

Estudios genómicos del desmán ibérico aplicados al conocimiento de sus unidades evolutivas y la conectividad poblacional

José Castresana

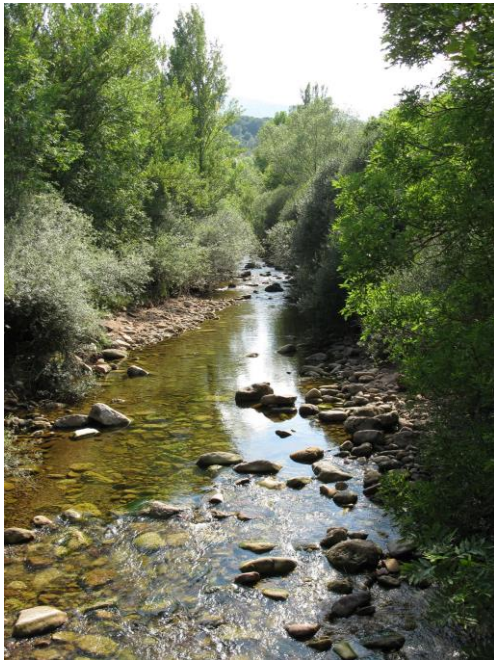
Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF)

IV Seminario Técnico Life+ DESMANIA

Valladolid, 4 de Mayo de 2017



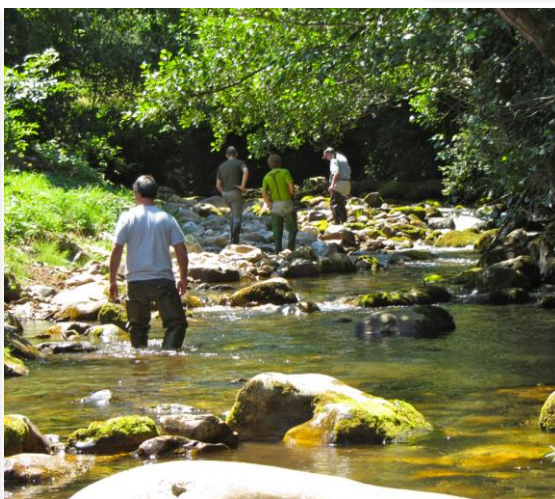
Filogeografía del desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*)



Objetivos:

- Diversidad genética y estructura poblacional globales
- Actualizar su área de distribución en algunas áreas concretas

Muestras usadas: excrementos de *G. pyrenaicus*

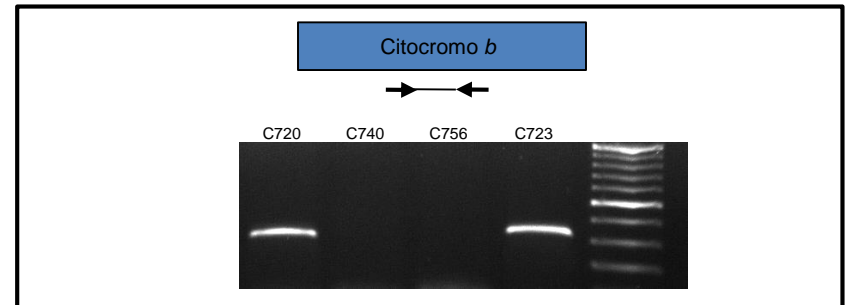


PCR de ADN de *G. pyrenaicus* a partir de excrementos

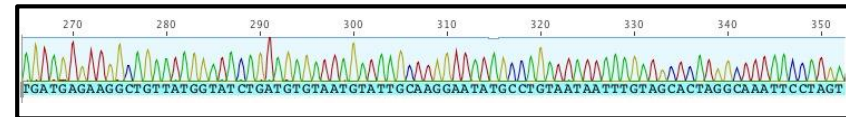
1. Extracción de ADN



2. PCR de un fragmento mitocondrial del citocromo *b*



3. Secuenciación

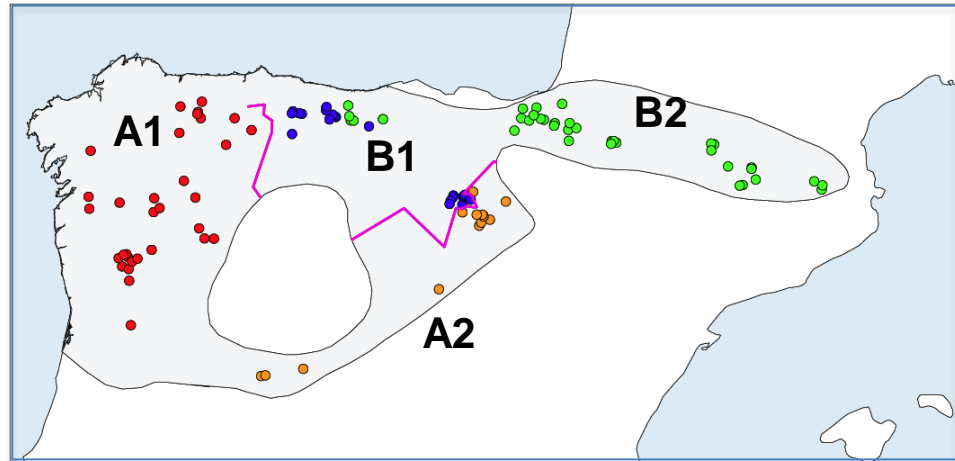
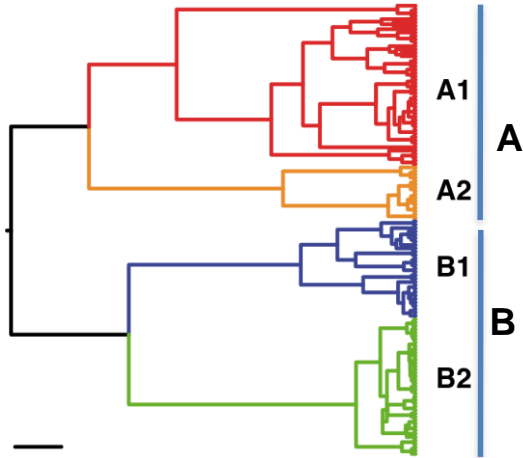


