

Diversidad filogenética como método de utilidad en programas de conservación de recursos genéticos ganaderos

F. Goyache*, J.L. Carús*, I. Álvarez*, J.P. Gutiérrez**, I. Fernández*, L.J. Royo*

* Área de Genética y reproducción Animal. SERIDA-Somío, C/ Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias), España. E-mail: fgoyache@serida.org; **Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, E-28040-Madrid, Spain.

Resumen

El objetivo de esta nota es revisar las características de la metodología de cuantificación de la diversidad conocida como diversidad filogenética (PD), para evaluar su utilización en programas de conservación de recursos genéticos animales. El parámetro PD es uno de los más utilizados en estudios ecológicos pero no se ha utilizado en ganadería. Se ha comparado el rendimiento del método PD con el método filogenético de Weitzman y se ha aplicado a un conjunto de datos consistente en 398 individuos de 11 razas ovinas españolas genotipados para una batería de 14 marcadores microsatélite. Los resultados del método de Weitzman y el método PD tienden a ser similares en los extremos de la ordenación de las razas a efectos de su importancia en la conservación. Sin embargo, el método PD es más sencillo y rápido de calcular, permitiendo su uso rutinario a nivel individual y, además, no asume, al contrario del método de Weitzman, que las distancias deban ser ultramétricas. La utilización del parámetro PD en programas de conservación puede ser ventajosa respecto del método de Weitzman.

Palabras clave: Diversidad, Conservación, Recursos Genéticos, Filogenia, Distancia

Summary

Phylogenetic diversity as a tool in conservation of animal genetic resources

The aim of this note is to overview the characteristics of the Phylogenetic Diversity (PD) method in order to quantify genetic diversity in animal genetic resources conservation programs. The PD method performance has been compared with that of the Weitzman approach on a dataset consisting in 398 individuals belonging to 11 Spanish sheep breeds that were genotyped for a set of 14 microsatellites. Results from the PD and the Weitzman methods are similar. However, the PD method is less computing intensive thus allowing for its use at individual level. Moreover the PD does not need the assumption of ultrametricity of the distances. The use of the PD method in livestock conservation programs can be advantageous with respect the Weitzman approach.

Key words: Diversity, Conservation, Genetic resources, Phylogeny, Distance

Introducción

La conservación de las razas de ganado en peligro ha experimentado un notable impulso desde la década de los 90 del siglo pasado. De las aproximadamente 4500 razas de unas 40 especies ganaderas existentes en el mundo, más de un 30% se encuentran en peligro de extinción (Barker, 1999). Sin embargo, la limitación de los recursos disponibles induce a concentrar los esfuerzos de conservación. Es por ello que la de la diversidad genética que se pierde con una raza de ganado tiene importancia en la planificación de la conservación de recursos genéticos animales (Barker, 1999; Ruane, 1999).

Durante la década de los 90 se ha propuesto la utilización de un número importante de métodos filogenéticos para evaluar la diversidad y establecer prioridades de conservación (Krajewski 1994). Estos métodos se basan en la asunción de que la extinción de un taxón produce una pérdida de diversidad inversamente proporcional a la "cercañía" de los taxones supervivientes con el extinto. Aunque los métodos filogenéticos basados en distancias genéticas ignoran la diversidad intra-poblacional (Krajewsky, 1994; Caballero y Toro, 2002) el propuesto por Weitzman (1992) se ha utilizado ampliamente en producción animal (ver Ollivier y Foulley, 2005) tras su primera aplicación en el contexto ganadero realizada por Thaon d'Arnoldi et al. (1998). Sin embargo, el método de Weitzman es de naturaleza recursiva y exige gran esfuerzo de cálculo. Un método más simple sin las limitaciones computacionales del propuesto por Weitzman podría ser ventajoso.

De los métodos filogenéticos disponibles para la evaluación de diversidad el denominado "Diversidad Filogenética" (PD; Faith 1992, 1993, 1994) es el más relevante en estudios ecológicos junto con el denomina-

do "Diversidad Genética" (GD; Crozier, 1992; Crozier y Kusmierski, 1994). Ambos métodos son análogos para la mayor parte de supuestos prácticos (Crozier, 1997). Sin embargo, el método PD no se ha utilizado en conservación de recursos genéticos animales. El objetivo de este trabajo es revisar el potencial del método PD respecto del método Weitzman como herramienta en diversidad ganadera. Utilizaremos como ejemplo un conjunto de razas de ovejas españolas.

