

## II. Aportaciones bioquímicas sobre el origen y las relaciones filogenéticas de los cánidos

JORDANA, J.; SANCHEZ, A.; PIEDRAFITA, J.

Unitat de Millora Genètica Animal, Departament de Patologia i de Producció Animals, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona.

### INTRODUCCION

Los intentos de clasificación sistemática de las más de 400 razas caninas actualmente reconocidas en el mundo, dentro de grupos lo más afines posible y la investigación de las relaciones filogenéticas existentes entre ellas, ha sido una labor continuada desde finales del s. XIX, a partir de la creación de los "Kennels Clubs" de Inglaterra y Norteamérica.

Sin embargo, debido a la gran proliferación de razas caninas, podríamos plantearnos la duda de si, en realidad, todas las poblaciones catalogadas como razas se ajustan a la interpretación genética de la misma o si, por el contrario, tan sólo difieren en uno o pocos genes que las hacen distinguibles morfológicamente.

En este contexto, debemos señalar que en la gran mayoría de especies de animales domésticos, y de manera muy notable en la especie canina, las características que habitualmente definen una raza son primordialmente morfológicas, por lo que podríamos denominarlas razas "zootécnicas". Estos caracteres morfológicos han estado sometidos a una gran presión de selección, tanto natural como artificial, siendo, por tanto, esta fuerza evolutiva la que habría tenido un mayor peso en el proceso de diferenciación racial.

No obstante, estos caracteres fenotípicos presentan una correlación baja con el genotipo porque se hallan alejados de su expresión primaria y por consiguiente son, en general, unos indicadores poco potentes de las semejanzas y diferencias genéticas. La posibilidad de comparar productos directos de la acción génica (proteínas) o el propio material genético (ácidos nucleicos) permite acercarse al genotipo y medir directamente la divergencia genética (Guerin, 1980; Fontdevila, 1987), ya que, como señala Strickberger (1985), las proteínas presentan la importante ventaja evolutiva de que son, en cierto sentido, "huellas químicas" de la historia evolutiva, debido a que sus secuencias de aminoácidos sólo han cambiado como resultado de los cambios genéticos.

Los valores de las frecuencias génicas, en distintas poblaciones, de genes neutros estructurales que codifican para proteínas y enzimas solubles de la sangre —detectados mediante técnicas electroforéticas—, sin ninguna relación —observable y estudiada hasta el momento— sobre la aptitud o eficacia biológica de los individuos, podrían ser un buen indicador de la similitud o divergencia genética entre estas poblaciones, a las que a estos efectos podríamos denominar como razas "genéticas".

### GENERO CANIS

La filogenia de los cánidos ha sido analizada a través de hallazgos arqueológicos —morfología dental y craneal—, estudios históricos, cromosómicos y estudios comparativos de conducta (Studer, 1901; Antonius, 1922; Peters, 1969; Stains, 1975; Chiarelli, 1975; Olsen y Olsen, 1977; Clutton-Brock y col., 1976, 1984; Robinson, 1984; Wayne, 1986). Los distintos estudios han llegado a la conclusión de que el perro (*Canis familiaris*) desciende de un único antecesor: el lobo (*Canis lupus*).

A esta misma conclusión se ha llegado mediante estudios electroforéticos e inmunológicos de proteínas y enzimas sanguíneas, por comparación de los diferentes zimogramas de las especies y géneros estudiados.

Así, Vriesendorp (1972) comparando los antígenos de histocompatibilidad del perro con los de otros miembros de la familia Canidae, postuló que el perro y el lobo tenían un antecesor común.

Por su parte, Wong y col. (1974), no observaron diferencias en los patrones electroforéticos para el enzima Fosfoglutcomutasa (PGM) entre lobos y perros domésticos. Los patrones electroforéticos de perros y lobos son muy similares, indi-

cando un común antecesor evolutivo de las dos formas.

De una muestra de catorce enzimas analizados en el zorro, seis tienen zimogramas diferentes a los de los perros. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre los enzimas de los perros y los lobos. Respecto al enzima Glucosa fosfato isomerasa (GPI) los zimogramas de perro y lobo fueron diferentes a los de coyotes y chacales. Estos resultados indican que el perro y el lobo están estrechamente emparentados y que pueden tener un antecesor común (Simonsen, 1976).

