

# Estrutura genética de populações de plantas: o uso de ferramentas genéticas em estudos de ecologia de populações

---


- Milene Silvestrini (UNICAMP)
- Talita Soares Reis (UNICAMP)

**NT238 - Ecologia de Populações de Plantas**

IB - UNICAMP

Professor responsável: Flavio Antonio Maës dos Santos

# Estrutura da aula:

Parte 1	Conceitos e ferramentas em genética de populações
Intervalo	
Parte 2	<ul style="list-style-type: none"><li>- Fatores ecológicos na estrutura genética de populações de plantas</li><li>- Aplicações práticas</li></ul>

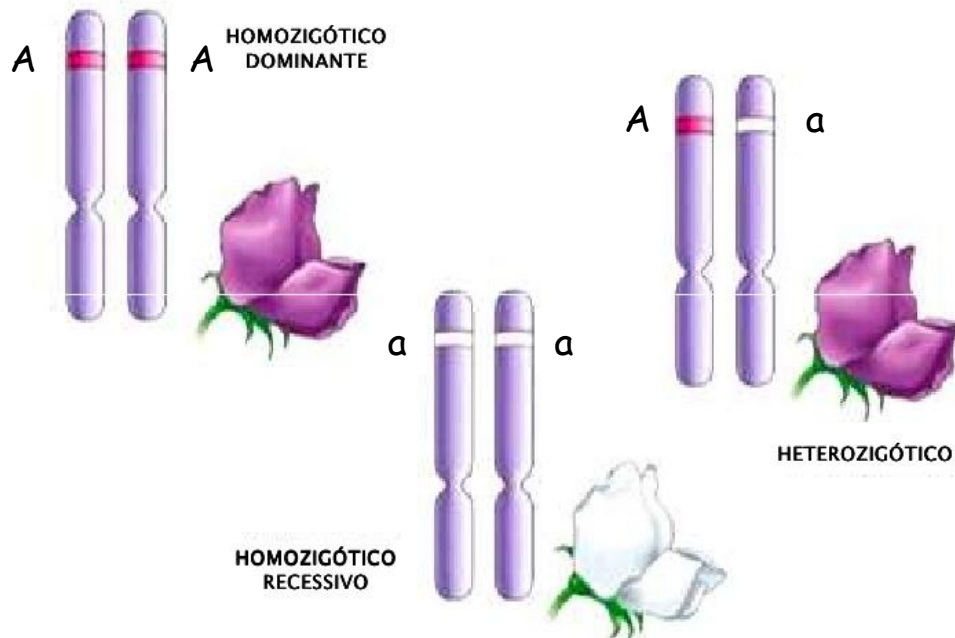
# Introdução

## Definições

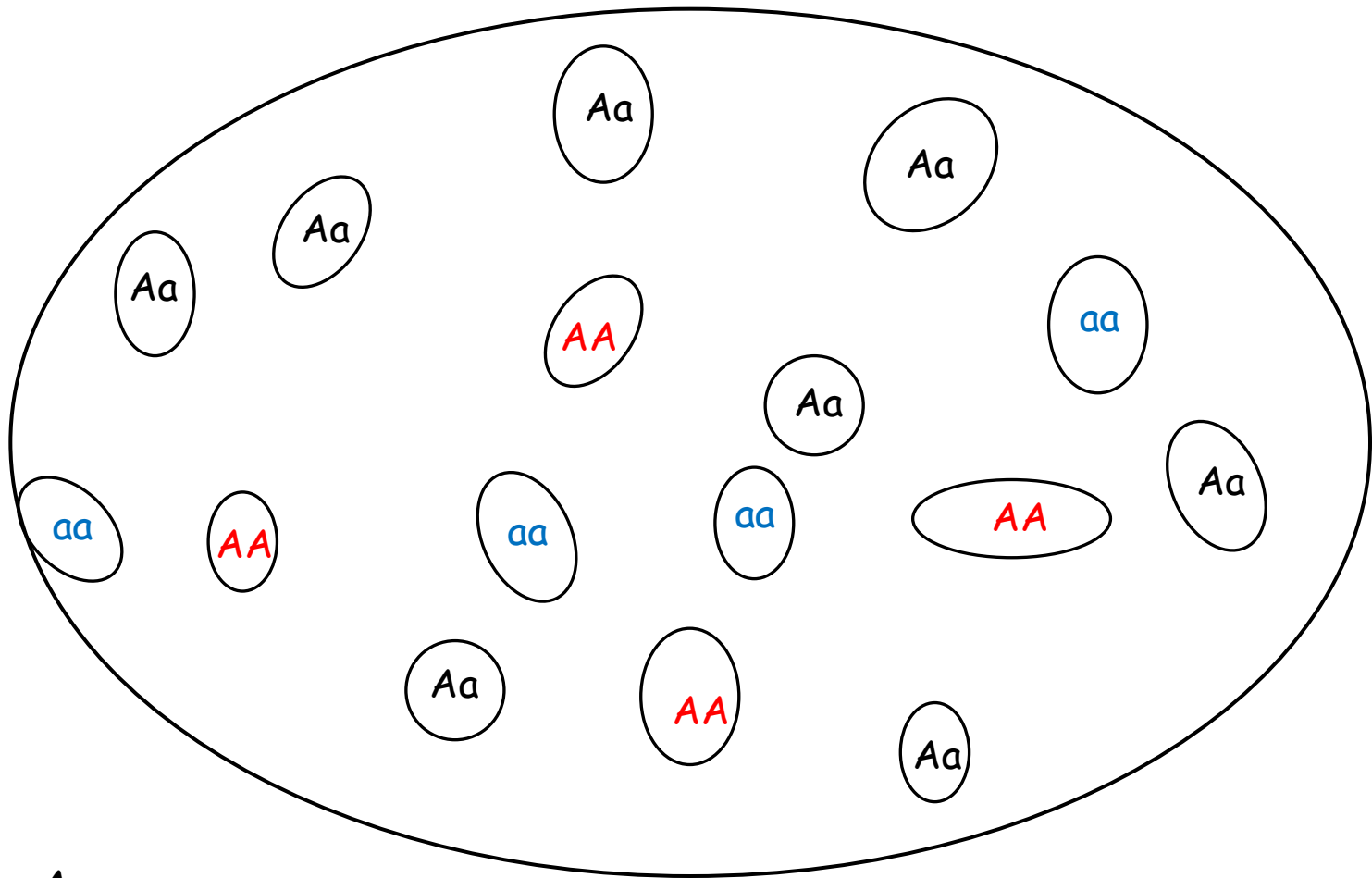
### I - Variabilidade Genética

analogia diversidade de ssp

Para se comparar diferentes genes em diferentes pop, é necessário ter-se alguma medida quantitativa conveniente da variação genética: a frequência alélica (Hartl & Clark 1989)



AA	Aa	aa
pp	pq	qq



AA      Aa      aa

pp      pq      qq

$$f(AA) = 4/16 = 0,25$$

$$f(Aa) = 8/16 = 0,50$$

$$f(aa) = 4/16 = 0,25$$

$$p = f(AA) + f(Aa)/2 = 0,25 + 0,50/2 = 0,50$$

$$q = f(aa) + f(Aa)/2 = 0,25 + 0,50/2 = 0,50$$

$$p = f(A) = n_A/n_T \text{ de alelos}$$

$$q = f(a) = n_a/n_T \text{ de alelos}$$

# Introdução

## Definições

### I - Variabilidade Genética

AA	Aa	aa
pp	pq	qq

## Polymorphism



**Polimorfismo:** "é a ocorrência na mesma população de dois ou mais alelos em um loco, cada um com uma frequência considerável" (Cavalli-Sforza & Bodmer 1971) (Hedrick 2010)

Um loco polimórfico é o loco em que o alelo mais comum tem a frequência menor que 0.95 ou 0.99 (Hartl & Clark 1989)

