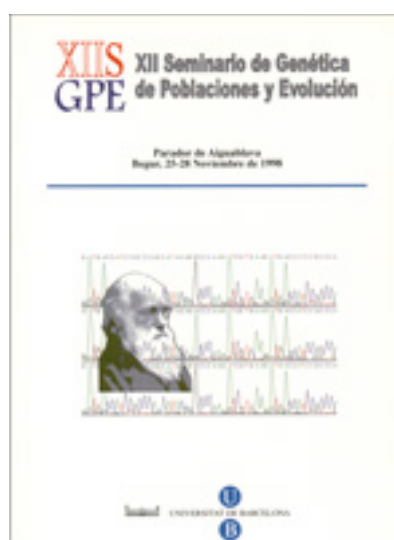


# XII Seminario de Genética de Poblaciones y Evolución

Parador Aiguablava  
Begur, 25-28 Noviembre 1998



UNIVERSITAT DE BARCELONA



## **Inferences from human DNA sequence variation in candidate genes for cardiovascular disease**

A. G. Clark

*Department of Biology, Pennsylvania State University, USA*

As part of an international project to relate segregating variation in genes involved in lipid metabolism to cardiovascular disease risk, we<sup>#</sup> are sequencing genomic regions including several complete candidate genes in 24 individuals from each of 3 populations (Finland, Minnesota, and African Americans from Mississippi). In 9.7 kb of the lipoprotein lipase gene there were 88 variable sites, including 79 single nucleotide polymorphisms and 9 insertion/deletion polymorphisms and an overall nucleotide diversity of 0.002. The 142 chromosomes represent 88 distinct haplotypes, inferred by a combination of allele-specific PCR and population genetic analysis. The haplotype structure differs somewhat across the three populations and reflects a complex history of localized recombination events. The relationship between sample size and number of segregating sites fits the infinite site model quite well, although recombination results in more haplotypes than expected from the estimate of nucleotide diversity. In contrast, the gene encoding angiotensin converting enzyme (ACE) exhibits 15 nucleotide sites in absolute linkage disequilibrium with an *Alu* insertion/deletion polymorphism. ACE had 75 segregating nucleotides over 24 kb sequenced, and variants fell into 15 haplotypes. The gene for apolipoprotein E (*ApoE*) is intermediate between these extremes, with 22 varying sites in 5.5 kb, and intermediate levels of linkage disequilibrium. In all three genes, heterozygosity per site is higher than neutral theory would predict based on the number of segregating sites, suggesting a common demographic or historical cause. Causes for the markedly different patterns of variation and implications of these data for establishing disease risk associations will be discussed.

<sup>#</sup>C. Sing, D. Nickerson, K. Weiss and A. Clark  
Supported by US NIH grants HL58238-40

# DNA variation in nuclear genes of the wild plant *Arabidopsis thaliana*

N. T. Miyashita

*Laboratory of Plant Genetics, Graduate School of Agriculture, Kyoto University*

To investigate genetic mechanisms acting on DNA polymorphism in natural plant populations, we have analyzed nucleotide sequence variation in the alcohol dehydrogenase (*Adh*) and acidic chitinase (*ChiA*) loci of *Arabidopsis thaliana*. The two loci showed dimorphism of DNA variation, and had similar level of nucleotide variation (nucleotide diversity = 0.0080 and 0.0104 for *Adh* and *ChiA*, respectively). However, the patterns of DNA polymorphism differed in the two regions. Notable difference was a high proportion of singleton and replacement sites in the *ChiA* locus, which resulted in significance in Tajima and MK tests. To clarify if the pattern in the *ChiA* locus is related to its protein function, we analysed DNA variation in another chitinase gene, the basic chitinase (*ChiB*) locus. Although level of DNA variation in the *ChiB* locus was within the range of the previous estimates, the two chitinase loci did not have clear similarity in the pattern of DNA variation. This result suggested that protein function was not the cause of determining the pattern of DNA polymorphism in *A. thaliana*. Since the three regions were studied by using almost the same set of ecotypes, it was possible to analyze linkage disequilibrium between DNA polymorphisms among the three loci located on different chromosomes. Within each region, a high level of significant linkage disequilibria was detected due to the presence of dimorphic DNA variation. On the other hand, polymorphisms at the *Adh* region did not show non-random association with those in the *ChiA* nor *ChiB* regions, while there were significant linkage disequilibria between the two chitinase regions. Although the exact mechanism was not determined, interlocus epistasis can be a possible explanation for the interchromosomal linkage disequilibria.

# Reflexiones sobre la Genética, la Teoría de la Evolución y la Genética de Poblaciones

A. Prevosti

*Departament de Genètica, Universitat de Barcelona*

Desde que estudié las leyes de Mendel en el Bachillerato, hasta mis reflexiones seniles de jubilado octogenario, mis apreciaciones del significado que tienen en la Biología, la Genética en general, la Genética de Poblaciones y la Teoría de la Evolución, han experimentado diversos cambios. Al final de un camino tortuoso he llegado a las siguientes conclusiones.

1. La Genética molecular ha puesto de manifiesto que el genoma es el componente fundamental y más característico de los organismos, considerados como sistemas. Han sido muchas las propiedades de los seres vivos propuestas para definir la vida. En mi opinión, los conocimientos aportados por la Biología molecular, permiten reducirlas todas a la presencia de un componente, el genoma, que porta y almacena información codificada. Las propiedades distintivas de la vida se explican por la presencia de este componente. Los seres vivos son los únicos sistemas informacionales naturales existentes.

2. La Genética de Poblaciones, al formalizar los procesos evolutivos en términos de cambios en las frecuencias génicas, aporta explicaciones básicas sobre la evolución. Omite, no obstante, considerar el organismo como sistema. Esto es la causa de que muchos biólogos, p. e. paleontólogos y taxónomos, que estudian principalmente las propiedades somáticas de los organismos, valoren poco el enfoque de la Genética de poblaciones.

3. Una omisión semejante se aprecia en el darwinismo, al considerar la adaptación al ambiente como prácticamente el único condicionante de la evolución. No se tiene en cuenta que los seres vivos son sistemas complejos, con requerimientos de organización indispensables para funcionar eficazmente, cuya explicación evolutiva es tan necesaria como la de las adaptaciones al ambiente. Seguramente el estudio de la dinámica de sistemas complejos es necesario para entender aspectos del origen y la evolución de estos requerimientos. No obstante, aunque el conocimiento aportado por este estudio sea importante y pueda abrir nuevos caminos en el estudio de la evolución, no creo que pueda sustituir a la selección natural, como explicación de la funcionalidad de las propiedades de los seres vivos.



