

Aplicaciones moleculares para la conservación de fauna nativa en Uruguay



PEDECIBA
MEC-UDELAR



Ministerio
de Educación y Cultura



iibce
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS CLEMENTE ESTABLE



Genómica de la Conservación

Biodiversidad en crisis



37.470 (a 2021)

Especies amenazadas

Fuente: <https://www.iucnredlist.org/>

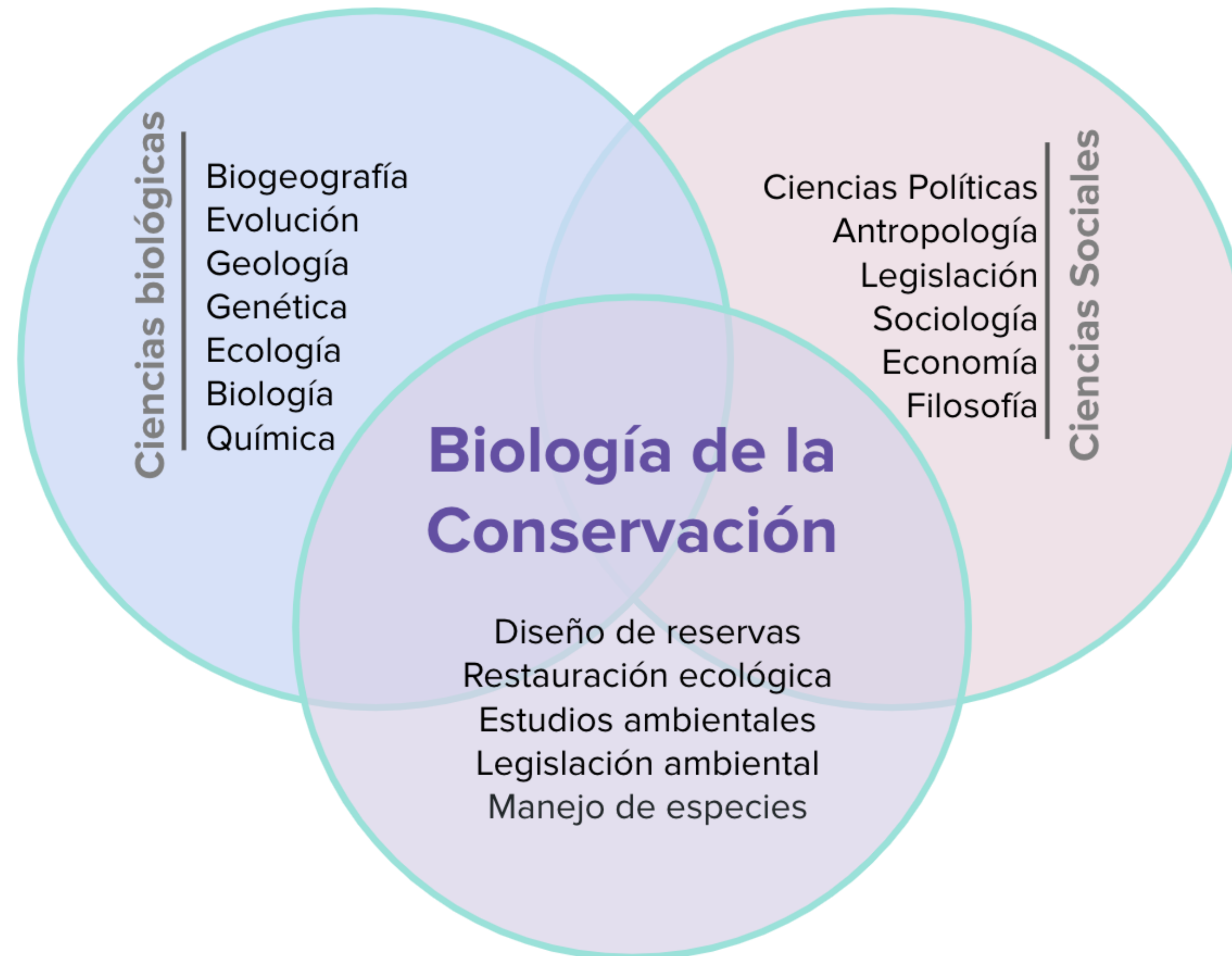
> 47.0000

Octubre de 2024

Especies amenazadas

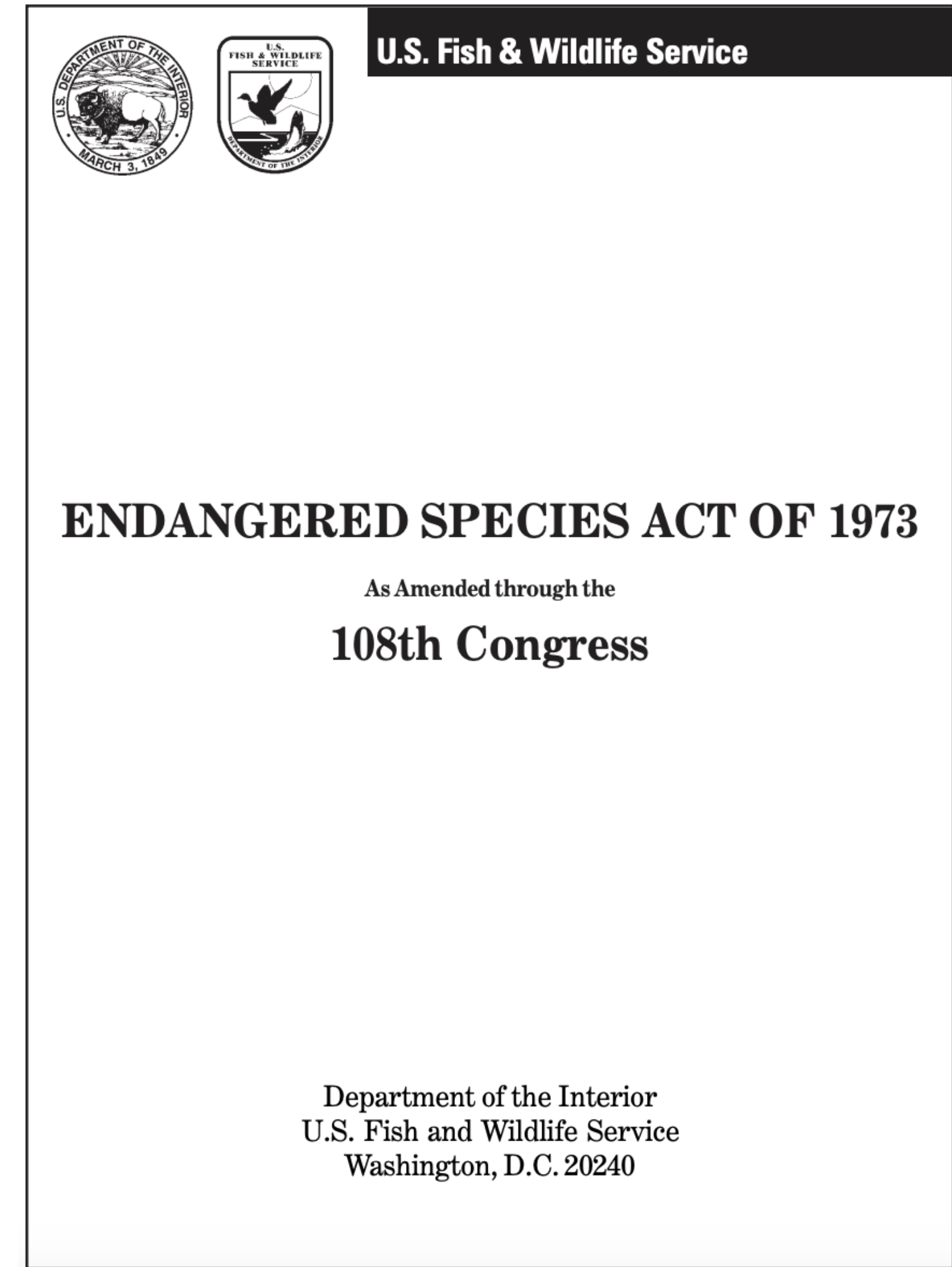
Fuente: <https://www.iucnredlist.org/>

¿Qué es la Biología de la Conservación?



