

CÃES DE GADO NA CONSERVAÇÃO DO LOBO EM PORTUGAL

F. PETRUCCI-FONSECA¹, A. E. PIRES^{1,2}, S. RIBEIRO¹, L. ALMENDRA³, A. CLEMENTE²,
M. T. COLLAÇO², J. MATOS² Y F. SIMÕES²

1. Grupo Lobo. Dep. de Zoologia e Antropologia. Fac. Ciências. Univ. Lisboa.
Edifício C2, 3º Piso. Campo Grande. 1700 Lisboa
2. Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial. Edifício F. Estrada do
Paço do Lumiar. 1699 Lisboa.
3. Direcção Regional de Agricultura de Trás-os-Montes. Centro Experimental da
Terra Quente - Quinta do Valongo. 5370 Mirandela.

RESUMO

Em Portugal o lobo ibérico encontra-se em vias de extinção, devido essencialmente à perseguição directa que o homem lhe move. Este conflito deve-se aos elevados prejuízos económicos que o lobo provoca nos animais domésticos, actualmente a sua principal fonte de alimento. O projecto que se apresenta tem dois objectivos principais:

- Contribuir para a diminuição do impacto predatório nos animais domésticos, através da protecção dos rebanhos com cães de gado de raças autóctones.
- Cão de Castro Laboreiro e Cão da Serra da Estrela.
- Usar este modo de protecção dos rebanhos como um método inovador de conservação do lobo.

O projecto teve início em 1997, tem a duração de três anos e compreende três fases. Na primeira fase proceder-se-á à recolha de informação que permita seleccionar os pastores participantes e os cães a utilizar e será ainda realizada a análise da consanguinidade de exemplares das duas raças. Na segunda fase será feita a demonstração da eficácia dos cães na protecção de rebanhos piloto, em regiões do Nordeste e Centro de Portugal. Por fim, a divulgação e expansão da medida constituirá a terceira fase. Os resultados obtidos até ao momento, relativamente à análise da consanguinidade são preliminares.

Palavras Chave: cães de gado, conservação, diminuição de prejuízos, lobo ibérico, Portugal.

RESUMEN

La utilización de perros de ganado en la conservación del lobo en Portugal. Primeros resultados

En Portugal el lobo ibérico se encuentra en peligro de extinción debido, principalmente, a la persecución directa a la que se halla sometido por parte del hombre. Una de las principales causas de este conflicto debe buscarse en las elevadas pérdidas económicas que provoca como consecuencia de que actualmente los animales domésticos son la principal fuente de alimento del lobo. El proyecto que se presenta tiene dos objetivos principales:

- Disminuir el impacto predador del lobo sobre los animales domésticos, protegiendo los rebaños con perros pastores autóctonos.
- Cão de Castro Laboreiro y Cão da Serra da Estrela.
- Aprovechar la protección de los rebaños con perros pastores como práctica innovadora para la protección y conservación del lobo.

El proyecto que se inició en 1997 tiene una duración de tres años y consta de tres fases. En la primera fase se recogerá la información necesaria para seleccionar los pastores participantes y los perros a utilizar, realizándose además un análisis de consanguinidad de ejemplares de ambas razas. En una segunda fase se evaluará la eficacia de dichos perros en la protección de rebaños piloto ubicados en centro y nordeste de Portugal. En una última fase se divulgará y se implementará de modo más extenso esta medida. Los resultados de consanguinidad actualmente disponibles son aún preliminares.

Palabras clave: conservación, disminución de daños, lobo ibérico, perros de ganado, Portugal.

ABSTRACT

The use of livestock guarding dogs for wolf conservation in Portugal. First results

In Portugal the Iberian wolf is in danger of extinction, due essentially to man's persecution. Economic losses caused by wolf predation on livestock, its primary food resource, is the main cause for the conflict. This project has two important goals:

- To contribute to the decrease of wolf predatory impact on livestock, by flock protection with autochthonous livestock guarding dog breeds
- Castro Laboreiro Watchdog and Estrela Mountain dog.
- To use this kind of flock protection as an innovative tool for wolf conservation.

