

# Técnicas moleculares en ecología y biología de la conservación

- Tecnología que complementa el cuerpo teórico y empírico de la ecología y evolución.
  - No es una disciplina en sí misma (*Ecología molecular*).
  - Permite abordar un mayor rango de problemas y preguntas biológicas tradicionales.
  - Enriquece nuestro área de conocimiento.
  - Permite una aproximación interdisciplinar a los problemas; más creatividad.
  - Siempre que se use en combinación de un alto grado de experiencia naturalista y destreza técnica.
- 
- “*Molecular Ecology* will publish the results that use molecular biological approaches to provide innovative insights into any aspect of ecology or population biology.”

Burke, Seidler y Smith, 1992

# MARCADORES GENÉTICOS MOLECULARES

Variación en proteínas y ácidos nucleicos

## Evolución

Dinámica e las  
varintes moleculares

Cambio evolutivo

## Ecología

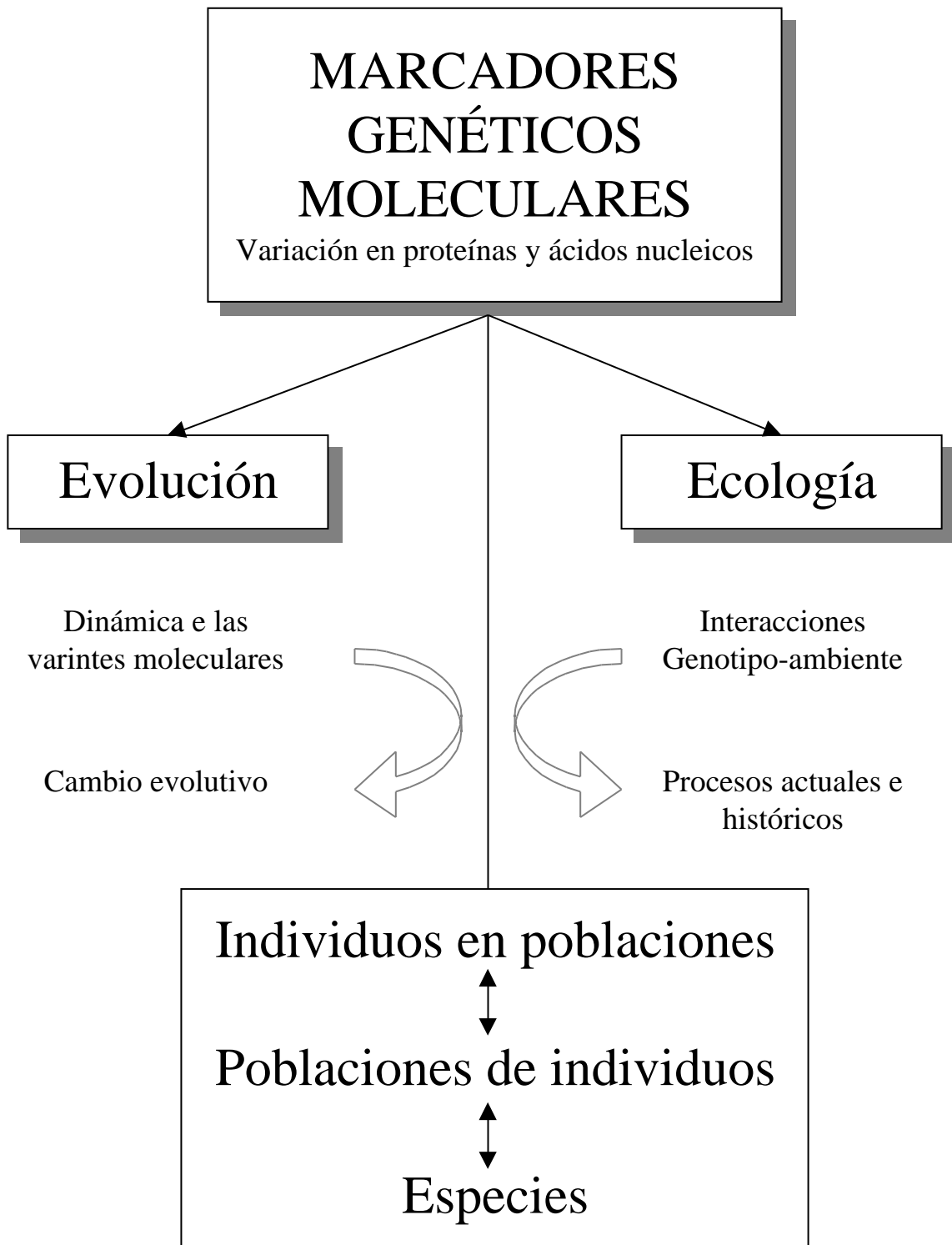
Interacciones  
Genotipo-ambiente

Procesos actuales e  
históricos

Individuos en poblaciones

Poblaciones de individuos

Especies



- **Ecología molecular :**  
área pluridisciplinar de la ecología
  - Utilización de marcadores moleculares de ADN (proteínas, secuencias de ADN o ARN) basados en genealogías soportadas por herencia y principios genéticos
  - Aplicación a problemas de ecología y evolución
  - Utilización de las relaciones genéticas entre individuos, poblaciones o especies para abordar problemas a diferentes escalas biológicas jerarquizadas
- **Fundamento:**
  - Análisis de productos de ADN (marcadores) como caracteres genéticos
  - Caracterización de su frecuencia, variabilidad y relaciones filogenéticas
  - Relación con características fenotípicas

- Aspectos relevantes en la utilización de marcadores moleculares