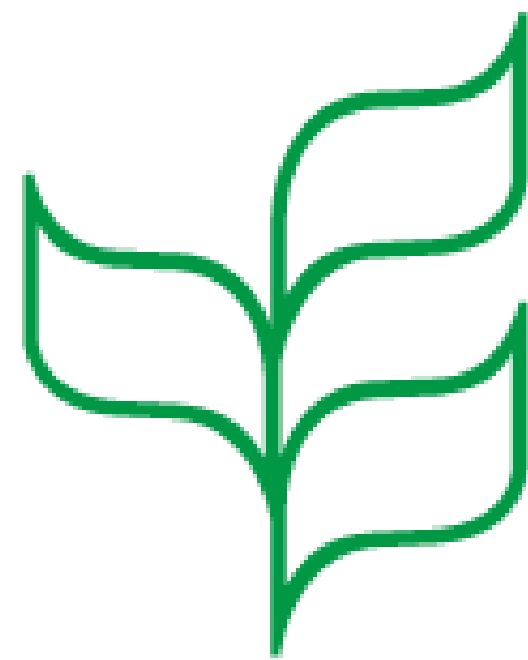
Genómica y legislación

- Diversidad genética \leftrightarrow 1/endogamia
- Mantener potencial adaptativo para afrontar cambios en el futuro



Genómica y legislación

- COP16 Objetivo para 2030: “...mantener la diversidad genética de las especies silvestres y domesticadas, salvaguardando su potencial de adaptación.”

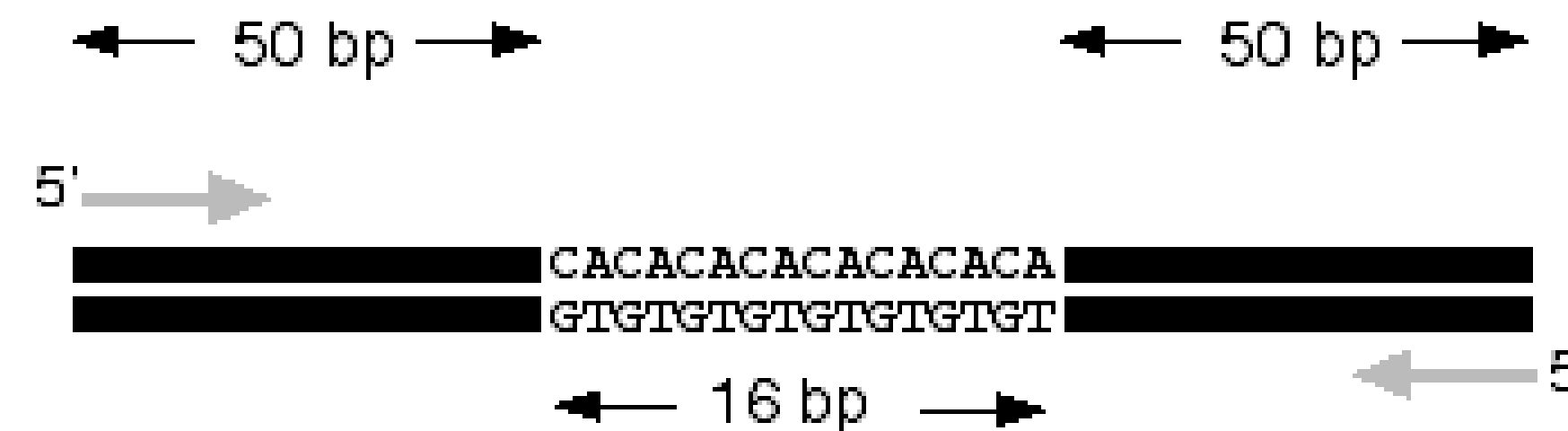
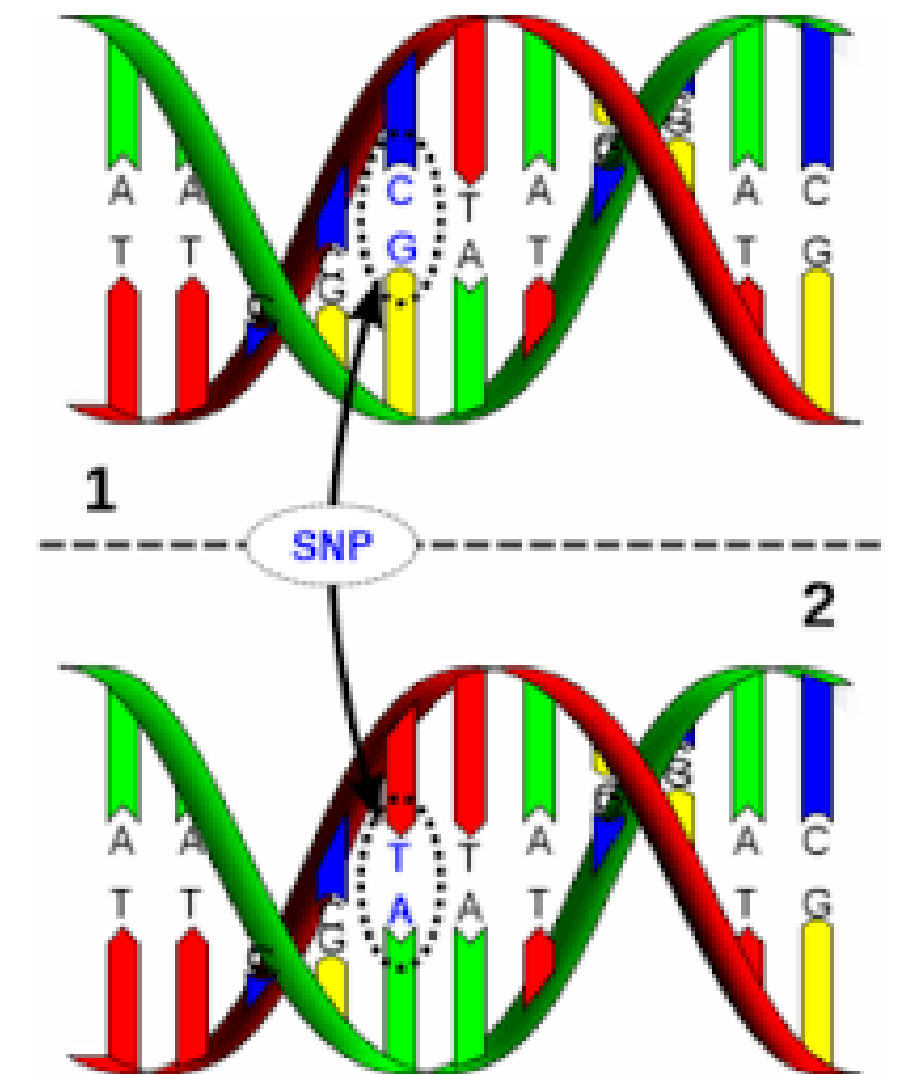