Fisher y col. (1976) realizaron un estudio comparativo, entre 12 lobos, 6 coyotes y 6 dingos, de los productos de 53 loci génicos, llegando a la conclusión de que existía un notable grado de similitud entre ellos.

Richkind y Richkind (1978) encontraron un alelo raro para el locus GPI, presente en cuatro de los 92 perros domésticos que analizaron, siendo probablemente el alelo GPI<sup>2</sup>. Los lobos y los perros tienen el mismo alelo común GPI<sup>1</sup>. Este alelo común en perros parece estar presente como alelo raro en la población de coyotes.

Previamente, Simonsen (1976) había observado un tipo electroforético, presumiblemente correspondiente al alelo GPI<sup>2</sup>, en un ejemplar de coyote y en un chacal. El fenotipo GPI 2-1 fue observado en un híbrido perro-chacal. En dos lobos examinados sólo halló el fenotipo GPI-1. Fisher y col. (1976) encontraron cinco individuos homocigóticos y uno heterocigoto para el alelo GPI<sup>2</sup> en una muestra de seis coyotes y sólo encontraron el fenotipo GPI<sup>1</sup> en una muestra de 12 lobos y 6 perros.

También los zimogramas para el sistema Transferrina (Tf), fueron idénticos para perros y lobos (Clark y col., 1975; Juneja y col., 1981a), siendo muy diferentes en chacales y zorros. El patrón de los chacales mostraba una movilidad intermedia entre perros y zorros (Clark y col., 1975).

Braend y Roëd (1987), en un estudio comparativo de 800 perros noruegos y 146 lobos de Alaska, no encontraron diferencias electroforéticas para los sistema Transferrina (Tf) y Arilesterasa (ArE).

Ferrel y col. (1980) hallaron el mismo patrón electroforético para el enzima Fosfatasa ácida (Pac), en una muestra compuesta por 428 perros, 60 coyotes y 221

lobos. Este resultado está de acuerdo con lo obtenido por Fisher y col. (1976). En la misma muestra observaron idéntico patrón para el locus Lactato deshidrogenasa A (LDH-A) que designaron como genotipo LDH<sup>1</sup>A/LDH<sup>1</sup>A. En uno de los 221 lobos examinados, encontraron el producto de un segundo alelo al que designaron LDH<sup>2</sup>A. No observaron, sin embargo, variación genética para el locus LDH-B en ninguna de las anteriores especies.

Asimismo, los patrones electroforéticos de Superóxido dismutasa (Sod) de coyotes y lobos fueron indistinguibles del alelo más común hallado en perros. Esto concuerda con otros estudios similares realizados por Baur y Schorr (1969), Simonsen (1976) y Fisher y col. (1976). En el mismo trabajo, Ferrel y col. (1980), encontraron polimorfismo para la Glucosa fosfato isomerasa (GPI) en perros, coyotes y lobos.

Juneja y col. (1981b) observaron que las movilidades electroforéticas de la Albúmina (Alb), la Proteína Gc (Gc),  $\alpha_1$ -Proteasa inhibidor (Pi-1) y Post-albúmina (Pa) —actualmente denominada  $\alpha_1B$ — eran idénticas en perros y lobos.

Una de las aportaciones más interesantes ha sido la realizada por Wayne y O'Brien (1987), estudiando las divergencias aloenzimáticas, relaciones filogenéticas y tiempos de divergencia entre 12 grupos de la familia Canidae, mediante electroforesis en gel de 51 loci génicos, que corrobora la hipótesis de que el perro descende del lobo. La menor distancia genética —de Nei (1972)— que separa al perro de cualquiera de los otros géneros era la correspondiente al lobo. Según estos autores, el perro *Canis familiaris* se separó de la línea del lobo *Canis lupus* hace aproximadamente unos 300.000 años, y el antecesor común de estos dos grupos con el coyote *Canis latrans* ya existía probablemente al final del Plioceno, hace ahora unos 2 millones de años.