# **Comunicaciones**



## Polimorfismo nucleotídico en regiones genómicas incluidas en inversiones cromosómicas

M. Agudé<sup>1</sup>, G. Ribó<sup>2</sup>, J. Rozas<sup>1</sup>, C. Segarra<sup>1</sup>, D. De Lorenzo<sup>1</sup>, A. Llopart<sup>1</sup>, J. M. Martín-Campos<sup>1</sup>, A. Munté<sup>1</sup>, A. Navarro-Sabaté<sup>1</sup>, S. Ramos-Onsins<sup>1</sup> y C. Romero-Ibáñez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departament de Genètica, Universitat de Barcelona*

<sup>2</sup>*Centre d'Investigació i Desenvolupament, CSIC, Barcelona*

El estudio de la variabilidad nucleotídica en regiones asociadas a inversiones cromosómicas a los niveles intra- e interespecífico puede aportar información sobre la historia evolutiva de las mismas. Se han estudiado varios genes asociados a distintas inversiones cromosómicas de *Drosophila subobscura* localizados en los cromosomas O (*Acph-1*, *Cec*, *rp49*, *Xdh*) y A (*6Pgd*, *RpII215*, *y*). Se presentarán los resultados relativos a las regiones *rp49* (ribosomal protein 49) y *Acph-1* (acid phosphatase-1). Aunque ambas regiones se localizan muy cerca de uno de los puntos de rotura de la inversión cromosómica O<sub>3</sub>, el gen *rp49* es monomórfico a nivel proteico mientras el gen *Acph-1* presenta variabilidad aloenzimática. Se han secuenciado ambas regiones en una muestra de líneas con las principales ordenaciones cromosómicas que incluyen a estos genes (O<sub>st</sub>, O<sub>3+4</sub>, O<sub>3+4+8</sub> y O<sub>3+4+23</sub>). La localización cromosómica de ambos genes dentro del asa de la inversión difiere en los distintos heterocariotipos: los genes están muy cerca del punto de rotura en los heterocariotipos que presentan un cromosoma O<sub>st</sub>, mientras que se localizan en una posición más central en el resto de heterocariotipos. Las principales conclusiones del estudio son: 1) el patrón de variación nucleotídica es consistente con un origen único de las inversiones cromosómicas estudiadas; 2) el nivel de intercambio genético es mayor en regiones centrales del asa de inversión que en regiones cercanas a los puntos de rotura; 3) la variación nucleotídica en estos genes aún refleja la expansión que sufrieron las distintas inversiones cromosómicas tras su origen; 4) en el gen *Acph-1* el nivel de polimorfismo aminoacídico es muy superior al detectado previamente por electroforesis, existiendo un exceso de posiciones no sinónimas polimórficas en las ordenaciones más reciente.



# **Genética de poblaciones de secuencias y animales saltarines: Los elementos transponibles de *Drosophila melanogaster* y el rebeco**

J. Albornoz, T. Pérez y A. Domínguez

*Area de Genética. Departamento de Biología Funcional. Universidad de Oviedo*

Por su capacidad para producir mutaciones, los elementos transponibles (ET) son considerados como un factor potencialmente muy importante en la generación de variabilidad en las poblaciones naturales, pero su contribución real aún no se ha evaluado. Estamos estudiando el movimiento de varias familias de ETs en unas líneas de acumulación de mutaciones que fueron usadas también para estudiar la mutación espontánea en caracteres de variación continua. Entre nuestros objetivos está el estudio de tasas de transposición, relación entre familias, naturaleza de los cambios producidos por los ETs, condiciones ambientales o genéticas que puedan afectar a la tasa de transposición y efectos sobre el fenotipo.

Hemos encontrado que las diferentes familias se comportan de forma no independiente. La mayor parte de los cambios que afectan a los ET son debidos a reordenaciones que afectan tanto a los elementos que se transponen como DNA como a los que lo hacen por un intermedio de RNA. Estos cambios en los ET tienen poco o ningún efecto sobre la eficacia biológica.

El análisis molecular de las relaciones evolutivas entre distintos organismos permite valorar los cambios que afectan a distintas secuencias y las fuerzas que guían esos cambios. Estamos comparando poblaciones de rebeco cantábrico con otras europeas mediante marcadores moleculares (DNA minisatélite, microsátelites y RAPDs). Entre nuestros objetivos está el conocer el estado de las poblaciones cantábricas desde el punto de vista genético para contribuir a su conservación y su comparación con otras que, por criterios morfológicos, han sido clasificadas como subespecies o especies diferentes. Otro objetivo de estos trabajos es el estudio de las mutaciones que generan el polimorfismo de los mocosatélites.

## **Evolución de la regulación del gen *Adh* en *Drosophila*. Nuevo patrón de expresión en *D. funebris***

A. Amador y E. Juan.

*Dept. de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona*

Se han descrito hasta el momento dos estructuras para el gen *Adh* en la familia Drosophilidae, bien una copia del gen y dos promotores, distal y proximal, bien dos genes adyacentes, *Adh-2* y *Adh-1*, con un promotor cada uno. En las especies con un gen *Adh* y dos promotores, el gen se transcribe principalmente desde el promotor proximal en larvas y desde el promotor distal en adultos. En las especies con dos genes los patrones temporales de expresión de los genes *Adh-1* y *Adh-2* son equivalentes a los de los promotores proximal y distal, respectivamente. Existen no obstante, diferencias interespecíficas tanto a nivel cuantitativo como cualitativo en la expresión del mismo, lo que convierte al gen *Adh* en un modelo adecuado para el estudio evolutivo de la regulación de la expresión génica en eucariotas. El grupo *funebris* del subgénero *Drosophila* era uno de los grupos en los que aún no se había analizado dicho gen. La secuencia de la región genómica que contiene el gen *Adh* en *Drosophila funebris* ha mostrado la presencia de una duplicación no fijada en tándem directo que contiene el gen completo. El análisis de la secuencia 5' adyacente a la región codificadora predice la pérdida de uno de los promotores utilizados en todas las especies con un sola copia del gen. El análisis del patrón de expresión a lo largo del desarrollo en cepas homocigóticas normales con duplicación y sin duplicación mediante experimentos de Northern blot, de protección a la digestión por RNAsa y RACE revelan que en *D. funebris* el gen *Adh* se expresa a partir de un único promotor que comparte características de los promotores distal y proximal de *D. melanogaster*. La nueva organización de las zonas reguladoras de este gen determina que su patrón de expresión tisular a lo largo del desarrollo sea muy distinto a los descritos para especies cuyo gen *Adh* está bajo el control de dos promotores.

# Efecto de los cuellos de botella sobre la variabilidad genética

A. Caballero<sup>1</sup>, J. Wang<sup>2</sup>, P. D. Keightley<sup>2</sup> y W. G. Hill<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Universidad de Vigo*

<sup>2</sup>*Institute of Cell, Animal and Population Biology, University of Edinburgh, Scotland*

El aumento en la varianza genética para caracteres componentes de eficacia biológica cuando se llevan a cabo cuellos de botella es un hecho repetidamente observado en numerosos experimentos, y se explica de forma teórica mediante acción génica dominante y/o epistasia. En este trabajo hemos utilizado las aproximaciones de difusión con el modelo de infinitos sitios para cuantificar el efecto de la dominancia. Las predicciones se basan en parámetros e información experimental sobre viabilidad en *Drosophila melanogaster*. El modelo se nutre de datos mutacionales obtenidos en experimentos de acumulación de mutaciones que utilizan cromosomas balanceados (grupo I de parámetros) o líneas altamente consanguíneas (grupo II). En esencia, el grupo I de parámetros supone que la tasa de mutación genómica para viabilidad es muy alta y el efecto de los mutantes es pequeño, en tanto que el grupo II supone un número mucho menor de mutaciones con mayor efecto. Comparando las predicciones con la estimaciones empíricas, el grupo I de parámetros predice varianzas genéticas razonables pero viabilidad media demasiado baja, en tanto que el grupo II predice una viabilidad razonable pero varianzas genéticas demasiado bajas. Ambos grupos de parámetros predicen una depresión consanguínea y cambios en varianza genética dentro y entre líneas compatibles con los resultados empíricos, y éstos cambios se deben fundamentalmente a los genes letales y altamente deletéreos. El presente estudio sugiere que la dominancia es la causa principal del incremento observado en la varianza genética de componentes de eficacia cuando se llevan a cabo cuellos de botella.