Convention on
Biological Diversity

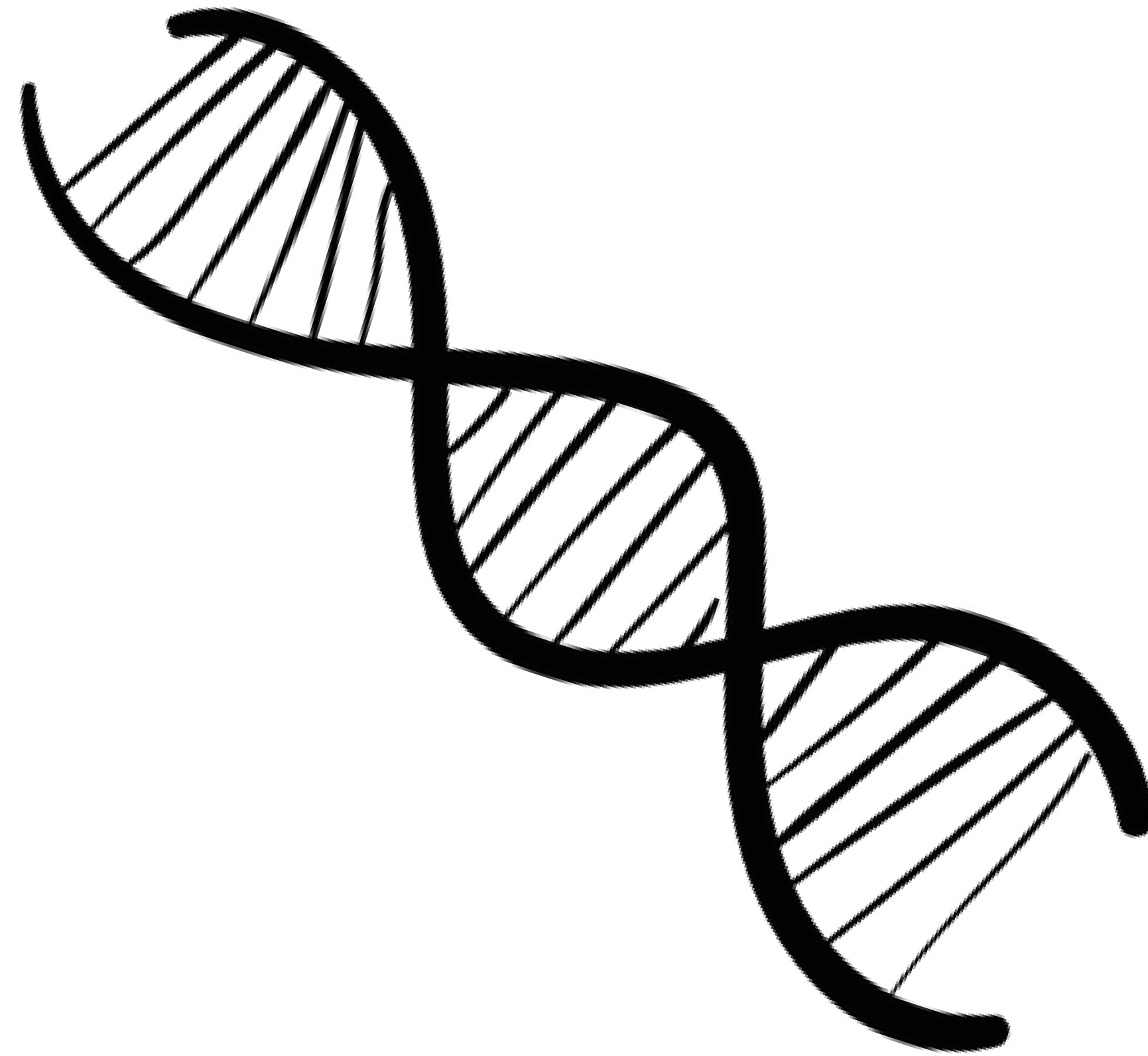


Genética vs Genómica

- **Genética** —> estudio de **regiones específicas** del genoma, genes funcionales y regiones neutras utilizando marcadores genéticos como **microsatélites**, polimorfismos de nucleótido simple (**SNPs**), etc.
- **Genómica** —> estudio del genoma **completo**



