

# Filogeografía de las poblaciones de alta y baja altitud de la lagartija cantábrica (*Iberolacerta monticola*)

Nuria Remón<sup>1</sup>, Pedro Galán<sup>1</sup> & Horacio Naveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dep. Bioloxía Animal, Bioloxía Vexetal e Ecoloxía. <sup>2</sup>Dep. Bioloxía Celular e Molecular. Facultade de Ciencias. Universidade da Coruña. Campus da Zapateira s/n 15701 A Coruña. Spain. E-mail: nremon@udc.es



## Introducción

*Iberolacerta monticola* es un endemismo del Noroeste de la Península Ibérica, limitado principalmente a zonas elevadas de montaña, aunque posee poblaciones de baja altitud en determinadas zonas costeras de A Coruña. Su distribución se extiende, desde la Serra da Capelada, en el N de Galicia, hasta la Serra da Estrela, en el centro de Portugal, y desde el Monte Pindo, en la costa occidental gallega, hasta la zona más oriental de la Cordillera Cantábrica. Dentro de este rango geográfico, su distribución es discontinua, estando aisladas las poblaciones de baja altitud de A Coruña de las de montaña.

## Material y métodos

### Muestras, extracción de ADN y PCR.

- \* Muestreo no invasivo (1-2 cm de la punta de la cola) de 14 poblaciones (figura 1).
- \* 316 individuos genotipados para 11 *loci* microsatélites (tabla 1).
- \* 142 individuos secuenciados para los marcadores mitocondriales.

### Análisis de datos

- \* Frecuencia de alelos nullos: *Micro-Checker* 2.2.3 (<http://www.microchecker.hull.ac.uk/>)
- \* Variabilidad genética; *FSTAT* 2.9.3.2 (<http://www2.unil.ch/popgen/software/fstst.htm>) número medio de alelos por locus ( $n_A$ ); heterocigosidad esperada ( $h_E$ ); coeficiente de endogamia ( $f_{IS}$ ); en todas las pruebas de significación se aplicó la corrección secuencial de Bonferroni.
- \* Cuello de botella poblacional; *Bottleneck* 1.2.02 (<http://www.ensam.inra.fr/bottleneck/bottleneck.html>)  $M_{P\_val}$  y  $M_{critical}$  (<http://swfsc.noaa.gov/textblock.aspx?Division=FED&id=3298>).
- \* Diferenciación poblacional; *Structure* 2.2 (<http://pritch.bsd.uchicago.edu>).
- \* Análisis factorial de correspondencias: *Genetix* 4.05 (<http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.html>).
- \* Árbol de máxima verosimilitud construido con *PALM* (<http://palm.iis.sinica.edu.tw/>)
- \* Árbol *Neighbor Joining* construido con ayuda del *MEGA* 4.