## **Genética e historia de poblaciones humanas: análisis de marcadores del cromosoma Y y del mtDNA**

F. Calafell, D. Comas, A. Pérez-Lezuan, E. Mateu, E. Bosch, R. Martínez-Arias, J. Clarimón, B. Morera, X. Domingo y J. Bertranpetit

*Unitat d'Antropologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona*

*Afiliación actual: Facultat de Ciències de la Vida i de la Salut, Universitat Pompeu Fabra*

Nuestro grupo se ocupa de analizar la diversidad del genoma humano, analizando diferentes regiones genómicas en individuos procedentes de muy diversas poblaciones, tanto para la reconstrucción de la historia de las poblaciones como para comprender la dinámica de cambio del genoma.

En la presente comunicación, desarrollaremos dos de nuestras líneas de investigación, que han generado ya un buen número de resultados. En primer lugar, presentamos el análisis de secuencias de la región de control del mtDNA y de siete microsatélites del cromosoma Y en muestras de Asia Central. Se trata de dos muestras de poblaciones de alta montaña (kirguises de Sary-Tash y kazajos) y de dos poblaciones de llanura (kirguises del valle de Talas y uigures). En el mtDNA se halló una gran diversidad de secuencias uniformemente en todas las poblaciones y se pudo identificar las proporciones de secuencias procedentes de Europa y de Asia Oriental, lo que sugiere que estas poblaciones han experimentado migraciones tanto de occidente como de oriente, quizás mediadas por la Ruta de la Seda. En contraste, los microsatélites del cromosoma Y mostraron una acusada reducción de la variabilidad en las poblaciones de alta montaña, lo que se puede interpretar como el resultado de la fundación de estas poblaciones, más una migración masculina mucho más restringida que la femenina.

Los mismos microsatélites del cromosoma Y se analizaron en muestras árabes y bereberes de Marruecos, Argelia y el Sáhara Occidental. Además, se genotiparon ocho polimorfismos bialélicos (cambios de nucleótido e inserciones/deleciones), que definen diez haplogrupos del cromosoma Y. El estudio conjunto de marcadores con muy distintas tasas de mutación permite al menos dos tipos de enfoque: los microsatélites pueden servir para estimar la edad reativa de los haplogrupos definidos mediante polimorfismos bialélicos presumiblemente únicos, y viceversa: el análisis de la variancia del tamaño de las repeticiones de los microsatélites informa de sus tasas relativas de mutación.

## **Evolución molecular de una duplicación del rRNA; implicaciones filogenéticas en Tricladida (Platyhelminthes)**

S. Carranza, I. Ruiz-Trillo, J. Baguña y M. Riutort

*Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona*

Los genes que codifican los RNA ribosomales se encuentran agrupados en "clusters" en el genoma de los organismos. Estos "clusters" se encuentran repetidos en tandem variando el número de copias según las especies. Se ha demostrado que, en general, la secuencia de las diferentes copias evolucionan de una forma concertada, por lo que la variabilidad intraespecífica es mínima. Pero a nivel interespecífico las diferencias son importantes, aportando una información filogenética altamente valiosa. Se han descrito algunas excepciones al fenómeno de evolución concertada. En *Plasmodium* existen dos copias distintas del cluster que se expresan en diferentes estadios. En nuestro caso descubrimos la presencia de dos tipos distintos de secuencias del gen 18S rDNA en *S. mediterranea* (Seriata, Platyhelminthes), con un 8% de diferencias nucleotídicas. El estudio de esta duplicación en otras especies del Orden Seriata nos ha permitido hacer algunas deducciones respecto a la evolución de esta duplicación. Así, hemos podido ver que ésta afectó a todo el cluster, que las dos copias de éste no evolucionan al mismo ritmo, y que la duplicación debió producirse en el ancestro de la Familia Dugesiidae. Por otro lado, la presencia de una duplicación de este tipo tiene varias implicaciones filogenéticas. La primera sería que al comparar organismos con la duplicación es necesario asegurarse que las secuencias comparadas son realmente ortólogas y no parálogas. La segunda sería que la duplicación en sí puede ser un carácter filogenético. Así, mostraremos como este mismo estudio nos ha permitido reubicar la posición de las planarias terrestres dentro del Orden Seriata, contradiciendo la filogenia previamente propuesta a partir de datos morfológicos.

# Mutaciones deletéreas y su efecto sobre la eficacia de microorganismos

S. F. Elena<sup>1,2</sup>, R. E. Lenski<sup>2</sup> y A. Moya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departament de Genètica i Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biologia Evolutiva, Universitat de València.*

<sup>2</sup>*Center for Microbial Ecology, Michigan State University.*

Las mutaciones son un factor clave en Evolución. Influyen todo proceso que podamos imaginar, desde la fijación de alelos beneficiosos o deletéreas hasta la substitución de alelos neutrales. Conocer la distribución de los efectos mutacionales, así como si las interacciones entre mutaciones son sinérgicas o no, tiene gran trascendencia para entender los más diversos fenómenos evolutivos: desde la extinción de poblaciones hasta el origen y mantenimiento de la reproducción sexual, pasando por el origen de la diploidía, la evolución de los sistemas de apareamiento o la depresión endogámica. Poco se ha hecho hasta el momento en este sentido en organismos eucariotas, y generalmente centrado en el estudio de *Drosophila*, pero nada en absoluto en procariotas. En la presente comunicación, repasaremos trabajos recientes de nuestros grupos en los que, empleando la bacteria *Escherichia coli* y el virus de la estomatitis vesicular (VSV), se describen parámetros importantes sobre los efectos e interacciones de las mutaciones deletéreas.

En primer lugar, caracterizamos la distribución de los efectos sobre la eficacia biológica de la acumulación de mutaciones deletéreas. Para ello, empleamos inserciones aleatorias de transposones en el caso de *E. coli*, y un proceso de acumulación, en ausencia de selección, de mutaciones deletéreas espontáneas en el caso de VSV. En ambos casos, la forma de las distribuciones obtenidas fue similar y queda perfectamente descrita por una combinación lineal entre efectos gamma y uniformes. Además, obtuvimos una estimación de la tasa de mutación genómica por ciclo de replicación para VSV, parámetro de gran importancia del que aún no se disponía. En otro conjunto de experimentos, estudiamos si mutaciones deletéreas aparecidas sucesivamente tienen efectos epistáticos sobre la eficacia o no. En ambos casos, los resultados son, de nuevo, coincidentes: las funciones que relacionan la log-eficacia y el número de mutaciones son siempre lineales, como se esperaría en el caso de no existir epistasias. Estudios más detallados mostraron que esta falta de epistasias no era real sino el resultado de promediar interacciones sinérgicas y antagonistas.

Como colofón, recalcar la utilidad de los microorganismos como material para la contrastación de cuestiones evolutivas que de otro modo serían inabordables.