Genética vs Genómica

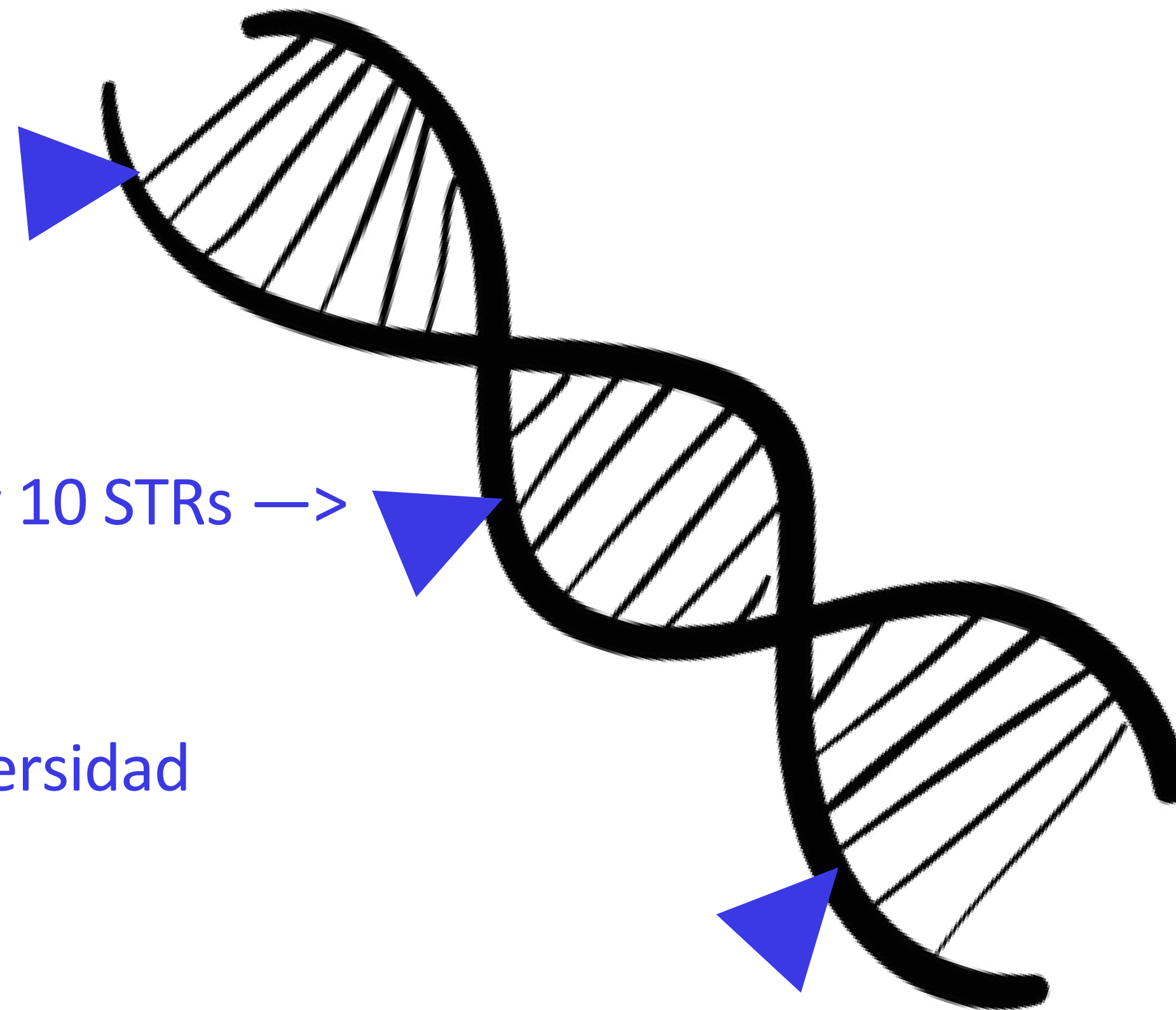


Genética vs Genómica

Microsatélites

Generalmente se usan entre 6 y 10 STRs →
lo que representa ~0.00001%

->No son informativos de la diversidad
genómica

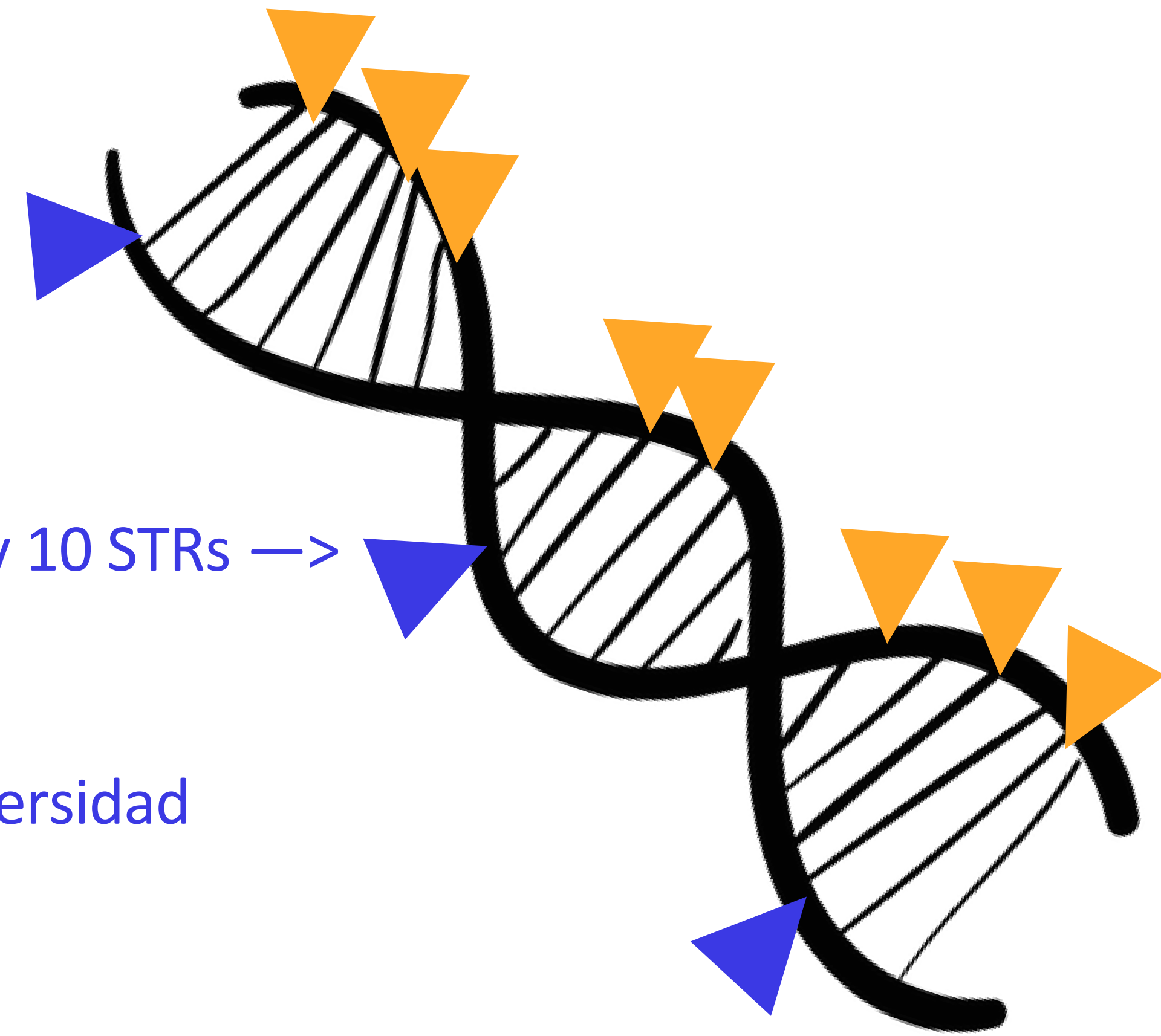


Genética vs Genómica

Microsatélites

Generalmente se usan entre 6 y 10 STRs →
lo que representa ~0.00001%

->No son informativos de la diversidad
genómica

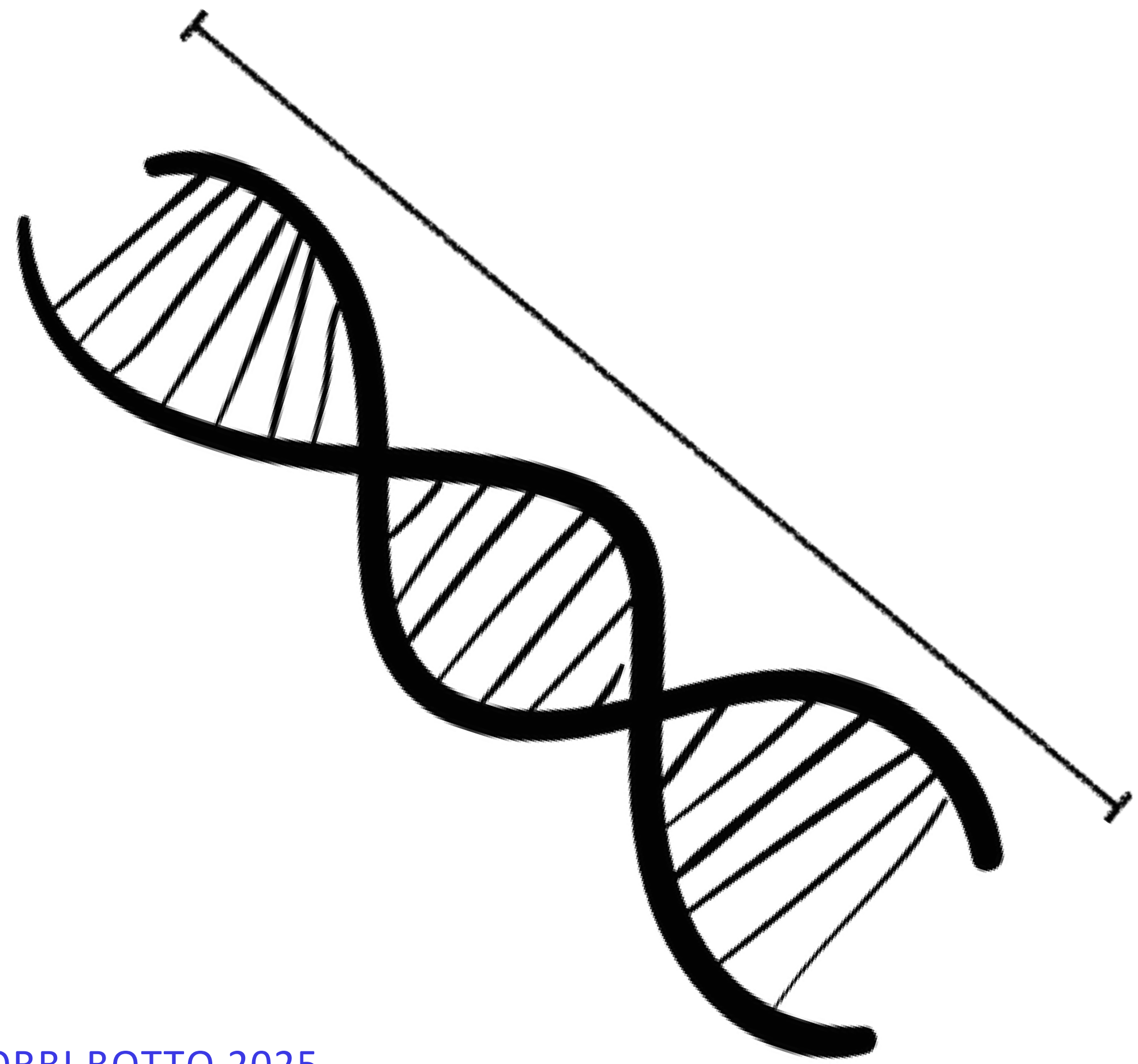


SNPs

Se utilizan ~2000-6000—- > lo que
representa ~ 0.02% del genoma

Informativos de una *proporción* de
la *diversidad genómica*

Genética vs Genómica



WGS

Pasado:

Historia demográfica
Cambios en la diversidad
Endogamia

Presente:

Flujo génico
Diversidad genética y endogamia
Tamaño poblacional

Futuro:

Potencial adaptativo en regiones
funcionales



Genómica: oportunidades y desafíos para la conservación de especies

- 1986 Genómica (Thomas Roderick)
- 1990 Genómica de poblaciones
- 2005 Genómica de la Conservación

De la Genética a la Genómica de la Conservación

THE YEAR IN ECOLOGY AND CONSERVATION BIOLOGY, 2009

From Conservation Genetics to Conservation Genomics

Craig R. Primmer

Opinion

CellPress

Genomics and the challenging translation into conservation practice

Aaron B.A. Shafer¹, Jochen B.W. Wolf¹, Paulo C. Alves², Linnea Bergström¹,

Molecular Ecology (2016) 25, 2967–2977

NEWS AND VIEWS

MEETING REVIEW

Conservation genomics of natural and managed populations: building a conceptual and practical framework

LAURA MARILYN BENESTAN,^{*1} ANNE-LAURE FERCHAUD,^{*1} PAUL A. HOHENLOHE,[†] BRITTANY A. GARNER,^{‡ §} GAVIN J. P. NAYLOR,[¶] ILIANA BRIGITTA BAUMS,^{**} MICHAEL K. SCHWARTZ,^{††} JOANNA L. KELLEY^{‡‡} and GORDON LUIKART^{‡ §}

Trends in Genetics

Review

How genomics can help biodiversity conservation

Kathrin Theissinger,^{1,36} Carlos Fernandes,^{2,3,36} Giulio Formenti,^{4,36} Iliana Bista,^{5,6} Paul R. Berg,^{7,8,9}