En resumen, se acepta generalmente que el perro descende del lobo, pero la gran diversidad de razas, características, tamaños, hace imposible que todas desciendan de un mismo tronco común. Tal como se comentó en el primer artículo, Olsen y Olsen (1977) basándose en estudios comparativos de morfología dental a partir de hallazgos arqueológicos, postularon una serie de hipótesis de las diferentes ramas de lobos que dieron origen a las actuales razas de perros.

Si nos adentramos ya, específicamente, en la especie *Canis familiaris*, comprobamos que los estudios filogenéticos realizados mediante metodología numérica son más bien escasos, quizá debido a la dificultad que entraña inferir filogenias fiables a partir de distancias genéticas muy pequeñas (Jordana, 1989).

Uno de los primeros trabajos realizados fue el de Leone y Anthony (1966) quienes compararon mediante técnicas inmunoelectroforéticas la actividad enzimática de las esterasas aromáticas y las Colinesterasas, de una muestra sérica de 110 perros, representantes de 40 razas. Mediante computador se construyeron los dendrogramas de las diferentes razas de acuerdo con sus cualidades enzimáticas. Los coeficientes de correlación determinados de la distribución y actividad de cada enzima entre las razas, indicaban un 66% de concordancia entre los datos derivados y la presumible genealogía de los perros.

En el periodo 1974-1978 se realizaron varios trabajos que intentaron inferir las relaciones filogenéticas entre distintas razas, a partir de las frecuencias génicas de determinadas proteínas y enzimas. Así, Tanabe y col. (1974) usando una combinación de los grupos definidos por Studer (1901) y Antonius (1922), propusieron una clasificación a partir de las diferencias encontradas por electroforesis de un enzima de la sangre, la Leucin aminopeptidasa (Lap). Reconocieron cinco grupos más uno extra, formado por los perros japoneses. Son los siguientes:

1. Perros nativos japoneses
2. *C. familiaris palustris*
3. *C. familiaris metris-optimae*
4. *C. familiaris intermedius*
5. *C. familiaris inostranzewi*
6. *C. familiaris leineri*

Las razas caninas incluidas en el grupo *palustris* (Pomeranian, Pug, Spitz y varias razas de Terriers) y en el grupo *metris optimae* (Pastor Alemán, Collie, Pastor de Shetland y Bobtail), tenían fijado el alelo Lap<sup>A</sup>. Se observaron mayores frecuencias del alelo Lap<sup>B</sup> (0,17) en los grupos *inostranzewi* (San Bernardo, Bulldog, Boxer, Gran Danés y Doberman Pinsher) y *leineri* (Afghanhoun y Borzoi) y se obtuvieron valores medios en el grupo *intermedius*, Lap<sup>B</sup> (0,04). (Pointer, Dálmata, Setter,

Dachshund, Beagle, Poodle, Chin, Pekinés, Maltés y Cocker Spaniel) y en el grupo de los perros nativos japoneses, Lap<sup>B</sup> (0,02), (Akita, San in-Shiba, Shinshu-Shiba, Kai y Kishu). Este trabajo indica que es posible encontrar una correlación entre los grupos, basada en estudios enzimáticos y estudios morfológicos (Simonsen, 1976).

La importancia de los polimorfismos bioquímicos en el estudio de la evolución de las diferentes razas, quedó patente en el trabajo de Tanabe y col. (1978) con el estudio de las variantes genéticas de la Hemoglobina (Hb) en eritrocitos caninos. Sólo se observó el alelo Hb<sup>A</sup> en razas caninas japonesas (7 de las 8 estudiadas), y no se observó en ninguna de las 25 europeas y 5 orientales (excepto japonesas), teniendo éstas por tanto fijado el alelo Hb<sup>B</sup>. Esto sugiere que las razas japonesas se originaron de un tipo ancestral común, el cual poseía ambos alelos de hemoglobina el A y el B, mientras que las razas europeas se originaron de un grupo ancestral que no poseía el alelo A.