# Los virus de RNA como organismos modelo en filogenética experimental

M. A. Fares<sup>1</sup>, A. Moya<sup>1</sup>, C. Escarmís<sup>2</sup>, E. Domingo<sup>2</sup> y E. Barrio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departament de Genètica i Institut "Cavanilles" de Biodiversitat i Biologia Evolutiva, Universitat de València*

<sup>2</sup>*Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", CSIC y Universidad Autónoma de Madrid*

Los métodos de reconstrucción filogenética están sujetos a dos tipos de limitaciones: nuestro conocimiento sobre la verdadera historia evolutiva de los organismos y las premisas implícitas en los métodos de reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre organismos. Bajo estas circunstancias, sólo caben dos maneras de determinar la fiabilidad y precisión de los métodos de reconstrucción filogenética, la observación directa del proceso evolutivo de los organismos (filogenética experimental) o la simulación de filogenias por ordenador.

La dificultad para observar el proceso evolutivo ha hecho que el análisis de filogenias experimentales prácticamente sólo haya sido posible mediante la utilización de virus por su gran número de generaciones por año, sus tamaños poblacionales enormes, altas tasas de mutación y genomas simples. De este modo, los estudios de filogenias experimentales se han basado bien en la reconstrucción de filogenias de cepas víricas cuya historia ha sido registrada, bien en la manipulación de linajes víricos bajo condiciones experimentales controladas. Entre los virus, los de genoma de RNA, dada su extremadamente alta tasa de mutación, pueden ser idóneos para este tipo de estudios como se muestra en el presente trabajo.

Por otra parte, la filogenética experimental también permite estudiar los mecanismos de evolución que actúan sobre la variabilidad genética bajo diferentes circunstancias. Así, el análisis tanto filogenético como estadístico de las secuencias de la región del genoma que codifica las proteínas de la cápside de virus de la fiebre aftosa, cuya "historia evolutiva" nos es conocida, demuestra la acción de la selección positiva como fuerza moduladora de la variación molecular observada bajo determinadas dinámicas poblacionales.

## Las controvertidas secuelas de la mutación deletérea

A. García-Dorado

*Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad Complutense*

Los datos clásicos de acumulación de mutaciones (AM), obtenidos por Mukai *et al.* y Ohnishi, mostraban un importante deterioro de la viabilidad, lo cual sugiere que el relativamente pequeño aumento de la varianza atribuible a mutación ( $V_m$ ) está producido por la acumulación de muchas mutaciones de efecto deletéreo muy pequeño (modelo 1). Dichas mutaciones pueden acumularse en poblaciones de censo moderado, en las que segregan como si fuesen semineutras, erosionando intensamente el nivel adaptativo de las mismas. Sin embargo, la forma de la distribución de la viabilidad media de las líneas (analizada por métodos de mínima distancia) sugiere que  $V_m$  se debe a la acumulación de pocas mutaciones de efecto deletéreo considerable (modelo 2). Esta última suposición no explica todo el deterioro en viabilidad observado, una parte del cual podría ser un artificio debido a la evolución paralela de la cepa de referencia utilizada para estimar la viabilidad. El análisis de dos juegos de datos de AM más recientes (el de Fernández y López-Fanjul para viabilidad y el de Houle para eficacia) apoyan esta interpretación.

Una consecuencia del modelo 2 es que la acumulación de mutación deletérea no induce la expresión de un lastre importante en poblaciones panmícticas a menos que el tamaño poblacional sea muy reducido (del orden de las decenas) durante un periodo prolongado. No obstante, el carácter fundamentalmente recesivo de las mutaciones deletéreas de efecto grande puede permitir la acumulación de un lastre importante oculto en heterocigosis, que se pondría de manifiesto en situaciones en que aumentase la probabilidad de homocigosis. Por otra parte, algunas mutaciones deletéreas en el medio natural podrían acumularse como neutras en el medio artificialmente benigno en que se han de multiplicar algunas poblaciones amenazadas de extinción en tanto que alcanzan censos razonables. Por este motivo, la duración de estos periodos debe limitarse en lo posible, y la devolución al medio original, en el que la selección natural habrá de purgar dichos deletéreos, debe hacerse de manera controlada.



## Filogenia molecular de *Timarcha* y *Chrysolina* (Coleoptera, Chrysomelidae)

J. Gómez-Zurita, C. Garin, C. Juan y E. Petitpierre

*Laboratori de Genética, Departament de Biologia Ambiental, Universitat de les Illes Balears.*

Se analiza la secuencia nucleotídica de un fragmento de 550 pb del gen mitocondrial para ARNr 16S, en unos 30 taxones de *Timarcha*, 20 especies de *Chrysolina*, dos especies de *Oreina* y una de *Entomoscelis*, mediante *primers* específicos y amplificación vía PCR. Este gen muestra un exceso de A+T y una tasa de sustitución nucleotídica mayor en las regiones *loop* que en las de *stem*. Los análisis filogenéticos usando métodos de máxima parsimonia (MP) y máxima verosimilitud (MV), demuestran la posición evolutiva basal de las *Timarcha* en relación con los otros tres géneros de Chrysomelinae, pero no resuelven el problema de las *Oreina* como género independiente o incluido dentro de las *Chrysolina*.

Las relaciones de parentesco genético entre las *Timarcha* permiten distinguir seis clados por lo menos, la mayoría con altos valores de *bootstrap*. Estos clados se corresponden parcialmente con los grupos establecidos de semejanzas cromosómicas. En los taxones del complejo *T. goettingensis* se diferencian claramente las poblaciones occidentales del norte peninsular de las orientales. Los resultados obtenidos también evidencian la existencia de identidad genética entre taxones bien distintos morfológicamente, lo cual apoya la hipótesis de una divergencia morfológica previa a la de este gen. Los cambios de plantas hospedadoras en las *Timarcha*, Rubiaceae, Plantaginaceae, Dipsacaceae y Cruciferae, se han producido con frecuencia en los diversos clados y, por tanto, suponen una evolución convergente, a partir de unas potencialidades tróficas probablemente comunes.

En el género *Chrysolina* existe una notable correspondencia entre la filogenia molecular, las adaptaciones tróficas sobre las distintas familias de plantas hospedadoras, y la evolución cromosómica por aumentos del número diploide, según se demuestra en los árboles de MV. Sin embargo, el trofismo ancestral sobre Lamiaceae, propio de especies con cariotipos de  $2n = 24$  cromosomas, se corresponde con, al menos, cuatro clados distintos, adaptados por un proceso de convergencia evolutiva, sobre los mismos tipos de plantas hospedadoras. Por el contrario, las adaptaciones tróficas sobre las Plantaginaceae, Asteraceae, Hypericaceae y Apiaceae, se han producido de manera independiente en cuatro clados distintos, respectivamente.

Nuestros resultados, tanto en *Timarcha* como en *Chrysolina*, prueban una convergencia de la evolución trófica de estos *Chrysomelidae* sobre sus plantas hospedadoras y desmienten, probablemente, un posible proceso de coevolución o evolución paralela.

# **Caracterización y evolución del polimorfismo de las secuencias del MHC de Clase II en la especie ovina.**

B. Jugo y A. Vicario

*Dpto. Biología animal y Genética. Euskal Herriko Unibertsitatea/Universidad del País Vasco.*

El Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) es el sistema genético más polimórfico descrito hasta el momento. En la mayoría de las especies suele dividirse en 4 regiones según la estructura y función de los productos: Clase I, Clase IIa, Clase IIb y Clase III. El extenso polimorfismo de los loci de Clase I y II está asociado con variación en la respuesta inmune a una gran variedad de organismos.

En la especie ovina el grado de caracterización de los genes que se incluyen en cada región es variado. El presente estudio tiene como objetivo ampliar el conocimiento de la evolución de la diversidad del MHC ovino. Para ello se ha analizado el polimorfismo de genes DRB, localizados en la región de Clase IIa, que han sido descritos como altamente polimórficos tanto en humanos como en bovino.