The project has started in 1997, will last three years and comprise three phases. The information collected on the first phase will allow the selection of shepherds and dogs that will be used in the project. Genetic variability will be analysed on both dog breeds.

On the second phase the efficiency of dogs as livestock guards will be tested and demonstrated on pilot-flocks from the Northeast and Centre of Portugal. The disclosure divulgation and spreading of this conservative measure will take place during the third phase.

The results regarding the analysis of genetic variability are still preliminary data.

Key words: conservation, Iberian wolf, induction of losses, livestock guarding dogs, Portugal

INTRODUÇÃO

Ao longo dos séculos o lobo (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) tem sido um dos principais predadores de animais domésticos na Europa, contribuindo para que os pastores seleccionassem cães (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758) eficazes na protecção dos rebanhos, dando origem a diferentes raças de cães de gado.

Na Europa, durante as últimas décadas, em virtude de vários factores de ordem sócio-económica, tem-se assistido ao desinteresse das populações rurais pela pastorícia e pelos cães de gado. Como consequência verifica-se uma progressiva ineficiência destes cães, que em virtude da perda do conhecimento sobre a sua educação e que da utilização de animais não adequados. Esta tendência generalizada tem contribuído, não só para o declínio das raças de cães de gado, como também para o aumento da vulnerabilidade dos rebanhos aos predadores, contribuindo para a intensificação da perseguição que lhes é movida pelo homem.

A utilização de cães de gado para proteger os rebanhos contra os predadores foi adoptada com sucesso nos Estados Unidos da América, em meados da década de 70 (Coppinger 1988, Green e Woodruff 1990, Andelt 1992), tendo vindo a ser posta em prática, mais recentemente, em vários países da Europa, como na República da Eslováquia (Bloch e Radinger 1996), na França (J. Pitt com. pess.), na Noruega (F. Christiansen com. pess.), na Alemanha e na Polónia (G. Bloch com. pess.).

Estudos realizados em Portugal (Petrucci-Fonseca 1990, Moreira 1992, Álvares 1995, Carreira 1996) têm demonstrado que, devido à escassez de presas naturais, a alimentação do lobo se baseia em ungulados domésticos. Esta situação tem provocado a perseguição directa pelo homem e a quase extinção deste predador no país.

Distribuindo-se originalmente em todo o território continental português, actualmente a área de distribuição do lobo limita-se às regiões mais recônditas do Norte e Centro, e o seu efectivo encontra-se reduzido a pouco mais de 300 indivíduos (Petrucci-Fonseca 1990, Petrucci-Fonseca et al. 1997).

A predação exercida por este predador sobre os animais domésticos, provoca um elevado impacto económico para os criadores de gado e consequentemente para o Estado, responsável pelo pagamento dos prejuízos atribuídos ao lobo (Lei nº 90/88 de 13 de Agosto, regulamentada pelo Decreto -Lei nº 139/90 de 27 de Abril). Além disso, e segundo a mesma lei, os prejuízos atribuídos ao lobo só serão pagos caso se verifique a existência de, pelo menos, um cão adequado à protecção do rebanho por cada 50 cabeças de gado.

O desinteresse pelos cães de gado e em consequência a diminuição do número de exemplares de cada raça terá proporcionado o aparecimento de dois efeitos negativos. Um dos efeitos consiste na miscigenação com outras raças provocando alterações ou perda das características definidas no estalão. Por outro lado o aumento de endocruzamentos, exercido pelos canicultores, favorece o decréscimo da variabilidade genética. A depressão consanguínea constitui uma séria ameaça de extinção para populações com efectivos reduzidos (Senner 1980, Gilpin e Soulé 1986, Laikre e Ryman 1991), pois podem manifestar-se alelos recessivos deletérios com diversas consequências negativas potenciais, como sejam, menor fecundidade, maior mortalidade e menor crescimento (Rosa 1995). Para a recuperação da variabilidade genética dessas raças, são necessárias medidas práticas e urgentes, como seja intervir na selecção dos acasalamentos.