Genomics and the future of conservation genetics

Fred W. Allendorf^{**}, Paul A. Hohenlohe^{§||} and Gordon Luikart^{*#}

Conserv Genet (2010) 11:643–653
DOI 10.1007/s10592-009-0016-9

RESEARCH ARTICLE

An essay on the necessity and feasibility of conservation genomics

N. Joop Ouborg · Francesco Angeloni · Philippine Vergeer

Conservation Genomics of Threatened Animal Species

Cynthia C. Steiner,¹ Andrea S. Putnam,² Paquita E.A. Hoeck,¹ and Oliver A. Ryder¹

Comparative Genomics and Molecular Evolution

Cytogenetic and Genome Research
Cytogenet Genome Res 108:6–15 (2005)
DOI: 10.1159/000080796

Conservation genomics: applying whole genome studies to species conservation efforts

O.A. Ryder

De la Genética a la Genómica de la Conservación

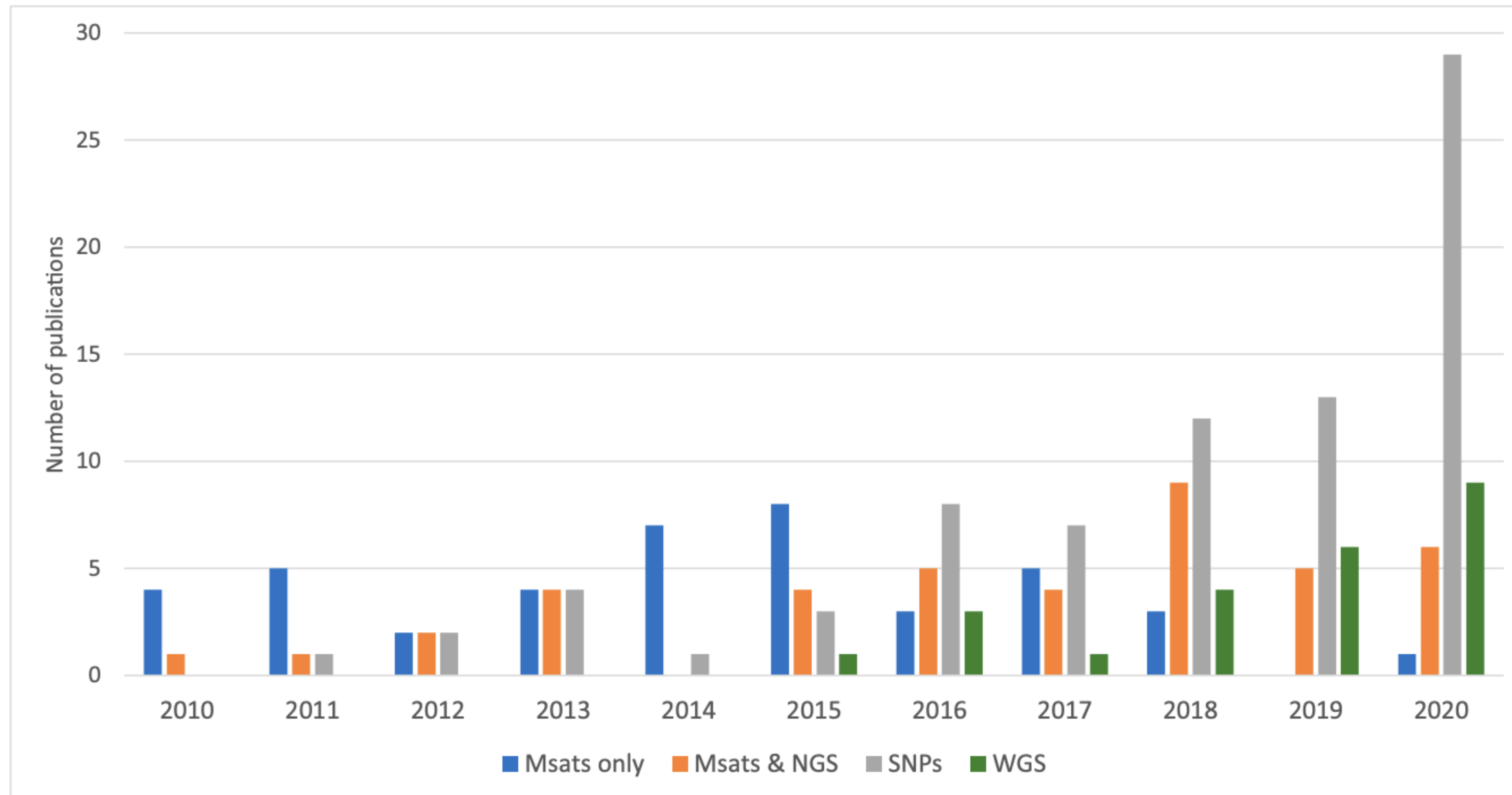
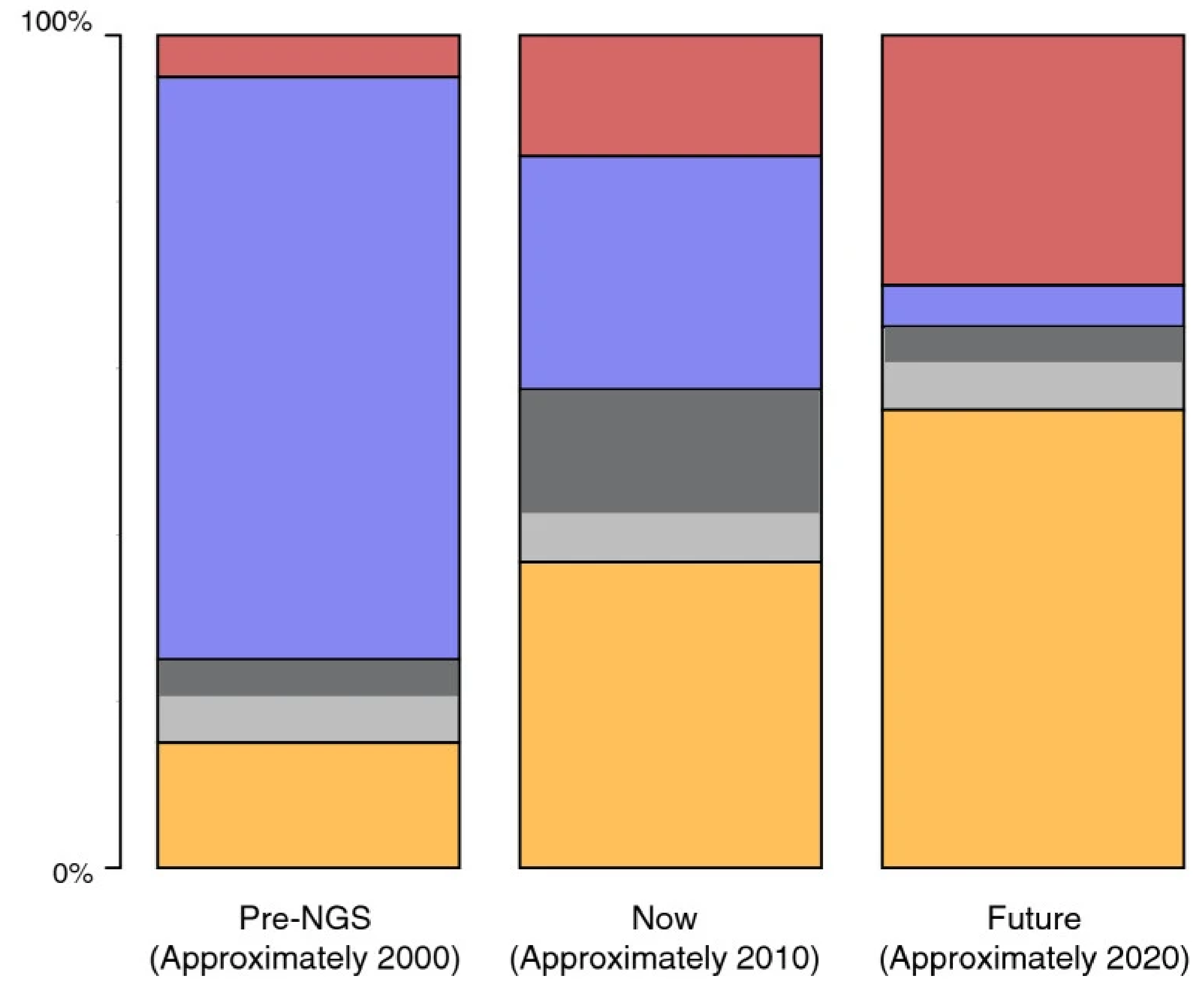
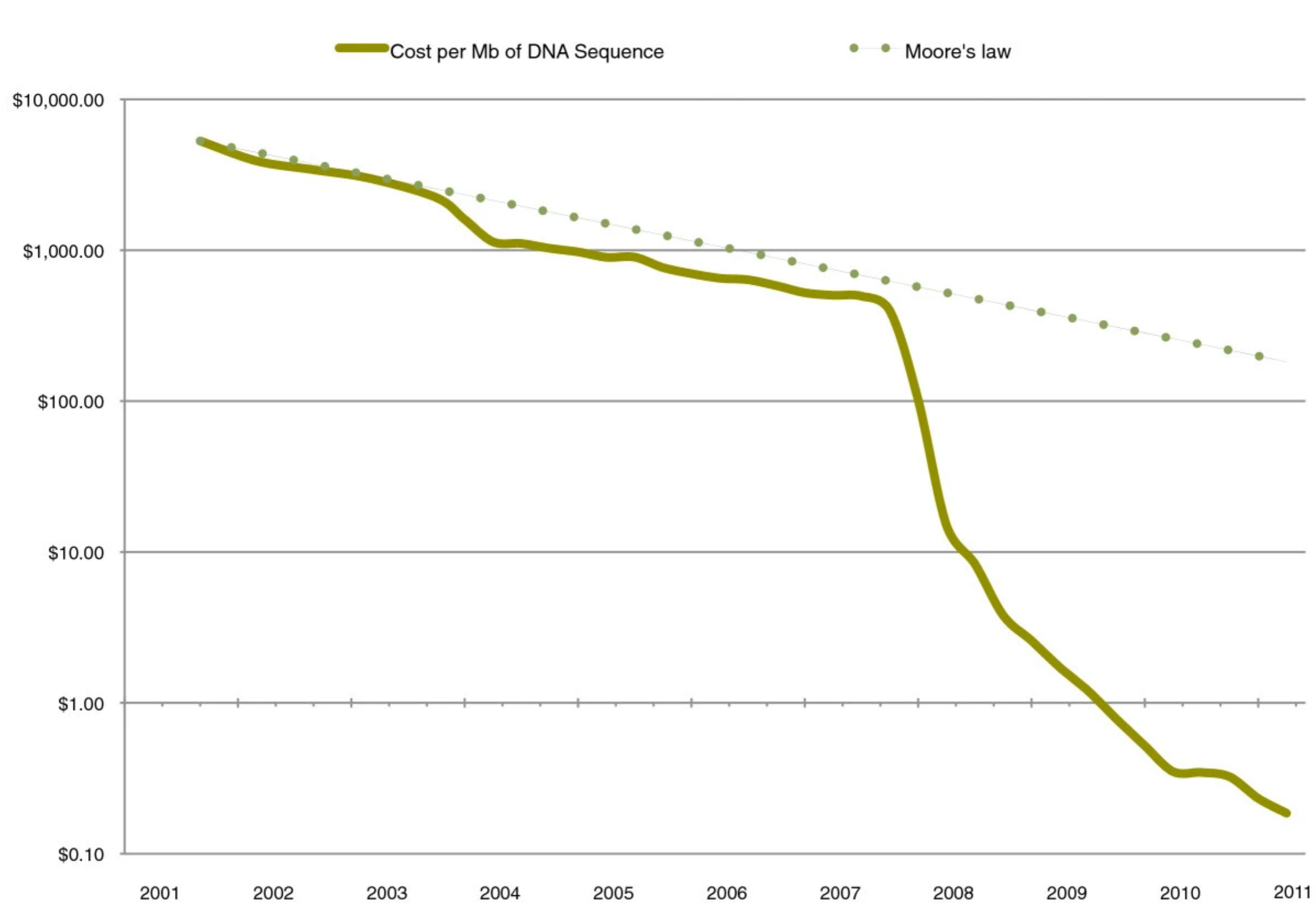