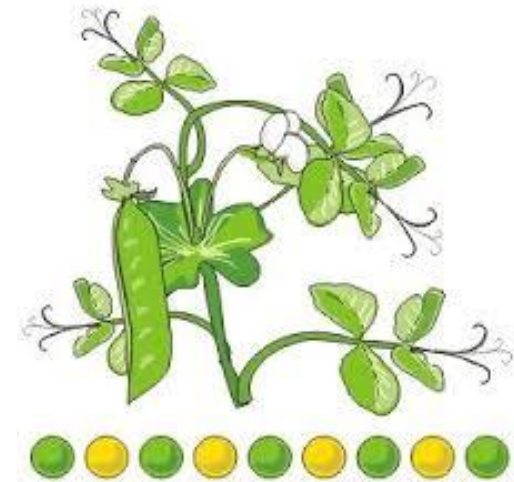
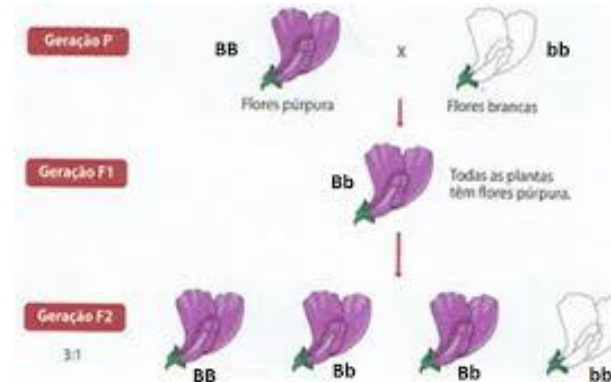
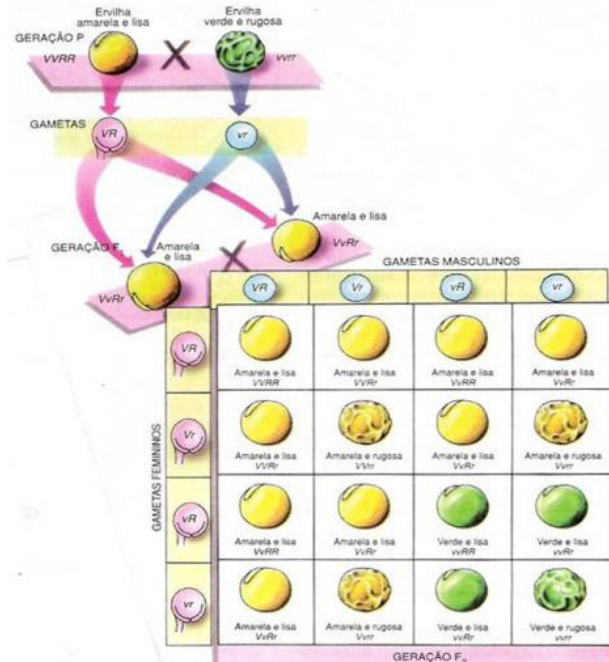
# Introdução

## Definições

### I - Variabilidade Genética

*Inferência do genótipo a partir do fenótipo - genes associados a caracteres morfológicos (1856 - Mendel):*

- cor de flor
- nanismo
- forma de folha
- cor e superfície da semente (Raven et al. 1996)



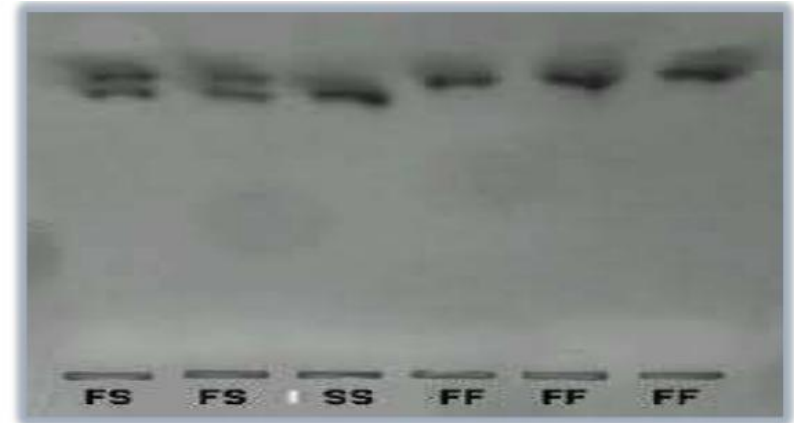
# Introdução

## *Definições*

### I - Variabilidade Genética

*Isoenzimas* (a partir de 1960)  
(Ferreira & Grattapaglia 1998):

Ex.: MDH , EST



*Análise genética direta da variação na sequência do DNA (~ década de 80):*

- **MARCADOR MOLECULAR:** todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA (Ferreira & Grattapaglia 1998)

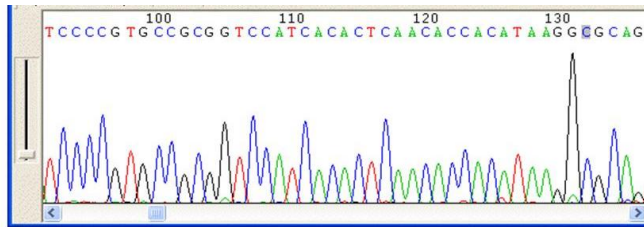
# Introdução

## Definições

### I - Variabilidade Genética

#### MARCADOR MOLECULAR

**Dominantes:** RAPD, AFLP, ISSR



multilocos

Presença x ausência  
("2 alelos")

**Co-dominantes:** Isoenzimas, RFLP, SSR, SNPs (*Rad-seq - restriction site-associated DNA sequencing*)



um loco

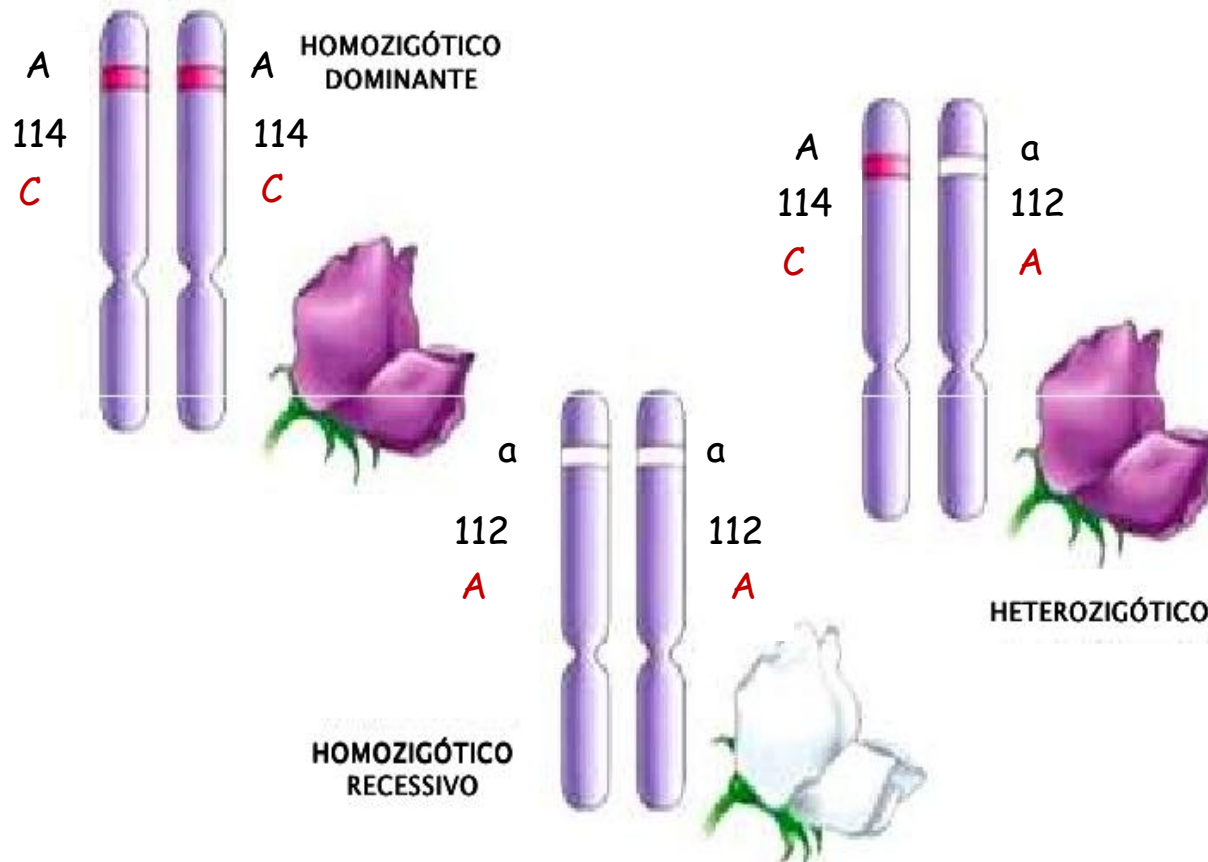
vários alelos (mas  
ver SNPs e  
poliplóides)



# Introdução

## Definições

### I - Variabilidade Genética



## RAPD

PM Ap Tp IV IA CA6CA1CA4CVMN

			Tupi	IV 4046	IA	CA -62	CA -	CA-47
		<b>Apoatã</b>					<b>100</b>	
<b>A7</b>	1(1296-1404)	1	1	1	1	1	1	1
	2(1126-1232)	1	1	1	1	1	1	1
	3(870-1000)	1	1	1	1	1	1	1
	4(836-949)	0	1	1	1	1	1	1
	5(619-707)	1	1	1	1	1	1	1
	6(589-604)	1	1	1	1	0	0	0