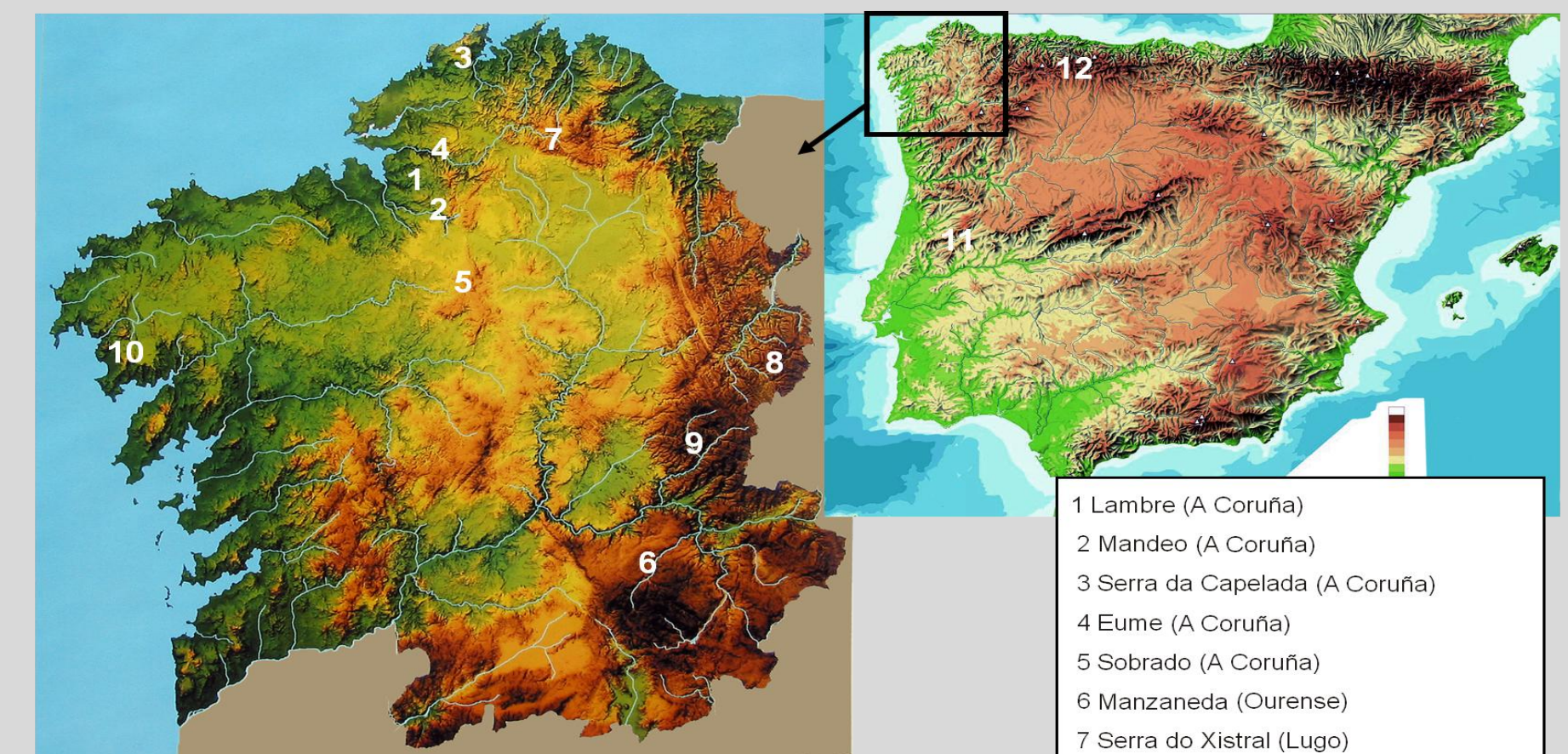


Fig.1 Procedencia geográfica de las muestras de *Iberolacerta monticola* analizadas.

- 1 Lambre (A Coruña)
- 2 Mandeo (A Coruña)
- 3 Serra da Capelada (A Coruña)
- 4 Eume (A Coruña)
- 5 Sobrado (A Coruña)
- 6 Manzaneda (Ourense)
- 7 Serra do Xistral (Lugo)
- 8 Serra dos Ancares (Lugo)
- 9 Incio/Seceda, Serra do Caurel (Lugo)
- 10 Monte Pindo (A Coruña)
- 11 Serra da Estrela (Portugal)
- 12 Cordillera Cantábrica (Asturias)

## Resultados y discusión

✓ Ajustes a equilibrios Hardy-Weinberg y gamético: todas las poblaciones se ajustaron a las hipótesis nulas (apareamiento aleatorio y *loci* no ligados), excepto en la localidad de Seceda (tabla 2), que muestra un defecto altamente significativo de heterocigotos en un *locus*.

✓ Cuellos de Botella: los análisis con el programa *Bottleneck*, no muestran signos de que las poblaciones hayan sufrido reducciones de tamaño recientemente. Sin embargo, el test *M*, detecta en Lambre, Sobrado, Manzaneda, Incio, Pindo y Vegarada, posibles reducciones. Lambre, Manzaneda e Incio, presentan un exceso de heterocigotos, aunque no llega a ser significativo.

