



Situación Genética de las Poblaciones del desmán ibérico en el sistema central de Extremadura

Madrid, 29 Noviembre 2018

Life+Desmania

Grupo de Trabajo de desmán ibérico (reunión extraordinaria)

Objetivos

- Usando muestras no invasivas.
 - Aplicar herramientas moleculares (mtDNA y microsatelites).
 - discriminar la presencia de otras especies competidoras, en nuestro caso *N. anomalus*, específicamente.
 - Identificar variación genética que permita detectar intercambios genéticos entre poblaciones.
 - Identificar genotipos particulares (microsatelites).
 - Encontrar parejas a través de la identificación del sexo.
 - Evaluar la diversidad genética y grado de aislamiento.
 - Establecer relaciones de parentesco a escala fina.

discriminar presencia de otras especies competidoras

- En relación a este aspecto las áreas prospectadas (Ambroz, Jerte y La Vera).
 - Ambroz y Jerte con 16% y 11,3% de muestras positivas a *N. anomalus*, respectivamente.
 - La Vera con 27% de positivos a *N. anomalus*.

Indicando mayor competencia por el nicho en La Vera, refiriéndonos tanto a la muestra extremeña como para otras áreas geográficas con datos globales declarados por Castresana (IV seminario técnico Life + DESMANIA [19%])



Negativo (-) = *N. anomalus*

Positivo (+) = *G. pyrenaicus*

Barra inclinada (/) = contaminación cruzada

Identificar variación genética y detectar intercambios genéticos entre poblaciones

- En relación a este aspecto las áreas prospectadas (Ambroz, Jerte y La Vera).
 - **Cyb** : A pesar de que la especie muestra una fuerte variación molecular acompañada de una estructura poblacional (4 clados), las poblaciones extremeñas y para todas las áreas geográficas pertenece al **clado A2 y no** muestra **variación** en este gen
 - **d-loop** : Sin embargo, la población extremeña ha mostrado variación genética en su mitogenoma por primera vez. Aunque **solo un SNP diferente, podemos a firmar** que los animales del **Jerte tenían fijada una variante del gen d-loop**.

Identificar variación genética y detectar intercambios genéticos entre poblaciones a través del componente materno.

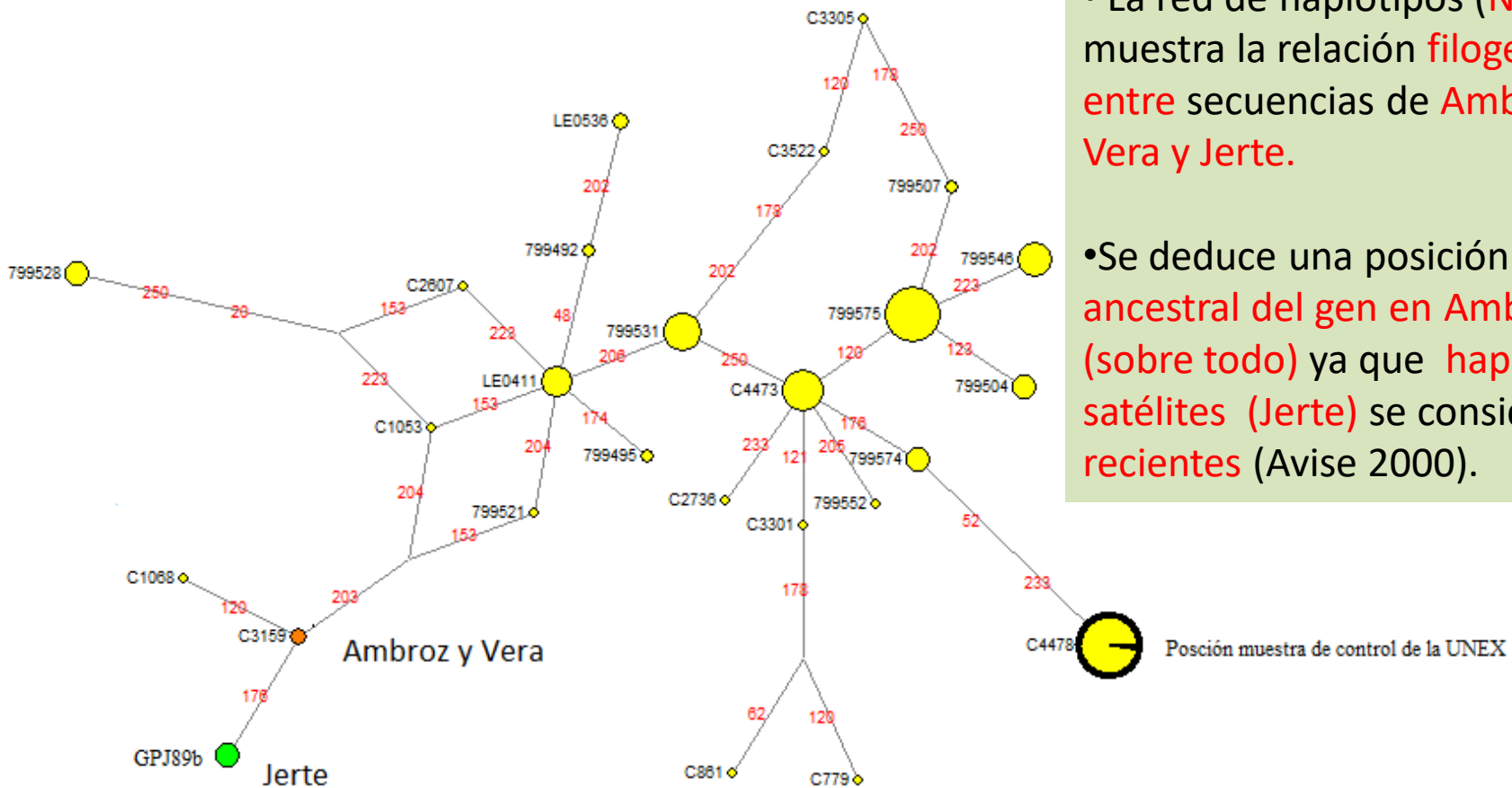
[illegible]

SNP Ambroz y La Vera (Adenina)

SNP Jerte (Guanina)

- No cambia mucho y mantiene un diagnóstico de baja diversidad en la zona par el mitogenoma.
- Sugiere realizar esfuerzos adicionales de secuenciación, extendiendo el tamaño y número de muestras del producto a secuenciar al objeto de hacerlo más informativo .
- Si finalmente se identifican otros SNPs, podemos incrementar la precisión a escala fina de la información sobre variabilidad y/o aplicar esta variación a evaluar zonas de contacto o monitorear los resultados de eventuales translocaciones dentro de la zona, si fuera el caso.