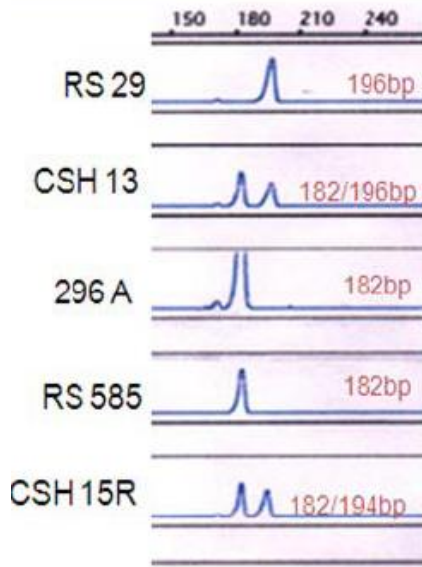
## ISSR



Locus	Sample 1	Sample 2	Sample 3
L1	1	1	1
L2	1	0	0
L3	1	1	1
L4	1	1	1
L5	0	1	1
L6	1	1	1
L7	1	1	0
L8	1	1	1

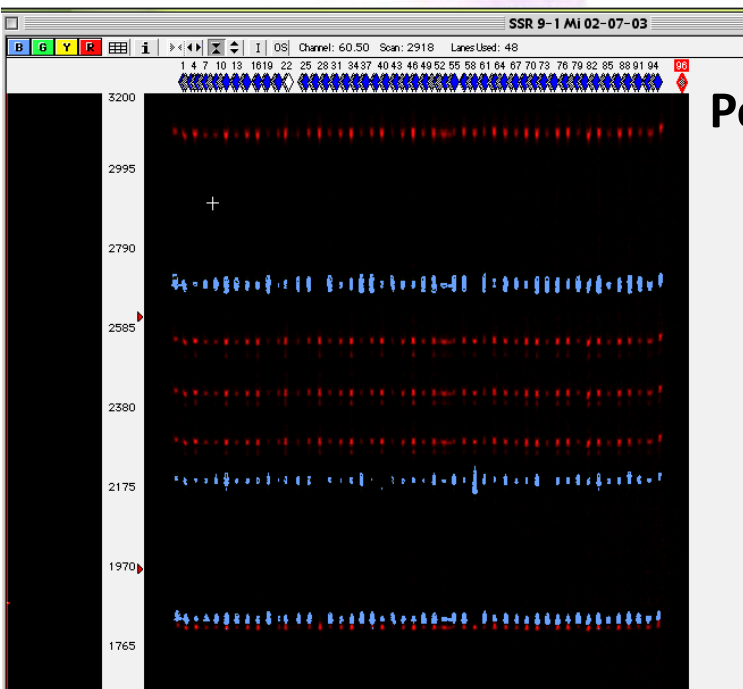
Fonte: Ng & Tan 2015

# SSR

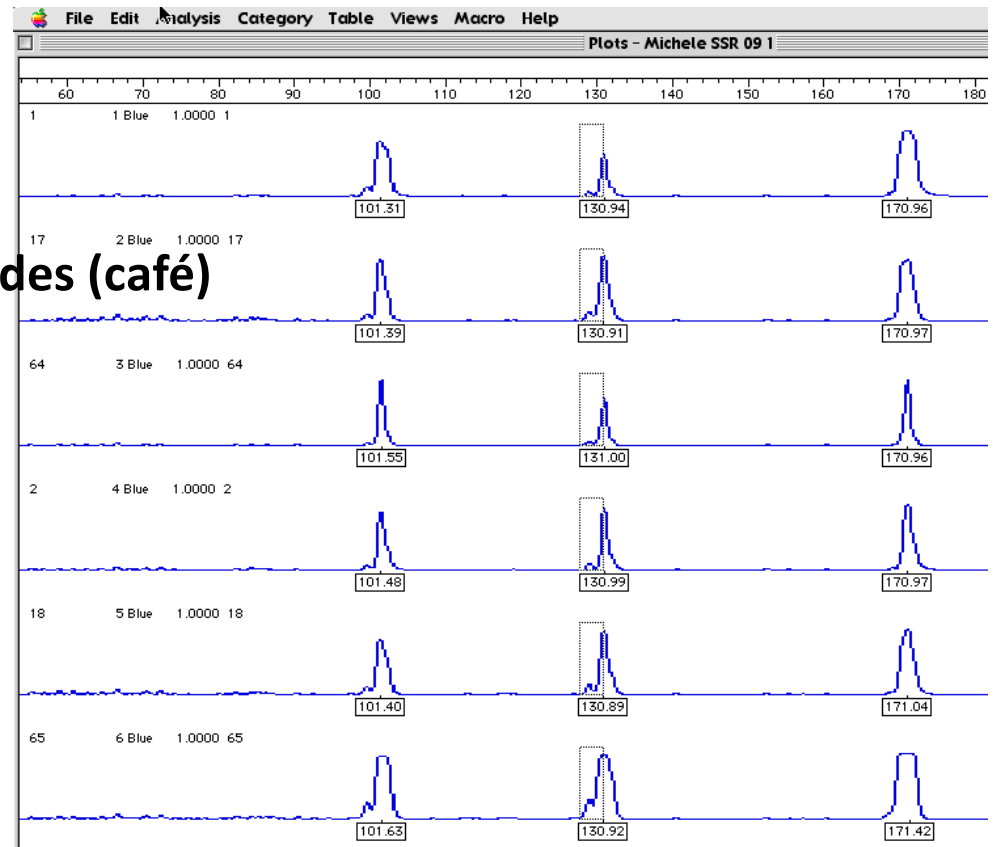


## Diplóides (sorgo)

Fonte: Arya et al. 2014



## Poliplóides (café)



# Introdução

## Definições

### II - Medidas de Variabilidade Genética (A, P, A<sub>e</sub>, R, H)

- a) Número de alelos por loco (A ou n)
- b) Percentagem de locos polimórficos (P)
- c) Número efetivo de alelos (A<sub>e</sub> ou n<sub>e</sub>)  $n_e = (\sum p_i^2)^{-1}$
- d) Heterozigosidade esperada ou diversidade genética (H, H')

Freq. Alélica  
(p<sub>i</sub>)

p	q	z	H = 1 - $\sum p_i^2$	A <sub>e</sub> ou n <sub>e</sub>
0,5	0,5			2
0,2	0,8			1,47
0,3	0,4	0,3		2,94

Onde: p<sub>i</sub> = frequência pop. do i-ésimo alelo de um loco/banda  
(m= número de alelos)

# Introdução

## Definições

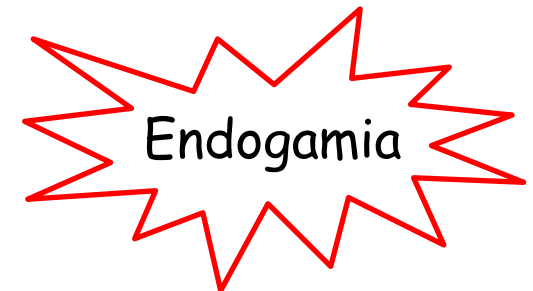
### III - Evolução biológica

Mudança nas frequências alélicas de uma população através do tempo - Wilson & Bossert (1971) (adaptativas ou não)



• Fatores genéticos que afetam as frequências alélicas através do tempo - **causas da evolução**:

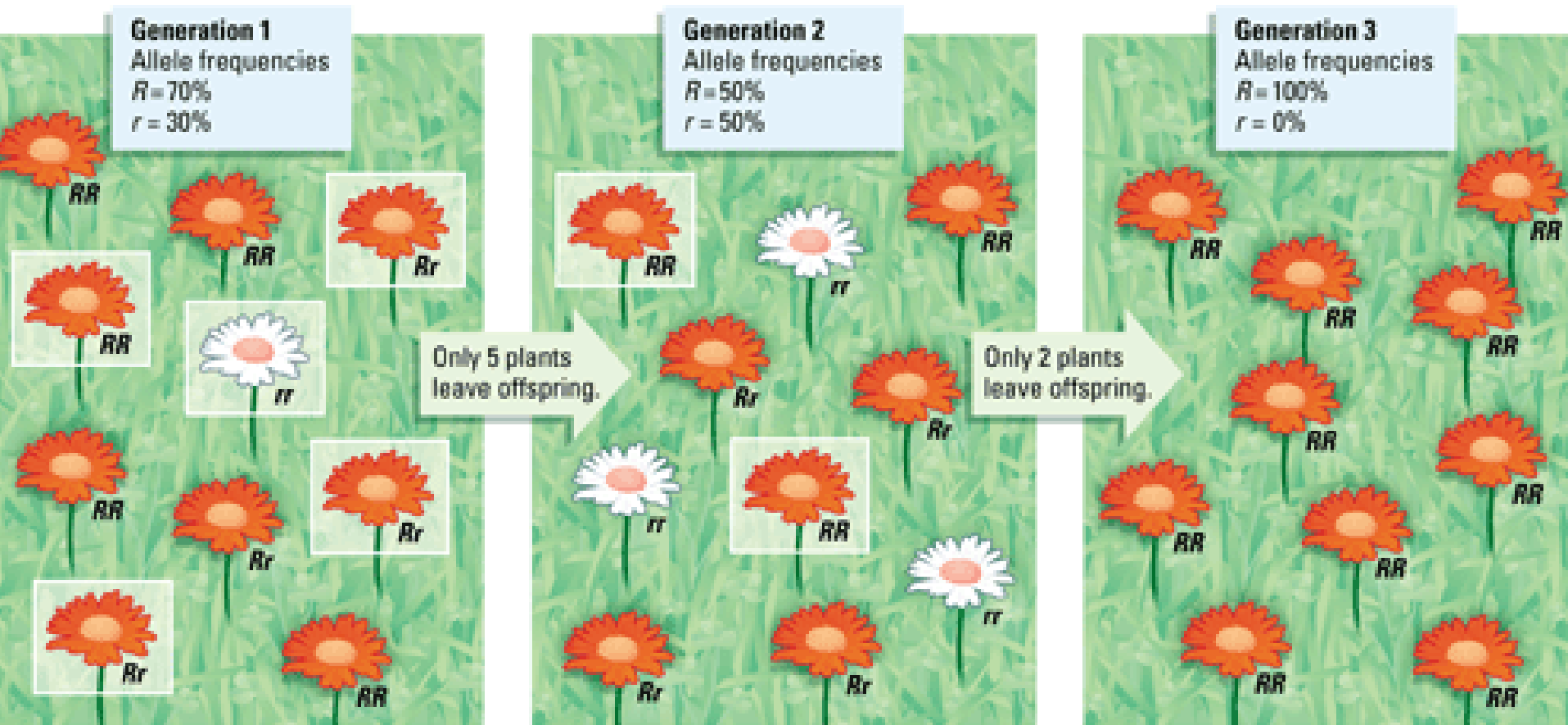
- MUTAÇÕES
- SELEÇÃO NATURAL
- MIGRAÇÃO (fluxo gênico)
- DERIVA GENÉTICA