✓ Diferenciación genética: el análisis *Structure* con microsatélites detecta, por una parte, diferencias entre todas las poblaciones a excepción de Eume y Capelada y Lambre y Mandeo ( $K=12$ ), por otro lado, hace dos grandes *clusters*,  $K=2$  que coinciden con la agrupación de alta y baja altitud a la que se hace referencia en el título de este poster. Estos 2 *clusters* agrupan: (i) Pindo, Sobrado, Manzaneda, las localidades del Golfo Ártabro (ríos de Lambre, Mandeo, Eume) y  $S^a$  da Capelada, muy próxima a la localidad del Eume; (ii) Xistral, Ancares (Piornedo), Courel (Incio y Seceda) y  $S^a$  da Estrela, y cordillera Cantábrica (Leitariegos y Vegarada). La única incongruencia que puede considerarse significativa se refiere a Manzaneda, una población de montaña que atendiendo a los microsatélites se agrupa con las poblaciones de baja altitud. Y los análisis con ADNmt la asocian estrechamente con la población de Sobrado, Queixa y un haplotipo raro encontrado en Mandeo (ver Fig 3). En todo caso, ambos análisis apuntan hacia un episodio de fragmentación de la distribución de la especie que dejó poblaciones residuales en el Golfo Ártabro y Manzaneda.

✓ El análisis factorial de correspondencias (fig.4), muestra las poblaciones de Pindo, Sobrado y Vegarada como las más diferenciadas. Si observamos el eje 1 (19%), de derecha a izquierda, muestra un claro gradiente de las poblaciones que denominamos de montaña hacia las de baja altitud, siendo estas últimas las más dispersas. El eje 2 (15%), nos muestra las localidades de Pindo y Sobrado como las más diferenciadas de la nube central, en sendos extremos. Y el eje 3 (11%), por último, segrega en sus extremos Serra da Estrela y Vegarada.

Tabla 2. Índices de diversidad genética intrapoblacional y resultados de dos tests para cuellos de botella poblacionales.

$n$  = tamaño de la muestra;  $n_A$  = número medio de alelos por *locus*;  $f_{IS}$  = coeficiente de endogamia (significación);  $h_{HW}$  = heterocigosidad esperada en equilibrio Hardy-Weinberg;  $h_{MD}$  = heterocigosidad esperada en el equilibrio mutacion-deriva, asumiendo un modelo mutacional de dos fases (TPM) (significación);  $M$  = razón entre rango de tamaño y número total de alelos; valores esperados de  $M$  en el equilibrio bajo diferentes escenarios poblacionales ( $M_c = 10$ ,  $M_c = 0.5$  y  $M_{c_{est}}$  = valor estimado de los datos). Los resultados significativos al 5% se muestran en **negrita**.