Similares conclusiones se obtienen en otros trabajos de los mismos autores (Tanabe y col. 1977), como por ejemplo el referente a la Glucosa fosfato isomerasa (GPI): el alelo GPI<sup>B</sup> sólo se ha encontrado en seis razas caninas japonesas y en ninguna de las europeas, a excepción del Dálmata.

Estudios genéticos realizados sobre las Esterasas resistentes a eserina (Es) en plasma de perros (Sugiura y col. 1977) muestran que el alelo Es<sup>C</sup> sólo se halla presente en cinco razas caninas japonesas (de un total de ocho razas) y en ninguna de las 30 razas europeas estudiadas, excepto el Spitz. Todos estos resultados indican una marcada diferencia de la constitución genética de las razas nativas japonesas con respecto a las europeas.

Juneja y col. (1981b), a partir de la distribución de frecuencias del sistema Pa —actualmente  $\alpha_1B$ —, clasifican las razas

estudiadas en tres grandes grupos. Las razas de primer grupo (Cocker Spaniel, Collie, Golden Retriever, Newfoundland y San Bernardo) poseían el alelo Pa<sup>F</sup> como el más común, las razas del segundo grupo (Basenji, Basset Hound, Beagle y Boxer) tenían el alelo Pa<sup>S</sup> como el más frecuente, mientras que las razas del tercer grupo (Dachshund, Pastor Alemán, Poodle y Terrier) poseían los alelos Pa<sup>F</sup> y Pa<sup>S</sup> con igual frecuencia. Además, se realizó una comprobación con muestras de las mismas razas provenientes de un área geográfica distinta (Dinamarca "versus" Hannover): los resultados obtenidos estaban en buena concordancia con los valores de frecuencias descritos.

Hashimoto y col. (1984), mediante Cromatografía en capa fina, describen un nuevo polimorfismo, al que designan tentativamente como Gangliósido monooxigenasa (Gmo), en eritrocitos caninos, regulado por un alelo dominante en un locus autosómico. El alelo dominante Gmo<sup>S</sup> expresaba el Acido N-glicolilneuramínico (tipo G) en el azúcar terminal de diferentes tipos de Acido siálico, mientras que el alelo recesivo Gmo<sup>A</sup> expresaba el Acido N-acetilneuramínico (tipo A). En ese estudio analizaron 1.591 muestras sanguíneas pertenecientes a 36 razas caninas, y demostraron que el alelo Gmo<sup>S</sup> estaba limitado a sólo algunas razas caninas orientales. Sin embargo la incidencia de dicho alelo era mucho más alta en razas del norte de China, Corea y sur del Japón, que en otras razas orientales. La raza canina japonesa Hokkaido era la única que no expresaba el gen Gmo<sup>S</sup>, al igual que las razas del sur de China (3) y todas las Europeas analizadas (31).

Estos resultados sugieren que las razas nativas del sur del Japón provienen del norte de China vía península de Corea, y que la raza Hokkaido (norte de Japón) proviene del sur de China vía Taiwan. Sin embargo, no se puede excluir la posibilidad, según los autores, de que el Hok-

kaido provenga de Europa ya que en dichas razas sólo se ha encontrado el tipo A.

Estas hipótesis fueron corroboradas por Kobayashi y col. (1987) mediante el estudio electroforético de 26 sistemas enzimáticos en 31 razas. Los datos obtenidos fueron tratados para calcular las distancias genéticas, usando la ecuación de Nei, y con ellos se construyó un dendrograma. Asimismo se realizaron análisis de componentes principales en dos y tres dimensiones. Las conclusiones a que llegaron fueron las mismas que Hashimoto y col. (1984), pero además incluyeron en el eje norte de Japón (Hokkaido) —sur de China— Taiwan, a los perros nativos de Bangladesh, reafirmando la hipótesis de que las razas del norte de Japón provienen del sur de Asia. El dendrograma mostraba una marcada relación entre las razas con un hipotético origen surasiático y las europeas y por el contrario, una marcada divergencia con las integrantes del eje norte de China —Corea— sur de Japón.