# Introdução

## Definições

### III - Evolução biológica

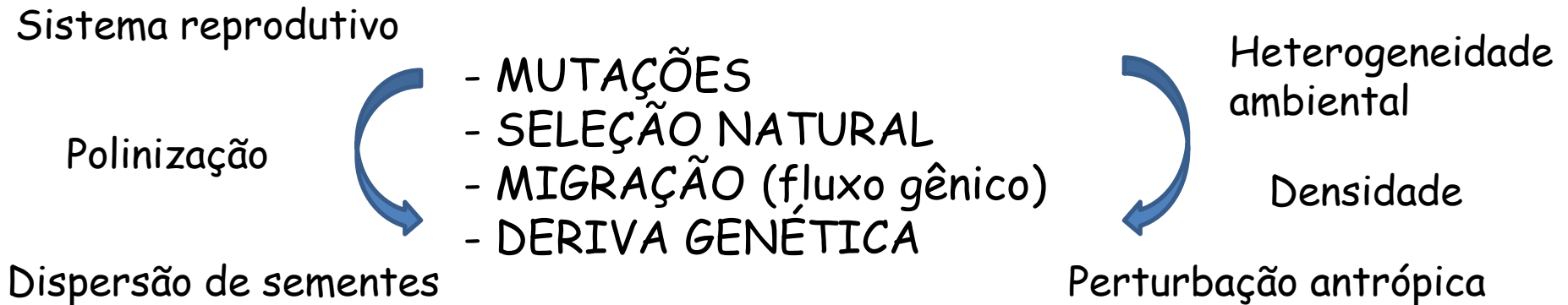


# Introdução

## Definições

### III - Evolução biológica

#### Fatores genéticos + ecológicos



- O quão importante entre si são essas forças? O fluxo gênico é tão importante, ou mais, do que a seleção natural (Ellstrand 2014)

*"Concentrating on any single evolutionary force ignores the richness of the evolutionary process. Evolution is fundamentally the product of more than a single factor"* (Ellstrand 2014)

# Introdução

## Definições

### IV - O princípio de Hardy-Weinberg

Modelo que relaciona as frequências alélicas às frequências genotípicas

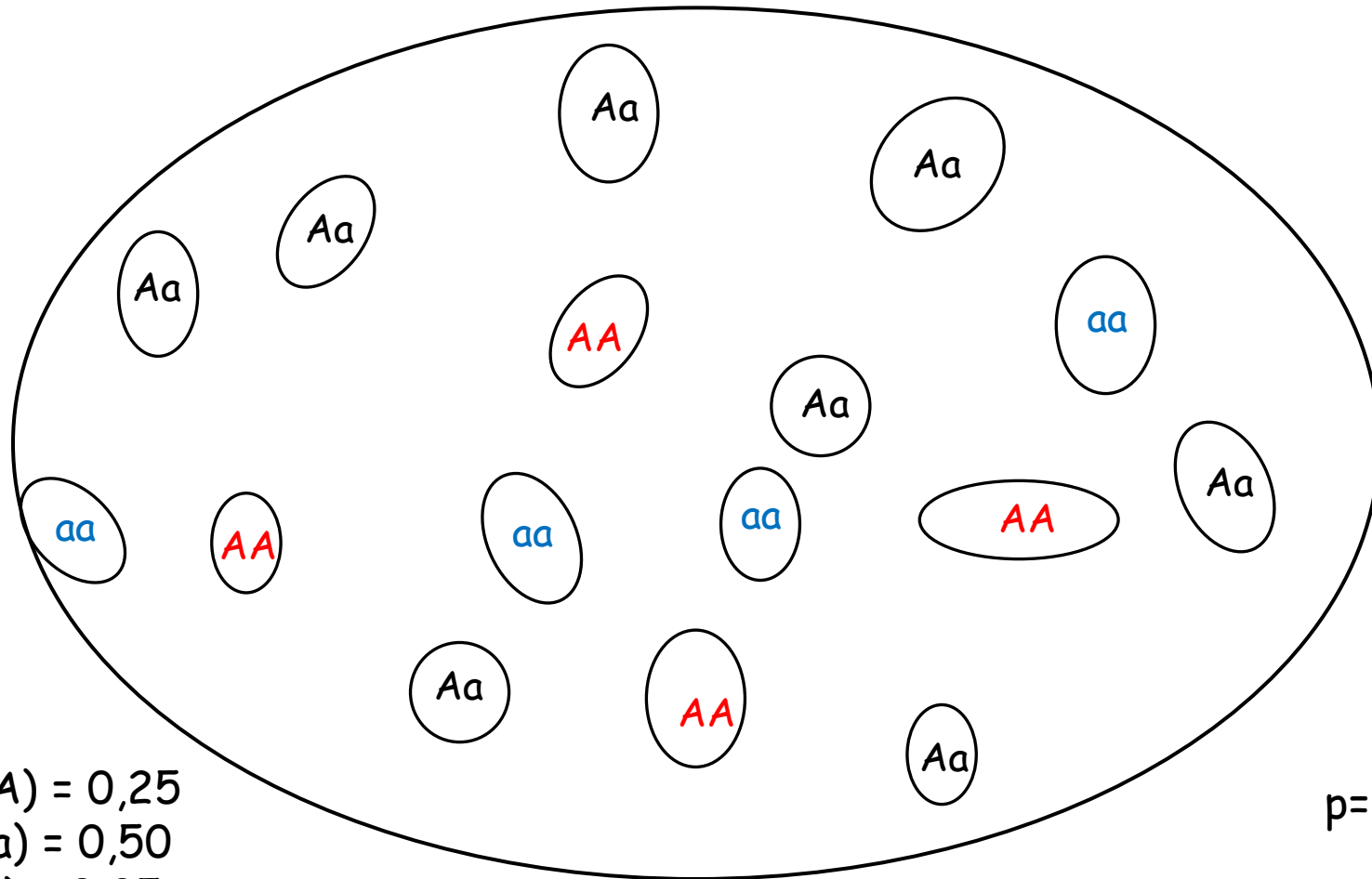
- ✓ cruzamentos  $AA$   $Aa$   $aa$  ao acaso
- ✓ ~~mutações~~  $pp$   $pq$   $qq$
- ✓ ~~seleção natural~~
- ✓ ~~deriva genética~~ - pop muito grande
- ✓ ~~fluxo gênico~~
- ✓ diplóide
- ✓ reprodução sexual
- ✓ Ausência de sobreposição de gerações



