

TRABAJO PRÁCTICO 6

GENÉTICA DE LA CONSERVACIÓN

La disciplina de la Biología de la Conservación surge con el reconocimiento de la biodiversidad como un proceso y no como un patrón estático. En 1974, Otto Frankel menciona por primera vez en su trabajo “*Genetic conservation: our evolutionary responsibility*” la importancia de conservar toda la diversidad que se originó a lo largo de los millones de años de evolución, ya que no podemos predecir los cambios a los que deberán hacer frente las especies en el futuro. La variabilidad genética es un requisito para la evolución y para responder a las presiones de selección; a mayor variabilidad, mayor será el **potencial adaptativo** de una especie. La genética de la conservación preserva a las especies no como una entidad estática, sino como entidades capaces de responder al cambio en el tiempo. Por lo tanto, el primordial objetivo es conservar la variabilidad genética de cada una de las especies. La **diversidad genética** es, por lo tanto, uno de los niveles biodiversidad que debemos conservar, junto con las especies y los ecosistemas.

La **fragmentación del hábitat** puede producir una barrera geográfica que interrumpa la dispersión de individuos entre poblaciones, llevando incluso a la reducción de los tamaños poblacionales. Las **poblaciones pequeñas** son más susceptibles a la pérdida de variabilidad genética, debido a que son más sensibles a los cambios estocásticos, que pueden ocurrir a nivel ambiental (factores bióticos o abióticos), demográfico (proporción de sexos, tasas de mortalidad o reproducción) o genético (deriva génica, **endogamia**, acumulación de mutaciones). En diversas especies se ha visto que una menor **variabilidad genética** está correlacionada con un menor éxito reproductivo, que en algunos casos se relaciona con la expresión de alelos deletéreos. La proporción de alelos deletéreos en la población se denomina **carga letal**, y ésta puede aumentar cuando disminuye la variabilidad. Una acción para contrarrestar la pérdida de variabilidad genética en poblaciones pequeñas es la introducción de individuos provenientes de otras poblaciones. Sin embargo, cuando los híbridos tienen menor éxito de supervivencia que los individuos parentales la hibridación entre individuos de distintas poblaciones puede llevar a la **depresión por exogamia**.

En este sentido, al elaborar un plan de conservación o de manejo, resulta importante conocer el grado de variabilidad genética de la población bajo estudio. Por otro lado, también es importante conocer la **estructura de la población**, es decir, si la población está dividida en subpoblaciones, lo permitiría además determinar el grado de flujo génico entre las poblaciones. Asimismo, al diseñar un plan de conservación, es esencial identificar a las poblaciones que se encuentran aisladas entre sí, dado que comprenden distintas **unidades de manejo** (Mortiz 1994, Crandall 2000, Palsbøll et al. 2006). Estas unidades de manejo se definen como unidades demográficas independientes con frecuencias alélicas distintivas. En muchos casos las poblaciones difieren en frecuencias alélicas sin evidencia de separación filogenética (monofilia recíproca), pero se conservan como la mejor aproximación para conservar la variabilidad genética a lo largo de la distribución de una especie.

El **objetivo** del trabajo práctico es estimar la variabilidad genética y estructura poblacional del roedor cordillerano, *Geoxus valdivianus*, e identificar unidades de manejo de conservación. Además, se evaluará la conveniencia de reintroducir individuos de otra población en una población pequeña y aislada.

DESARROLLO

Para estimar la variabilidad genética se trabajará con el programa GenAlEx v6.5, un complemento para archivos Excel. Se estudiarán los siguientes índices:

Polimorfismo (P): Proporción de loci polimórficos (2 ó + alelos).

$P = \# \text{ loci polimórficos} / \# \text{ total de loci}$

Heterocigosis observada (Ho) en un locus: Proporción de heterocigotas para 1 dado locus

$H_o(\text{locus}) = \# \text{heterocigotas observados} / N$ Donde $N = \# \text{individuos de una población.}$

Heterocigosis observada (Ho) poblacional: Proporción de heterocigotas en k loci estudiados

$H_o(\text{pobl.}) = (\sum H_{o_{\text{locus}}}) / k$ Donde $K = \# \text{loci estudiados en una población.}$

Heterocigosis esperada (He): Proporción de heterocigotas esperada en una población panmítica.