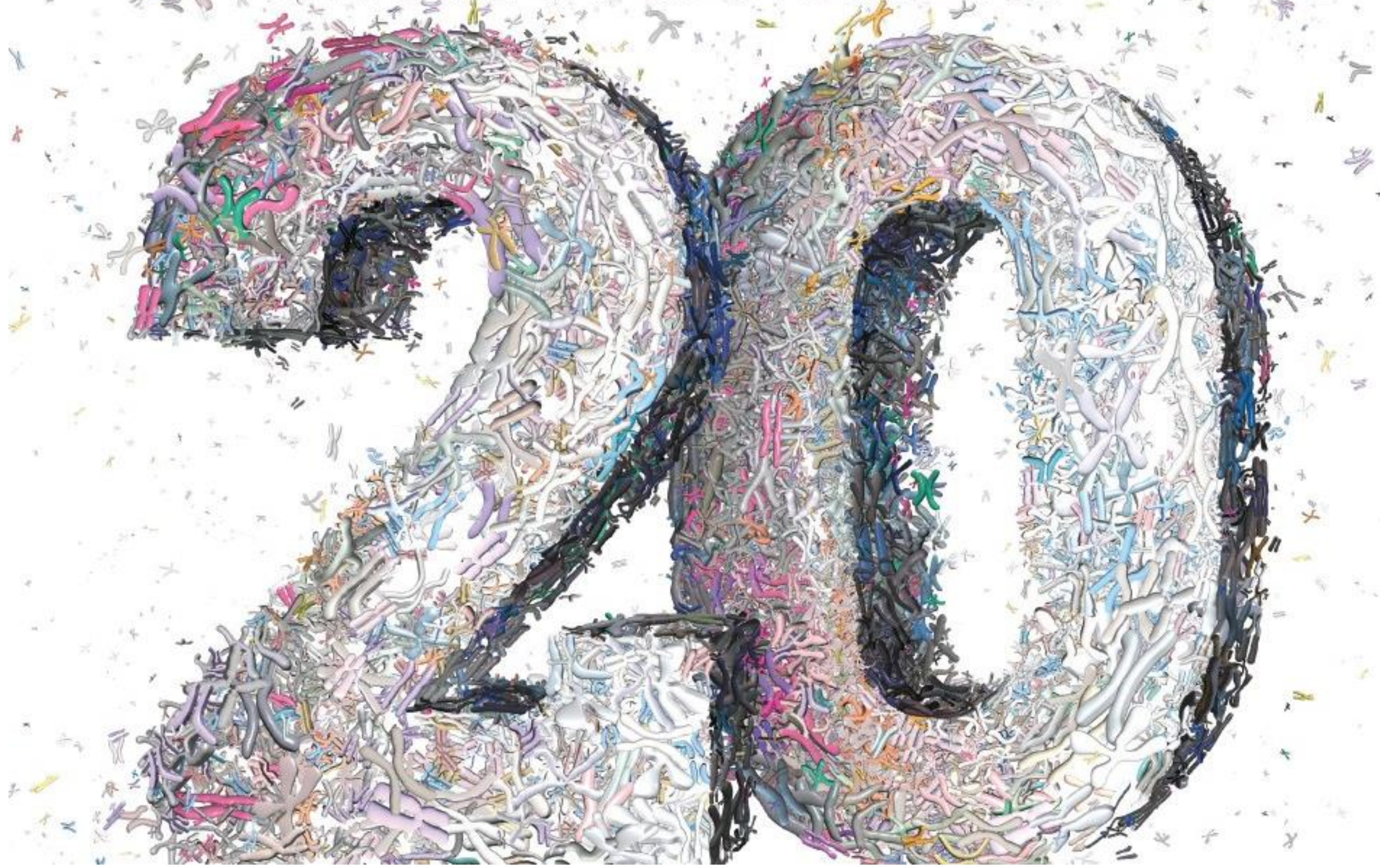
Fig. 1. Number of peer-reviewed publications using nuclear DNA for threatened/endangered species conservation management using microsatellite markers (msats only), those using a combination of microsatellites and next-generation sequence (msats and NGS) data (transcriptomes, RADseq, whole-genomes, SNPs), SNPs only, and WGS between 2010 and 2020.