1578 excrementos analizados con morfología de *Galemys*
645 (41 %): *Galemys pyrenaicus*
305 (19 %): *Neomys*

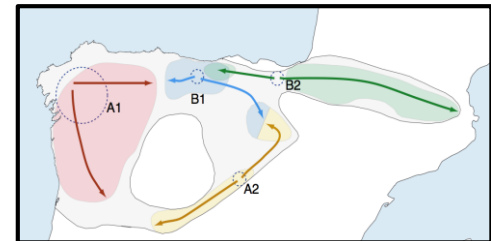
Filogeografía mitocondrial

134 muestras

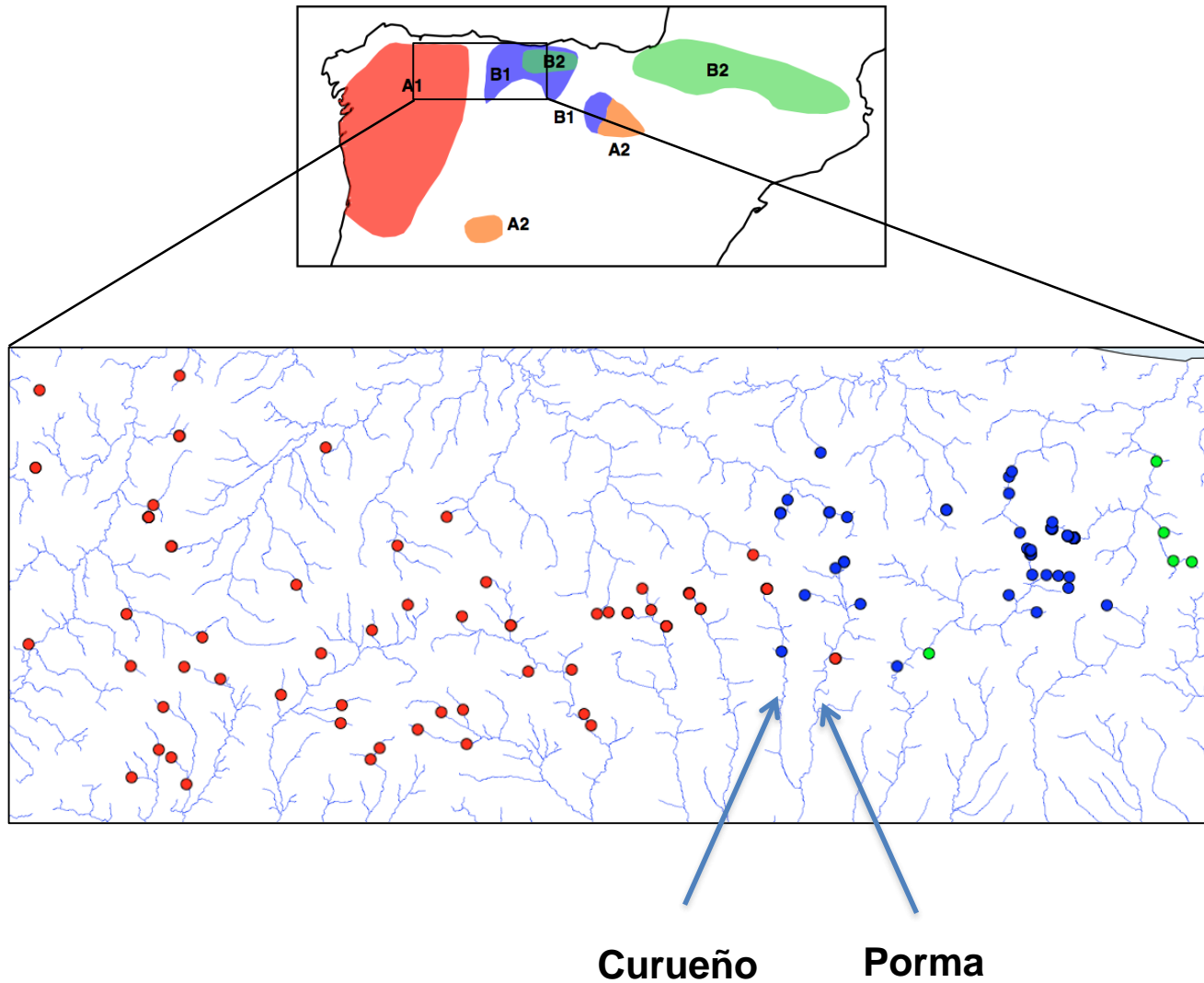
Filogenia mitocondrial
(citocromo *b* + D-loop)



- Fuerte estructura mitocondrial
- 2 grandes clados, A y B, subdivididos en: A1, A2, B1 y B2
- 2 zonas de contacto secundarias: Sistema Ibérico y Cordillera Cantábrica, con poco o nulo intercambio