$H_e = 1 - \sum p_i^2$ Donde p_i es la frecuencia alélica del i-th alelo.

Diversidad alélica (Na): Número de alelos diferentes en k loci estudiados.

$N_a = \sum (A_1 + A_2 + \dots + A_n) / k$ Donde $K = \# \text{loci estudiados en una población.}$

Índice F: Coeficiente del grado de endogamia de una población.

$F = (H_e - H_o) / H_e = 1 - (H_o / H_e)$ Donde $F = (-1; 1)$

$F \approx 0$: Equilibrio de Hardy-Weinberg. (Panmixia) ($H_o \approx H_e$).

$F < 0$: Exceso de heterocigosis. (Exogamia) ($H_e > H_o$).

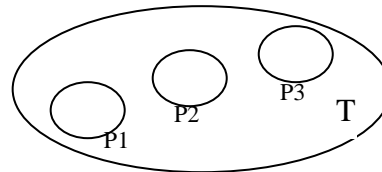
$F > 0$: Exceso de homocigotas. (Endogamia) ($H_o < H_e$).

Estadístico F_{ST} de Wright (Sewall-Wright 1951)

Coeficiente de endogamia dentro de poblaciones y relativo a la población total (F_{ST}):

Medida de diferenciación genética entre subpoblaciones. Permite estudiar la estructuración entre poblaciones. Es la proporción de la diversidad genética total (heterocigosis) que está distribuida entre las k subpoblaciones.

$F_{ST} = (H_s - H_T) / H_s = 1 - (H_T / H_s)$ con $F_{ST} \geq 0$



H_s : He promedio entre subpobl., y H_T : He total

$F_{ST} = 0$: No hay diferenciación genética entre subpobl. = No hay estructuración poblacional

$F_{ST} > 0$: Hay diferenciación genética entre subpobl. = Hay estructuración poblacional.

Especie en estudio



La especie estudiada es el Ratón topo pardo *Geoxus valdivianus*, un roedor pequeño que habita los bosques cordilleranos de Argentina y Chile. La tala de estos bosques durante los últimos 100 años ha generado parches boscosos separados por zonas abiertas de diverso tamaño (Fig.1). Con el objetivo de evaluar el efecto de la fragmentación sobre la diversidad genética de la especie, se toman muestras de 20 individuos pertenecientes a tres poblaciones de la zona de Neuquén y se realiza el análisis genético de 4 loci microsatélites (Tabla 1, 2 y 3)