Identificar variación genética y detectar intercambios genéticos entre poblaciones a través del componente materno.

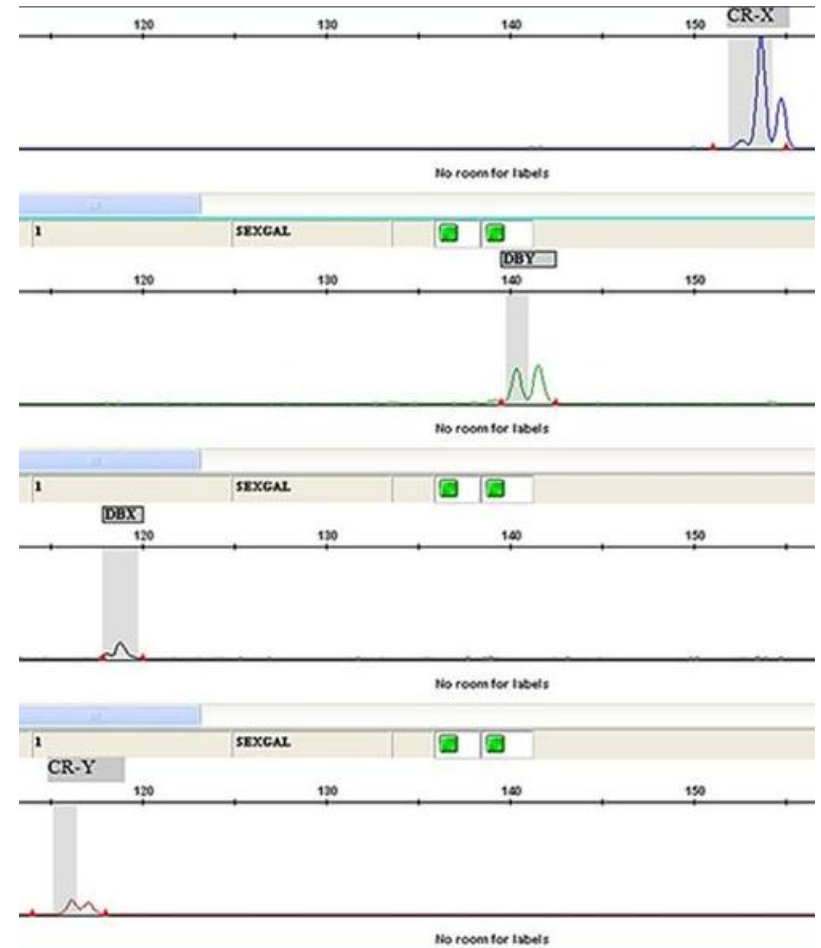


- La red de haplotipos (**Network**) muestra la relación **filogenética** entre secuencias de **Ambroz, La Vera y Jerte**.

- Se deduce una posición **más ancestral** del gen en **Ambroz (sobre todo)** ya que **haplotipos satélites (Jerte)** se consideran **más recientes** (Avisé 2000).

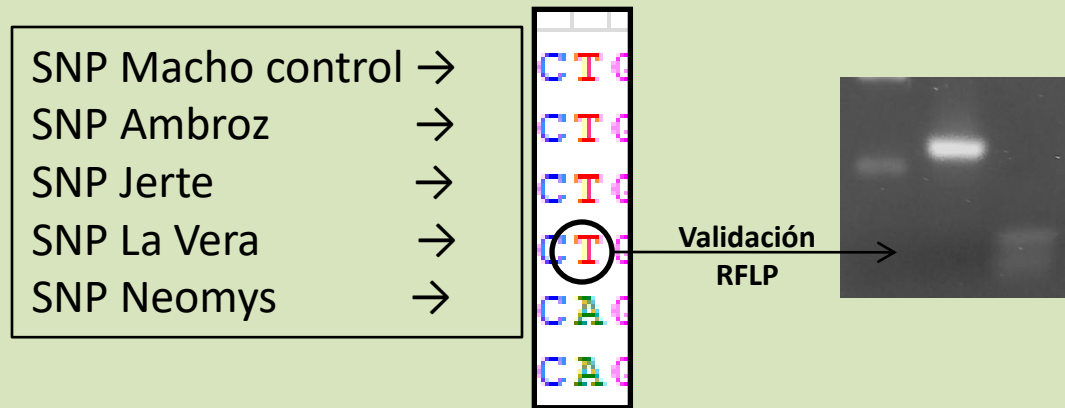
Identificación de parejas: sexado molecular.

- Desarrollo un **protocolo de sexado** y validado usando ADN de tejidos (4 segmentos génicos: cromosoma X y cromosoma Y).
- Protocolo elaborado en el contexto del proyecto LIFE+ Desmania (LIFE11/NAT/ES/691).



Identificación de parejas: sexado molecular.