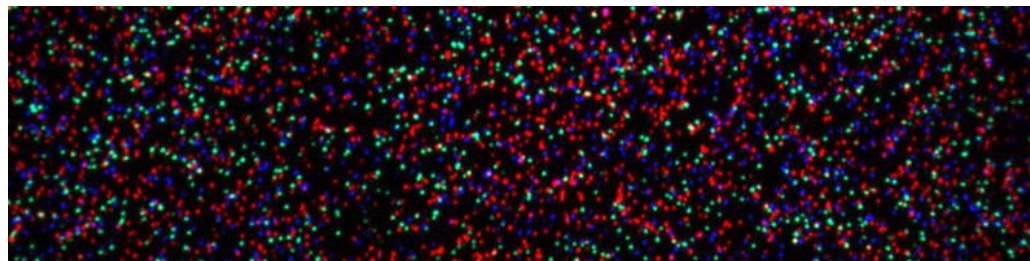
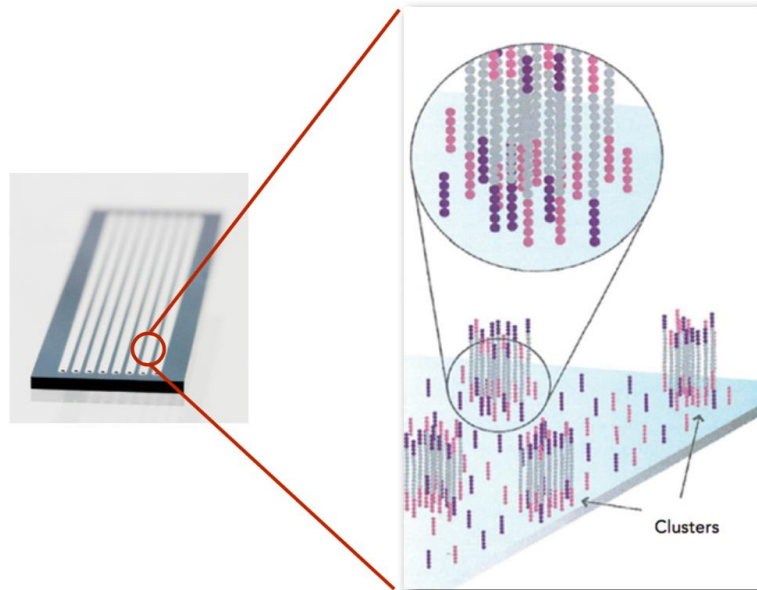


Zona de contacto de la Cordillera Cantábrica



Secuenciación de última generación Next-generation sequencing (NGS)

Secuenciación en paralelo
de millones de clústeres fijados en una placa



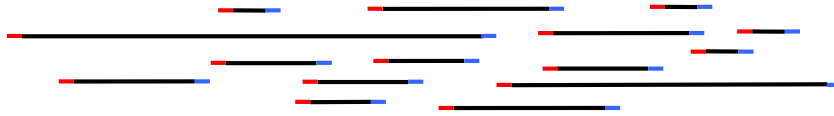
Clústeres de secuenciación Illumina

Librerías reducidas: Double digest RADseq (ddRAD)

Extracto de DNA



Digestión con 2 enzimas de restricción



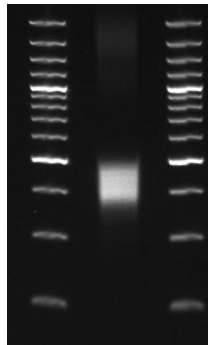
Ligación de adaptadores (un barcode por individuo)

Juntar individuos

Selección por tamaño (300-400 bp) -> ~1 % del genoma



Amplificación con primers de Illumina

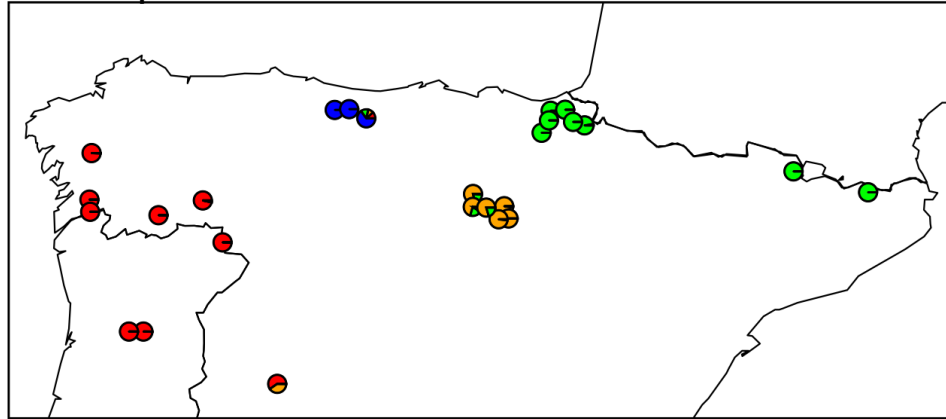


Secuenciación con Illumina

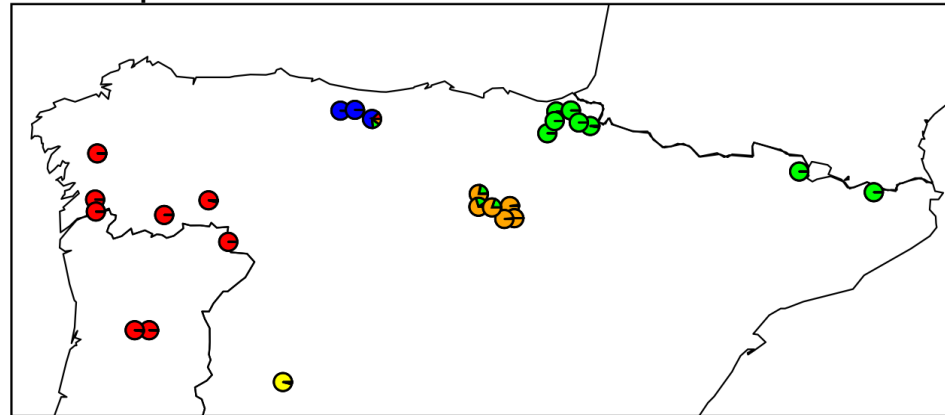
Estructura poblacional global

26 muestras
1185 SNPs

K = 4 poblaciones

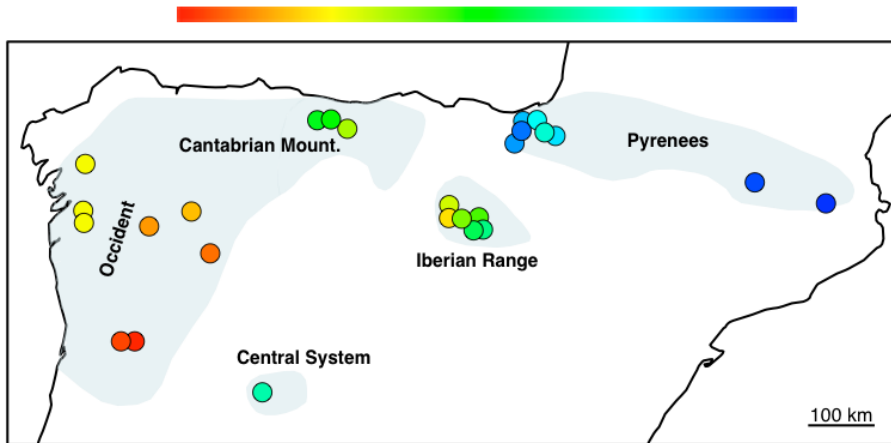


K = 5 poblaciones



- 4 o 5 unidades evolutivas aún por confirmar
- Pocos especímenes con mezcla de poblaciones
- Estructura similar a la mitocondrial pero con algunas diferencias que aconsejan el uso de información genómica