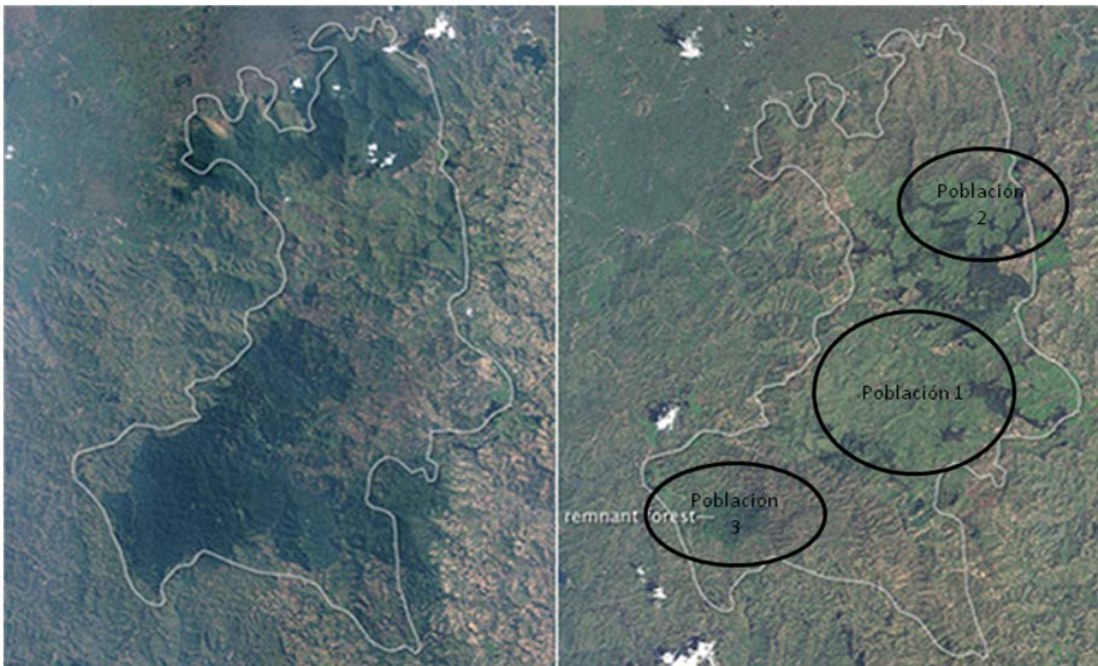


Fig.1. Mapa de ubicación de 3 poblaciones del Ratón topo pardo *Geoxus valdivianus*.

Tabla 1. Genotipos para la Población 1

Muestras	Locus 1	Locus 2	Locus 3	Locus 4
1	123/125	320/324	210/219	190/194
2	123/123	324/324	216/222	190/190
3	125/127	324/332	222/228	194/194
4	127/129	328/332	225/225	194/194
5	123/129	324/328	213/231	190/194
6	127/127	320/324	210/210	190/194
7	123/131	324/324	210/225	190/190
8	125/131	324/324	225/234	194/194
9	127/133	320/336	225/225	194/194
10	125/133	320/320	210/210	190/194
11	131/133	324/332	216/234	190/194
12	129/129	328/328	234/237	190/190
13	123/127	324/324	219/237	194/194
14	123/123	320/336	228/228	190/194
15	127/127	324/328	210/234	190/190
16	131/131	324/340	225/240	194/194
17	127/127	336/340	219/240	194/194
18	125/129	328/328	222/231	190/194
19	129/133	324/324	210/210	190/194
20	125/131	324/328	225/225	190/194

Tabla 2. Genotipos para la Población 2

Muestras	Locus 1	Locus 2	Locus 3	Locus 4
1	127/127	324/332	210/210	190/190
2	123/127	324/324	216/225	190/190
3	125/127	320/324	228/228	190/194
4	123/129	328/332	225/225	190/194
5	123/129	324/328	213/231	194/194
6	123/125	324/332	210/210	190/190
7	123/125	324/324	225/225	190/190
8	131/131	324/324	210/234	194/194
9	125/125	320/320	225/225	194/194
10	133/133	320/320	210/210	190/190
11	131/133	324/328	234/234	190/194
12	129/129	328/332	216/237	190/190
13	123/127	324/324	210/237	194/194
14	123/123	320/332	228/228	190/194
15	127/127	328/328	210/234	190/190
16	131/131	324/324	240/240	194/194
17	127/127	324/340	228/228	194/194
18	129/129	328/328	225/231	190/190
19	125/133	324/324	210/210	190/194
20	127/131	328/340	225/225	194/194

Tabla 3. Genotipos para la Población 3

Muestras	Locus 1	Locus 2	Locus 3	Locus 4
1	127/129	316/324	219/219	190/190
2	129/129	324/332	216/222	190/190
3	125/133	324/324	222/228	190/190
4	127/139	328/328	225/225	190/190
5	137/137	324/332	213/231	190/190
6	137/139	316/324	231/231	190/190
7	139/139	320/324	225/225	190/190
8	127/139	324/324	225/234	190/190
9	125/125	324/336	225/225	190/190
10	125/127	320/320	228/228	190/190
11	131/131	324/324	216/234	190/190