  - La mayoría de los marcadores representan variabilidad en regiones no-codificantes del ADN. Su variación es neutral desde el punto de vista de selección natural.
  - Los marcadores difieren en la cantidad de variabilidad que ilustran. Es necesario ajustar el tipo de marcador a cada problema y su escala espacial.
  - Tipos de marcadores: *codominantes* (patrones de bandas distinguibles en homocigotos y en heterocigotos), *dominantes*.
  - Los marcadores difieren en el tipo de herencia: ADN nuclear- biparental; ADN citoplásmico (mtDNA; cpDNA)- uniparental.

# ECOLOGÍA MOLECULAR

```
graph TD; A[ECOLOGÍA MOLECULAR] --> B[DESCRIPTIVA]; A --> C[MECANICISTA]
```

## DESCRIPTIVA

- Tamaño efectivo de población
- Niveles de variabilidad genética
- Distribución espacial y temporal de la diversidad genética
- Base genética de la varianza en rasgos fenotípicos
- Relaciones evolutivas entre taxones

## MECANICISTA

- Selección sexual
- Selección natural
- Cambios demográficos
- Migración; flujo génico
- Eventos de vicarianza

- Técnicas
  - Alosimas
  - RFLP
  - Minisatélites y “fingerprinting”
  - Métodos basados en PCR
    - Microsatélites
    - AFLP
    - RAPDs
    - Secuenciación de ADN
- ADN
  - Nuclear
  - Citoplásmico: mitocondrial mtDNA-cloroplasto cpDNA
- Fundamento
  - Análisis de productos de ADN (marcadores) como caracteres genéticos
  - Caracterización de su frecuencia, variabilidad y relaciones filogenéticas
  - Relación con características fenotípicas

- Técnicas

- Alozimas

- Detección de variantes electroforéticas de enzimas en geles de almidón. Se caracterizan por su bajo nivel de polimorfismo comparadas con productos de ADN.

- RFLP

- Se detectan variantes genotípicas como variaciones de tamaño de fragmentos de restricción.