Heterocigosidad

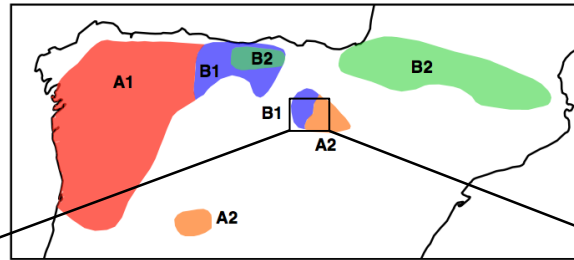


Especie	Heterocigosidad
Lince ibérico	0.000102
Leopardo de las nieves	0.000230
Desmán ibérico	0.000246
Gorila de montaña	0.000650
Panda gigante	0.001350
Orangután de Sumatra	0.002500

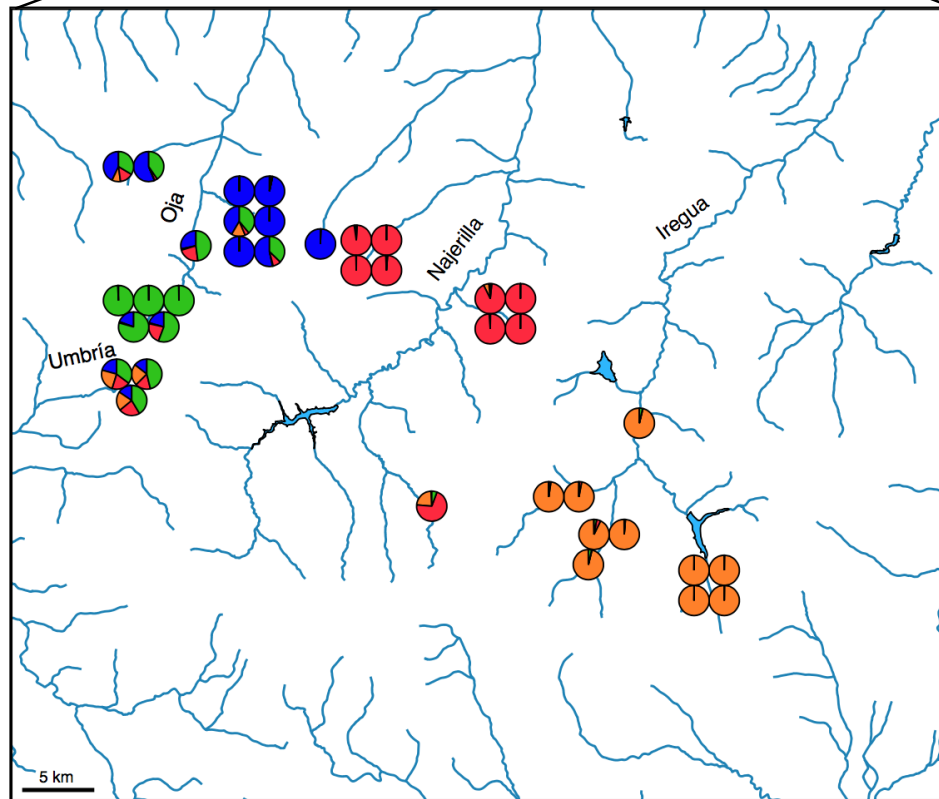
- Heterocigosidad extremadamente baja
- Más baja en los Pirineos y más alta en la parte occidental

Zona de contacto del Sistema Ibérico

37 muestras
912 SNPs

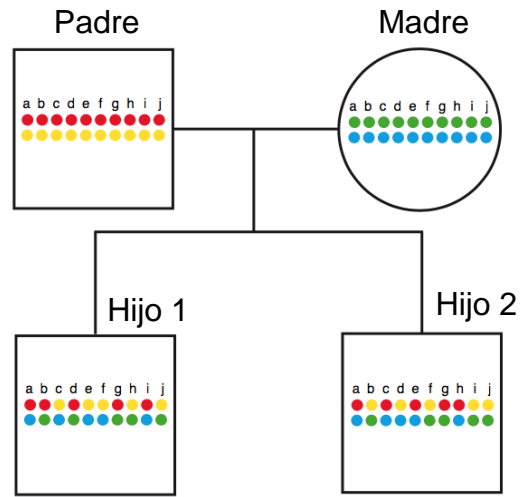


K = 4



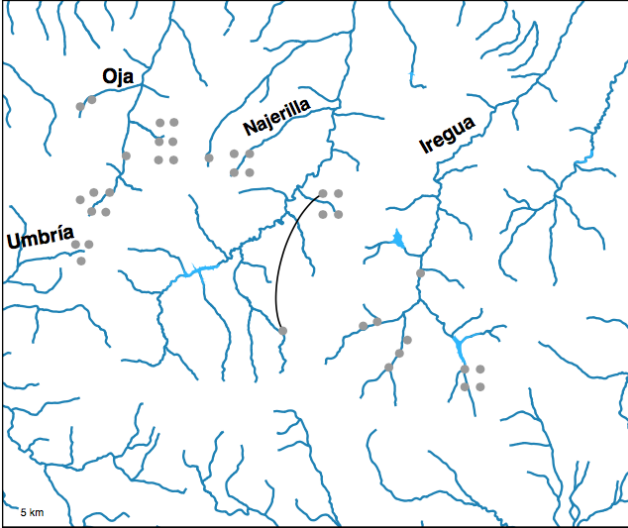
- Población fuertemente estructurada por ríos

