-119.
- LORENZINI, R. Y R. FICO (1995). A genetic investigation of enzyme polymorphisms shared by wolf and dog: suggestions for conservation of the wolf in Italy. *Acta Theriol.*, 40: 101-110.
- MALCOLM, J. R. Y C. SILLERO-ZUBIRI (1997). The Ethiopian wolf: distribution and population status. Pages 12-25. En: C. Sillero-Zubiri, D. W. Macdonald and the IUCN/SSC Canid Specialist Group (eds.) *The Ethiopian wolf - Status survey and conservation action plan*. IUCN, Gland, Suiza.
- MECH, L. D. (1987). Age, season, distance, direction, and social aspects of wolf dispersal from a Minnesota pack. Pages 55-74. En: B. D. Chepko-Sade y Z. T. Halpin (eds.) *Mammalian dispersal patterns. The effects of social structure on population genetics*. The University of Chicago Press, Chicago.
- OKUMURA, N., N. ISHIGURO, M. NAKANO, A. MATSUI Y M. SAHARA (1996). Intra- and interbreed genetic variations of mitochondrial DNA major non-coding regions in Japanese native dog breeds (*Canis familiaris*). *Animal Genetics*, 27: 397-405.
- RANDI, E. (1993). Effects of fragmentation and isolation on genetic variability of the Italian populations of wolf *Canis lupus* and brown bear *Ursus arctos*. *Acta Theriol.*, 38: 113-120.
- RANDI, E., V. LUCCHINI Y F. FRANCISCI (1993). Allozyme variability in the Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Heredity*, 71: 516-522.
- RANDI, E., V. LUCCHINI, M. F. CHRISTENSEN, N. MUCCI, S. M. FUNK, G. DOLF Y V. LOESCHKE (2000). Mitochondrial DNA variability in Italian and East European wolves: detecting the consequences of small population size and hybridization. *Conservation Biology*, 14: 464-473.
- ROY, M. S., E. GEFFEN, D. SMITH, E. A. OSTRANDER Y R. K. WAYNE (1994). Patterns of differentiation and hybridization in North American wolflike canids, revealed by analysis of microsatellite loci. *Molecular Biology and Evolution*, 11: 553-570.
- ROY, M. S., E. GEFFEN, D. SMITH Y R. K. WAYNE (1996). Molecular genetics of pre-1940 red wolves. *Conservation Biology*, 10: 1413-1424.
- SCHWARTZ, M. (1997). *A history of dogs in the Early Americas*. Yale University Press, Yale.
- SILLERO-ZUBIRI, C., D. GOTTELLI Y D. W. MACDONALD (1996). Male philopatry, extra-pack copulations and inbreeding avoidance in the Ethiopian wolf (*Canis simensis*). *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 38: 331-340.
- SMITH, D., T. MEIER, E. GEFFEN, L. D. MECH, J. W. BURCH, L. G. ADAMS Y R. K. WAYNE (1997). Inbreeding common in gray wolf packs?. *Behavioral Ecology*, 8: 384-391.
- VILÀ, C., P. SAVOLAINEN, J. E. MALDONADO, I. R. AMORIM, J. E. RICE, R. L. HONEYCUTT, K. A. CRANDALL, J. LUNDEBERG, Y R. K. WAYNE (1997). Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*, 276: 1687-1689.
- VILÀ, C., I. R. AMORIM, J. A. LEONARD, D. POSADA, J. CASTROVIEJO, F. PETRUCCI-FONSECA, K. A. CRANDALL, H. ELLEGREN Y R. K. WAYNE (1999). Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. *Molecular Ecology*, 8: 2089-2103.
- VILÀ, C. Y R. K. WAYNE (1999). Hybridization between wolves and dogs. *Conservation Biology*, 13: 195-198.
- WABAKKEN, P., Å. ARONSON, H. SAND, O. K. STEINSET E I. KOJOLA (1999). *Ulv i Skandinavia: Statusrapport for vinteren 1998-99*. Hogakolen I Hedmark Rapport nr. 19-1999.

- WALKER, D. Y G. C. FRISON (1982). Studies on Amerindian dogs, part 3: Prehistoric wolf/dog hybrids from the Northwestern Plains. *Journal of Archaeological Science*, 9: 125-172.
- WAYNE, R. K. Y S.M. JENKS (1991). Mitochondrial DNA analysis implying extensive hybridization of the endangered red wolf, *Canis rufus*. *Nature*, 351: 565-568.
- WAYNE, R. K. Y D. GOTTELLI (1997). Systematics, population genetics and genetic management of the Ethiopian wolf. Pages 43-50. En: C. Sillero-Zubiri, D. W. Macdonald and the IUCN/SSC Canid Specialist Group (eds.) *The Ethiopian wolf - Status survey and conservation action plan*. IUCN, Gland, Switzerland.
- WAYNE, R. K., E. GEFFEN, D. J. GIRMAN, K. P. KOEPFLI, L. M. LAU Y C. R. MARSHALL (1997). Molecular systematics of the Canidae. *Systematic Biology*, 46: 622-653.