Com o projecto que agora se apresenta, pretende-se contribuir para a conservação do lobo em Portugal através da reabilitação do sistema tradicional de protecção dos rebanhos contra os predadores - a utilização do cão de gado. Serão definidas as bases teóricas para o estabelecimento desta medida e a constituição de um núcleo reprodutor que permita a sua expansão a toda a área de distribuição do lobo. O projecto envolve a recuperação de duas raças autóctones de cães de gado - o Cão da Serra da Estrela (Figura 1) e o Cão de Castro Laboreiro (Figura 2).

A utilização de cães de gado na protecção dos rebanhos é uma actividade com raízes profundas na cultura e tradição europeias, que permite a protecção do gado e do predador. A conservação do lobo ibérico baseada neste princípio surge como uma medida inovadora e urgente em Portugal.



Figura 1. Exemplar da raça Cão da Serra da Estrela (variedade de pêlo curto)

Ejemplar de la raza Cão da Serra da Estrela

Estrela Mountain dog breed specimen



Figura 2. Exemplar da raça Cão de Castro Laboreiro

Ejemplar de la raza Cão de Castro Laboreiro

Castro Laboreiro Watchdog breed specimen

FASEAMENTO

O presente projecto teve início em 1997, tem a duração de três anos, e divide-se em três fases distintas e sequenciais.

Primeira fase

Recolha de informação que permita seleccionar os pastores participantes e os cães a utilizar

Durante os primeiros seis meses, será efectuada uma análise do impacto dos predadores sobre os animais domésticos. Dar-se-á início ao recenseamento das duas raças de cães de gado, a nível nacional. Paralelamente, será avaliado o grau de consanguinidade de cada raça.

Com base na informação obtida, proceder-se-á à selecção dos pastores que irão participar no projecto bem como dos cães que irão ser integrados nos rebanhos.

Segunda fase

Demonstração da eficácia dos cães na protecção dos rebanhos piloto

Esta fase iniciar-se-á no sétimo mês e durará até ao final do projecto.

O projecto será posto em prática em regiões do Nordeste e do Centro do país onde são frequentes os prejuízos provocados não só pelo lobo, como também pelos cães vadios ou assilvestrados.

Nesta fase será efectuada a integração dos cães nos rebanhos seleccionados. Durante o primeiro ano de idade dos cães será indispensável o acompanhamento do seu desenvolvimento comportamental, bem como a verificação e o controlo das condições e ambiente em que são criados, de modo a impedir o aparecimento de comportamentos inadequados ou a permitira sua correcção atempada.

Após o desenvolvimento comportamental dos cães estar completo (a partir de um ano e meio de idade) (Lorenz e Coppinger, 1986) e durante um ano, efectuar-se-á a análise da eficácia dos mesmos na protecção do rebanho.

Terceira fase

Divulgação e expansão da medida

Nos últimos seis meses do terceiro ano, está prevista a realização de campanhas de esclarecimento junto de entidades individuais (pastores, criadores de gado, criadores de cães e população em geral) e colectivas (associações de criadores de gado, de canicultores e de conservação da natureza) bem como diversos departamentos estatais. Será também produzido um vídeo de demonstração e editadas brochuras de divulgação, focando os resultados obtidos e as vantagens da medida preconizada.

A informação comportamental e genética obtida será disponibilizada e utilizada na recomendação de acasalamentos entre os indivíduos de cada uma das raças.

Pretende-se igualmente a procura de incentivos que permitam a aquisição de bons cães de gado pelos pastores e criadores de gado.

METODOLOGIA

Análise do impacto predatório sobre os animais domésticos

Será efectuado um inquérito escrito, de âmbito nacional, relativo ao impacto predatório dos cães vadios e assilvestrados sobre os animais domésticos. A avaliação do impacto predatório do lobo, terá por base a informação recolhida pelas Áreas Protegidas referente aos prejuízos atribuídos a este predador.

Seleccção dos pastores

Para participação no projecto serão seleccionados pastores que demonstrem interesse em colaborar e que reúnam as condições necessárias: tenham elevados prejuízos económicos causados por predadores e possuam um rebanho pastoreado em regime extensivo.