- (Enzimas de restricción) -> @1969

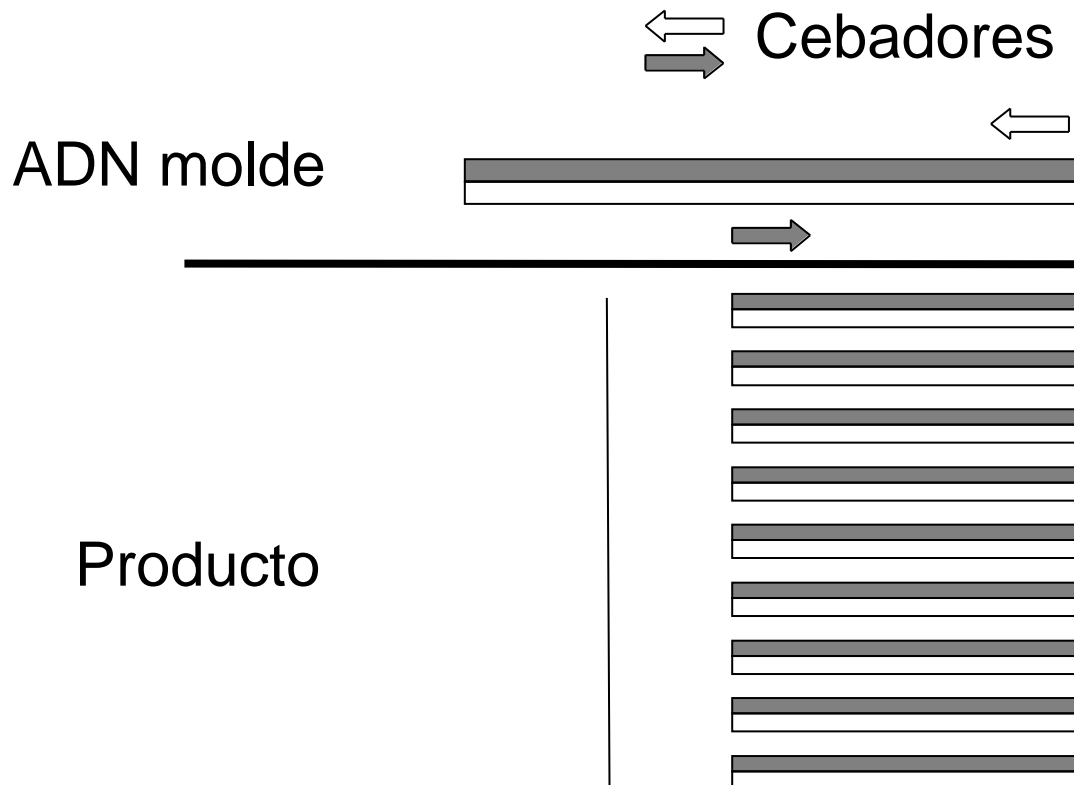
- Minisatélites y “fingerprinting”. @1987.

- Designa a loci con número variable de repeticiones de secuencias tandem (VNTR). El número de repeticiones es muy variable, generando polimorfismos. Los *fingerprints* son visualizaciones simultáneas de varios loci de un mismo individuo.

- Métodos basados en PCR -> @1986

- Microsatélites
    - AFLP
    - RAPDs
    - Secuenciación de ADN

- Reacción en cadena de la polimerasa.  
PCR



- Rapidez
- Sencillez
- Muestreo no destructivo
- Pequeñas cantidades de tejido
- Uso de ADN degradado



- **Métodos basados en PCR**

- **RAPDs. *Random amplified polymorphic DNA*. @1990**

El ADN total de un organismo (en muy pequeña cantidad) es cebado con oligonucleótidos cortos (10-meros) de secuencia arbitraria que ceban al azar en numerosos sitios de todo el genoma.