Parentesco y patrones de herencia de alelos



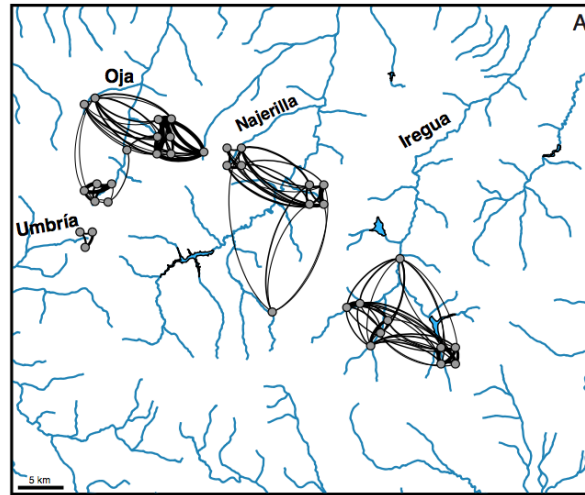
Relación	Coefficiente de parentesco
Gemelos idénticos	1
Padre-hijo	0.5
Hermanos	0.5
Segundo grado (Medio hermanos, primos, abuelo-nieto)	0.25
Tercer grado (Primos segundos, bisabuelo-bisnieto)	0.125
Cuarto grado	0.0625
Ninguna relación	0

Sistema Ibérico: redes de parentesco

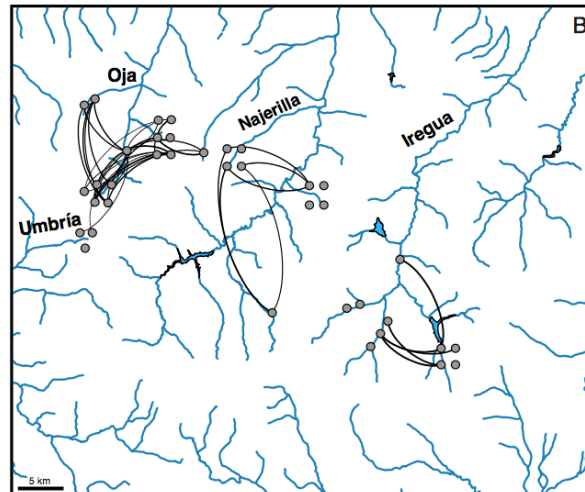


Sistema Ibérico: redes de parentesco

Relaciones cercanas (1º y 2º)



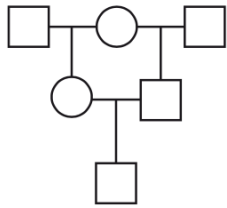
Relaciones lejanas (3º y 4º)



- Alto número de relaciones intra-río
- Bajo número de relaciones inter-río
- > fuerte problema de conectividad

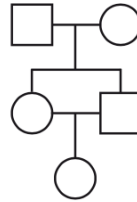
Endogamia

Emparejamiento de medio hermanos



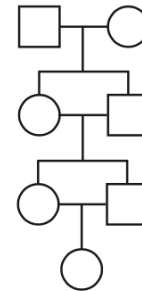
Coef. endogamia: 0.125

Emparejamiento de hermanos



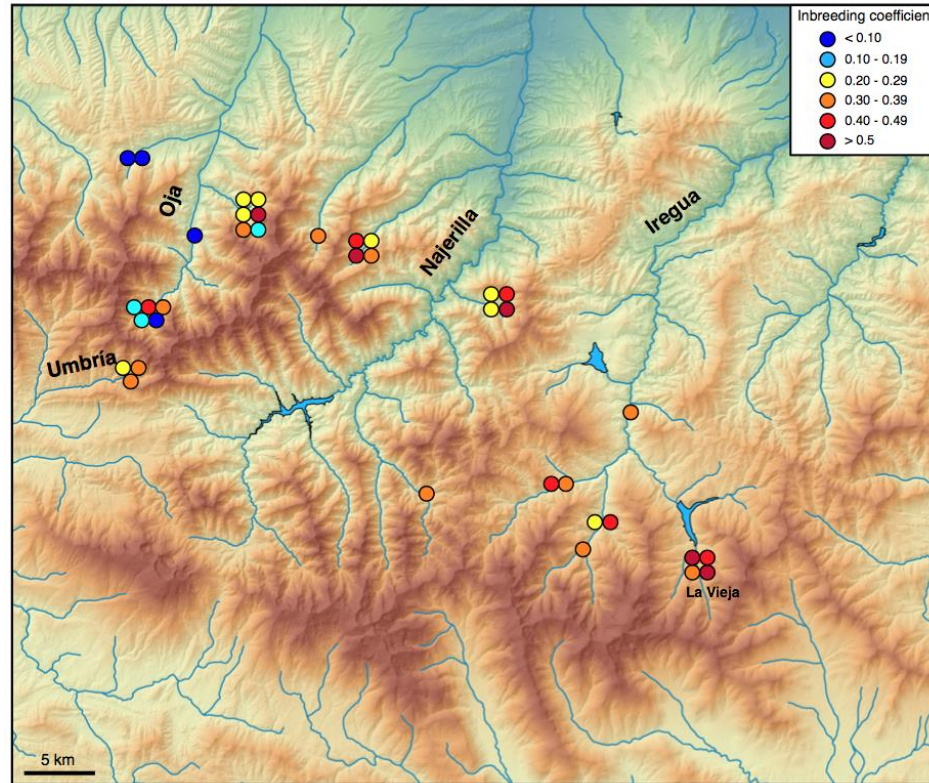
Coef. endogamia: 0.25

Dos generaciones de emparejamiento de hermanos



Coef. endogamia: 0.375

Sistema Ibérico: coeficiente de endogamia



- Baja endogamia en el río Oja
- Alta endogamia en el río Iregua, especialmente sobre un pantano (Pajares)



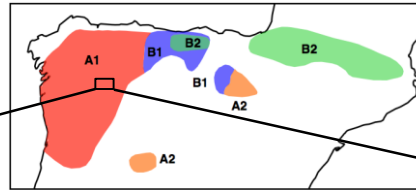
Zamora: NGS de muestras de pelo

Modificación del protocolo de ddRAD para poder trabajar con las bajas cantidades de DNA obtenidas a partir de pelos