Recenseamento dos cães

Serão contactadas as entidades responsáveis pelo licenciamento dos cães, a nível nacional, inquirindo sobre o número de animais registados pertencentes às duas raças de cães de gado. Esta informação será complementada com deslocações aos solares de origem das raças, durante as quais se procederá à identificação dos cães observados, recolhendo informação sobre as características morfológicas e comportamentais dos cães, bem como das funções em que são utilizados.

Seleccção dos cães

A seleccção dos cães será efectuada de preferência sobre animais que ainda exerçam a função de protecção dos rebanhos, e terá em consideração as características morfológicas, comportamentais e genéticas dos progenitores.

A caracterização morfológica dos cães terá por base o estalão definido das raças. O comportamento será caracterizado através de inquéritos ao proprietário e, sempre que possível, de observação directa do cão durante o período de pastoreio, focando as três componentes comportamentais definidas por Coppinger et al. (1988): *Confiança* - nível de interferência do cão na actividade normal do rebanho; *Atenção* - nível de atenção para com a actividade e movimento dos animais do rebanho; *Protecção* - comportamento demonstrado e eficiência durante o ataque de predadores.

Análise genética

Foram recolhidos 2 a 5ml de sangue em EDTA (anticoagulante) de animais pertencentes às duas raças. A amostragem abrange indivíduos provenientes da região do solar e fora do solar.

Em laboratório procedeu-se à extracção do material genético do tecido sanguíneo através do método fenol e clorofórmio. Utilizando a técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) foram amplificados sete microssatélites, descritos numa biblioteca genómica de cães (Ostrander et al. 1993). Os microssatélites são *loci* nucleares, muito abundantes e amplamente distribuídos nos genomas eucarióticos (Taylor et al., 1994). Sendo independentes geneticamente e altamente polimórficos, tornaram-se uma ferramenta poderosa na análise de sistemas de acasalamentos e estrutura de populações (Hillis et al. 1996).

Para detecção dos alelos marcou-se um dos iniciadores com [g-32P] dATP, através da reacção com a T4 polynucleotide Kinase (Sambrook et al. 1989). Seguiram-se 28 ciclos de amplificação por PCR num volume de reacção de 25 ml e usando 50 ng de ADN, 2mM MgCl₂ e 0.8 unidades de Taq ADN polimerase (Ecotaq). Três microlitros de cada produto foi depois adicionado a 2 ml de tampão de aplicação e aquecidos a 95°C durante 5 minutos antes de serem separados num gel de acrilamida 6% contendo ureia. Uma reacção de sequenciação de controlo foi aplicada adjacente às amostras de modo a proporcionar um marcador de peso molecular para leitura do tamanho dos alelos. Os géis foram autoradiografados durante dois dias com um ecrã intensificador.

Integração dos cães nos rebanhos

Serão utilizados 12 cães (6 de cada raça e igual número de machos e fêmeas), cuja educação será feita de acordo com o método tradicional, melhorado nos Estados Unidos da América pela equipa de R. Coppinger (Massachusetts, USA).

A integração dos cães nos rebanhos será feita entre as 8 e 16 semanas de idade. Durante este período do seu desenvolvimento, inicia-se uma fase de socialização na qual se criam laços afectivos com outros indivíduos, inclusive pertencentes a outras espécies (Figura 3). Até atingirem a maturidade, os cães devem ser mantidos constantemente junto dos animais do rebanho e não ser permitida a sua interacção com outros cães ou com outras pessoas, para além do pastor.

O número de cães por rebanho será definido em função de diversos parâmetros: tamanho do rebanho; intensidade da predação; tipo de terreno e coberto vegetal, entre outros.



Figura 3. Os cães de gado deverão acompanhar o rebanho desde muito cedo e permanecer sempre junto dele
Los perros de ganado deberan acompañar al rebaño desde muy temprana edad y quedarse siempre cerca de él
Livestock guarding dogs should follow the flock from an early age and always remain near it

Análise comportamental

O comportamento dos cães será analisado mensalmente através da observação directa dos cães durante o período de pastoreio dos rebanhos. A caracterização comportamental será baseada nas três componentes definidas por Coppinger et al. (1988) e já referidas: *Confiança*, *Atenção* e *Protecção*. Esta informação será complementada com a proveniente de inquéritos efectuados ao proprietário sobre o comportamento do cão.