Concretamente se ha analizado el polimorfismo del segundo exón, donde se localiza la mayor parte de la variación, mediante amplificación por PCR, análisis de conformación de hebra sencilla (SSCP) y posterior secuenciación. En los animales analizados se detectaron 10 secuencias, 3 de las cuales habían sido descritas anteriormente. Aunque se han descrito 7 alelos nuevos, en el conjunto de alelos únicamente se han detectado dos sustituciones no identificadas previamente y las nuevas secuencias son en realidad combinación de motivos identificados en secuencias detectadas anteriormente. Así, nuestros resultados apoyan la importancia de la recombinación intraalélica para la generación de polimorfismo MHC.

En el análisis filogenético realizado con secuencias de caprino y bovino, no se han formado grupos definidos que engloben secuencias de una única especie, sino que hay secuencias que presentan más similitud con otras secuencias de diferente especie que con secuencias de la misma especie. Es notable la persistencia transespecie de líneas alélicas.

Por último, una de las secuencias de la muestra es igual a la detectada en un argalí y otra de las secuencias se diferencia únicamente en dos aminoácidos de la única secuencia de muflón descrita hasta el momento. A diferencia de los resultados de otros trabajos, nuestros datos apoyan la idea de que se ha podido dar una influencia de ambas especies, el muflón y el argalí, en la oveja doméstica actual.

# El significado evolutivo del incremento de la variación genética tras reducciones del censo

C. López-Fanjul<sup>1</sup>, A. Fernández<sup>2</sup> y M. A. Toro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Genética, Universidad Complutense*

<sup>2</sup>*Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, INIA, Madrid*

La contribución de loci neutros a la varianza aditiva de un carácter en una población panmíctica infinita ( $V_A$ ) puede compararse con su valor esperado en el equilibrio, tras  $t$  generaciones de endogamia con censo  $N$  ( $V_A^*$ ). Si la acción génica en esos loci es aditiva e independiente,  $V_A$  disminuye a razón de  $1/2N$  por generación y si, por el contrario, no es aditiva o independiente, dicha contribución puede aumentar ( $V_A^* > V_A$ ). Ambas predicciones han sido verificadas convincentemente cuando se han utilizado el material y el diseño experimental apropiados. Hemos estudiado analíticamente las consecuencias de la reducción del censo con respecto a la magnitud de la varianza aditiva en distintos modelos epistáticos (aditivo x aditivo, múltiple dominante favorecido y los propuestos por Dobzhansky-Gavrillets y Cheverud-Routman), deduciendo las fórmulas pertinentes en función de las frecuencias génicas ancestrales y el efecto epistático en cada caso. Dejando aparte el escaso realismo de algunos de estos modelos en el contexto estudiado, por cuanto implican un aumento de la media con endogamia, todos ellos coinciden en señalar que la condición  $V_A^* > V_A$  sólo se da: 1) cuando las frecuencias ancestrales de los alelos perjudiciales son intermedias (situación difícilmente concebible en poblaciones naturales a menos que la interacción genotipo-medio sea muy intensa); 2) en el caso de recesivos con frecuencias ancestrales bajas (donde  $V_A^* > V_A$  implica fuertes aumentos de esas frecuencias y de la depresión endogámica, a no ser que los recesivos sean favorables). En la topografía wrightiana el fenómeno  $V_A^* > V_A$  suele tomarse, sin mayor espíritu crítico, como una ventaja más de la deriva genética a la hora de facilitar la transición entre cimas adaptativas. En contraposición nuestro análisis indica que es muy improbable que los estrangulamientos del censo puedan acelerar la tasa de evolución, aun cuando conlleven aumentos de la varianza aditiva.

# **Paternidad múltiple en salmón Atlántico (*Salmo salar*) de ríos sureuropeos, ¿una estrategia para aumentar el tamaño efectivo poblacional?**

J. L. Martínez<sup>1</sup>, J. Pérez<sup>1</sup>, P. Morán<sup>1</sup>, B. De Gaudemar<sup>2</sup>, E. Beall<sup>2</sup> y E. García-Vázquez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo*

<sup>2</sup>*Ecologi des Poissons, Station d'Hydrobiologie St. Pée sur Nivelles, Francia*

El límite sur de la distribución del salmón Atlántico europeo corresponde a las poblaciones de los ríos del norte de España y sur de Francia. Todas ellas se encuentran en condiciones ecológicas poco favorables para el desarrollo de la especie, y el número de adultos que retornan durante la época de reproducción es en ocasiones tan reducido que algunas de ellas se consideran virtualmente extinguidas.

Se han llevado a cabo muestreos de embriones en desoves naturales de tres ríos sureuropeos: el Mandeo, el Sella y el Nivelles. De forma complementaria, se han desarrollado experimentos para valorar la existencia de paternidad múltiple en condiciones controladas de densidad y sex-ratio. Se han utilizado varios loci VNTR (micro y minisatélites) para realizar análisis de paternidad. Los resultados indican que hay múltiples machos implicados en la fertilización de los huevos. Una gran proporción de embriones son descendientes de machos juveniles maduros (machos precoces).

Se discute el papel de la paternidad múltiple y la maduración precoz en relación a la conservación de la variabilidad genética en poblaciones pequeñas de salmón Atlántico.

## **Evaluación de recursos genéticos y mejora del cultivo de rodaballo (*Scophthalmus maximus*)**

P. Martínez<sup>1</sup>, F. Piferrer<sup>2</sup>, S. Vidal<sup>3</sup>, R. M. Cal<sup>4</sup>, C. Bouza<sup>1</sup>, B. G. Pardo<sup>1</sup>, J. Castro<sup>1</sup>, L. Lustres<sup>3</sup>, A. Machordom<sup>5</sup>, J. Fernández<sup>6</sup> y L. Sánchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Area de Genética. Universidad de Santiago de Compostela. Lugo*

<sup>2</sup>*Instituto de Ciencias del Mar. CSIC. Barcelona*

<sup>3</sup>*Area de Anatomía y A. Pat. Comparada. U. Santiago de Compostela. Lugo*

<sup>4</sup>*Instituto Español de Oceanografía. Vigo*

<sup>5</sup>*Sección de Ecología. Subd. Gen. Inv. Agraria. Comunidad de Madrid*

<sup>6</sup>*Piscifactoría Insuiña. O Grove. Pontevedra*

El cultivo de rodaballo ha experimentado un notable incremento durante la última década en Galicia, pasando la producción de las 30 Tm en el año 87 a las 1300 en el 97. Los programas de mejora genética se han visto relegados hasta muy recientemente a un segundo plano por aspectos más básicos relacionados con la adaptación al cultivo de esta especie. Uno de los mayores problemas para el cultivo del rodaballo es la baja viabilidad larvaria observada, que no supera en condiciones óptimas valores del 10%. Distintas han sido las aproximaciones seguidas para tratar de solventar este problema, no pudiéndose descartar la incidencia de factores genéticos en el mismo. Otro aspecto importante tiene que ver con la evaluación de recursos genéticos en poblaciones naturales y cultivadas de cara al establecimiento de programas de mejora. Los primeros datos indican la existencia de un déficit de diversidad genética en poblaciones naturales y especialmente cultivadas de esta especie, y una gran homogeneidad interpoblacional, que establecen ciertos límites a los programas de mejora. Finalmente, hay que destacar el crecimiento significativamente superior de las hembras de esta especie respecto de los machos, y la importancia de la obtención de individuos estériles por el mayor valor de mercado que presentan los ejemplares de mayor tamaño. En el presente trabajo se avanzan los primeros datos obtenidos para la evaluación de recursos genéticos mediante la utilización de marcadores isoenzimáticos, microsatélites, y RFLPs de los genes ribosómicos y del genoma mitocondrial en el rodaballo y en especies filogenéticamente próximas. Igualmente se presenta un análisis ultraestructural de la calidad y las anomalías del esperma de esta especie, en comparación con otras especies de peces planos con niveles de diversidad estándar. Finalmente se muestran los datos de la aplicación de las técnicas de manipulación cromosómica para la obtención de individuos estériles y poblaciones todo-hembras.