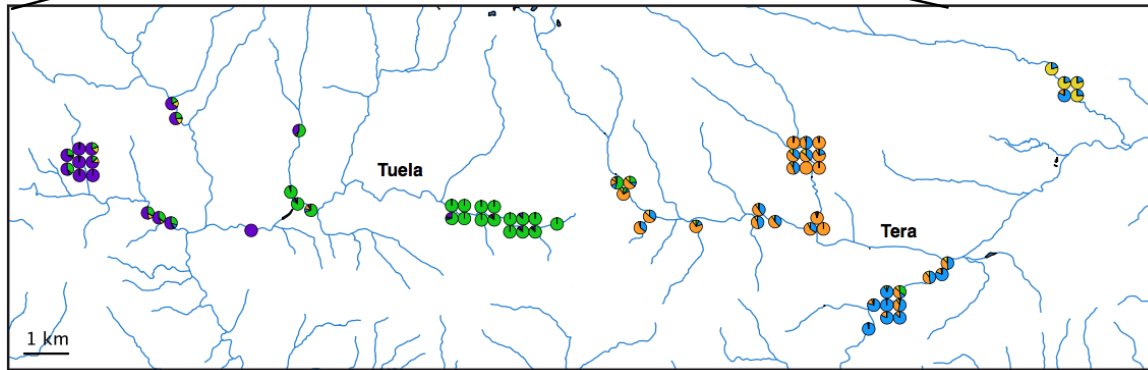


Zamora: Estructura poblacional y endogamia

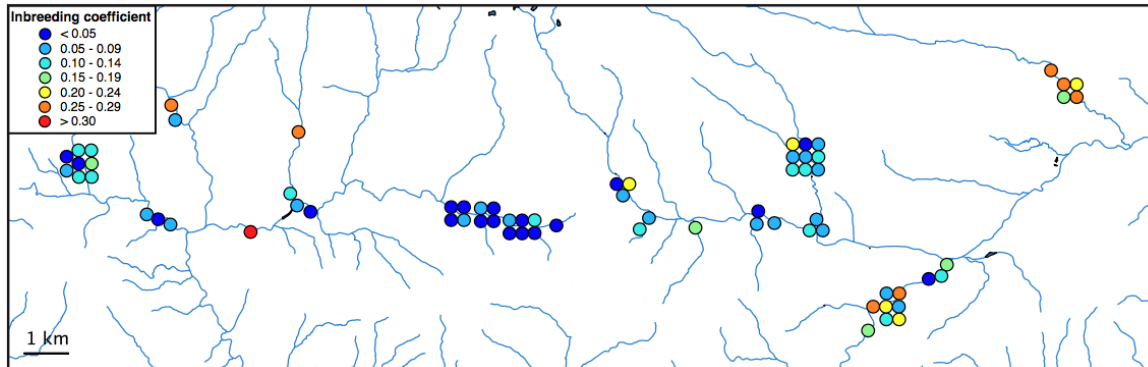
70 muestras
3874 SNPs



Estructura genómica
(K=5)

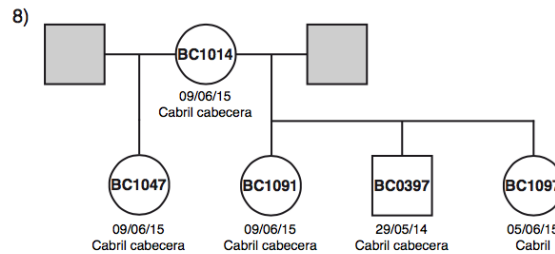
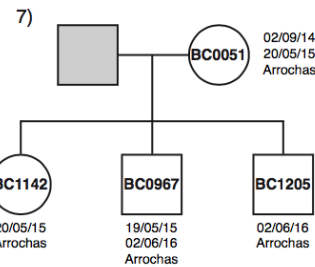
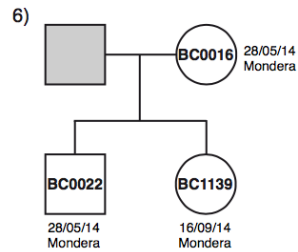
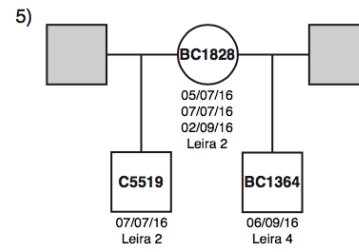
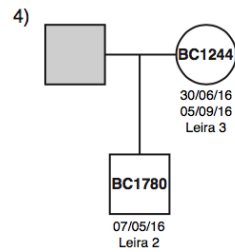
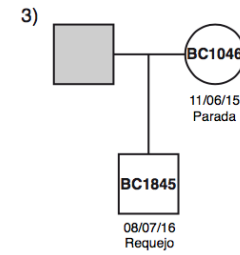
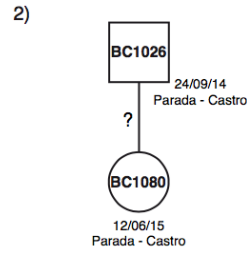
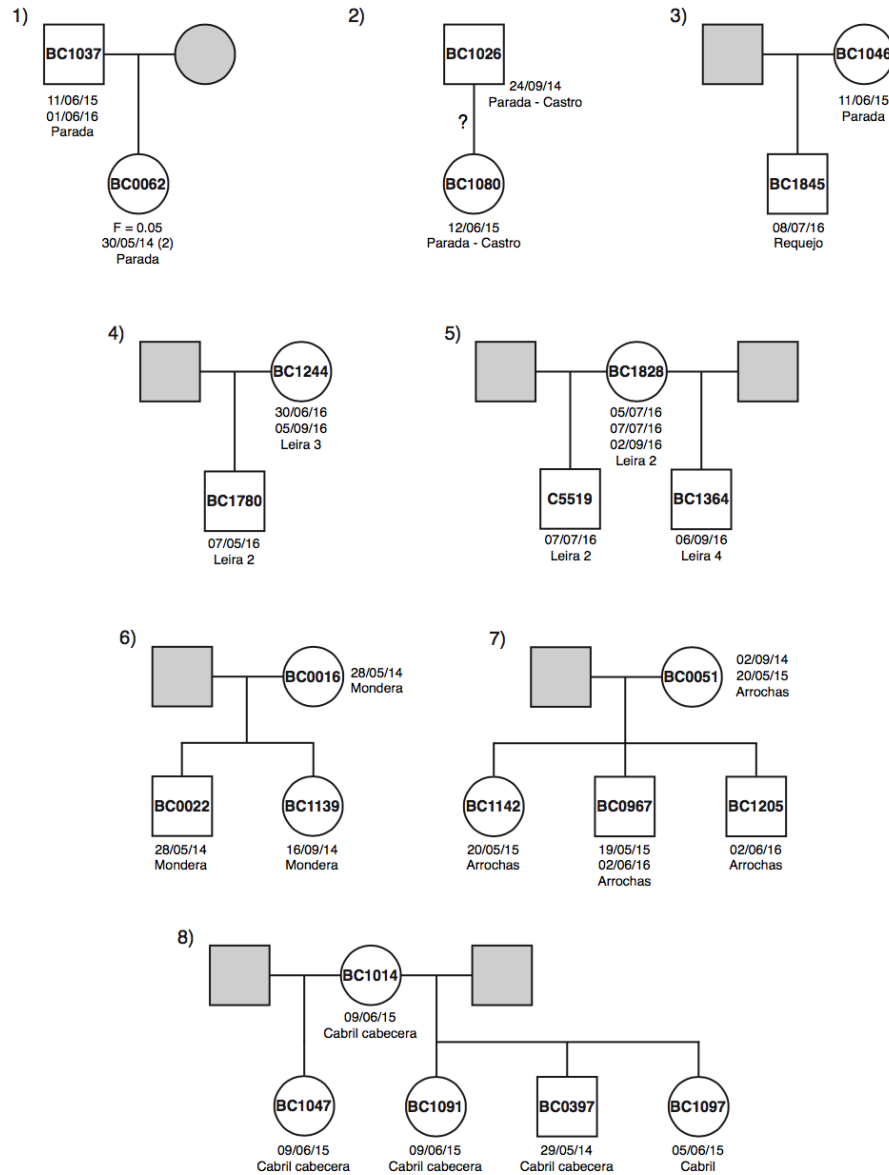