A avaliação da eficiência dos cães terá por base os seguintes critérios: a comparação entre o montante dos prejuízos sofridos pelo pastor antes e após a introdução do cão no rebanho; o comportamento demonstrado pelo cão, nomeadamente durante eventuais interacções com predadores; a frequência de ocorrência de comportamentos inadequados; e a facilidade de integração e adaptação do cão às condições de pastoreio do rebanho.

ANÁLISE GENÉTICA. PRIMEIROS RESULTADOS

A análise genética reporta-se a 30 indivíduos por raça (Cão de Castro Laboreiro: região do solar N=11, fora do solar N=19; Cão da Serra da Estrela: região do solar N=21; fora do solar N=9).

Medidas da variabilidade genética para os 7 *loci* foram calculadas com o programa GDA - Genetic Data Analysis (Paul O. Lewis e Dimitri ZayKin; versão 32-bit

1.0 para Windows 95/NT). O polimorfismo genético de cada raça foi medido através do número médio de alelos por *locus* (A), heterozigotia observada (Ho) e heterozigotia esperada no equilíbrio de Hardy-Weinberg (He).

Os valores apresentados nas tabelas 1 e 2 mostram que o número médio de alelos por *locus* (A) é superior para a raça Cão da Serra da Estrela. Os valores da heterozigotia observada (Ho) indicam que a raça Cão da Serra da Estrela apresenta uma variabilidade maior que a raça Cão de Castro Laboreiro. Para esta última o número de alelos variou entre 2 e 7 e para a raça Cão da Serra da Estrela entre 1 e 11 (Figura 4). Todavia, nenhuma das raças se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg como determinado através do teste exacto de Fisher ($P < 0,05$).

TABELA 1
Parâmetros da estatística descritiva para a amostra raça Cão de Castro Laboreiro
Parámetros de la estadística descriptiva para la raza Cão de Castro Laboreiro
Descriptive statistics for the data set of Castro Laboreiro Watchdog breed

Núcleo populacional	n	A	He	Ho
Solar	18,428571	4,000000	0,415638	0,320655
Fora do solar	9,857143	3,428571	0,510207	0,447660
Média	14,142857	3,714286	0,452923	0,384157

TABELA 2
Parâmetros da estatística descritiva para a amostra da raça Cão da Serra da Estrela
Parámetros de la estadística descriptiva para la raza Cão da Serra da Estrela
Descriptive statistics for the data set of Estrela Mountain dog breed

Núcleo populacional	n	A	He	Ho
Solar	8,000000	4,000000	0,621891	0,597789
Fora do solar	18,142857	4,857143	0,525770	0,505402
Média	13,071429	4,428571	0,573830	0,551596

Os parâmetros da Estatística de F (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) (Wright, 1978), (sem bold 3 e 4) permitem-nos avaliar, respectivamente, a consanguinidade individual, a global e a diferenciação entre os núcleos populacionais estudados.