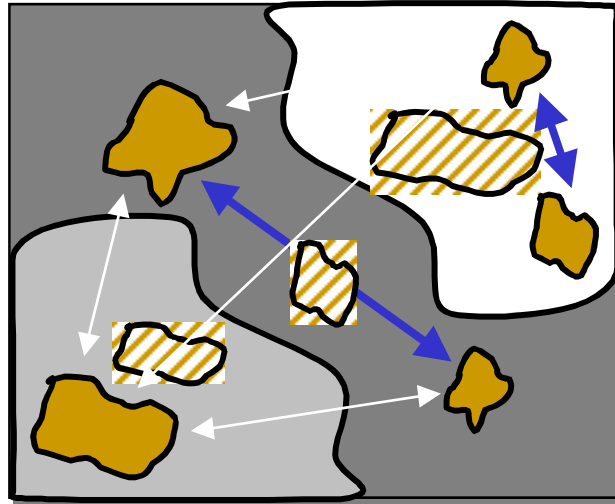
Allá donde se presenten dos sitios de cebado en orientaciones opuestas y a distancia compatible con la amplificación por la polimerasa, se producirá un fragmento amplificado.

De cada reacción por PCR se obtiene un complejo patrón de fragmentos específico del genoma analizado y del cebador utilizado.

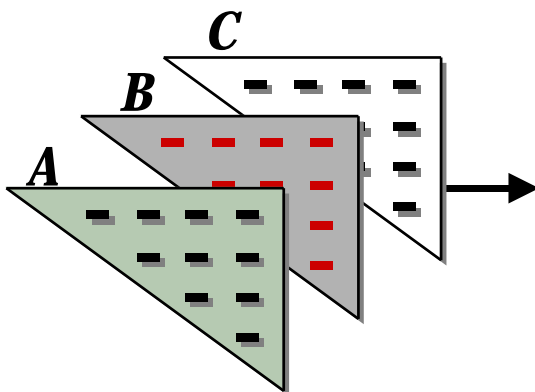
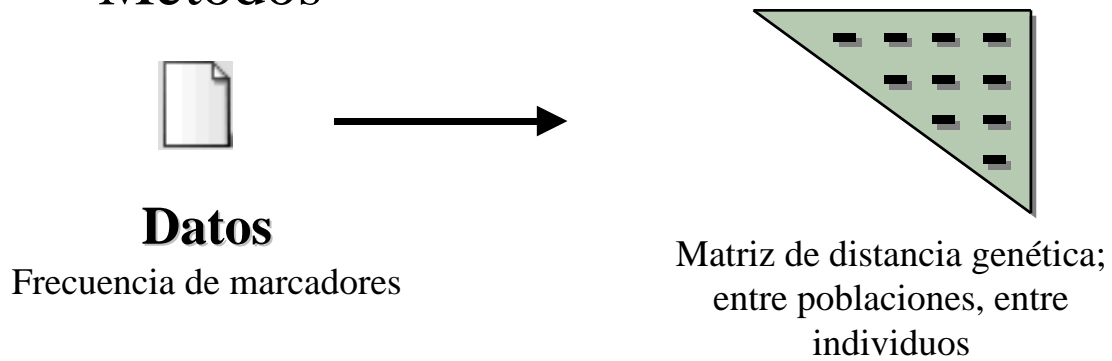
- **Aplicaciones**

- Determinación de la identidad taxonómica. Híbridos.
- Determinación de niveles de variabilidad genética a escala geográfica amplia
- Determinación de paternidad y parentesco

- Determinación de niveles de variabilidad genética a escala geográfica amplia



- Métodos



- Especificación de matrices “hipótesis”.
- Tests de Mantel para comparar matrices.
- Significación obtenida por aleatorización.

*Prunus mahaleb*. Jordano y Godoy (Mol. Ecol. 9, 2000)

- Entre poblaciones
  - Marcadores RAPDs
  - 7 poblaciones, 144 árboles
  
  - 16,5% Entre poblaciones
  - 81,8% Dentro de poblaciones
  - $G_{st} = 0,194$  [0,016-0,468]
  - $Nm = 1,19$
  
- Dentro de poblaciones
  - N. Correhuelas, 72 árboles, 142 marcadores.
  - Mantel
    - Distancia espacial
    - Distancia genética (Nei)
    - $r = 0,5617$ ;  $P = 0,0027$
  - Mantel
    - Hipótesis 10 grupos de árboles (Gabriel)
    - Distancia genética (Excoffier)
    - $r = 0,6823$ ;  $P = 0,0103$

- **Métodos basados en PCR**

- **Microsatélites. @ 1996**

Son un tipo peculiar de loci VNTR llamados SSR (repeticiones de secuencias simples), de 1-6 bp (2-4, normalmente). Representan una continuación de las técnicas pioneras de *fingerprinting* multilocus, aprovechando la PCR.