Material y métodos

Se han genotipado 398 individuos de 11 razas ovinas españolas (Assaf-E, Castellana, Castellana Negra, Churra, Latxa Cara Negra, Latxa Cara Rubia, Merino, Ojalada, Segureña, Rubia del Molar y Xalda) con una batería de 14 marcadores de tipo microsatélite descrita previamente por Álvarez et al. (2004, 2005). A partir de los genotipos individuales se calculó la matriz de distancias de mínima de Nei entre pares de razas e individuos utilizando el programa MolKin v2.0 (Gutiérrez et al., 2005) tal como se provee en la dirección <http://www.ucm.es/info/prodanim/Molkin2.zip>. A efectos descriptivos se calcularon también las heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_e)

El parámetro PD (Faith 1992, 1993, 1994) se define como la suma de las longitudes de los brazos en una filogenia y se calcula,

simplemente, como $PD = \sum_{k=1}^{2n-3} d_k$ donde

n es el número de taxones y d_k es la longitud de la rama k en el árbol. El valor PD para un conjunto de taxones Q (PD_Q) se puede calcular a partir de una matriz de distancias considerando que la distancia entre los taxones i y j , d_{ij} , es la suma de las longi-

tudes de las ramas por el camino más corto entre ellos. La mínima ganancia producida al añadir un taxón k para todo i, j en Q es $PD_{Qk} = 0.5[d(k,i) + d(k,j) - d(i,j)] = d(k, Qk)$ lo que se conoce como *contenido informativo* (I_k). Asimismo, $PD_{Qk} = PD_Q - PD_{Q/k}$ donde Qk es el conjunto de taxones Q formado sin la presencia de k . El indicador del valor (IV) del taxón k es $IV_k = I_k/PD_Q = d(k, Qk)/PD_Q$.

Los resultados obtenidos mediante el método PD se compararán con los obtenidos mediante el método de Weitzman (1992) cuya descripción pormenorizada en el ámbito ganadero se encuentra en Thacon d'Arnoldi et al. (1998). La medida de diversidad de Weitzman (V) para un conjunto de taxones S , $V(S)$, tras añadir un taxón j a S sería $V(S) = d(j, S-j) + V(S-j)$, donde $S-j$ es el conjunto S menos j y $d(j, S-j)$ es la distancia entre j y $S-j$. $V(S)$ se calcula, finalmente, como $V(S) = \text{máximo, para todo } i, \text{ de } \{V(S-i) + d(i, S-i)\}$. La pérdida relativa de diversidad por la eliminación de k del conjunto de taxones estudiado es $V_k = V(S/k)/V(S)$ donde $V(S)$ es la diversidad de todo el conjunto completo y $V(S/k)$ es la diversidad del conjunto una vez excluido k . Estos cálculos se realizaron mediante el programa WEITZPRO (Derban et al., 2002) tal como se encuentra en la página de Internet <http://www.sgqa.jouy.inra.fr/diffusions.htm>.

Se construyeron árboles filogenéticos utilizando el programa MEGA 3.1 (Kumar et al., 2004).

Resultados y discusión

En la tabla 1 se muestran los principales resultados obtenidos en el presente análisis. La raza Castellana presenta los mayores valores de heterocigosis observada y esperada (0,714 y 0,834, respectivamente, que en el total de la población alcanzan valores de 0,652 y 0,755. La menores heterocigosis espe-

radas se encuentran en las razas Assaf-E y Rubia del Molar (0,668 y 0,673, respectivamente). Tanto el análisis de Weitzman como el realizado mediante el parámetro PD mostraron que la mayor pérdida de diversidad se produjo al eliminar del conjunto de razas ovinas analizadas las razas Assaf-E y Rubia del Molar (84,38 y 84,51 para Assaf-E y 85,64 y 90,30 para Rubia del Molar, respectivamente) mientras que las menores pérdidas de diversidad se producía al eliminar las razas Latxa Cara Rubia y Merino. Los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman calculados entre V_k y IV_k son muy significativos y de valores de 0,96 y 0,95.

El buen comportamiento computacional del parámetro PD permite calcular la diversidad existente no solo a partir de la matriz de distancias entre razas sino a partir de las distancias entre individuos. Con un procesador Pentium IV a 3 GHz el cálculo de la PD total sobre la matriz de las distancias mínimas de Nei calculadas entre los 398 individuos genotipados duró 0,187 segundos. El cálculo de la pérdida de diversidad para cada individuo necesitó 79,69 segundos. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos cuando se eliminaron todos los individuos de una misma raza (IV_i). Los resultados están lógicamente influidos por el diferente número de animales genotipados por raza. Las mayores pérdidas de diversidad se producirían al eliminar los 72 individuos de la raza Xalda seguidos de la Castellana y Assaf-E. Los valores de IV_i no presentaron correlación significativa alguna con los de V_k e IV_k .