ID	Population	n	$n_A$	$f_{IS}$ (P)	Bottleneck		$\Theta^*$	M ratio test (TPM)			
					$h_{HW}$	$h_{MD}$ (P)		M (P)	$M_{c_{est}}$	$M_{c_{10}}$	$M_{c_{0.5}}$
1	Lambre	14	4.09	0.120 (0.4331)	0.618	0.587 (0.120)	2.9	<b>0.654</b> (0.011)	0.770	0.691	0.859
2	Mandeo	28	6.09	-0.001 (0.4903)	0.686	0.717 (0.650)	4.6	0.749 (0.075)	0.771	0.738	0.864
3	Capelada	11	5.27	0.095 (0.0338)	0.737	0.721 (0.103)	6.7	0.686 (0.089)	0.702	0.670	0.854
4	Eume	21	7.09	0.082 (0.0081)	0.761	0.773 (0.584)	8.2	0.766 (0.216)	0.730	0.718	0.862
5	Sobrado	41	4.00	0.052 (0.0503)	0.547	0.546 (0.415)	1.9	<b>0.598</b> (0.000)	0.819	0.756	0.866
6	Manzaneda	11	3.73	0.130 (0.0276)	0.605	0.600 (0.319)	2.7	<b>0.624</b> (0.008)	0.768	0.668	0.859
7	Xistral	24	7.00	0.061 (0.0218)	0.743	0.759 (0.289)	7.1	0.742 (0.087)	0.742	0.729	0.862
8	Piornedo	18	9.18	0.072 (0.0107)	0.847	0.841 (0.087)	20.8	0.834 (0.726)	0.660	0.707	0.861
9A	Seceda	18	6.64	<b>0.162</b> (0.0003)	0.735	0.734 (0.584)	6.6	0.729 (0.098)	0.734	0.707	0.861
9B	Incio	16	6.55	0.152 (0.0006)	0.756	0.763 (0.517)	7.9	<b>0.646</b> (0.005)	0.715	0.702	0.862
10	Pindo	43	5.55	-0.012 (0.6711)	0.637	0.576 (0.051)	3.3	<b>0.720</b> (0.009)	0.794	0.757	0.868
11	$S^a$ Estrela	19	7.18	0.008 (0.4484)	0.733	0.798 (0.348)	6.5	0.866 (0.878)	0.735	0.715	0.863
12B	Leitariegos	37	7.18	0.000 (0.5253)	0.784	0.770 (0.160)	10.3	0.794 (0.198)	0.750	0.751	0.864
12D	Vegarada	15	5.00	0.067 (0.0032)	0.655	0.672 (0.618)	3.7	<b>0.642</b> (0.005)	0.762	0.694	0.861

Fig 2. Resultados de los análisis de agrupamiento genético usando *Structure*.

Las poblaciones se indican debajo del gráfico. Los colores se corresponden a los diferentes *clusters* genéticos estimados por el análisis. Cada individuo tiene una probabilidad de ser asignado a un *cluster* proporcional al/los color/es de su barra. Cuanto más uniforme sea la barra, más probable será que el individuo pertenezca a ese *cluster*. El valor de la función de verosimilitud para  $K=2$  y  $K=12$  *clusters* se muestra a la derecha de la gráfica.

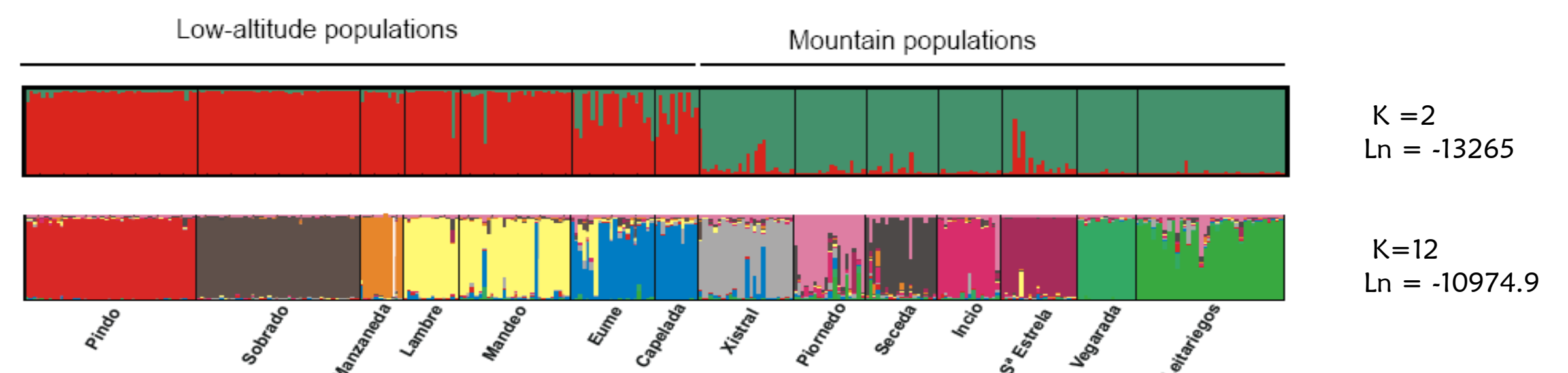


Fig 3. A) Árbol NJ empleando 1052 nt de dos segmentos mitocondriales (CR y *cytb*). Los valores de confianza *bootstrap* >65% se muestran sobre las ramas para ML y bajo ellas para NJ. B) Árbol consenso de Máxima Parsimonia al 60%.