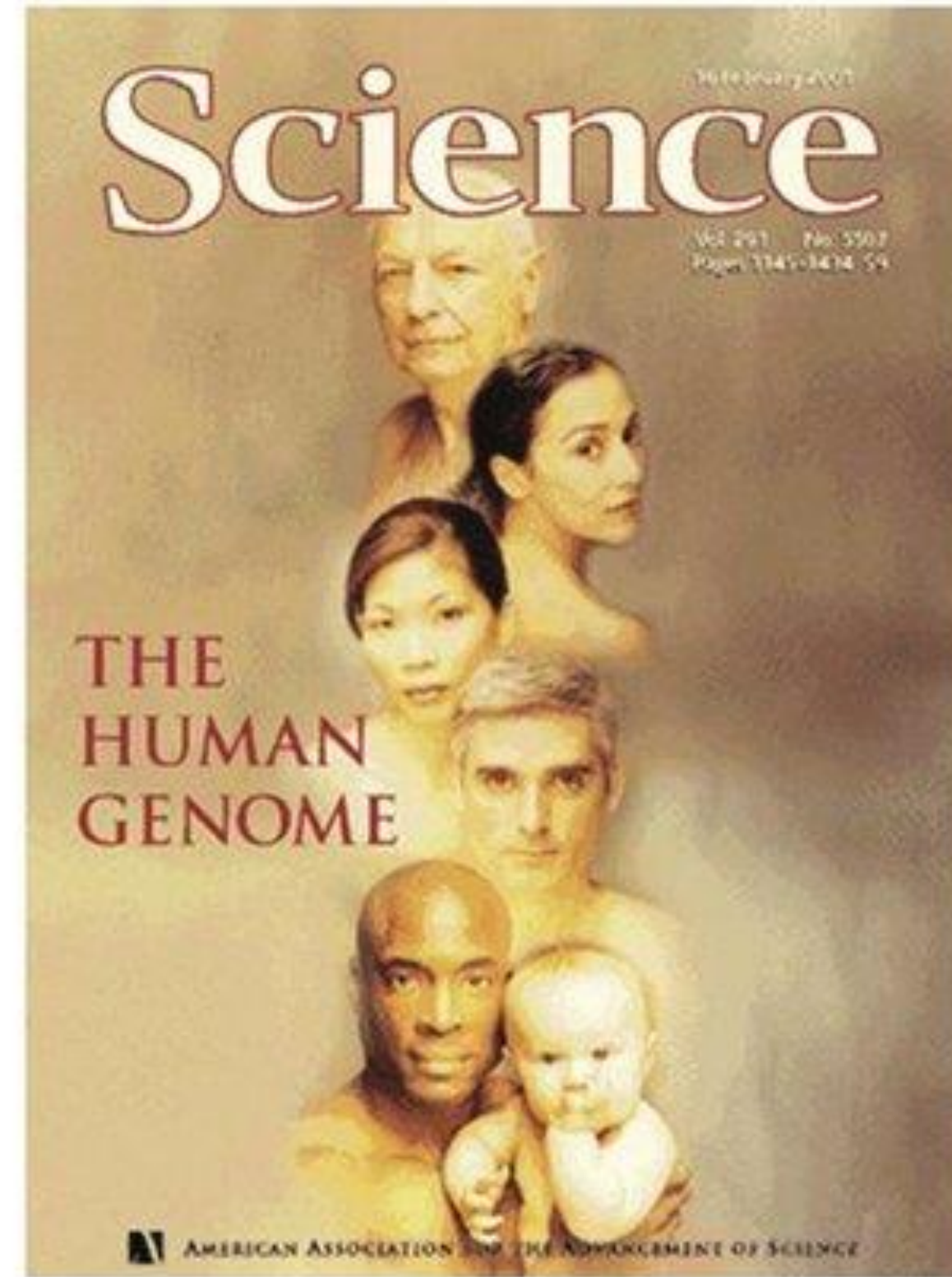
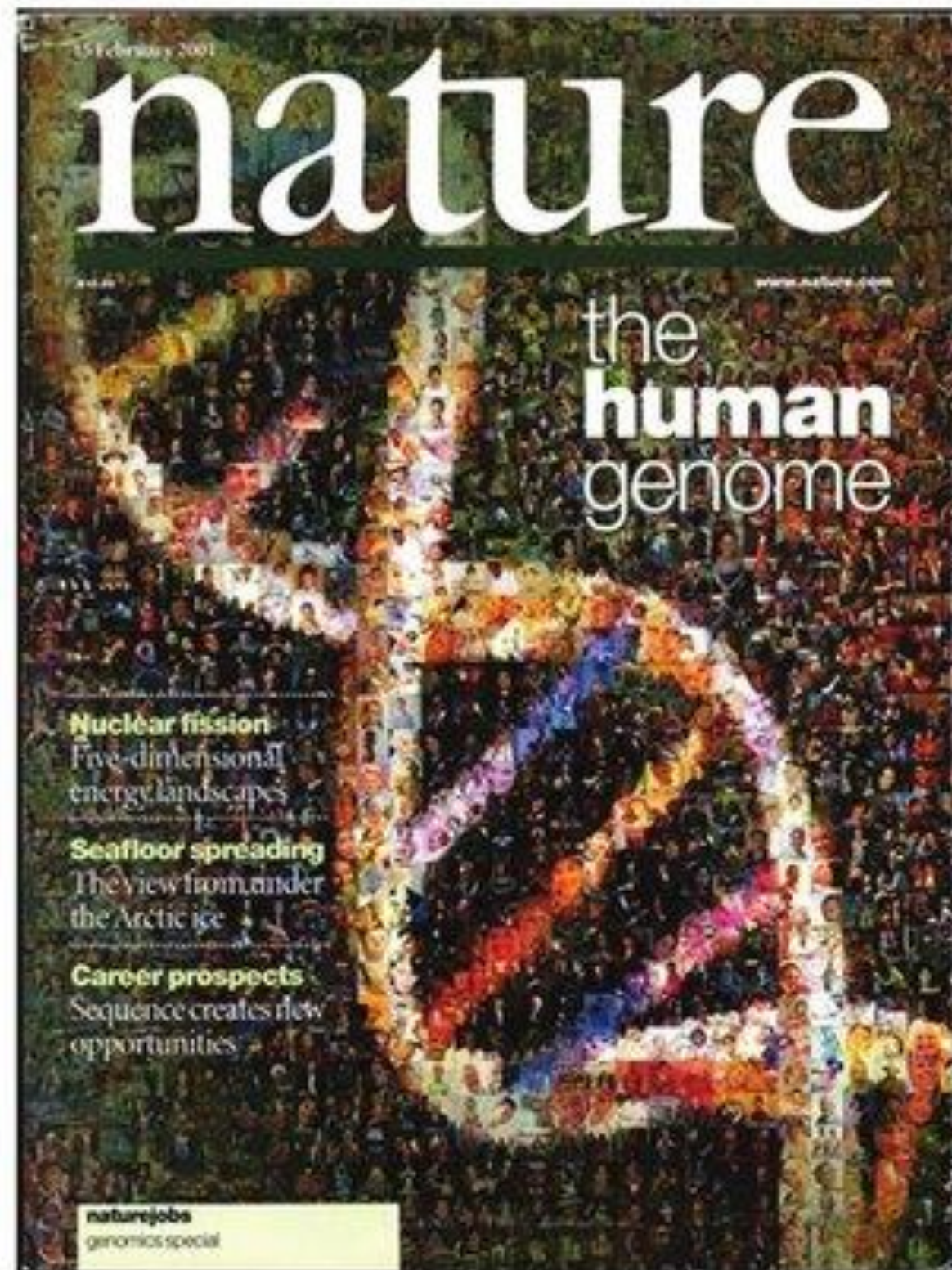
Hogg *et al.*, 2021

De la Genética a la Genómica de la Conservación

■ Sample collection and experimental design
 ■ Sequencing
 ■ Data reduction
 ■ Data management
 ■ Downstream analyses







Microhabitats save mammals, but not birds, from warming pp. 553 & 633

Gut microbiota modulate immunotherapy pp. 573, 595, & 602

Physically distanced quantum gates pp. 576 & 614

Science

\$15
5 FEBRUARY 2021
sciencemag.org

AAAS

SPECIAL ISSUE

HUMAN GENOME AT



< 1%

De las especies listadas por la IUCN como amenazadas tienen recursos genómicos publicados*