Ejima y col. (1986), analizando diferentes grupos sanguíneos (DEA 1, DEA 3, DEA 6, D y J1), también confirman la divergencia genética existente entre razas nativas japonesas y europeas, concretamente en el grupo D en el que las razas japonesas mostraban una elevada frecuencia del gen D<sup>1</sup>, mientras que las europeas lo hacían respecto del D<sup>2</sup>. También el sistema DEA 3<sup>+</sup> era elevada en razas japonesas siendo por el contrario muy baja en las europeas, llegando incluso 9 de las 12 razas a tener fijado el gen DEA 3<sup>-</sup>.

Por lo expuesto en este capítulo, podemos comprobar que las técnicas electroforéticas pueden ser un instrumento eficaz que complemente los datos obtenidos por otras vías, como los hallazgos arqueológicos, históricos, estudios morfológicos, cromosómicos, de conducta, etc., para así poder inferir las posibles relaciones filogenéticas entre las diversas razas caninas.

## AGRADECIMIENTOS

A Gallina Blanca Purina, por la concesión de una ayuda, obtenida en el I Gran Premio Purina 1985, con la cual se financió parcialmente la puesta en marcha de la Tesis Doctoral titulada "Relaciones Genéticas en Cánidos Españoles".

## BIBLIOGRAFIA

- ANTONIUS (1922). Citado por Tanabe y col. (1974) y por Simonsen, V. (1976).
- BAUR, E.W.; SCHORR, R.T. (1969). Genetic polymorphism of Tetrazolium Exidase in dogs. *Science*, 166, 1.524-1.525.
- BRAEND, M.; RØED, K.H. (1987). Polymorphism of transferrin and esterase in Alaskan wolves: evidence of close molecular homology with the dog. *Anim. Genet.*, 18, 2, 143-148.
- CHIARELLI, A.B. (1975). The Chromosomes of the Canidae. In: *The Wild Canids. Their Systematics, Behavioral, Ecology and Evolution*. ed. M.W. Fox, pp. 40-53. Van Nostrand Reinhold Co, N.Y.
- CLARK, P.; RYAN, G.E.; CZUPPON, A.B. (1975). Biochemical genetic markers in the family Canidae. *Aust. J. Zool.*, 23, 411-417.
- CLUTTON-BROCK, J.; CORBET, G.B.; HILLS, M. (1976). A review of the family Canidae, with a classification by numerical methods. *Bulletin British Museum (Natural History), Zoology*, 29, 3, 119-199.
- CLUTTON-BROCK, J. (1984). Dog. In: *Evolution of domesticated animals*. pp. 198-211. ed. I.L. Mason, Longman, London and New York.
- EJIMA, H.; KUROKAMA, K.; IKEMOTO, S. (1986). Phenotype and Gene Frequencies of Red Blood Cell Groups in Dogs of Various Breeds Reared in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 48, 2, 363-368.
- FERREL, R.E.; MORIZOT, D.C.; HORN, J.; CARLEY, C.J. (1980). Biochemical markers in a species endangered by introgression: the Red Wolf. *Biochem. Genet.*, 18, 39-49.
- FISHER, R.A.; PUTT, W.; HACKEL, E. (1976). An investigation of the products of 53 gene loci in three species of wild Canidae: *Canis lupus*, *Canis latrans* and *Canis familiaris*. *Biochem. Genet.*, 14, 963-974.
- FONTDEVILA, A. (1987). Taxonomía y Especiación. En: *Genética en Acuicultura*. ed. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta. pp. 77-130. CAICYT-FEUGA, Madrid.
- GUERIN, G. (1980). Le polymorphisme biochimique et l'analyse des relations génétiques entre races. *Bull. Tech. Info.*, 351-352, 437-446.
- HASHIMOTO, Y.; YAMAKAWA, T.; TANABE, Y. (1984). Further studies on the red cell glycolipids of various breeds of dogs. A possible assumption about the origin of Japanese dogs. *J. Biochem.*, 96, 1.777-1.782.