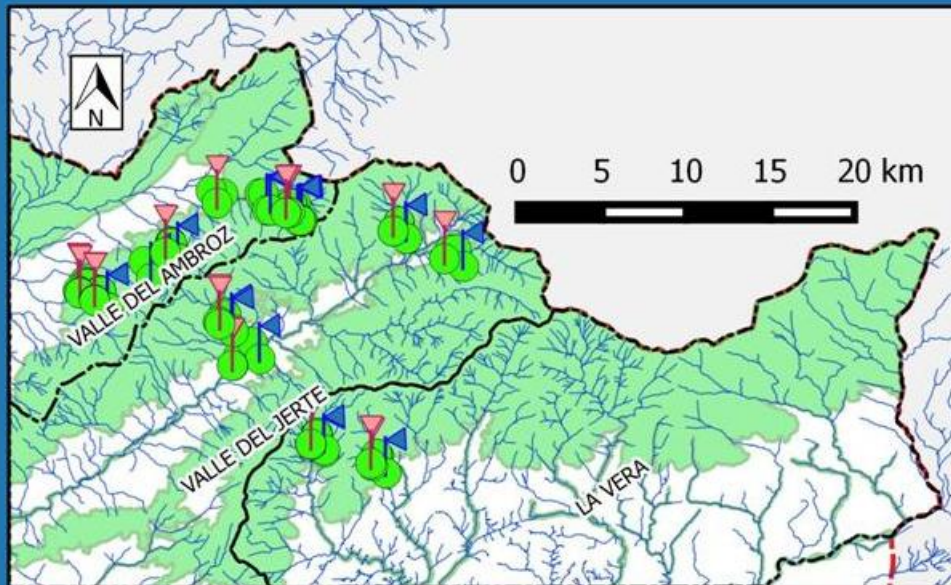
- Aquellos segmentos génicos conservados en múltiples especies.



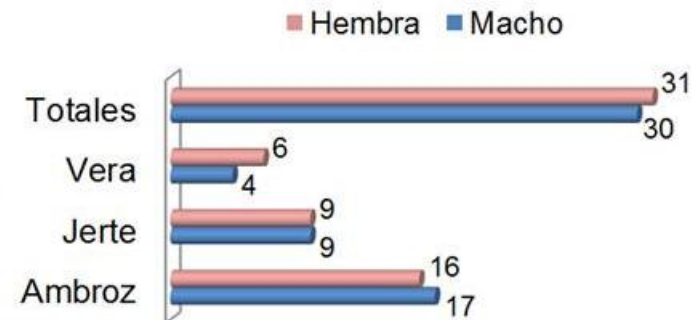
- Identificación de SNP específicos de la familia *talpidae*.
- Protocolo elaborado en el contexto del proyecto LIFE+Desmania (LIFE11/NAT/ES/691).

Identificación de parejas: sexado molecular.

- Individuos de ambos sexos en diferentes tramos fluviales, incorporados como áreas críticas en el Plan de Recuperación en Extremadura.
- No se observaron desequilibrios en la razón de sexos en ninguna zona



Resultados tras las aplicación del protocolo de sexado a las muestras de *Galemys Pyrenaicus* (n= 64)



- Positivas a *G. pyrenaicus*
- Galemys sexado macho
- Galemys sexado hembra

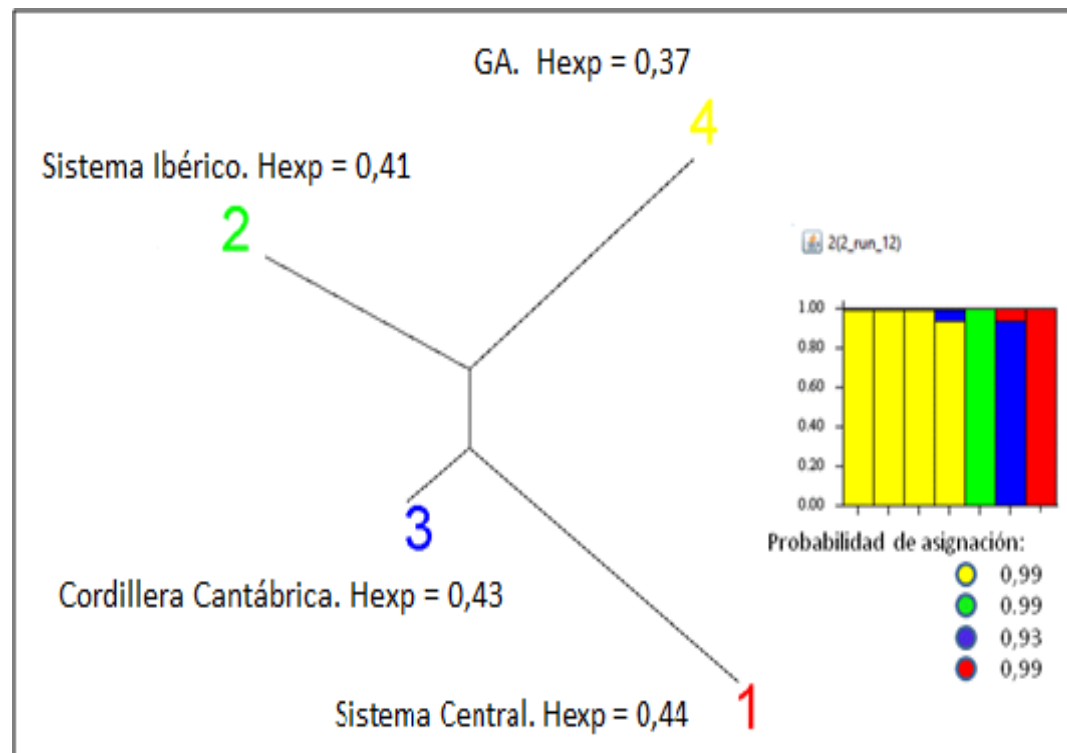
Diversidad genética poblacional y heterocigosidad

- Diversidad genética poblacional: global y por zonas (medida: nº alelos/*loci*)
- Heterocigosidad por *loci*