# Comparación de patrones evolutivos de elementos transponibles en el grupo *obscura* de *Drosophila*

M. J. Martínez-Sebastián, L. Pascual y R. De Frutos

*Departament de Genètica, Universitat de València*

La expansión de un elemento transponible en una especie está condicionada por las características genéticas del huésped. Por ello, es posible que la historia evolutiva de una determinada familia de elementos dependa en parte de las especies huéspedes. En este contexto, hemos analizado la presencia y características de tres familias de elementos transponibles en diversas especies de *Drosophila*, representativas de los cuatro subgrupos del grupo *obscura*: *subobscura*, *obscura*, *pseudoobscura* y *affinis*. Los elementos analizados son: *P*, como representante del tipo de elementos que se transponen vía DNA, *gypsy*, representante de los retrotransposones similares a retrovirus, y *bilbo*, representante de los retrotransposones sin LTRs. Además de las diferencias en estructura y mecanismos de transposición que presentan estos elementos, nos interesan, especialmente, por ser modelos de los procesos de transferencia horizontal (elemento *P*) y de capacidad infectiva en retrotransposones (*gypsy*).

El diseño de cebadores específicos, nos ha permitido amplificar fragmentos de aproximadamente 400pb relativos al exón 2 de la transposasa en *P*, al gen *env* en *gypsy* y a la región de la retrotranscriptasa inversa en *bilbo*. Los amplificados se clonaron, y se secuenciaron un mínimo de cinco clones por especie. El análisis de las secuencias obtenidas nos ha permitido la construcción de árboles filogenéticos, para cada uno de los elementos y la comparación entre ellos. Los resultados obtenidos con los tres elementos transponibles presentan características comunes: 1) en todos los casos, los elementos están presentes en todas las especies del grupo analizadas, lo que parece indicar que su existencia es anterior a la divergencia del grupo, 2) la distribución de los elementos puede explicarse, en términos generales, por transmisión vertical, y 3) dentro de una misma especie coexisten subfamilias de los distintos elementos lo que podría ser explicado como vestigios de polimorfismos ancestrales. En los elementos *P* parecen evidentes varios sucesos de transferencia horizontal.

## **Aplicación de las técnicas de genética molecular al estudio de insectos de interés agronómico**

M. D. Ochando, C. Callejas, A. Reyes, D. Segura, M. P. Fernández, P. Roda y O. Fernández.

*Dpto. de Genética, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense*

El estudio de los insectos que constituyen plagas en la agricultura ha sido, tradicionalmente, un campo de los entomólogos aplicados, en el que no se han implicado los genéticos. Así, el conocimiento sobre la estructura genético poblacional de esas especies, es muy escaso.

Pero la evolución de resistencia a los pesticidas, junto con el incremento del interés social sobre los problemas ambientales, y los relacionados con la salud, ha estimulado una tendencia hacia el control de las plagas mediante sistemas biológicos integrados y ecológicamente respetuosos. Tales sistemas dependen, en primer lugar, de una comprensión profunda de las interacciones biológicas, y básico para ello resulta el conocimiento de la variación genética intra e interpoblacional de las especies de nuestro interés.

Por otro lado, la revolución en la biología molecular en las dos últimas décadas, nos ha proporcionado un amplio número de técnicas, relativamente sencillas, que nos permiten nuevas y precisas formas de analizar la variación genética.

Así, teniendo en cuenta las anteriores consideraciones, nuestro grupo comenzó, hace pocos años, a trabajar con dos Dípteros de gran interés agro-económico en nuestro país: *Ceratitis capitata* y *Dacus -Bactrocera- oleae*. La primera de estas especies constituye una plaga generalista que ataca fundamentalmente a frutos de hueso, y la segunda, estrictamente monófaga, ataca a la aceituna.

Presentaremos parte de nuestros primeros resultados, estudiando la variabilidad genética de poblaciones geográficas y/o hospedador, de las mencionadas especies, y aplicando diversas metodologías: electroforesis aloenzimática, proteínas solubles totales, fragmentos de restricción (RFLP) del ADN mitocondrial, y amplificación al azar de ADN genómico mediante la reacción en cadena de la polimerasa (RAPD-PCR).

# Genética de la especiación: letalidad híbrida en el género *Nasonia*

F. Perfectti

*Departamento de Genética. Universidad de Granada. 18071 Granada*

Los mecanismos e interacciones genéticas que sustentan el proceso de aparición de nuevas especies constituyen uno de las cuestiones abiertas más interesantes en biología evolutiva. Una de las claves en los procesos de especiación es el desarrollo de impedimentos al flujo génico entre poblaciones, tanto barreras precigóticas como postcigóticas.

Este estudio aborda el análisis de las interacciones entre genes implicados en el aislamiento reproductivo entre dos especies del género de avispas parásitas *Nasonia*. Mediante sucesivos retrocruzamientos se han introducido diversos caracteres de *N. giraulti* en un background genómico de *N. vitripennis*. Se han seleccionado familias donde en la progenie de hembras heterocigóticas aparecía distorsión en las proporciones mendelianas esperadas, consiguiendo así aislar los genes productores de la distorsión (genes de una especie) en el background genético de la otra especie. Estas líneas presentan una región alrededor del marcador que es *giraulti* en un genoma que es *vitripennis*. La región situada en torno al marcador *or123* hace que la descendencia de hembras vírgenes heterocigóticas  $or123_{vitripennis} / or123^+_{giraulti}$  muestre una severa distorsión en las proporciones mendelianas esperadas para ambos alelos del marcador *or123*. De esta forma, la interacción entre  $HL-A_{giraulti}$  y  $HL-B_{vitripennis}$  produciría la mortalidad de los machos haploides producidos por una hembra virgen heterocigótica. Este modelo es similar al planteado por el modelo de especiación de dos genes de Dobzhansky (1936) y Muller (1939) y revisado por Orr (1995).

Cuando se ha intentado obtener líneas puras a partir de las líneas de introgresión, las hembras homocigotas (putativamente homocigotas para los genes  $HL-A_g$  y  $HL-B_g$ ) no parasitaban los hospedadores suministrados y no producían descendencia. En experimentos de selección de hospedador, se ha observado que las hembras homocigotas muestran menor viabilidad y mayor especificidad por el hospedador que las hembras heterocigotas. La presencia de genes de *N. giraulti* en el background genético de *N. vitripennis* parece afectar la *fitness* de los híbridos, no sólo descendiendo su viabilidad sino también a través de mecanismos más sutiles como la selección de hospedador, que limita el rango de distribución de la especie.