Su fundamento es amplificar estos loci mediante PCR con cebadores flanquantes a la repetición. Esto genera fragmentos cuyo tamaño depende del número de repeticiones- estos tamaños diversos caracterizan alelos de cada locus.

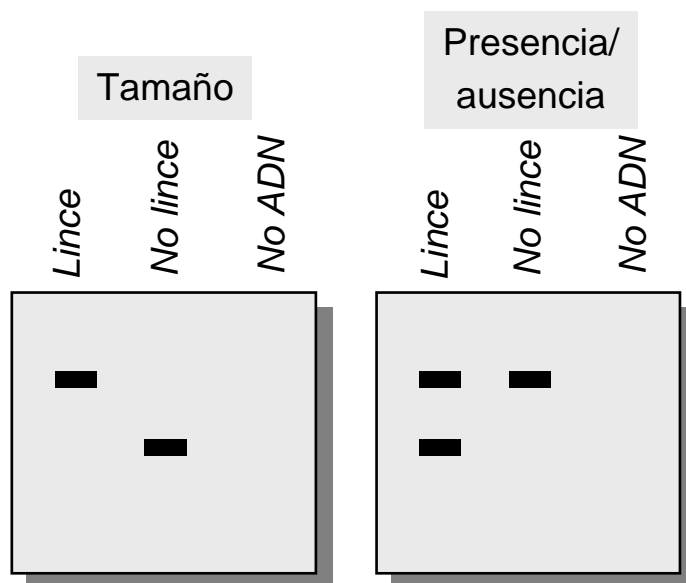
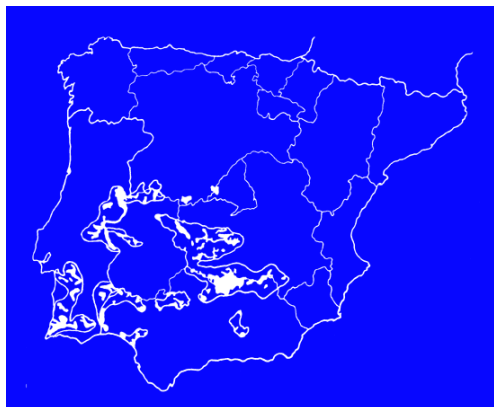
- **Aplicaciones**

- Determinación de paternidad y parentesco
- Análisis de flujo génico a escala local
- Heterocigosis, deriva, endogamia
- Tamaño efectivo de población ( $N_e$ )
- Asignación de poblaciones de proveniencia