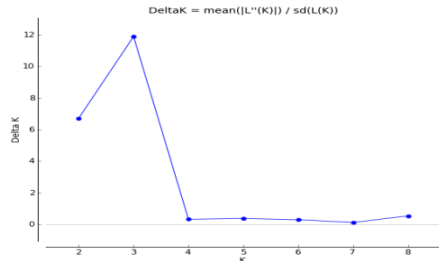
Población	rango por <i>loci</i> H observada	rango por <i>loci</i> H esperada	Diversidad alélica (nº alelos/ <i>loci</i>)	
Total datos	0,000 – 0,647	0,000 - 0,723	3,78	
Extremadura	0,000 - 0,607	0,000 - 0,579	3,00	
Ambroz	0,000 -0,636	0,000 - 0,688	2,56	
Jerte	0,000 - 0,667	0,000 - 0,485	2,00	
La Vera	0,000 -0,545	0,000 - 0,416	1,22	

Diversidad genética poblacional: heterocigosidad

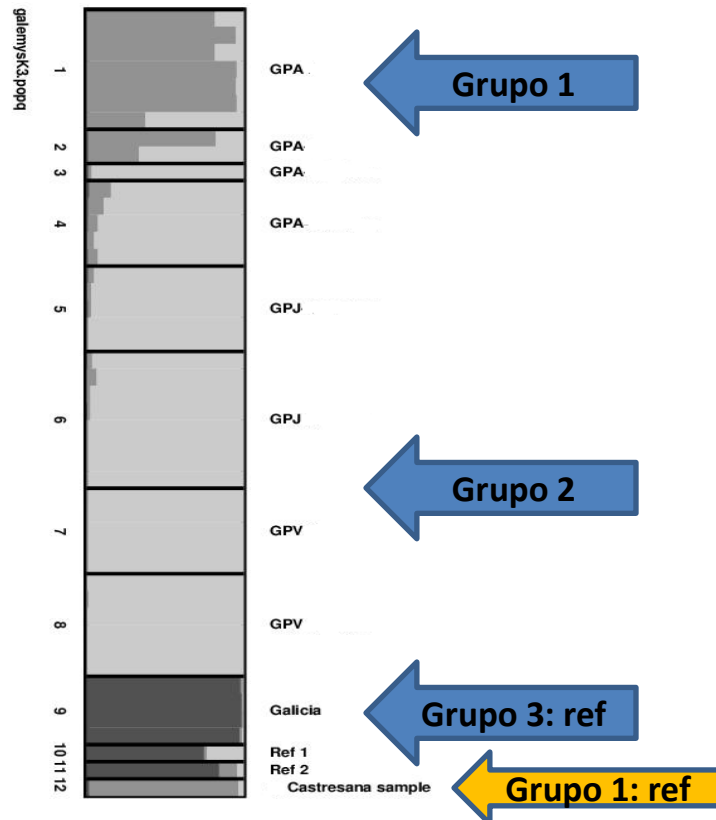
- Distribución de Heterocigosidad usando tejidos



Diversidad genética poblacional



- Estructura genética
- Identificación de unidades potencialmente diferentes
- Cuantificación de la fracción genómica común entre individuos.



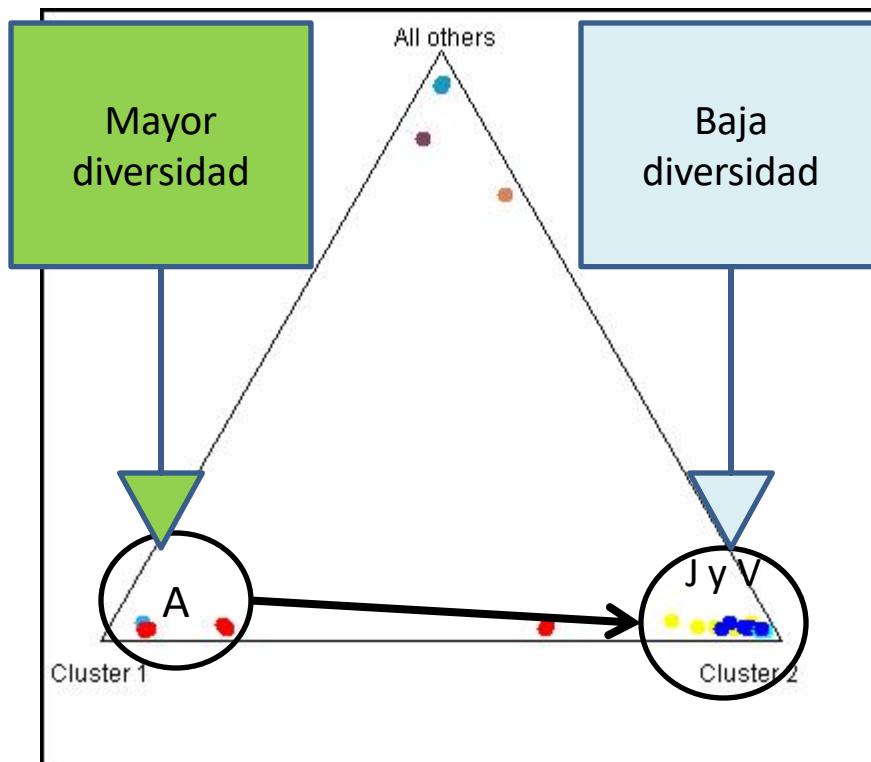
- ✓ Dos grupos genéticos
- ✓ Subdivisión (1 vs 2): consecuencia de diferencias en frecuencias genotípicas y alélicas.
 - En parte explicada por deriva genética.
 - Otra parte explicada cuellos de botella reiterados y purga de alelos.
 - Fuerte asilamiento geográfico.
 - Mayor uniformidad genética en las estirpes de Jerte y La vera

Diversidad genética poblacional

EFFECTO

Algunas poblaciones coalescen debido a una similar pérdida de variabilidad y, con ello, aparentando

UNIDAD GENÉTICA SINGULAR



Dos metas de conservación diferentes.