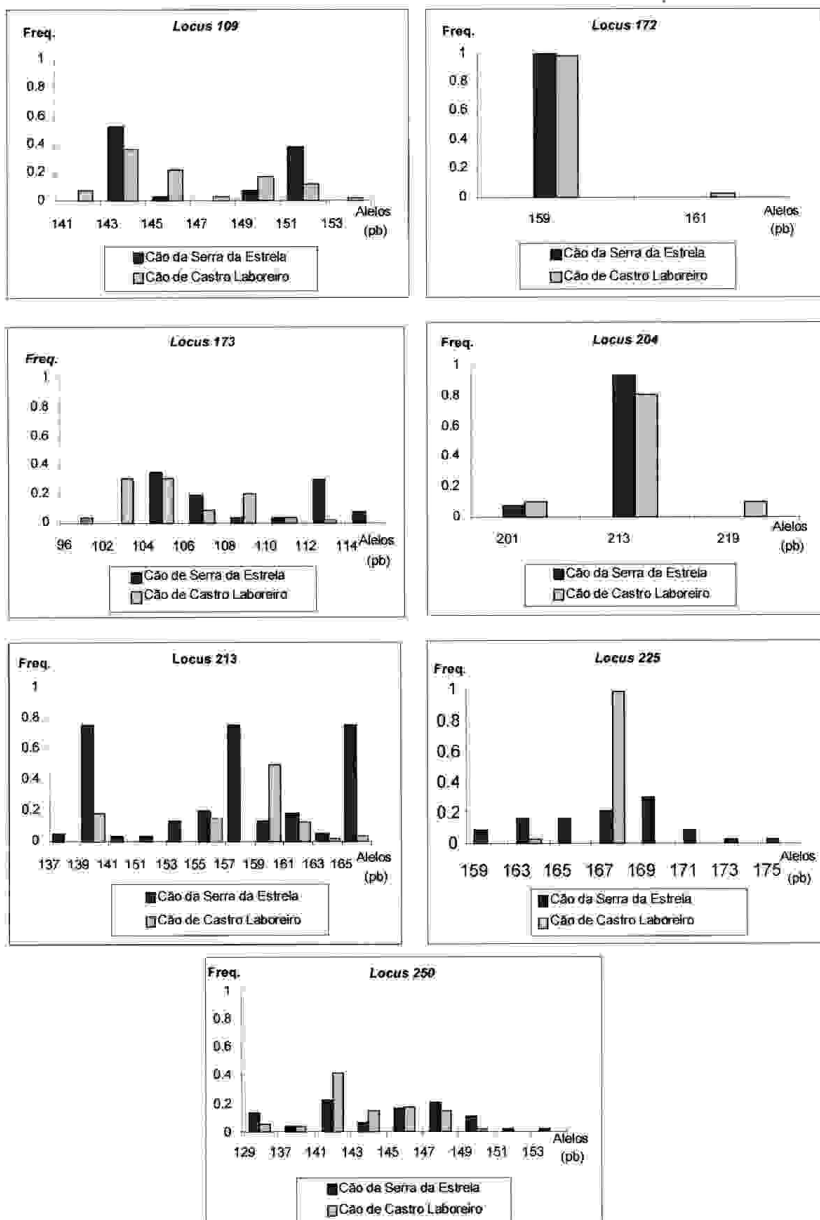


Figura 4. Histogramas das frequências alélicas para 7 microsatélites, de duas raças caninas portuguesas
Gráfico de las frecuencias alélicas de 7 microsatélites en ambas razas caninas portuguesas
Histograms of the allelic frequencies on 7 microsatellites for two portuguese dog breeds

TABELA 3
 Parâmetros da Estatística de F (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) por *locus* e para a raça Cão de Castro Laboreiro
Resultados del análisis de los F-estadísticos (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) para cada locus y para la raza Cão de Castro Laboreiro
Estimates of Wright's F-statistics (F_{IS} , F_{IT} and F_{ST}) per locus for Castro Laboreiro Watchdog breed

<i>Locus</i>	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
<i>Locus 109</i>	-0,297525	-0,270049	0,021176
<i>Locus -172</i>	***	***	***
<i>Locus -173</i>	-0,126409	-0,059482	0,059416
<i>Locus -204</i>	0,334601	0,601307	0,400821
<i>Locus -213</i>	0,320755	0,352567	0,046834
<i>Locus -225</i>	0,225296	0,246652	0,0227567
<i>Locus -250</i>	-0,142857	-0,034762	0,094584

Bootstrap de todos os locis
Número de replicados = 999
Intervalo de Confiança = 95%

Limite	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Superior	0,243836	0,291787	0,126696
Inferior	-0,180965	-0,105048	0,036287
Nº replicados	999	999	999
IC	95,195195	95,195195	95,195195

TABELA 4
 Parâmetros da Estatística de F (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) por *locus* e para a raça Cão da Serra da Estrela
Resultados del análisis de los F-estadísticos (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) para cada locus y para la raza Cão da Serra da Estrela
Estimates of Wright's F-statistics (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) per locus for Estrela Mountain dog bre