12	133/133	328/332	234/237	190/190
13	137/137	324/328	219/237	190/190
14	127/129	320/320	228/228	190/190
15	127/127	316/316	219/234	190/190
16	131/133	324/324	225/240	190/190
17	137/139	324/328	219/240	190/190
18	125/139	328/328	222/231	190/190
19	131/131	324/324	231/231	190/190
20	125/133	320/320	225/225	190/190

Para trabajar con el programa GenAlEx v6.5 abra el archivo “genotipos.xls” que contiene los genotipos de las tres poblaciones. Luego abra el archivo GenAlEx 6.502.xla; aparecerá la solapa “Complementos” (Add-Ins). Ingrese a “Advanced Users Menu Options” y tilde las 7 opciones (GenAlEx>“Options” > “Menus”).

DIVERSIDAD GENÉTICA

Para analizar la diversidad genética poblacional, se estudiará para cada población, el grado de polimorfismo, la heterocigosis observada y esperada y el grado de endogamia.

Para ello, ir al módulo “Frequency” acceder a “Allele frequency Data Parameters”, click ok. Luego en la sección “Codominant Frequency Options” seleccione “Frequency by Pop” y “Het, Fstat & Poly by Pop”. Seleccione además las opciones “Graph by Locus” y “Graph by Pop for each Locus”

Para cada población, observe los valores obtenidos para Na, Ho, He y F. Analícelos y responda:

- 1) ¿Cómo es la diversidad genética de cada población? Descríbalas.
- 2) ¿Presentan evidencias de endogamia las poblaciones estudiadas?
- 3) ¿Cree que exista diferenciación genética entre las 3 poblaciones? ¿Por qué?

ESTRUCTURA GENÉTICA

Para evaluar si existe estructuración poblacional, se estudiarán posibles diferencias genéticas entre las poblaciones estudiadas y se analizará el estadístico Fst de Wright.

Mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA), se estudiará el estadístico Fst de Wright. Acceda al módulo “AMOVA”, seleccione “For AMOVA-Fst only / Codom-allelic”, “AMOVA Locus Analysis Options/Analysis for Total Only”, “Output /as Tri matrix” y “Output/ Label Matrix/Pop”, click Ok. Indique 999 permutaciones y “Output for Total Only”.

Observe los resultados de la tabla de AMOVA y responda:

- 1) ¿Cuál es el porcentaje de varianza molecular entre y dentro poblaciones?
- 2) ¿Cuál es el valor de FST global? ¿Indica estructuración significativa entre las poblaciones?

Para evaluar el efecto de la fragmentación sobre la diversidad genética de la especie se analizará si existen diferencias significativas entre las poblaciones. Se estudiarán las distancias genéticas entre las poblaciones y se realizarán comparaciones pareadas entre las poblaciones.

Acceda al módulo “Frequency” luego a “Allele frequency Data Parameters”, click ok. En “Multiple Pop options” seleccione “Nei Distance” y “Pairwise Fst”. Analice y Responda:

- 3) Analice los valores de Nei Distance y las comparaciones pareadas ¿Están diferenciadas genéticamente entre sí las poblaciones estudiadas? Justifique.

- 4) Si existe estructuración, ¿Qué podría estar generando dicha estructuración? ¿Podría definir unidades de conservación?
- 5) Se estudia la posibilidad de crear una reserva con prohibición de tala en la zona de estudio. ¿Cuál de las tres poblaciones priorizaría Ud. para ser incluida en la reserva?

BIBLIOGRAFIA

CRANDALL KA, BININDA-EMONDS ORP, MACE GM & WAYNE RK (2000) Considering evolutionary process in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15:290-295

FRANKEL O (1974) Genetic conservation: our evolutionary responsibility. *Genetics* 78:53-65

MORITZ C (1994) Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9:373-375

PALSBØLL PJ, BÉRUBÉ M & ALLENDORF FW (2006) Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology and Evolution* 22:11-16

WRIGHT S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15:323-354