- 1.- Preservar los grupos geográficamente aislados y mayor riesgo (Jerte y La Vera)*
- 2.- Conservar la mayor variabilidad de las singulares poblaciones de Ambroz .*

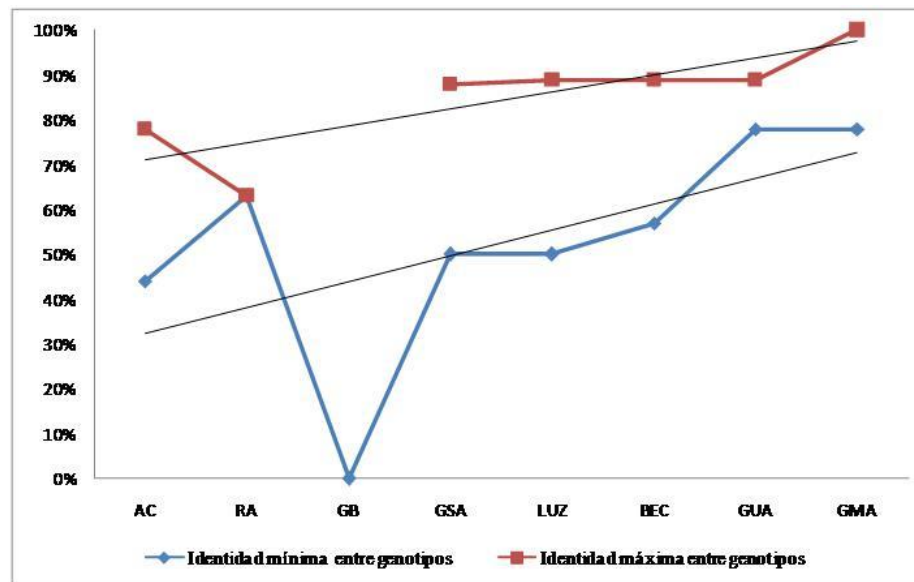
Diversidad genética poblacional

- Capacidad de asignación individual variable y peor hacia el sureste

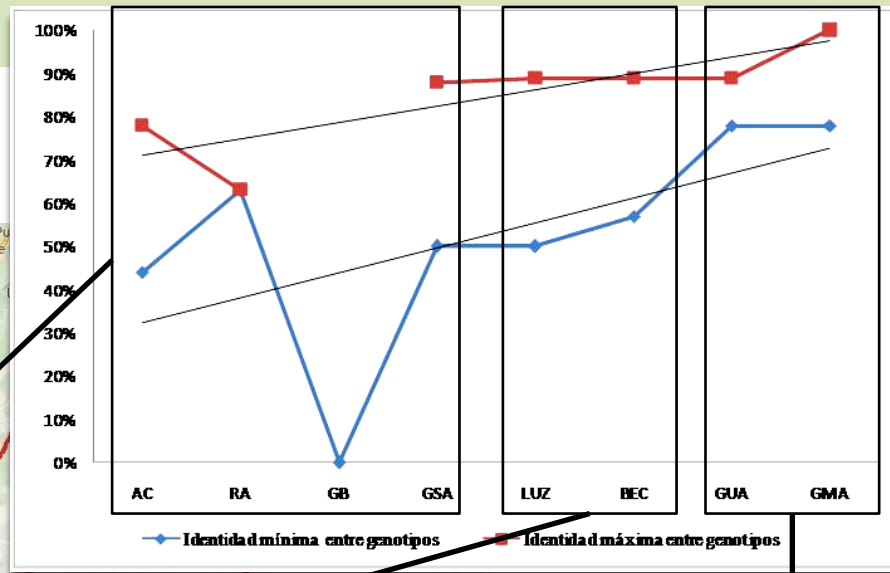
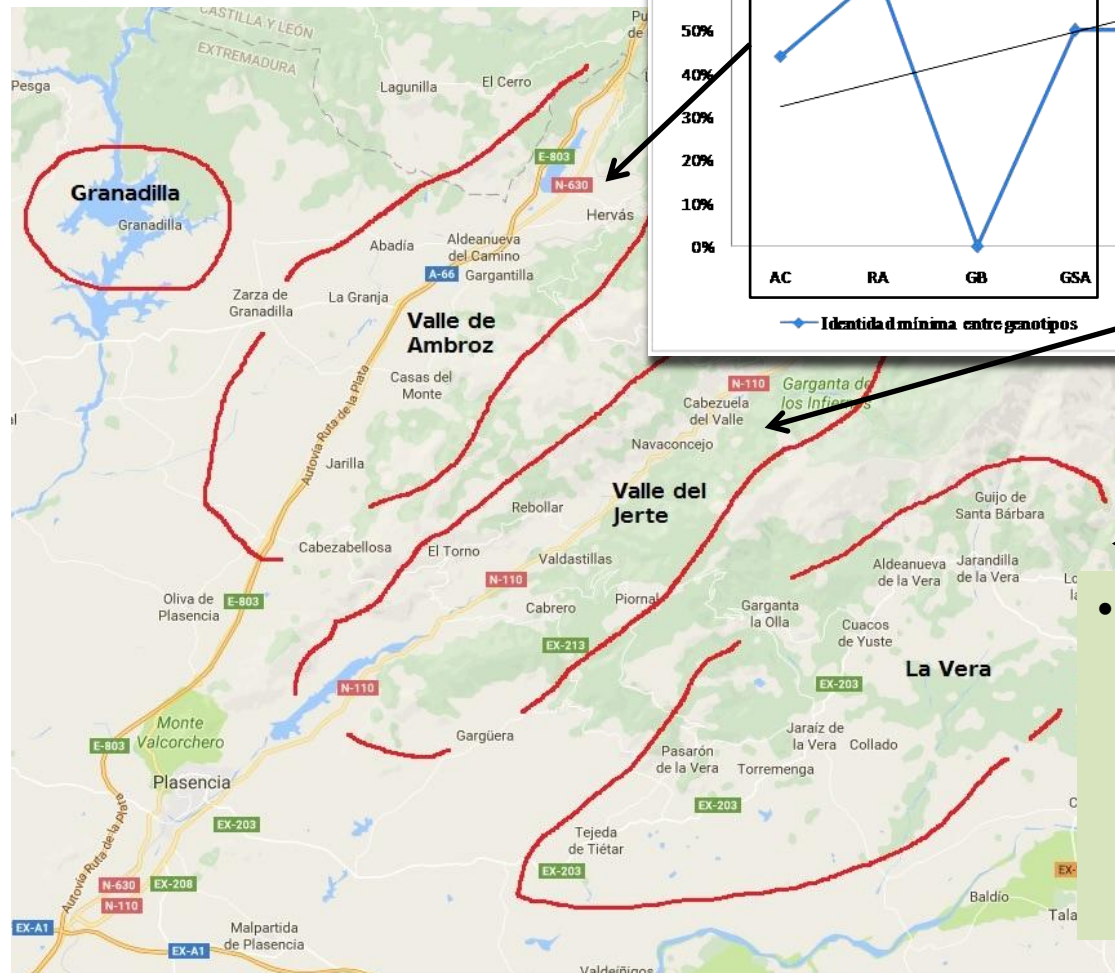
Comarca	Rango en % de <i>loci</i> idénticos entre genotipos por sitios	
Ambroz	44%	78%
Jerte	50%	89%
La Vera	78%	100%