Coefficiente de endogamia

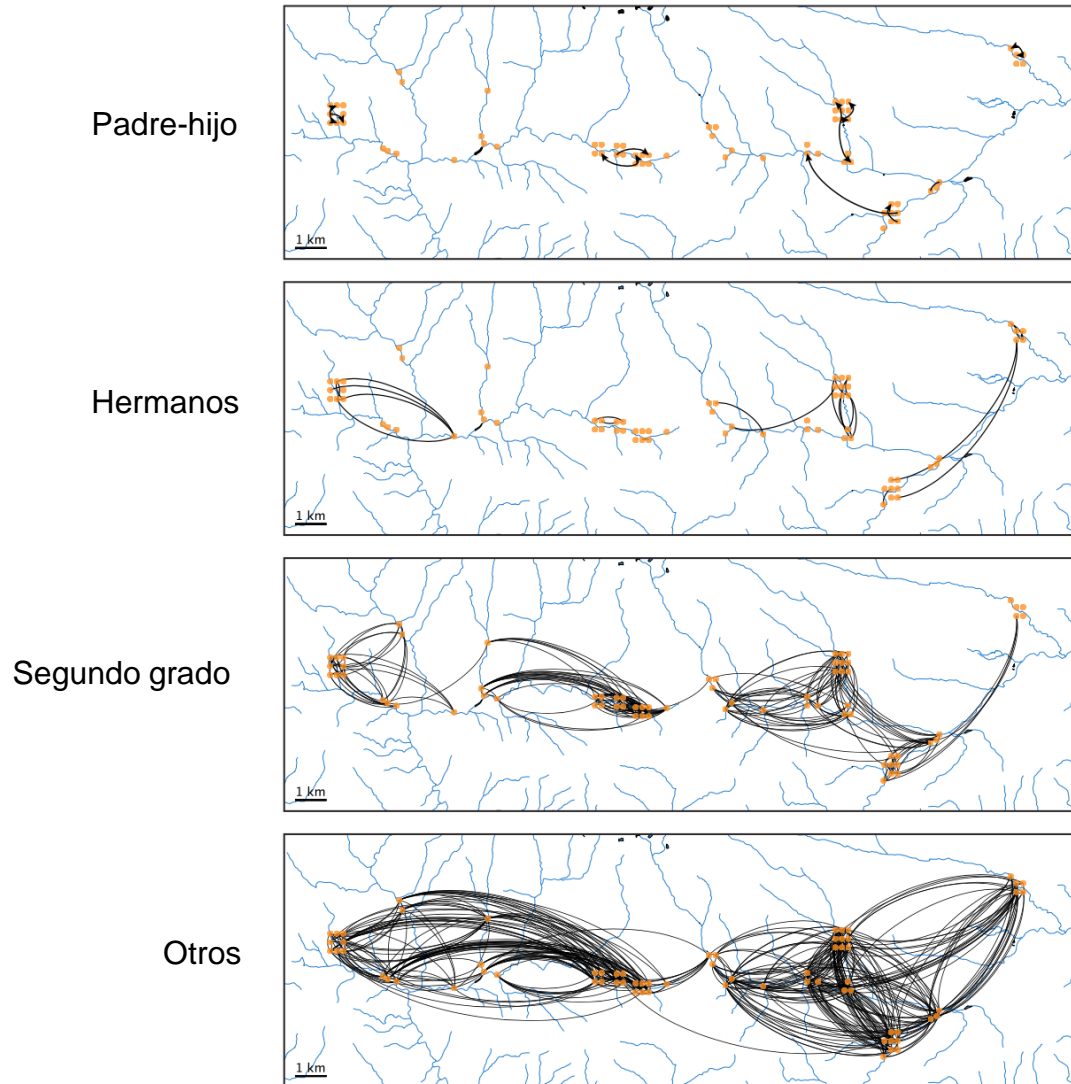


- La población está claramente estructurada
- Niveles de endogamia variables: bajo en el Leira y alto en el Mondera