## **Estimadores de selección sexual y aislamiento sexual en caracteres polimórficos: una nueva propuesta**

E. Rolán-Alvarez

*Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de Vigo*

La selección sexual y el aislamiento sexual son procesos relacionados que pueden compartir las causas que los producen, aunque presentan diferentes consecuencias evolutivas. Tradicionalmente se ha utilizado el estimador de productos cruzados ( $W$ ) para medir la selección sexual, y una gran variedad de índices para medir el aislamiento sexual (Yule  $V$ , Yule  $Q$ ,  $YA$  o el Joint  $I$ , etc.). Sin embargo, como ambos tipos de estimadores utilizan diferentes estrategias y escalas de medición, no es fácil comparar en un mismo estudio los efectos de selección sexual y aislamiento sexual. En este trabajo se describen 3 nuevos estadísticos relacionados que permiten medir, con caracteres polimórficos, tanto la selección sexual (PSS) como el aislamiento sexual (PSI), ó ambos efectos de forma combinada (PTI), para cada tipo de pareja existente en una población determinada. Estos nuevos estadísticos presentan la información de forma detallada para cada combinación de cópula, midiendo la selección sexual y el aislamiento sexual en las mismas unidades, y permitiendo detectar la asimetría en el aislamiento sexual. Se describe un test estadístico mediante bootstrapping, y se aplica a datos publicados, y así mismo se investiga la capacidad de los nuevos estadísticos de inferir las causas biológicas que pueden producir tanto la selección sexual como el aislamiento sexual. El estadístico PSS es una descomposición aditiva de  $W$ , y por lo tanto representa una ventaja respecto al anterior al aportar información para cada tipo de pareja. Finalmente, se compara indirectamente PSI respecto a otras alternativas conocidas (utilizando estimadores clásicos sobre los datos brutos o sobre PSI), estudiando tanto las propiedades asintóticas como las muestrales. El sesgo, la eficiencia, la consistencia, y el sesgo muestral de las varianzas paramétricas se utilizan como criterios para elegir la mejor alternativa. La utilización de los estadísticos PSI para obtener una medida general del aislamiento mejora el comportamiento de la mayoría de los estadísticos, y en concreto el estadístico Joint  $I$  sobre los PSI resulta ser la mejor alternativa disponible bajo una gran variedad de circunstancias.

# Investigación del origen de las reordenaciones cromosómicas mediante cartografía física comparada y aterrizaje cromosómico

A. Ruiz, M. Cáceres, J. M. Ranz, J. González, F. Casals y A. Barbadilla

*Departament de Genètica i Microbiologia, UAB. Bellaterra*

El origen de las reordenaciones cromosómicas naturales es aún oscuro. Los elementos transponibles pueden inducir inversiones en cepas de laboratorio de *Drosophila*, pero su papel como causantes de las inversiones naturales no ha sido demostrado inequívocamente. En el complejo *buzzatii* del grupo *repleta* se han descrito 86 inversiones paracéntricas, polimórficas o fijadas, la mayoría de ellas en el cromosoma 2 (homólogo al 3R de *D. melanogaster*, elemento de Muller E). Algunas bandas de este cromosoma muestran una acumulación significativa de puntos de rotura (*hotspots*) que sugiere una mutación recurrente. Nuestro grupo está interesado en la caracterización molecular de los puntos de rotura de las inversiones naturales presentes en el complejo *buzzatii* y la explicación de los *hotspots*. Para lograr este objetivo estamos utilizando la cartografía comparada. Mediante la hibridación *in situ* con sondas del cromosoma 3R de *D. melanogaster* hemos tratado de conseguir un mapa del cromosoma 2 de *D. repleta* y *D. buzzatii* lo suficientemente denso como para poner al alcance de la caracterización molecular cualquier región del cromosoma que se desee (aterrizaje cromosómico). Así, hemos llevado a cabo un análisis cartográfico detallado de la región 95A-96A de *D. melanogaster* que contiene el segmento *Acr96Aa-Pp1-96A*. Este segmento está presumiblemente conservado en el grupo *repleta* y contiene el punto de rotura proximal de la inversión *2j*, polimórfica y ampliamente distribuida en las poblaciones naturales de *D. buzzatii*. Este análisis ha confirmado la conservación de este segmento y nos ha permitido localizar el punto de rotura proximal de la inversión *2j* con la suficiente precisión como para permitir su clonación. Se ha clonado también el punto de rotura distal y ambos han sido secuenciados por completo en una línea *2st* y en una línea *2j*. El cromosoma *2j* posee en ambos puntos de rotura inserciones de gran tamaño (0,4 y 4,4 kb) que no están presentes en el cromosoma *2st*. Estas inserciones, que tienen una estructura compleja y numerosas repeticiones, representan probablemente copias defectivas de un elemento transponible nuevo. Mediante Southern, PCR y secuenciación parcial se ha confirmado la presencia de las inserciones en todos los cromosomas *2j* aunque existe una cierta variación en su estructura. La aparición de la inversión *2j* puede explicarse así por recombinación ectópica entre las dos copias del elemento.

# **Determinación sexual en Ciáridos: Un modelo para el control de la eliminación del cromosoma X**

L. Sánchez<sup>1</sup> y A. L. P. Perondini<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Centro de Investigaciones Biológicas*

<sup>2</sup>*Departamento de Biologia, Instituto de Biociencias, Universidad de Sao Paulo, Brasil*

En los Ciáridos, al igual que en *Drosophila*, la determinación sexual está determinada por la razón del número de cromosomas X a grupos autosómicos (señal X:A). En *Drosophila*, esta señal es consecuencia directa de la constitución cromosómica de los gametos: los oocitos son X;A y los espermatozoides son X;A ó Y;A. En el caso de los Ciáridos, los oocitos son X;A y los espermatozoides son 2X;A (los dos cromosomas X son cromátidas hermanas). Consecuentemente, los embriones de los Ciáridos inician el desarrollo con la constitución cromosómica 3X;2A. Cuando los núcleos cigóticos alcanzan la corteza del huevo, uno de los dos cromosomas X de origen paterno es eliminado en las células somáticas de los embriones destinados a ser hembras (2X;2A); mientras que en los embriones destinados a ser machos (X0;A), se eliminan los dos cromosomas X de origen paterno. Por lo tanto, en la formación de la señal X:A en los Ciáridos, existe un proceso de impronta genómica que determina que el cromosoma X que va a ser eliminado sea de origen paterno.

Se propone un modelo para el control de la eliminación del cromosoma X en los Ciáridos. Se supone la existencia de un factor cromosómico (CF) que interaccionaría con el cromosoma X causando su eliminación. El número de cromosomas X que se eliminan estaría controlado por un factor materno (MF), el cual interaccionaría con el factor CF regulando la cantidad de este factor que queda libre para interaccionar con el cromosoma X. La impronta genómica, determinando que el cromosoma X que se elimina sea de origen paterno, se referiría a la incapacidad del cromosoma X materno para interaccionar con el factor CF.

Este trabajo ha sido financiado con fondos de los proyectos UE95.0035 de la D.G.I.C.Y.T y del proyecto de la Unión Europea CII\*-CT 94-0071 BR.

# Dinámica evolutiva de poblaciones naturales de especies del grupo *obscura* de *Drosophila*

Ll. Serra, F. Mestres, J. Balanyà, M. Pascual y E. Solé

*Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona*

Las consecuencias genéticas y evolutivas de la colonización de América por *D.subobscura*, las cuales hemos estudiado durante algunos años, han planteado nuevos problemas y han sugerido posibles vías de análisis de cuestiones evolutivas de interés general. Se presentan los resultados obtenidos al estudiar tres de estas cuestiones.