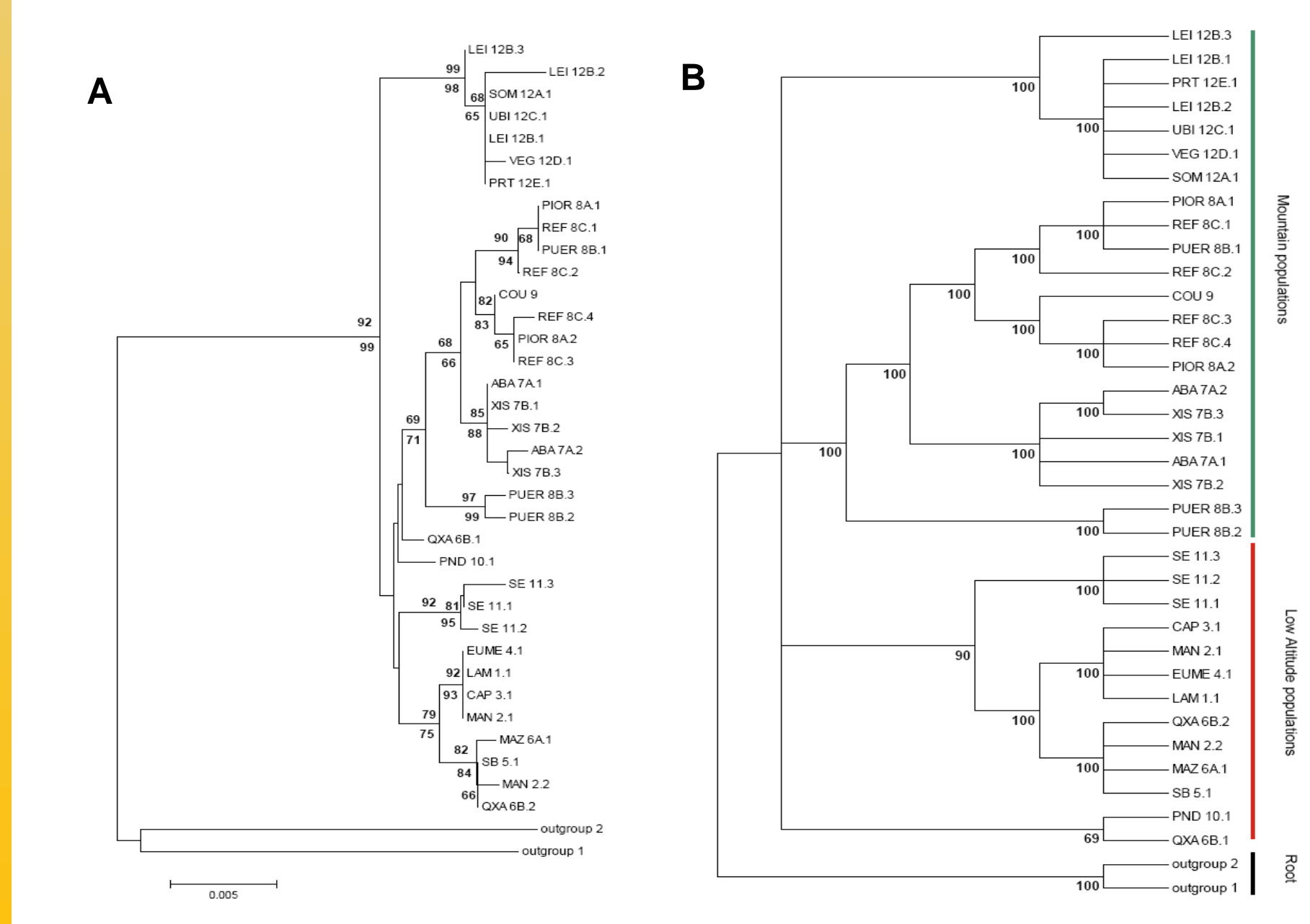
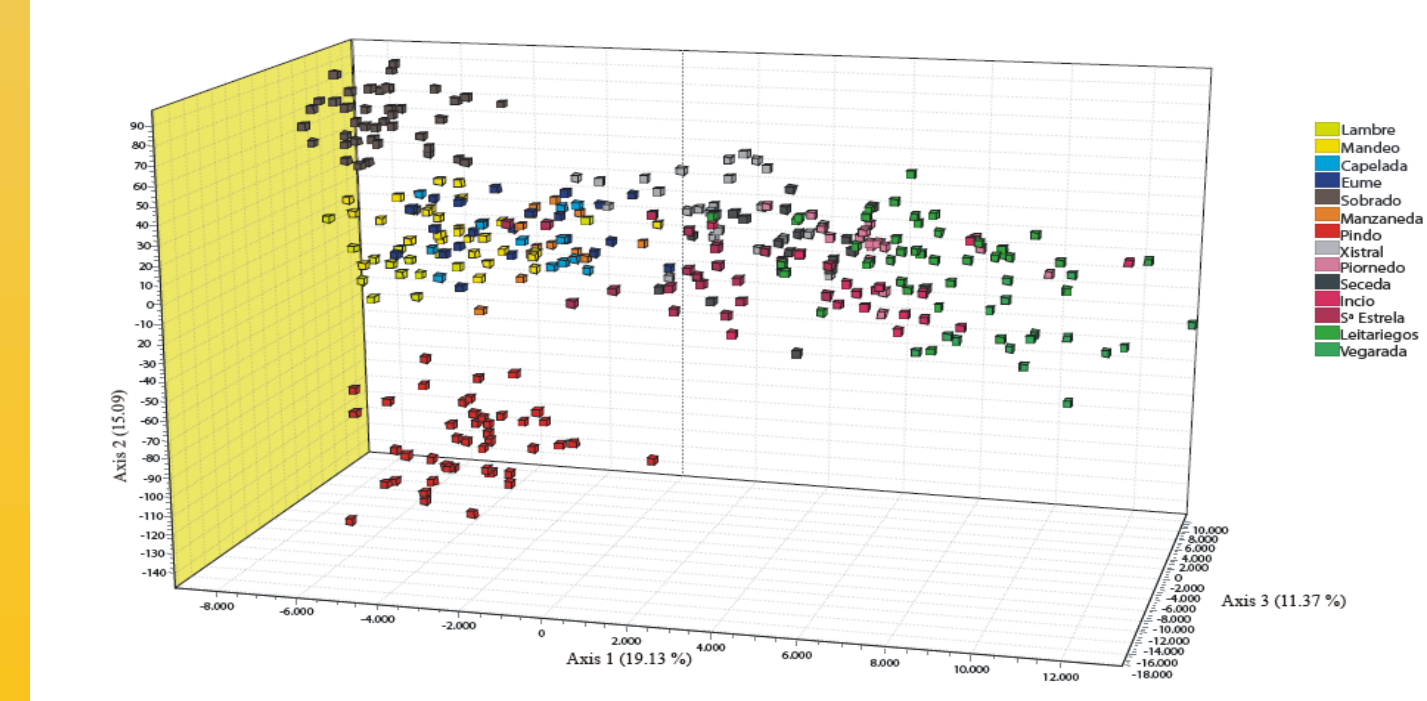


Fig 4. Representación tridimensional del análisis factorial de correspondencias, basado en los genotipos de 11 *loci* microsatélites.



### Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto PGIDIT06RFOI030 de la Consellería de Innovación, Industria e Comercio da Xunta de Galicia. Nuestro agradecimiento a M.Vila y N.Mari, por su apoyo y a R.Ferreiro por colaborar con los trabajos de campo.