Como señaló Krajewski (1994) los métodos filogenéticos de cuantificación de la diversidad tienden a seleccionar los mismos conjuntos de taxones en los extremos de la distribución variando en la ordenación intermedia. En este sentido, muchos de los resultados que pueden obtenerse utilizando el método de Weitzman o el parámetro

PD pueden resultar equivalentes. Sin embargo hay razones que permiten aconsejar la utilización de PD.

La definición de distancias utilizada por el método de Weitzman (1992) descansa en la asunción de que la tasa de evolución es constante para todas las ramas de la filogenia, esto es, son distancias ultramétricas (Thaon d'arnoldi *et al.*, 1998). Sin embargo, PD no realiza esta asunción y permite afrontar casos más generales (Faith, 1994). La diferencia de concepto puede apreciarse en la figura 1 que muestra la topología del árbol construido a partir del método de Weitzman y la filogenia "real" obtenida mediante la aplicación del algoritmo del vecino más próximo.

Por otra parte, el cálculo de PD no cumple exactamente con uno de los criterios que cumple el método de Weitzman: el de continuidad en la distancia, de tal manera que un pequeño cambio en los valores de dis-

tancia no debería resultar en grandes cambios en el valor de la diversidad. El parámetro PD se basa fundamentalmente en el principio de complementariedad (Faith, 1994) y puede darse el caso de que un taxón con una distancia no despreciable a su vecino más próximo tenga un aportación a la diversidad del conjunto cercana a cero (Faith, 1994).

Por supuesto, la mayor crítica que se puede realizar a los métodos filogenéticos de cuantificación de la diversidad, que es la de no tener en cuenta la diversidad intrapoblacional (Krajewski, 1994; Caballero y Toro, 2002) no queda resuelta con la utilización de PD. Sin embargo su sencillez computacional permite afrontar su cálculo a cualquier nivel (individuo, raza, grupo de raza) permitiendo un mejor conocimiento de la diversidad existente en el conjunto de datos estudiado.

Tabla 1. Número de individuos genotipados (N), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_e), diversidad marginal de Weitzman (V_k), contenido informativo de cada raza basado en el parámetro PD (IV_k) y contenido informativo de los individuos de cada raza (IV_i) en porcentaje por cada raza

Table 1. Number of genotyped individuals (N), observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity, Weitzman's marginal diversity (V_k), informative content based on the parameter PD (IV_k) and information content of the individuals of a breed (IV_i)

Raza	N	H_o	H_e	V_k (%)	IV_k (%)	IV_i (%)
Assaf-E	42	0,637	0,668	84,38	84,51	89,94
Castellana	39	0,714	0,834	93,2	96,55	89,61
Castellana Negra	30	0,645	0,759	91,41	94,72	93,79
Churra	36	0,660	0,758	89,44	91,95	91,16
Latxa Cara Negra	34	0,595	0,708	91,44	95,46	93,06
Latxa Cara Rubia	33	0,660	0,740	95,61	98,09	93,10
Merino	31	0,643	0,780	94,6	98,59	92,41
Ojalada	30	0,676	0,743	85,17	86,62	93,59
Segureña	17	0,702	0,771	92,08	94,08	93,96
Rubia del Molar	34	0,596	0,673	85,64	90,30	95,50
Xalda	72	0,644	0,776	94,03	96,10	83,29
TOTAL	398	0,652	0,755			