Zamora: Pedigrís inferidos a partir de los datos genómicos

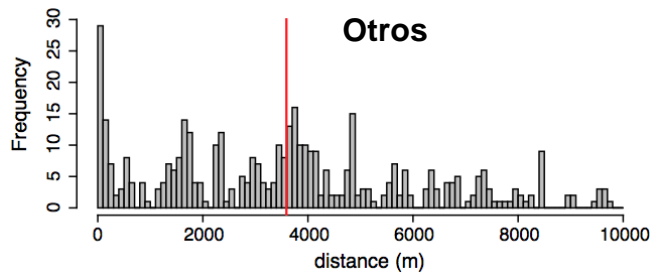
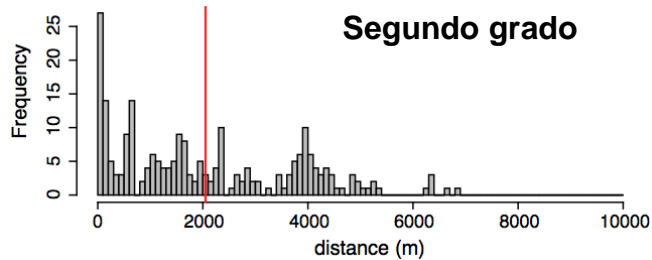
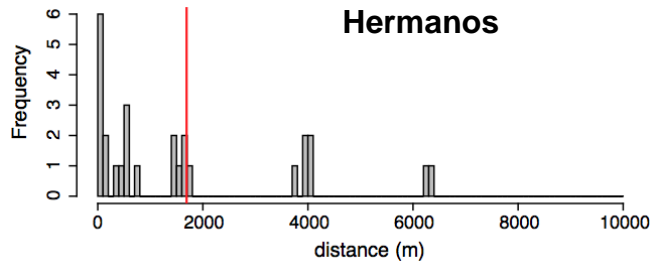
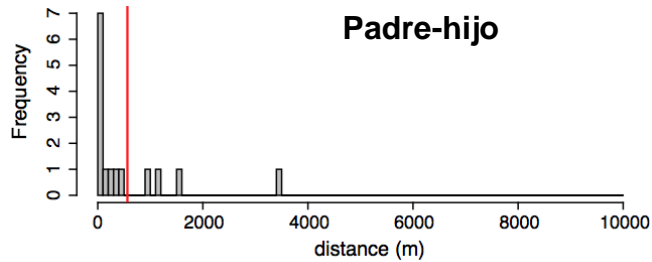


Zamora: Redes de parentesco para distintas categorías de parentesco



- La distancia de dispersión aumenta en cada generación
- Las redes no están homogéneamente conectadas -> Falta de conectividad (Barreras)

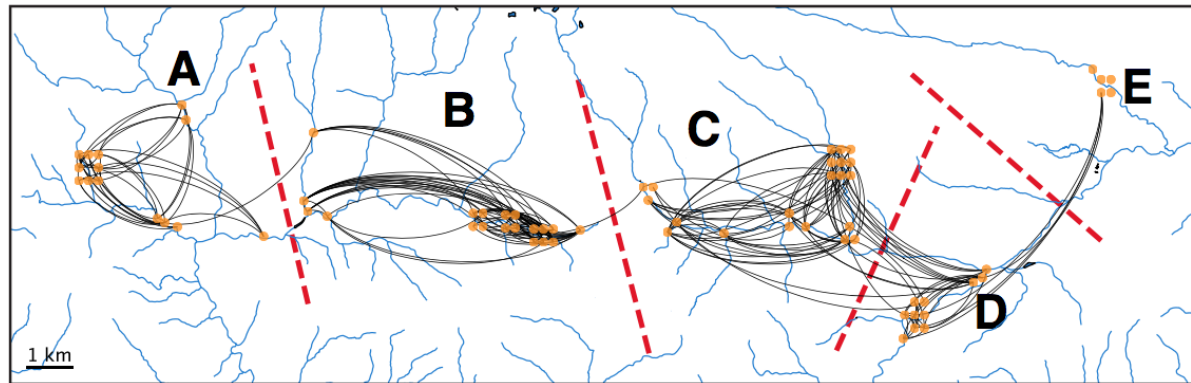
Zamora: Distancias entre parientes



Categoría de parentesco	Number of relationships	Distancia lineal media (m)	Distancia media por generación (m)
Padre-hijo	15	564	564
Hermanos	27	1691	845
Segundo grado	232	2051	1025
Otros	423	3591	

Trabajo en curso: Estimación de distancias a lo largo del río, que pueden dar distancias algo mayores.

Zamora: Aproximación a la cuantificación del efecto barrera



Presa
(Pedro)



53 (98 – 14) %

Divisoria de aguas
(Padornelo)



94 (99 – 89) %

Infraestructuras del río
(Requejo)



22 (62 – 0) %

Hábitat subóptimo
(Mondera)



-

Trabajo en curso: Análisis de las variables y posibles artefactos que influyen en estas estimaciones.

Trabajo futuro



NGS de muestras no invasivas

Agradecimientos

Lidia Escoda (IBE)
Marina Querejeta (IBE)
Javier Igea (IBE)
Alfonso Balmori de la Puente (IBE)
Oliver Hawlitschek (IBE)

Ángel Fernández-González (Biosfera)
Jorge González-Esteban (Desma)
Asunción Gómez (Tragsatec)
Pere Aymerich
Joaquim Gosálbez (UB)
Rafael Romero

Junta de Castilla y León
Gobierno de La Rioja
Xunta de Galicia
Principado de Asturias
Gobierno de Navarra
Diputación Foral de Gipuzkoa
Gobierno de Extremadura

LIFE+ DESMANIA
LIFE+ MARGAL ULLA
LIFE+ MEDWETRIVERS



Plan Nacional I+D+i
(2008, 2011, 2014)



Convocatoria de Parques Nacionales (2008)

Y gracias a todos por su atención