Diversidad genética poblacional

- Capacidad de **asignación** individual en La VERA más **confusa**.
- Fuerte **aislamiento reproductivo** y dificultad de asignación de parentescos incluso en la escala fina.



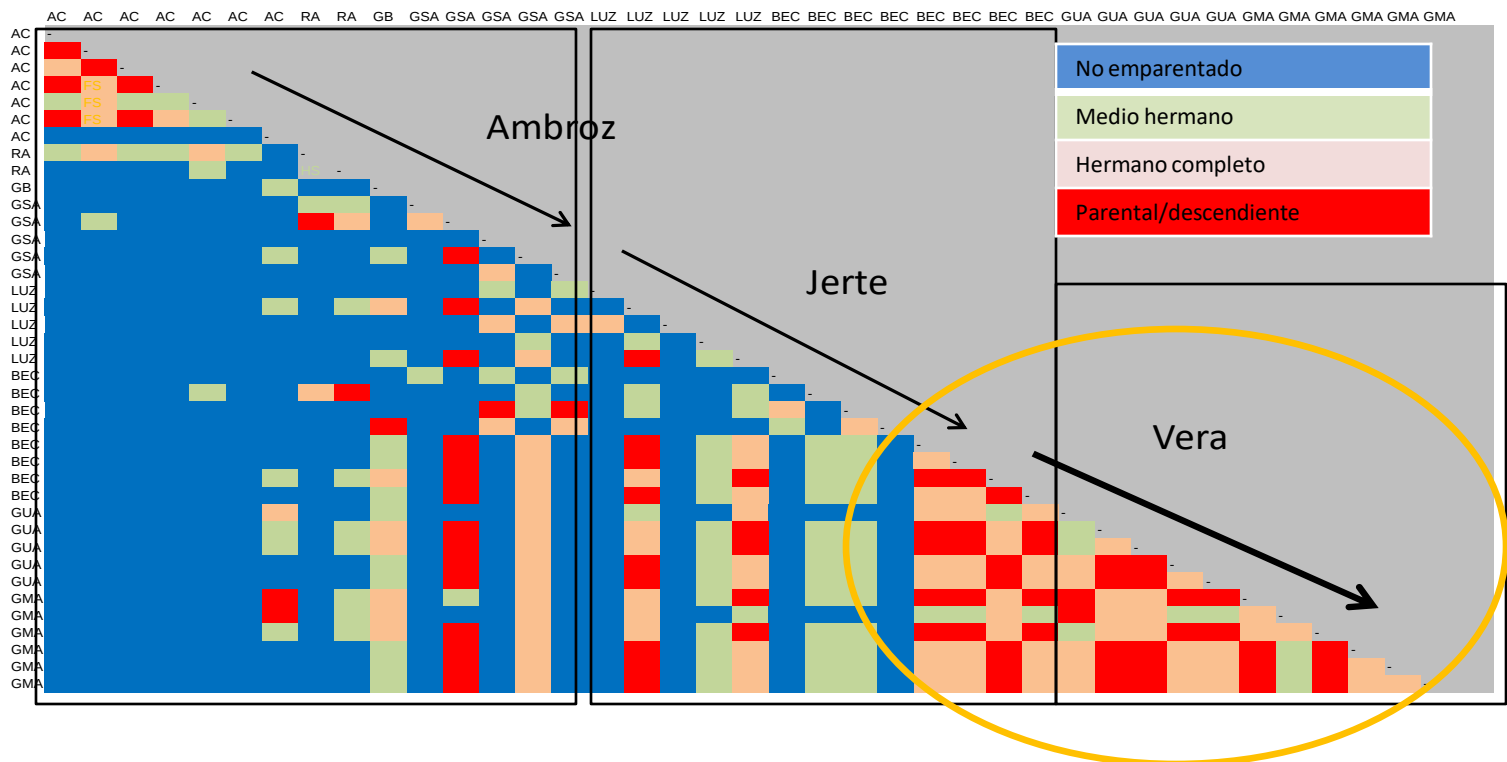
Diversidad genética poblacional



- Se ha sugerido que altitudes más bajas merma las poblaciones de forma más intensa (estudiar si se satisfacen los requerimientos ecológicos)

Diversidad genética poblacional

- Detección de **falsos** parentescos también entre tramos fluviales distantes cuando la variabilidad genética es baja (mayor confusión), pues no se puede asumir flujo entre ellas.