<i>Locus</i>	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
<i>Locus 109</i>	0,518516	0,604856	0,179321
<i>Locus -172</i>	-0,013158	0,013849	0,026656
<i>Locus -173</i>	0,161930	0,208700	0,055807
<i>Locus -204</i>	0,035017	0,208700	0,055807
<i>Locus -213</i>	0,198255	0,497131	0,372782
<i>Locus -225</i>	-0,013158	0,013849	0,026656
<i>Locus -250</i>	-0,008571	0,082887	0,090681

Bootstrap de todos os locis
Número de replicados = 999
Intervalo de Confiança = 95%

Limite	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Superior	0,372584	0,517985	0,306840
Inferior	0,022790	0,136717	0,084808
Nº replicados	999	999	999
IC	95,195195	95,195195	95,195195

Para a raça Cão da Serra da Estrela, não se verifica até ao momento consanguinidade nem a nível individual nem a nível global. Para a raça Cão de Castro Laboreiro parece existir consanguinidade quer intrapopulacional quer a nível global, significativamente diferente de zero. Quanto ao parâmetro F_{ST} em ambas as raças ocorre uma divergência significativa entre os núcleos populacionais. Os núcleos populacionais analisados agrupam-se por raças e apresentam-se individualizados (Figura 5).

Embora estes resultados sejam preliminares parece existir indicação de que, para ambas as raças, há uma diferenciação entre os núcleos populacionais, sendo esta mais notória para a raça Cão de Castro Laboreiro. Para a raça Cão da Serra da Estrela, os resultados poderão traduzir uma maior aleatoriedade nos cruzamentos que os canicultores estabelecem entre os cães.

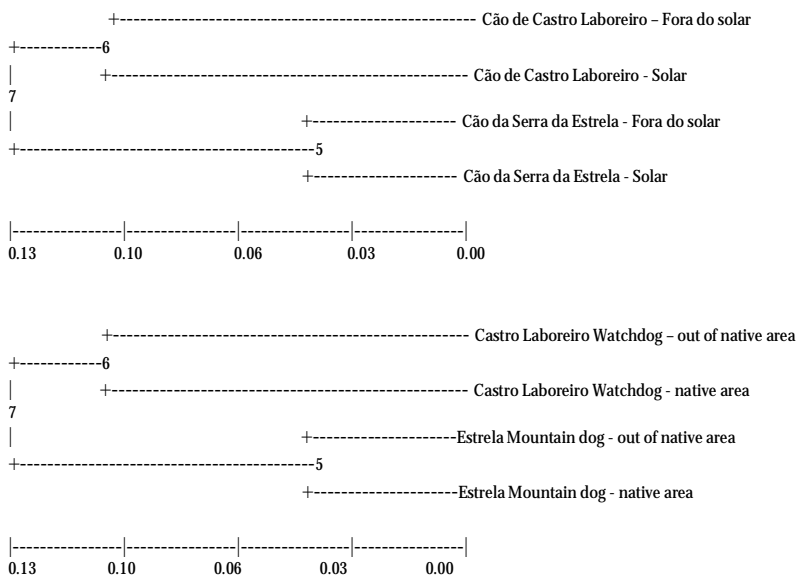


Figura 5. Fenograma UPGMA que mostra as distâncias genéticas entre os núcleos populacionais analisados

Fenograma UPGMA que muestra las distancias genéticas entre los núcleos poblacionales analizados

UPGMA phenogram showing the genetic distances among the analysed population nucleus

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer ao Prof. Dr. Raymond Coppinger (Hampshire College, Massachusetts, EUA) e ao Sr. Joel Pitt (Association pour la Promotion des Animaux de Protection, França), pelo apoio científico na elaboração do projecto. A todos os proprietários que se mostraram disponíveis para a colheita de sangue dos seus cães, ao Dr. Nuno Marques Pereira, Dr. João Brito e ao Dr. Fernando Trajano, pela ajuda prestada na colheita das amostras. À Associação Nacional de Caprinicultores da Raça Serrana e ao Parque Natural do Alvão, pela colaboração no contacto com os pastores nas regiões de Mirandela e de

Vila Real, respectivamente. À Ana Teresa Cândido por todo o apoio que nos deu na região da Serra da Estrela. Ao Prof. Dr. Robert K. Wayne pela oportunidade da realização de um estágio no laboratório de genética de canídeos da UCLA, do qual é responsável. À Dr^a Isabel Amorim do Rosário pelo apoio técnico prestado no laboratório. Ao António Guerra pelo processamento de algumas amostras em laboratório. Este projecto beneficia do apoio financeiro do Instituto Nacional de Investigação Agrária, no âmbito do programa PAMAF (IED 8133/97), do Instituto de Promoção Ambiental e da Fundação Bernd Thies.