- JORDANA, J. (1989). Relaciones Genéticas en Cánidos Españoles. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra, Barcelona.
- JUNEJA, R.K.; CHRISTENSEN, K.; ANDRESEN, E.; GAHNE, B. (1981a). Frequencies of transferrin types in various breeds of domestic dogs. *Anim. Blood. Grps biochem. Genet.*, 12, 79-88.
- JUNEJA, R.K.; REETZ, I.; CHRISTENSEN, K.; GAHNE, B.; ANDRESEN, E. (1981b) Two-dimensional gel electrophoresis of dog plasma proteins: Genetic polymorphism of an  $\alpha_1$ -protease inhibitor and another postalbumin. *Hereditas*, 95, 225-233.
- KOBAYASHI, R.; MIYAKAWA, H.; TANABE, Y.; HASHIMOTO, Y.; OTA, K.; FARUQUE, M.O. (1987). Blood protein polymorphism in the Bangladesh native dogs. Genetic studies on breed differentiation of the native domestic animals in Bangladesh, 2, 93-103.
- LEONE, C.A.; ANTHONY, R.L. (1966). Serum esterases among registered breeds of dogs as revealed by immunoelectrophoretic comparisons. *Comp. Biochem. Physiol.*, 18, 359-368.
- NEI, M. (1972). Genetic distance between populations. *Amer. Nat.*, 106, 283-292.
- OLSEN, S.J.; OLSEN, J.W. (1977). The Chinese wolf, ancestor of New World dogs. *Science*, 197, 533-535.
- PETERS, J.A. (1969). Canine breed ancestry. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 155, 4, 621-624.
- RICHKIND, K.E.; RICHKIND, M. (1978). Polymorphism at the glucosephosphate isomerase locus in the dog. *J. Hered.*, 69, 141-142.
- ROBINSON, R. (1984). Genética para criadores de perros. Bellaterra, Barcelona.
- SIMONSEN, V. (1976). Electrophoretic studies on the blood proteins of domestic dogs and other Canidae. *Hereditas*, 82, 7-18.
- STAINS, H.J. (1975). Distribution and Taxonomy of the Canidae. In: *The Wild Canids. Their Systematics, Behavioral, Ecology and Evolution*. ed. M.W. Fox, pp. 3-26. Van Nostrand Reinhold Co, N.Y.
- STRICKBERGER, M.W. (1985). *Genetics*. 3rd. ed., Macmillan Publishing Company, N.Y.
- STUDER (1901). Citado por Tanabe y col. (1974) y por Simonsen, V. (1976).
- SUGIURA, S.; TANABE, Y.; OTA, K. (1977). Genetic polymorphism of eserine resistant esterases in canine plasma. *Anim. Blood. Grps biochem. Genet.*, 8, 121-126.
- TANABE, Y.; SUGIURA, S.; ASANOMA, M.; OTA, K. (1974). Genetic polymorphism of leucine aminopeptidase in canine plasma. *Anim. Blood. Grps biochem. Genet.*, 5, 225-230.
- TANABE, Y.; OMI, T.; OTA, K. (1977). Genetic variants of glucose phosphate isomerase (E.C. 5.3.1.9) in canine erythrocytes. *Anim. Blood. Grps biochem. Genet.*, 8, 191-195.
- TANABE, Y.; OMI, T.; OTA, K. (1978). Genetic variants of hemoglobin in canine erythrocytes. *Anim. Blood. Grps. biochem. Genet.*, 9, 79-83.
- VRIESENDORP, H.M. (1972). The occurrence of dog histocompatibility antigens in other Canidae. *Gene Phacena*, 15, 73-78.
- WAYNE, R.K. (1986). Cranial morphology of domestic and wild canids: the influence of development on morphological change. *Evolution*, 40, 2, 243-261.
- WAYNE, R.K.; O'BRIEN, S.J. (1987). Allozyme divergence within the canidae. *Syst. Zool.*, 36.4, 339-355.
- WONG, M.; ELLIOT, O.; BIAS, W.; SCOTT, J.P.; LEVISNSOHN, J.; BUSH, R. (1974). Phosphoglucumuntase polymorphism in the family Canidae. *Acta biol. med. germ.*, 32, 307-310.