# Introdução

## Definições

### IV - O princípio de Hardy-Weinberg



$$f(AA) = 0,25$$

$$f(Aa) = 0,50$$

$$f(aa) = 0,25$$

$$p = 0,50$$

$$q = 0,50$$

# Introdução

## Definições

### IV - O princípio de Hardy-Weinberg

AA      Aa      aa

pp      pq      qq

$$p^2 + 2pq + q^2$$

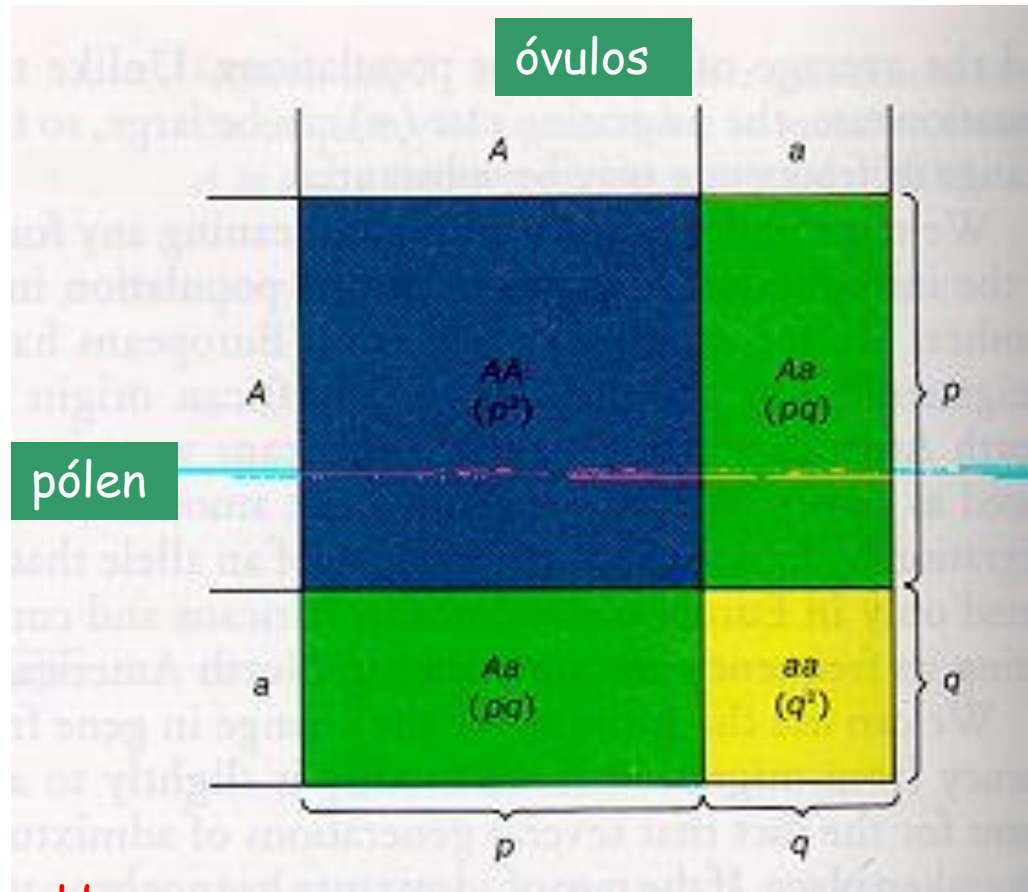
$$p = 0,50$$

$$q = 0,50$$

$$p^2 = 0,50 \times 0,50 = 0,25$$

$$2pq = 2 \times 0,50 \times 0,50 = 0,50 = H_e$$

$$q^2 = 0,50 \times 0,50 = 0,25$$



Quadrado de Punnett

# Introdução

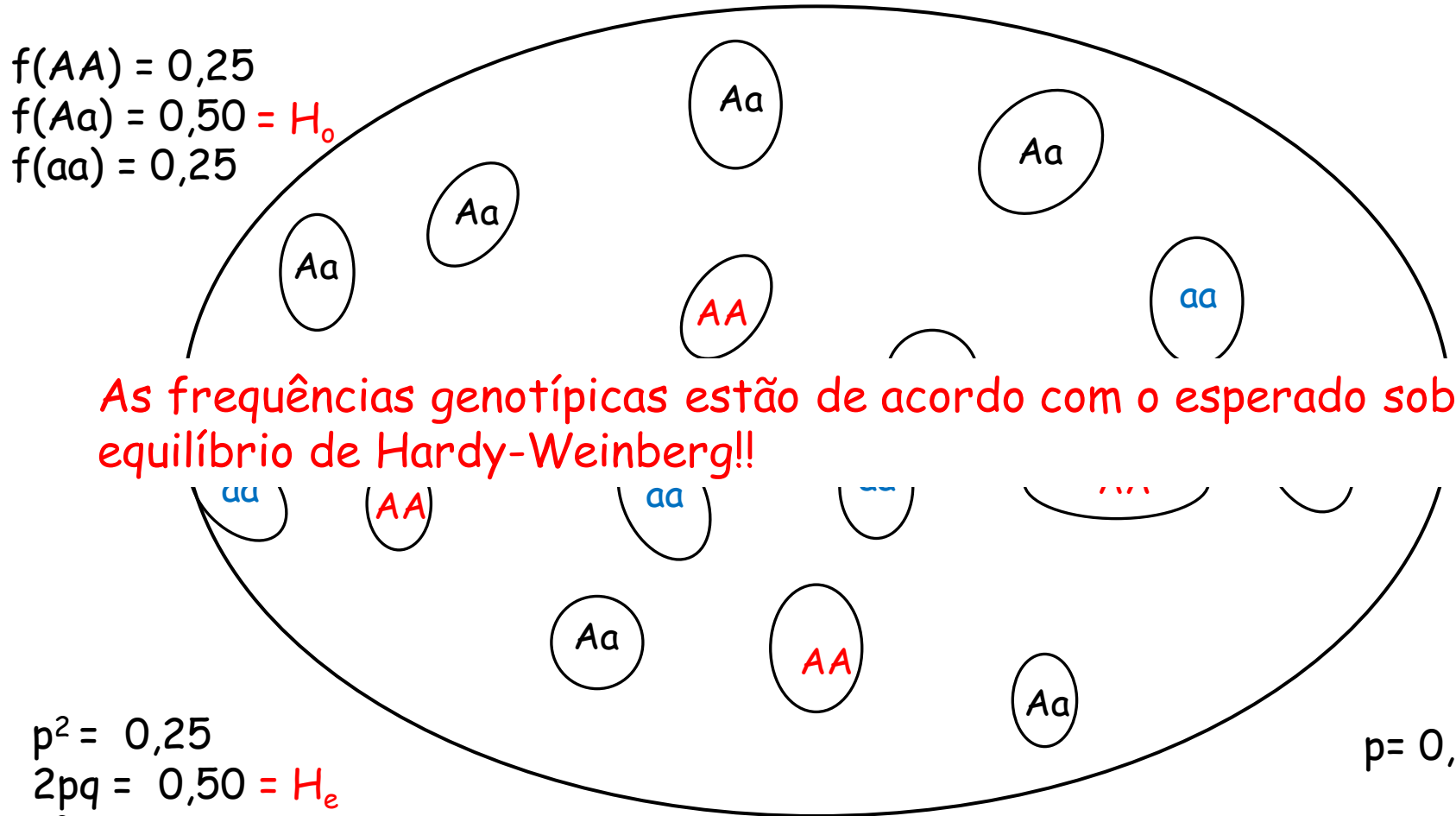
## Definições

### IV - O princípio de Hardy-Weinberg

$$f(AA) = 0,25$$

$$f(Aa) = 0,50 = H_o$$

$$f(aa) = 0,25$$



As frequências genotípicas estão de acordo com o esperado sob equilíbrio de Hardy-Weinberg!!

$$p^2 = 0,25$$

$$2pq = 0,50 = H_e$$

$$q^2 = 0,25$$

$$p = 0,50$$

$$q = 0,50$$

# Introdução

## Definições

### Medidas de Variabilidade Genética (A, P, A<sub>e</sub>, R, H)

- a) Número de alelos por loco (A ou n)
- b) Percentagem de locos polimórficos (P)
- c) Número efetivo de alelos (A<sub>e</sub> ou n<sub>e</sub>)  $n_e = (\sum p_i^2)^{-1}$
- d) Heterozigosidade esperada ou diversidade genética (H, H')

Freq. Alélica  
(p<sub>i</sub>)