*D.subobscura*, al colonizar Norteamérica, se ha puesto en contacto con otras especies del mismo grupo. Estas especies cuyas hembras son morfológicamente indistinguibles entre si y con las que ahora se encuentra en simpatria, pueden tener un papel importante en la colonización. Se han encontrado marcadores que permiten clasificar las especies neárticas del grupo *obscura* que presentan áreas de distribución solapadas con *D.subobscura*. La técnica de los RAPDs ha sido la que ha generado, globalmente, mejores resultados. Se han obtenido bandas diagnóstico para *D.pseudoobscura*, *D.persimilis*, *D.miranda*, *D.azteca* y *D.athabasca*. La variación intraspecífica es muy elevada siendo, según los oligonucleótidos utilizados, mayor que la variación interespecífica.

El polimorfismo cromosómico para inversiones de *D.subobscura* ha sido muy estudiado tanto en poblaciones paleárticas como colonizadoras de Norteamérica y Sudamérica. La existencia de clinas latitudinales para inversiones en las tres áreas geográficas demuestra el carácter adaptativo de las mismas y su posible relación con la temperatura. Basándonos en estas observaciones hemos utilizado las inversiones como marcadores genéticos del efecto del cambio climático global sobre las poblaciones naturales. Para ello, se han estudiado las frecuencias de inversiones en 7 poblaciones del área mediterránea y se han comparado con los datos de frecuencias obtenidos por otros autores en las mismas poblaciones hace más de 15 años.

El análisis de los genes letales en las poblaciones colonizadoras de *D.subobscura* ha demostrado que no se distribuyen al azar a lo largo del cromosoma O. Muchos de ellos están asociados a inversiones cromosómicas. Existe una asociación completa entre un gen letal y la inversión O<sub>5</sub>. A pesar de llevar un gen letal esta inversión es heterótica en América, puesto que presenta clinas latitudinales significativas, se encuentra en frecuencias superiores a las esperadas en experimentos de consanguinidad y en los heterocariotipos segrega en mayor proporción.

## **Caracterización genética de diversas especies autóctonas españolas: Poni vasco-Pottoka, Rasa aragonesa y Perdiz Roja.**

M. T. Tejedor<sup>1</sup>, L. V. Monteagudo<sup>1</sup>, I. Pascual<sup>2</sup>, I. Intxausti<sup>2</sup>, R. Barrao<sup>1</sup>, J. Saz<sup>1</sup> y M. V. Arruga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza*

<sup>2</sup>*Servicio de Ganadería de la Diputación Foral de Bizkaia, Lehendakari Aguirre etorbidea, Bilbao*

El presente equipo ha iniciado recientemente la caracterización genética de una raza autóctona de équidos, el Poni vasco-Pottoka. Se están realizando estudios morfológicos y análisis cariotípicos, de polimorfismos protéicos sanguíneos y moleculares. Los objetivos del trabajo son ayudar al establecimiento de un estándar racial, detectar la posible presencia de anomalías cromosómicas que pudieran afectar a la fertilidad y conocer la variabilidad genética de la población, a fin de establecer su nivel de consanguinidad y sus relaciones evolutivas con otras razas equinas y de implantar adecuados sistemas de control de parentesco. Estos estudios están financiados por la Diputación Foral de Vizcaya.

Con financiación de la Diputación General de Aragón, continúan los trabajos de este equipo en la raza ovina Rasa Aragonesa, autóctona de Aragón y segunda raza ovina española en número de cabezas, después de la raza Merina. Se está realizando un análisis cariotípico sistemático de los reproductores candidatos a la selección, con lo que se asegura que no son portadores de anomalías cromosómicas. Además, se están poniendo a punto las técnicas de estudio de los microsatélites, a fin de identificar los reproductores de forma inequívoca, lo que permite un adecuado control de parentesco, básico en un esquema de mejora por selección.

La perdiz roja, la reina de la caza menor en España, también es una especie autóctona de nuestro país. Hasta ahora, y con el apoyo de la federación Española de Caza, este equipo ha llevado a cabo estudios morfológicos, cariotípicos y de variabilidad genética (polimorfismos enzimáticos, minisatélites y microsatélites de DNA). Se han analizado aves procedentes de 10 poblaciones silvestres y de tres granjas donde se les cría en cautividad para la reprobación. Se ha estudiado la variabilidad de estas poblaciones y las posibles diferencias entre ellas. En el caso de las granjas, se ha puesto especial interés en la estimación de la consanguinidad y en el análisis de las posibles diferencias genéticas con respecto a la población de silvestre. Se sigue trabajando en sistemas que permitan la diferenciación entre la perdiz roja (*Alectoris rufa*) y la perdiz griega (*Alectoris graeca*) para identificar posibles híbridos.

## **Desequilibrio gamético entre loci microsatélites del brazo corto del cromosoma 11 humano**

C. Zapata<sup>1</sup>, S. Rodríguez<sup>1</sup>, J. Hermida<sup>1</sup>, F. Sacristán<sup>2</sup>, G. Alvarez<sup>1</sup> y G. Visedo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Universidad de Santiago de Compostela*

<sup>2</sup>*Anatomía Patológica. Centro Médico Povisa. Vigo*

La mayor parte de los estudios experimentales de desequilibrio gamético al nivel del ADN se ha llevado a cabo entre polimorfismos dentro de regiones génicas. En base a estos estudios generalmente se concluye que los desequilibrios sólo se dan frecuentemente entre polimorfismos separados por una distancia física no superior a 2 kb, lo que minusvalora la importancia de la denominada Genética Multilocus. Esta conclusión motivó que los estudios experimentales de desequilibrio entre polimorfismos nucleotídicos distantes en los cromosomas, hayan sido hasta la fecha muy escasos. En este trabajo se ha estudiado el desequilibrio entre un elevado número de loci microsatélites distribuidos a lo largo de las zonas características (telómero, zona intersticial y centrómero) del brazo corto del cromosoma 11 humano (11p). La distancia genética y la distancia física entre los distintos pares de loci es conocida y marcan una región de cromosoma de considerable extensión (la distancia genética total es de 58 cM y la distancia física de 60 Mb). Los genotipos multilocus para los loci microsatélites estudiados se obtuvieron mediante la técnica de la PCR, a partir de un elevado número de muestras de sangre de individuos de población gallega. El análisis de la estructura poblacional no detecta desviaciones de las proporciones genotípicas esperadas bajo Hardy-Weinberg. En consecuencia, las estimas de la intensidad del desequilibrio y su significación para los distintos pares de loci analizados, se pudieron obtener a partir de las frecuencias gaméticas resultantes de aplicar el método de iteración EM. El análisis preliminar de los datos de desequilibrio, entre todos los pares posibles de loci, muestra que los desequilibrios son bastante frecuentes, incluso entre loci separados por una considerable distancia genética y física. Además, se detecta una relación negativa de la intensidad del desequilibrio con la frecuencia de recombinación y la distancia física, lo que será de utilidad para calibrar la importancia del desequilibrio como herramienta para detectar genes causantes de enfermedades en el hombre, al menos para la región cromosómica analizada. Los resultados del presente estudio, junto con los publicados recientemente para otros cromosomas humanos, muestran que los desequilibrios son mucho más frecuentes de lo que se pensaba en regiones extensas de cromosomas y, por lo tanto, la importancia de la Genética Multilocus debería ser reevaluada.