Grado de parentesco entre individuos

- Inferencia de pedigríes basada en parentescos moleculares para luego estimar endogamias por generación basadas en reconstrucciones genealógicas.

ML-Relate

File Edit Summary Nulls Relatedness Relationship

Input Data | Summary | Nulls | **Relatedness**

ML-RELATE Output
Runtime = 10/11/2017 17:46:02
Data = PARA genepop

MATRIX OF MAXIMUM LIKELIHOOD RELATEDNESS

	A2m	A3h	A4m	A13m	A17m	A19m	A65m	RA6m	RA43n
A2m	1,00								
A3h	0,44	1,00							
A4m	1,00	0,44	1,00						
A13m	0,50	0,46	0,50	1,00					
A17m	0,00	0,17	0,00	0,00	1,00				
A19m	0,50	0,46	0,50	1,00	0,00	1,00			
A65m	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00		
RA6m	0,07	0,33	0,07	0,00	0,28	0,00	0,00	1,00	
RA43n	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,50	0,29	1,00

Horquilla abuelo vs padre

Input Data | Summary | Nulls | **Relatedness**

Likelihood Ratio test for two a priori relationships

Individuals: A3h & A13m

Putative relationship: Fullsibs

Alternative relationship: Unrelated

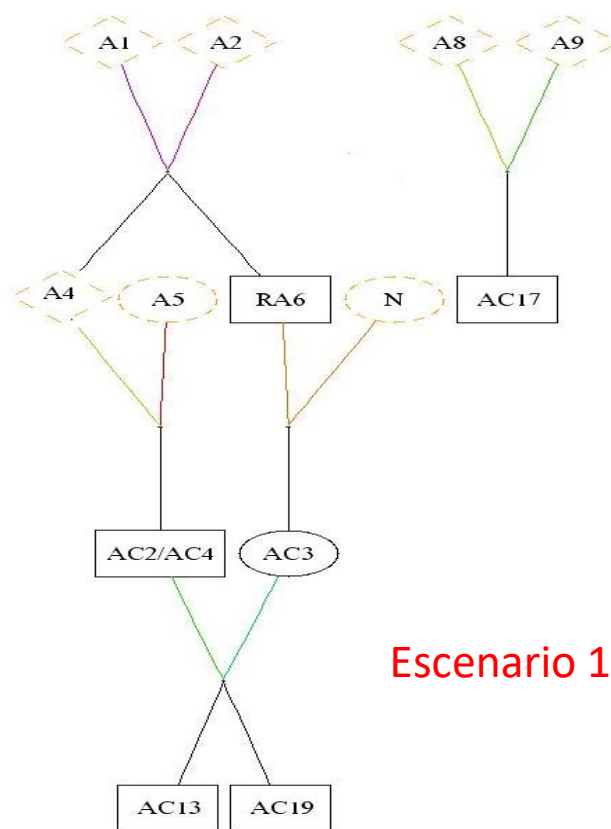
Number of simulations: 10000

p value: 0,0197

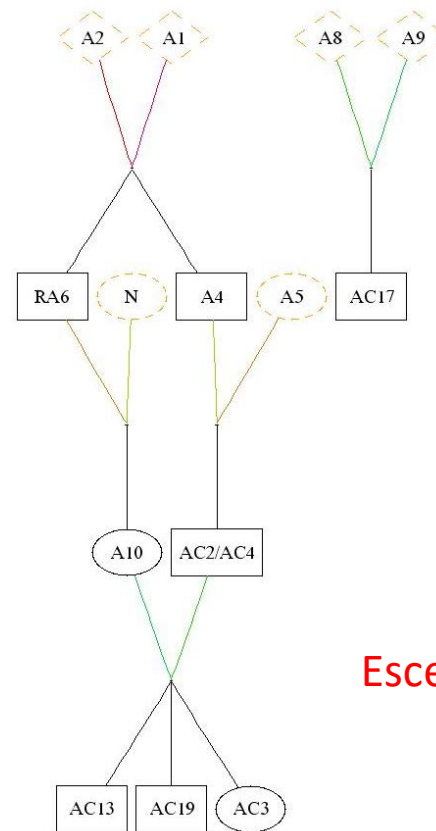
Interpretation: If the p value is small, you can conclude that the putative relationship fits the data significantly better than the alternative relationship.

Grado de parentesco entre individuos

- Reconstrucciones genealógica en Ambroz: estimas con diferentes escenarios

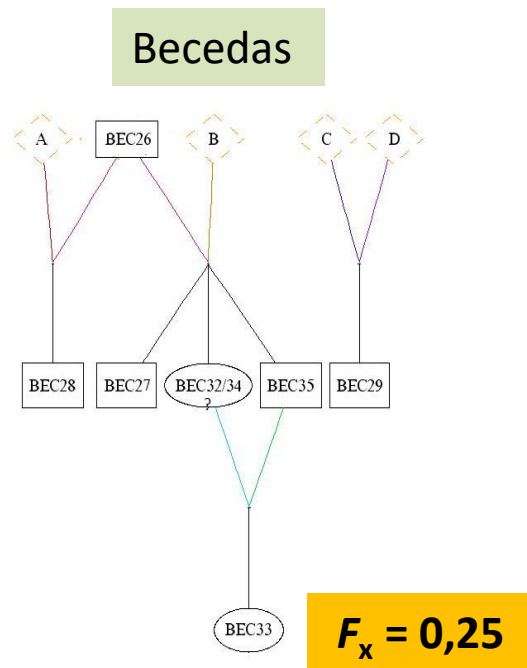


G0
G1
G2



Grado de parentesco entre individuos

- Reconstrucciones genealógica: estimas de endogamia por generación

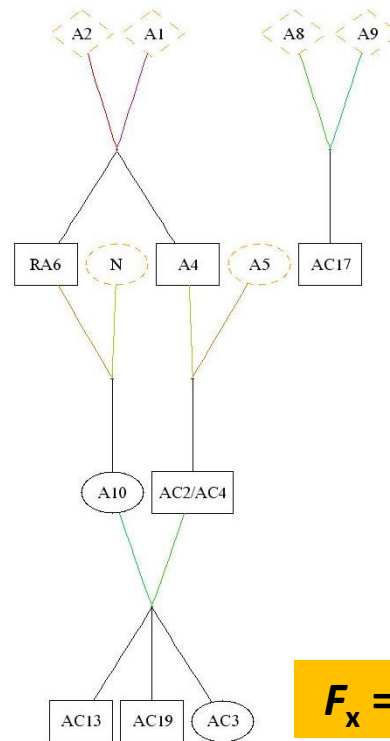


Endogamia mínima 0,125/ g

Grado de parentesco entre individuos

- Reconstrucciones genealógica en Ambroz: estimas de endogamia por generación

Ambroz (cualquiera de ambos escenarios)