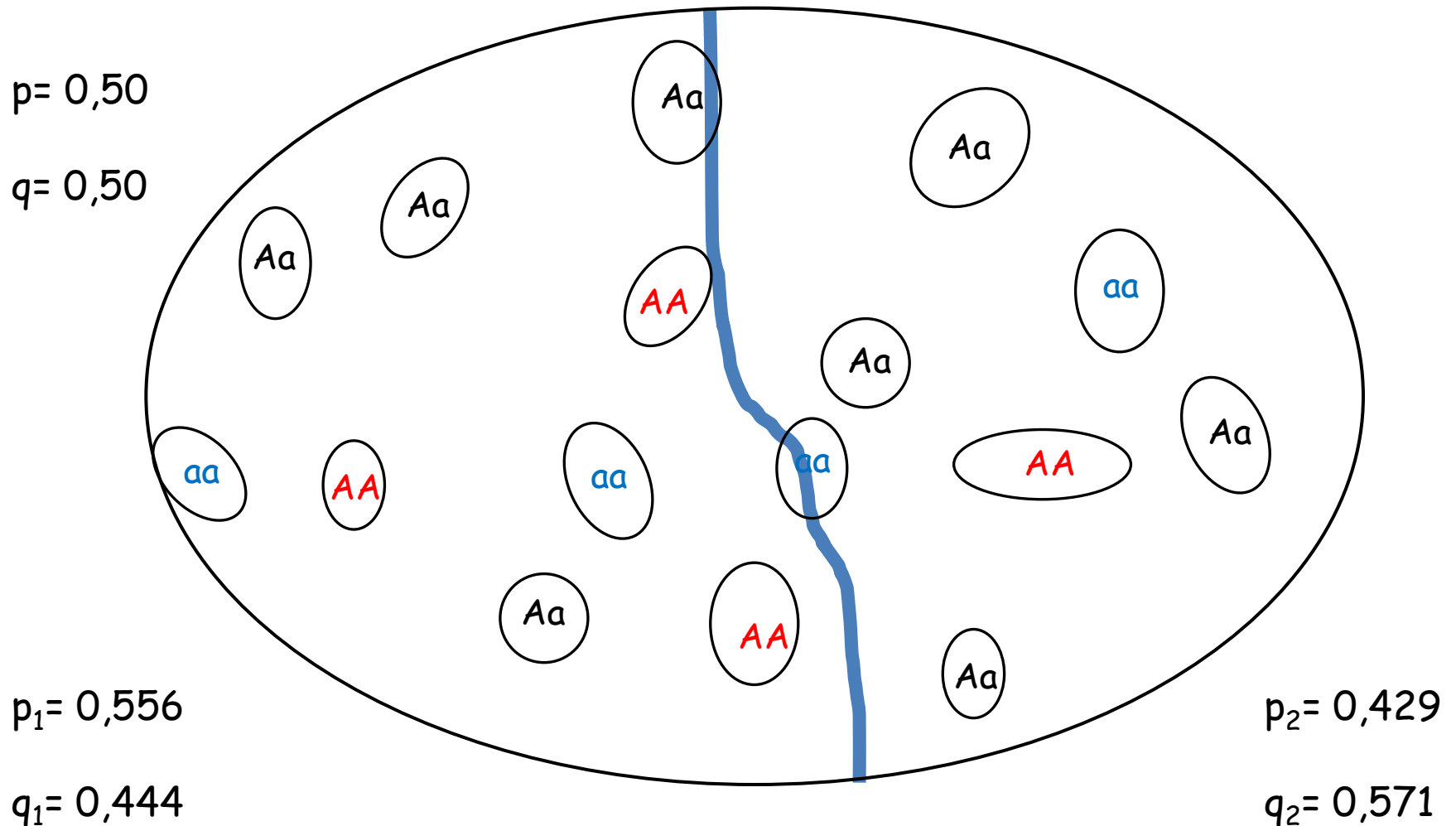
$$H = 1 - \sum_{i=1}^m p_i^2$$

Onde: p<sub>i</sub> = freqüência pop. do i-ésimo alelo de um loco/banda  
(m= número de alelos)

# Introdução

## Definições

### V - Estrutura genética

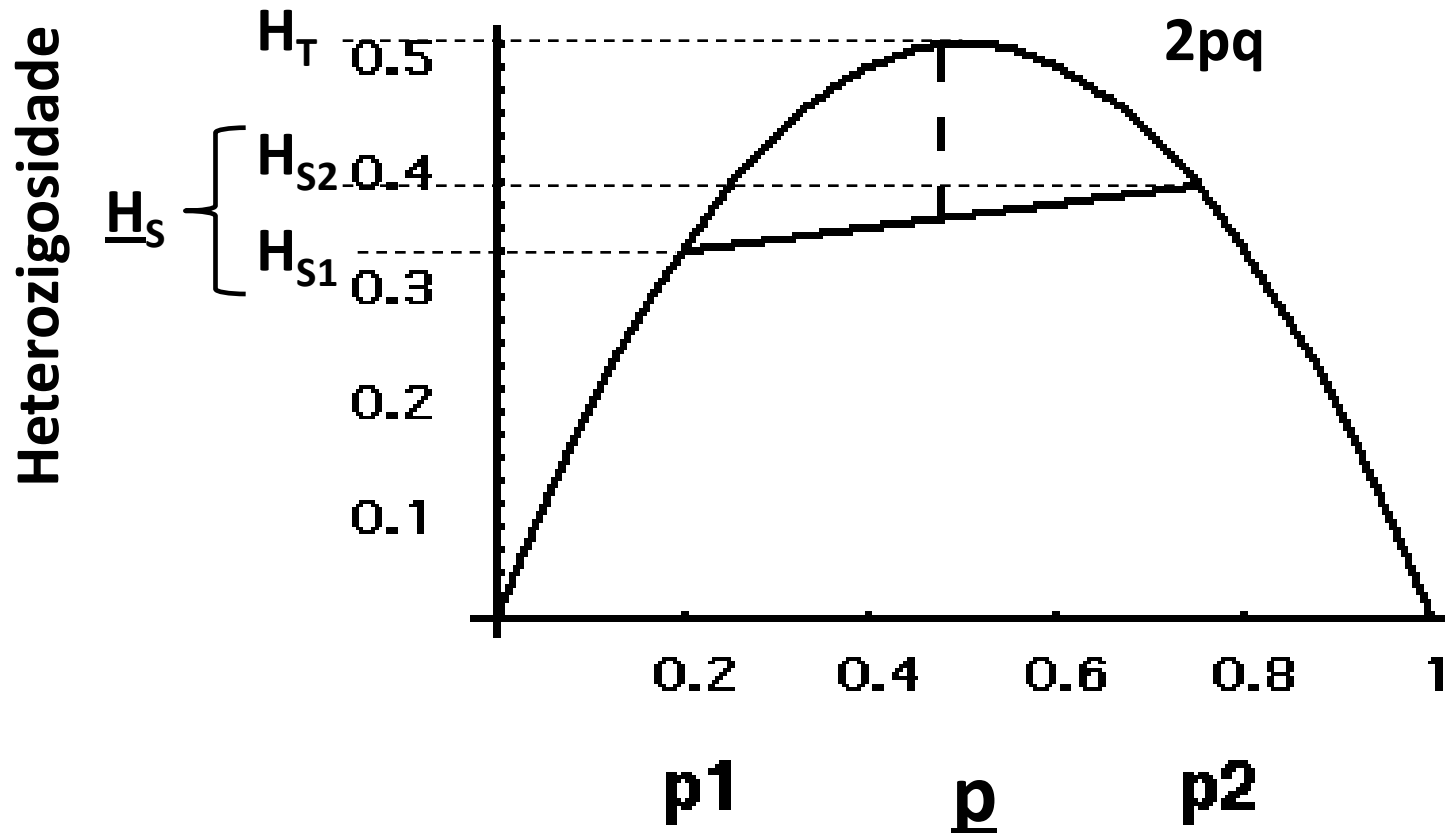


# Introdução

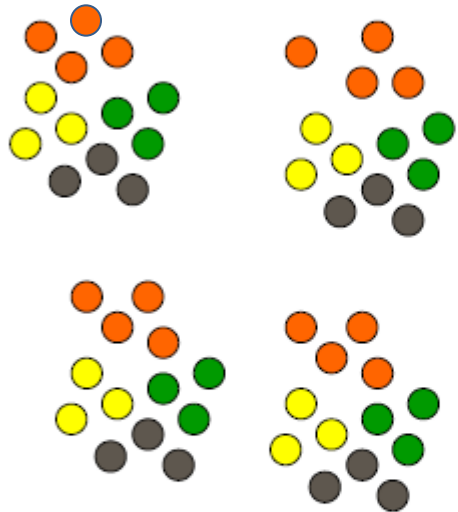
## Definições

V - Estrutura genética

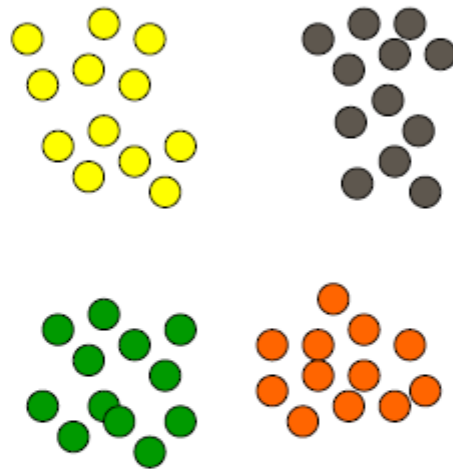
Efeito de Wahlund



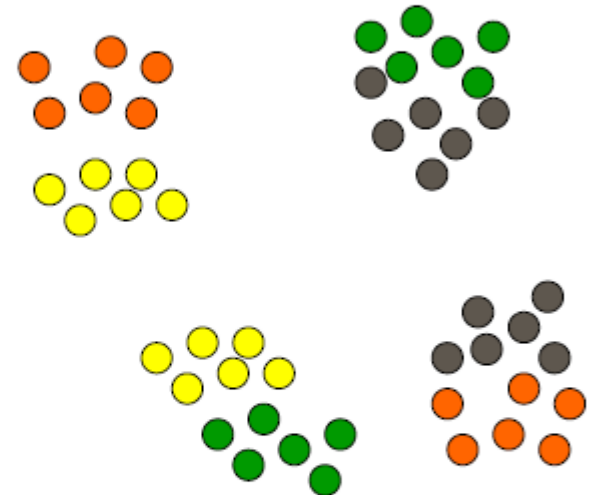
# Estrutura Genética de Populações:



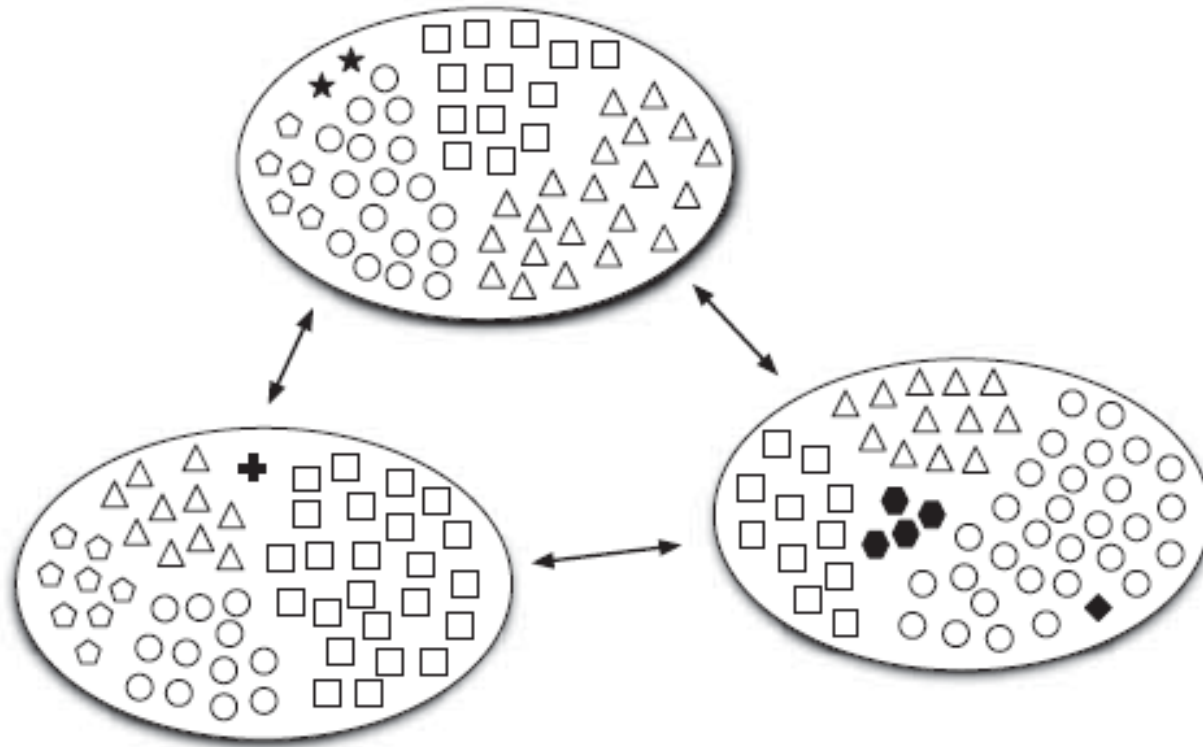
**GRUPO 1**  
variabilidade genética não estruturada entre populações (uma só pop.)



**GRUPO 2**  
Mesmo nível de variabilidade genética, mas esta organizada entre populações



**GRUPO 3**  
Mesma magnitude de variabilidade genética, porém esta organizada entre e dentro de populações



**Figure 1** An illustration of the spatial distribution of shared (white) and private (black) alleles in a three-subpopulation model.



# Introdução

## *Definições*

### VI - Métodos para estimar Estrutura genética

- a) Estatísticas-F de Wright (1951) ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ), Nei ( $H_S$ ,  $H_T$ ,  $D_{ST}$ ,  $G_{ST}$ ), Cockerham ( $f$ ,  $F$ ,  $\theta$ )
- b) Análise de variância molecular (AMOVA)
- c) Distâncias genéticas e análises de agrupamento
- d) Distâncias genéticas e autocorrelação espacial
- e) Análise de agrupamento bayesiana - "*Bayesian cluster analysis*" Programa *Structure*

\*\*\* Análises apropriadas para DIPLÓIDES E POLIPLÓIDES (grande parte das espécies arbóreas são poliplóides!)

# Introdução

## Definições

### VI - Métodos para estimar Estrutura genética

#### Estatísticas - F de Wright


$$F_{IS} = (\underline{H}_S - H_I) / \underline{H}_S \quad F_{ST} = (H_T - \underline{H}_S) / H_T \quad F_{IT} = (H_T - H_I) / H_T$$

$F_{IS}$  = redução da heterozigosidade de um indivíduo devido a cruzamentos não ao acaso na sua subpop

$F_{ST}$  = redução na heterozigosidade de uma subpopulação devido aos efeitos de deriva genética

$F_{IT}$  = redução da heterozigosidade de um indivíduo em relação à população total

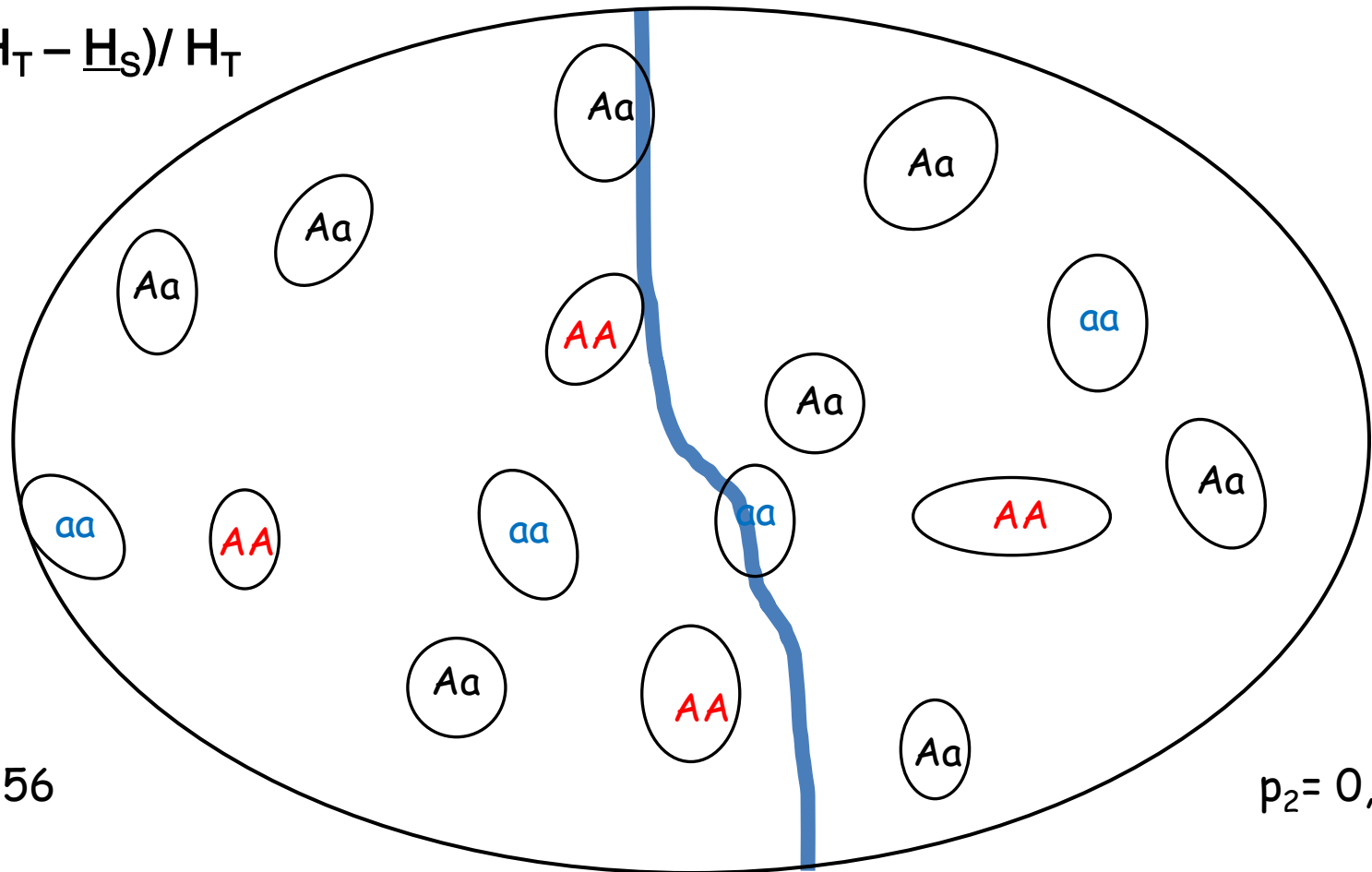
(Inclui a contribuição devido aos cruzamentos não ao acaso dentro das subpop e à subdivisão da pop total)