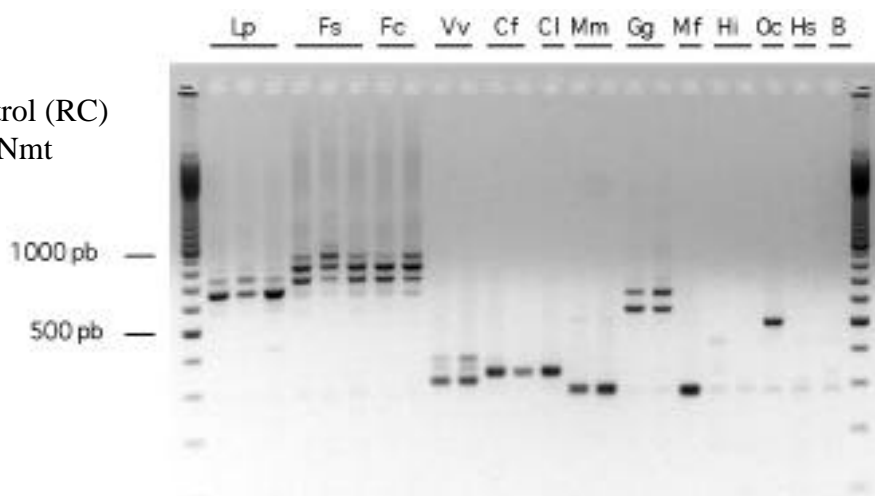
## • Tipos de problemas

- Tamaño efectivo de población  $N_e$ .
  - $N_e$  actual.
  - Cambios en  $N_e$ .
  - Estimación de fecha y tasa de cambio de  $N_e$ .
- Problemas de dispersión y migración.
  - Pruebas de asignación de población de origen para migrantes
  - Proporción de diferentes poblaciones de origen en una población de cría
  - Dispersión ligada a sexo o clase de edad
  - Tasas de migración pasadas
  - Detección de rutas de migración y colonización
  - Diferenciación reciente *vs.* separación antigua
  - Filogeografía
- Identificación.
  - De individuos o grupos de individuos
  - Determinación del sexo
- Parentesco y paternidad.
  - Asignación de paternidad/maternidad
  - Identificación de parentales en un grupo de genotipos
  - Relaciones de parentesco entre progenies
  - Frecuencia de camadas de paternidad múltiple
  - Tasa de cruzamiento y coef. endogamia
  - Relación entre parentesco y distancia geográfica
  - Estimaciones de flujo génico via polen y semillas

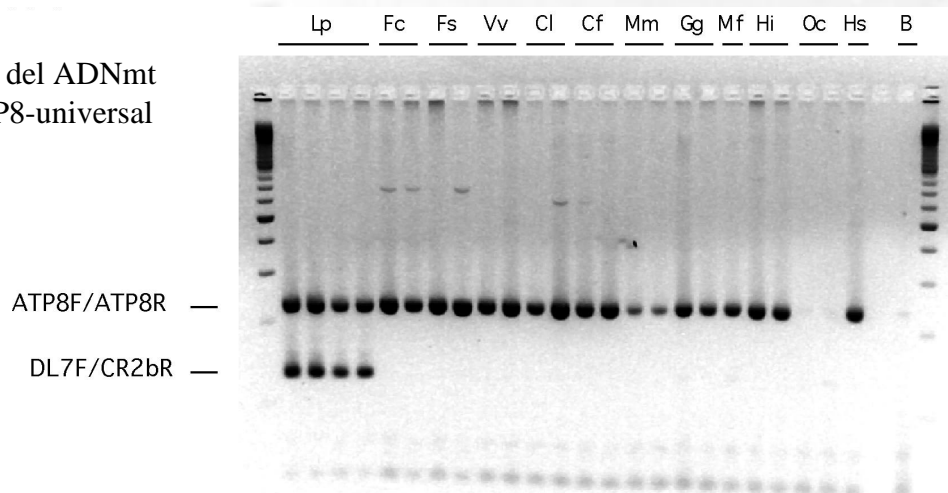
• Aplicaciones



Region control (RC) del ADNmt



citB del ADNmt  
ATP8-universal



## • Aplicaciones

### Determinación del sexo en aves

Se basa en la amplificación mediante PCR de fragmentos del gen CHD, localizado en los cromosomas sexuales de aves. Las copias del gen localizadas en el cromosoma Z y W, presentan diferencias de secuencia que permiten su distinción mediante distintos métodos.

Los cebadores E1 y E3 ceban la amplificación de un fragmento de 630 pb en ambas copias del gen, mientras que la combinación de cebadores E2, E3 dan origen a un producto de 210 pb a partir, exclusivamente, de la copia localizada en el cromosoma W.

El fragmento de 210 pb es por tanto un marcador de hembras (ZW), mientras que el producto de 630 pb, que se obtiene tanto de machos (ZZ) como de hembras (ZW), sirve como control de la amplificación, permitiendo distinguir los machos auténticos de las amplificaciones fallidas.

### Águila imperial ibérica