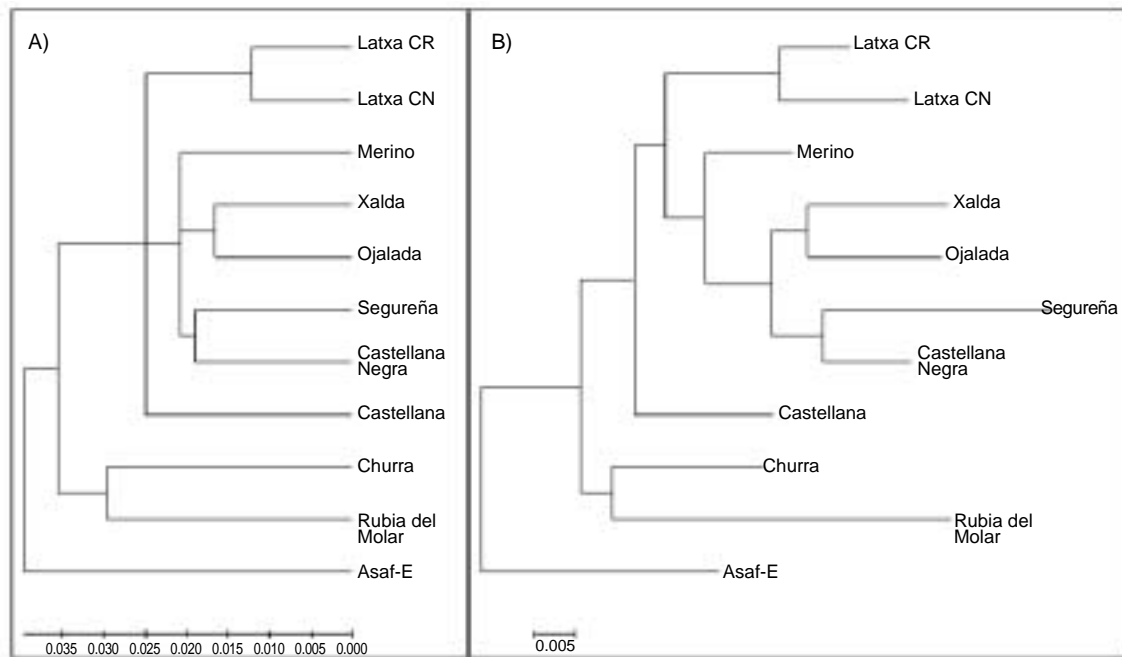


Figura 1. Árboles filogenéticos construidos a partir de la matriz de distancias mínimas de Nei en 11 razas ovinas españolas mediante: a) el método de Weitzman; y b) el método del vecino más próximo.
 Figure 1. Phylogenetic trees constructed from the between sheep breeds Nei's minimum distance using: a) the topology obtained using the Weitzman approach; and b) the neighbour-joining algorithm.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado parcialmente mediante el proyecto INIA RZ2004-00007-C02. La estancia de Juan Luis Carús en el Área de Genética y Reproducción Animal del SERIDA amparada en un Convenio de Colaboración suscrito entre la Universidad de Oviedo (Escuela de Ingenieros Técnicos de Telecomunicaciones) y el SERIDA.

Bibliografía

Álvarez I, Royo LJ, Fernández I, Gutiérrez JP, Gómez E, Goyache F, 2004. Genetic relationships and admixture between six Northern Spain sheep breeds assessed through microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82: 2246-2252.

Álvarez I, Gutiérrez JP, Royo LJ, Fernández I, Gómez E, Arranz JJ, Goyache F, 2005. Testing the usefulness of the molecular coancestry information to assess genetic relationships in livestock using a set of Spanish sheep breeds. *J. Anim. Sci.* 83: 737-744.

Barker JSF, 1999. Conservation of livestock breed diversity. *AGRI* 25: 33-43.

Caballero A, Toro MA, 2002. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conserv. Genet.* 3: 289-299.

Crozier RH, 1992. Genetic diversity and the agony of choice. *Biol. Conserv.* 61: 11-15.

Crozier RH, Kusmierski RM, 1994. Genetic distances and the setting of conservation priorities. In Loeschcke V, Tomiuk J, Jain SK, eds. 1994. *Conserv. Genet.* Basel: Birkhäuser Verlag, pp. 227-37.

- Crozier RH, 1997. Preserving the information content of species: genetic diversity, phylogeny and conservation worth. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28: 243-268.
- Derban S, Foulley JL, Ollivier L, 2002. WEITZPRO: a software for analysing genetic diversity. INRA, Paris.
- Faith DP, 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biol. Conserv.* 61: 1-10.
- Faith DP, 1993. Biodiversity and systematics: the use and misuse of divergence information in assessing taxonomic diversity. *Pac. Conserv. Biol.* 1: 53-57
- Faith DP, 1994. Genetic diversity and taxonomic priorities for conservation. *Biol. Conserv.* 68: 69-74
- Gutiérrez JP, Royo LJ, Álvarez I, Goyache F, 2005a. MolKin v2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *J. Hered.* 96: 718-721.
- Krajewski C, 1994. Phylogenetic measures of biodiversity : a comparison and critique. *Biol. Conserv.* 69: 33-39.
- Kumar S, Tamura K, Nei M, 2004. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163.
- Ollivier L, Foulley J-L, 2005. Aggregate diversity: New approach combining within- and between-breed genetic diversity. *Livest. Prod. Sci.* 95: 247-254.
- Ruane J, 1999. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources, *J. Anim. Breed. Genet.* 116: 317-323.
- Thaon d'Arnoldi C, Foulley J-L, Ollivier L, 1998. An overview of the Weitzman approach to diversity, *Gen. Sel. Evol.* 30: 149-161.
- Weitzman ML. 1992. On diversity, *Quart. J. Econ.* 107: 363-405.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)