# Introdução

## Definições

### VI - Métodos para estimar Estrutura genética

$$F_{ST} = (H_T - \underline{H}_S) / H_T$$



$$p_1 = 0,556$$

$$q_1 = 0,444$$

$$p_2 = 0,429$$

$$q_2 = 0,571$$

# Introdução

## Definições

### VI - Métodos para estimar Estrutura genética

$$p_1 = 0,556$$

$$q_1 = 0,444$$

$$H_{S1} = 1 - [(0,556)^2 + (0,444)^2]$$

$$H_{S1} = 1 - [0,309136 + 0,197136]$$

$$H_{S1} = 1 - 0,506272$$

$$H_{S1} = 0,493728$$

$$F_{ST} = (H_T - \underline{H}_S) / H_T$$

$$H_{Si} = 1 - \sum_i^m p_i^2$$

$$\underline{H}_S = (0,493728 + 0,489918) / 2$$

$$\underline{H}_S = 0,491823$$

$$p = (p_1 + p_2) / 2 =$$

$$p = (0,556 + 0,429) / 2$$

$$p = 0,4925$$

$$H_T = 1 - \sum_i^m p_i^2$$

$$H_T = 1 - [(0,4925)^2 + (0,5075)^2]$$

$$H_T = 1 - [0,2426 + 0,2576]$$

$$H_T = 0,4998875$$

$$p_2 = 0,429$$

$$q_2 = 0,571$$

$$H_{S2} = 1 - [(0,429)^2 + (0,571)^2]$$

$$H_{S2} = 1 - [0,184041 + 0,326041]$$

$$H_{S2} = 1 - 0,510082$$

$$H_{S2} = 0,489918$$

$$q = (q_1 + q_2) / 2 =$$

$$q = (0,444 + 0,571) / 2$$

$$q = 0,5075$$

# Introdução

## Definições

### VI - Métodos para estimar Estrutura genética

$$F_{ST} = (H_T - \underline{H}_S) / H_T$$

$$\underline{H}_S = (0,493728 + 0,489918) / 2$$

$$\underline{H}_S = 0,491823$$

$$H_T = 1 - [(0,4925)^2 + (0,5075)^2]$$

$$H_T = 1 - [0,2426 + 0,2576]$$

$$H_T = 0,4998875$$

$$F_{ST} = (H_T - \underline{H}_S) / H_T$$

$$F_{ST} = (0,4998875 - 0,491823) / 0,4998875$$

$$F_{ST} = 0,0161$$

# Introdução

## Definições

### VI - Métodos para estimar Estrutura genética

$$p_1 = 0,556 \quad p_1 = 0,2$$

$$q_1 = 0,444 \quad q_1 = 0,8$$

$$H_{S1} = 2pq$$

$$H_{S1} = 2 \times 0,2 \times 0,8$$

$$H_{S1} = 0,32$$

$$H_{Si} = 1 - \sum_i^m p_i^2$$

$$p_2 = 0,8 \quad p_2 = 0,429$$

$$q_2 = 0,2 \quad q_2 = 0,571$$

$$H_{S2} = 2pq$$

$$H_{S2} = 2 \times 0,8 \times 0,2$$

$$H_{S2} = 0,32$$

$$\underline{H}_S = (0,32 + 0,32)/2$$

$$\underline{H}_S = 0,32$$

$$\underline{p} = (p_1 + p_2)/2 =$$

$$\underline{p} = (0,2 + 0,8)/2$$

$$\underline{p} = 0,5$$

$$H_T = 1 - \sum_i^m \underline{p}_i^2$$

$$\underline{q} = (q_1 + q_2)/2$$

$$\underline{q} = (0,8 + 0,2)/2$$

$$\underline{q} = 0,5$$

$$H_T = 1 - [(0,5)^2 + (0,5)^2]$$

$$H_T = 1 - [0,25 + 0,25]$$

$$H_T = 0,50$$

# Introdução

## Definições

### VI - Métodos para estimar Estrutura genética

$$F_{ST} = (H_T - \underline{H}_S) / H_T$$

$$\underline{H}_S = (0,32 + 0,32) / 2$$

$$\underline{H}_S = 0,32$$

$$H_T = 1 - [(0,5)^2 + (0,5)^2]$$

$$H_T = 1 - [0,25 + 0,25]$$

$$H_T = 0,50$$

$$F_{ST} = (H_T - \underline{H}_S) / H_T$$

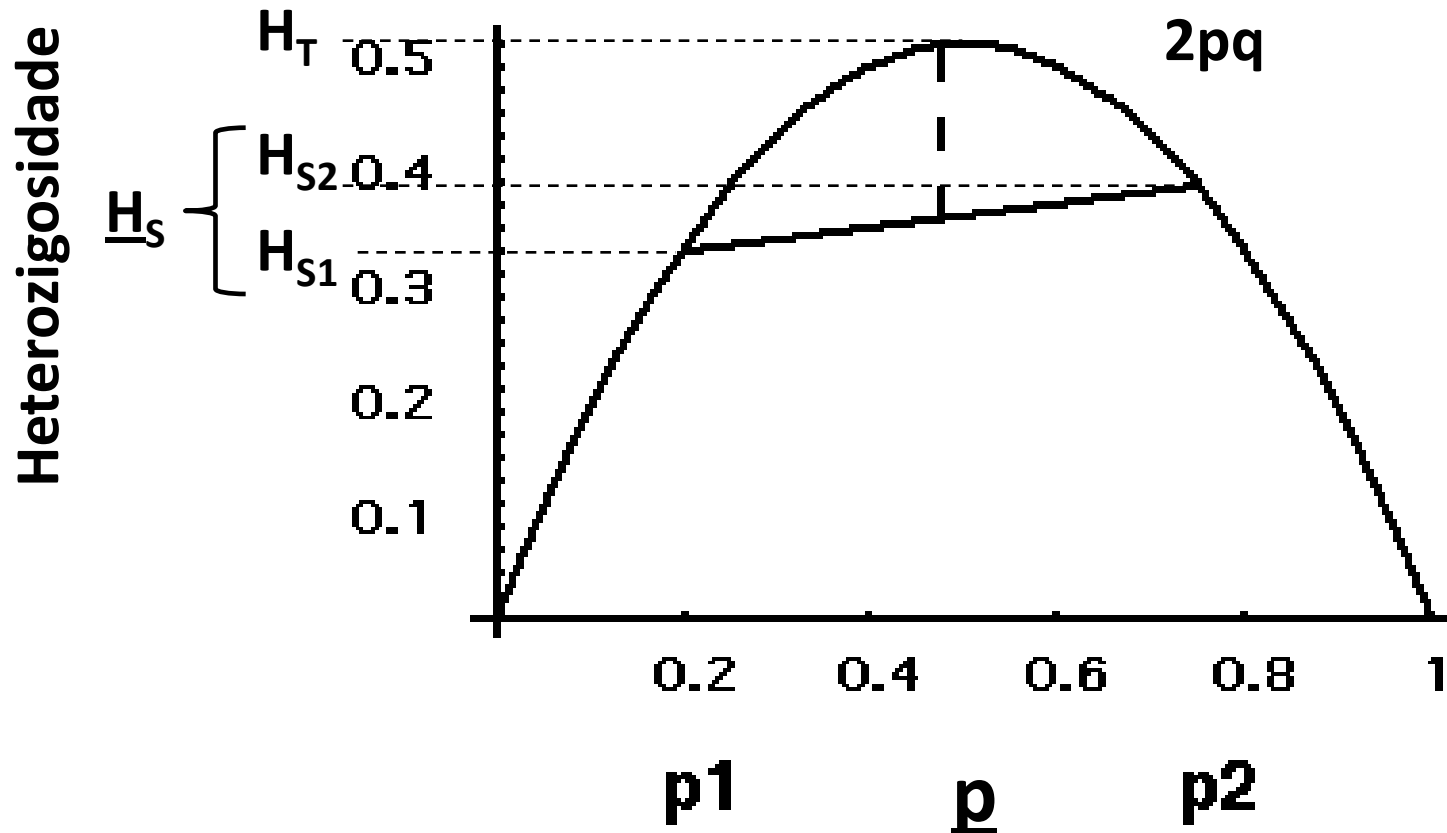
$$F_{ST} = (0,50 - 0,32) / 0,50$$

$$F_{ST} = 0,360$$

# Introdução

## Definições

V - Estrutura genética





# Referências Bibliográficas

- Ferreira, M. E. & Grattapaglia, D. 1998. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. EMBRAPA/CENARGEN, Brasília, DF. 220p.
- Hartl, D.L. & Clark, A.G. 1989. **Principles of population genetics**, 2<sup>nd</sup> ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA. 682p.
- Hedrick, P.W. 2011. **Genetics of Populations**, 4<sup>th</sup> ed. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, USA. 675p.
- Nei, M., 1987. **Molecular Evolutionary Genetics**. Columbia University Press, New York.
- Raven, P.H., Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. 1996. **Biologia Vegetal**, 5<sup>a</sup>. ed. Coord. Trad. J.E.Kraus. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.