$$F_x = 0,06$$

Endogamia mínima 0,03/ g

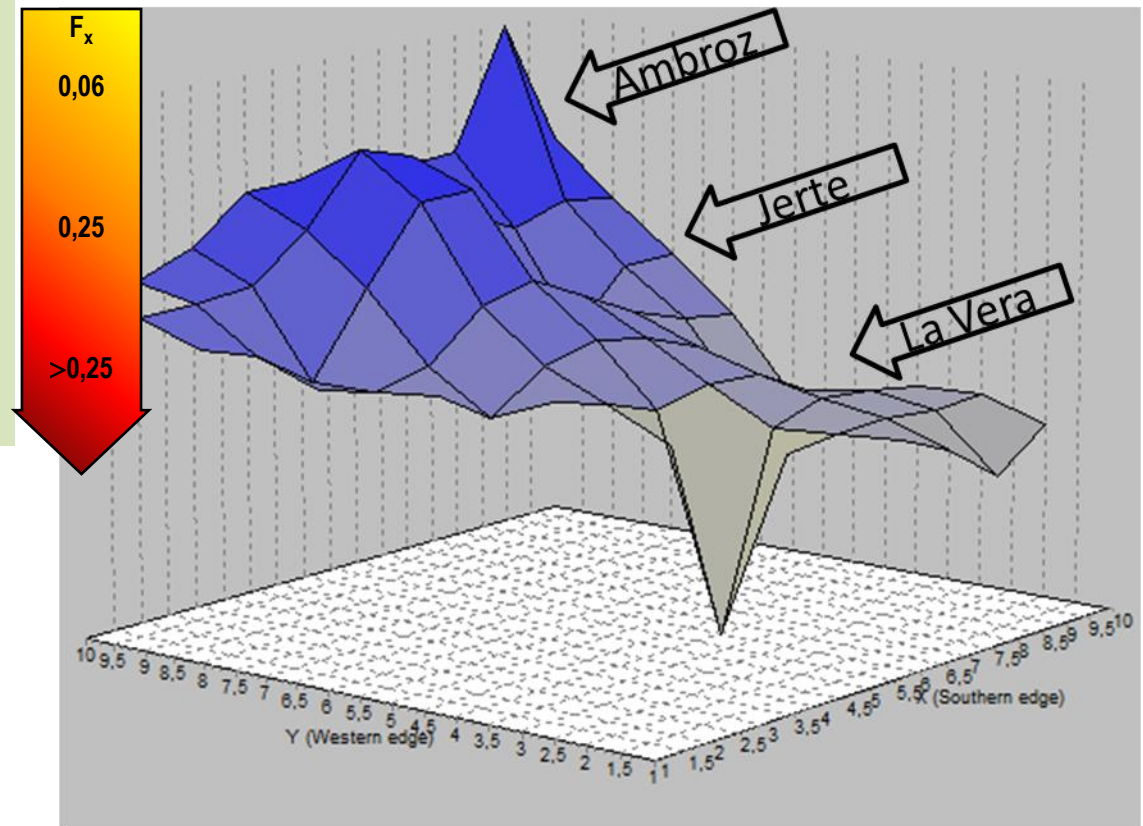
Paisaje genético

- OROGRAFIA GENÉTICA del desmán en Extremadura

- En definitiva, cada nueva camada está aportando individuos con un grado de endogamia individual (F_x) entre 0,06 – 0,25.

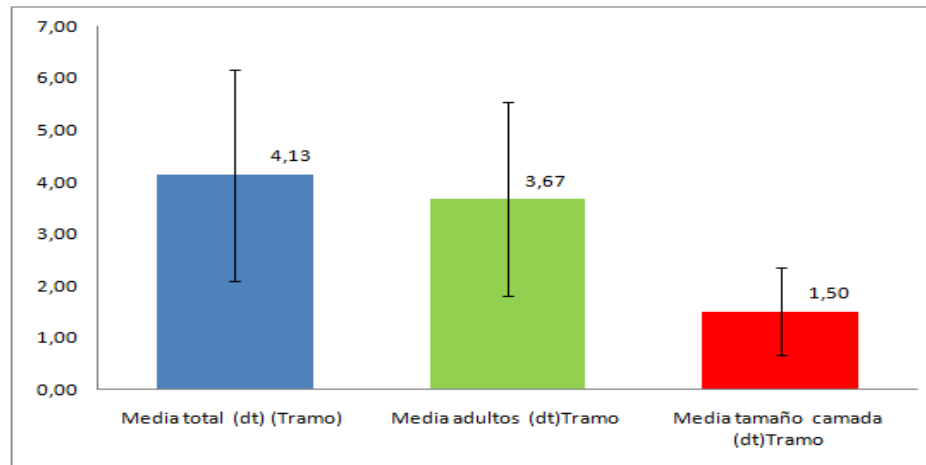
- Las zonas más proclives a tener individuos altamente consanguíneos son Jerte y La Vera.

- Debajo se describe la orografía genética resultante.



Información adicional

- Contextualizar los censos estimados.





ESTO ES TODO

MUCHAS GRACIAS