REFERENCIAS

- ÁLVARES, F. (1995). *Aspectos da distribuição e ecologia do lobo no Noroeste de Portugal. O caso do Parque Nacional da Peneda-Gerês*. Relatório de estágio profissionalizante para a obtenção de Licenciatura em Recursos Faunísticos e Ambiente. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 51 pp.
- ANDELT, W. F. (1992). Effectiveness of livestock guarding dogs for reducing predation on domestic sheep. *Wildl. Soc. Bull.*, 20 (1): 55-62.
- BLOCH, G. e E. RADINGER (1996). Introducing a livestock-guarding dog program: the renaissance of an age-old european tradition. *Wolf Magazine* XIII (4)/XIV (1):10-12.
- CARREIRA, R. S. (1996). *Situação populacional e biologia alimentar do lobo na área de influência do Parque natural do Alvão*. Relatório de estágio para a obtenção de Licenciatura em Biologia Aplicada aos Recursos Animais. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 47 pp.
- COPPINGER, R. L. COPPINGER, G. LANGELOH, L. GETTLER e J. LORENZ (1988). *A decade of use of livestock guarding dogs*. Pp. 209-214 in Crebb, A. C. e R. E. Marsh (ed.). Proc. Vertebr. Pest Conf., University of California Publ., Davis.
- GREEN, J. S. e R. A. WOODRUFF (1990). *ADC guarding dog program update: a focus on managing dogs*. Pp. 233-236 in Davis, L. R. e R. E. Marsh (ed.). Proc. Vertebr. Pest Conf., University of California Publ., Davis.
- LAIKRE, L. e RYMAN (1991). Inbreeding depression in a captive wolf (*Canis lupus*) population. *Conservation Biology*, 5 (1): 33-40.
- LORENZ, J. R. e L. COPPINGER (1986). *Raising and Training a Livestock-Guarding Dog*. Extension Circular 1238, Oregon State University Extension Service, 8 pp.
- MOREIRA, L. (1992). *Contribuição para o estudo da ecologia do lobo (Canis lupus signatus Cabrera, 1907) no Parque Natural de Montesinho*. Relatório de estágio para a obtenção de Licenciatura em Recursos Faunísticos e Ambiente. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 175 pp.
- OSTRANDER, E., G. SPRAGUE, e J. RINE (1993). Identification and characterization of dinucleotide repeat (CA)_n markers for genetic mapping in dog. *Genomics*, 16: 207-213.
- PETRUCCI-FONSECA, F. (1990). *O lobo (Canis lupus signatus Cabrera, 1907) em Portugal. Proble-mática da sua conservação*. Tese de Doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 332 pp.
- PETRUCCI-FONSECA, F., A. S. ALEXANDRE, F. ÁLVARES, C. BESSA-GOMES, A. T. CÂNDIDO, R. S. CARREIRA e S. RIBEIRO (1997). *Conservação do lobo em Portugal*. (Relatório Final). Grupo Lobo/Instituto da Conservação da Natureza. Programa LIFE. Lisboa, 71 pp.
- ROSA, H. (1995). *Estrutura e Diferenciação Genética de Populações de Anuros da Fauna Portuguesa*. Tese de Doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Lisboa 214pp.

- SAMBROOK E., F. FRITSCH E T. MANIATIS (1989). *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York.
- TAYLOR, A. C., W. B. SHERWIN E R. K. WAYNE (1994). Genetic variation of microsatellite *loci* in a bottlenecked species: the northern hairy-nosed wombat *Lasiorhinus knefftii*. *Molecular Ecology*, 3: 277-290.
- WRIGHT, S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Variability Within and among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago. 580pp