CATALAN
INITIATIVE
FOR THE
EARTH
BIOGENOME
PROJECT

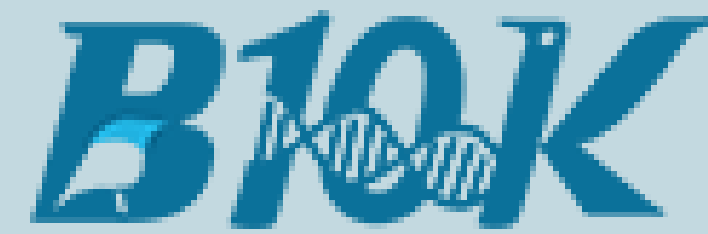


BIOPLATFORMS
AUSTRALIA

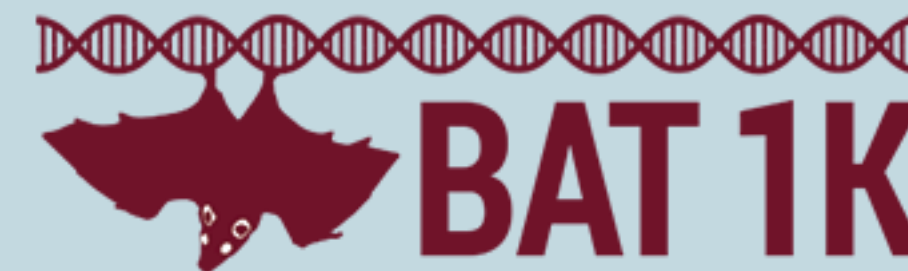


> 1%

De las 35.500 especies listadas por la IUCN como amenazadas tienen recursos genómicos publicados



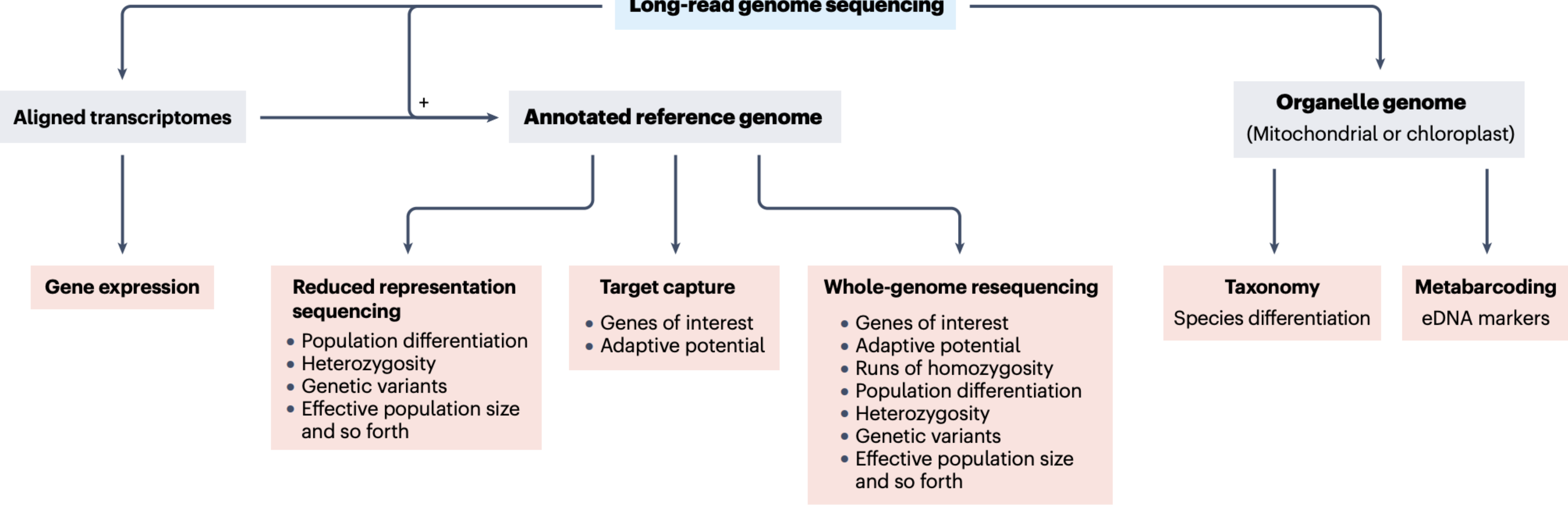
Darwin
TREE
of
LIFE

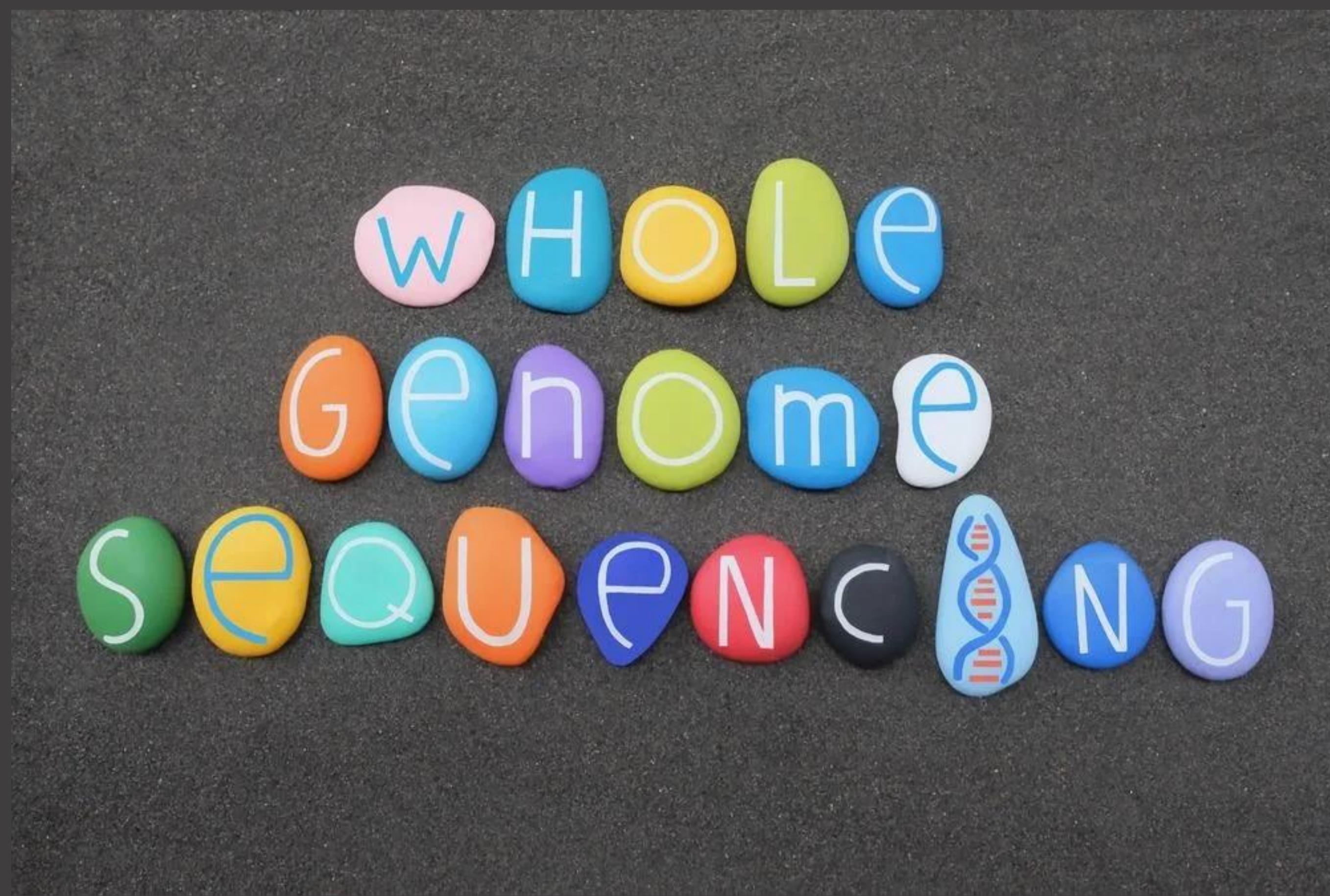
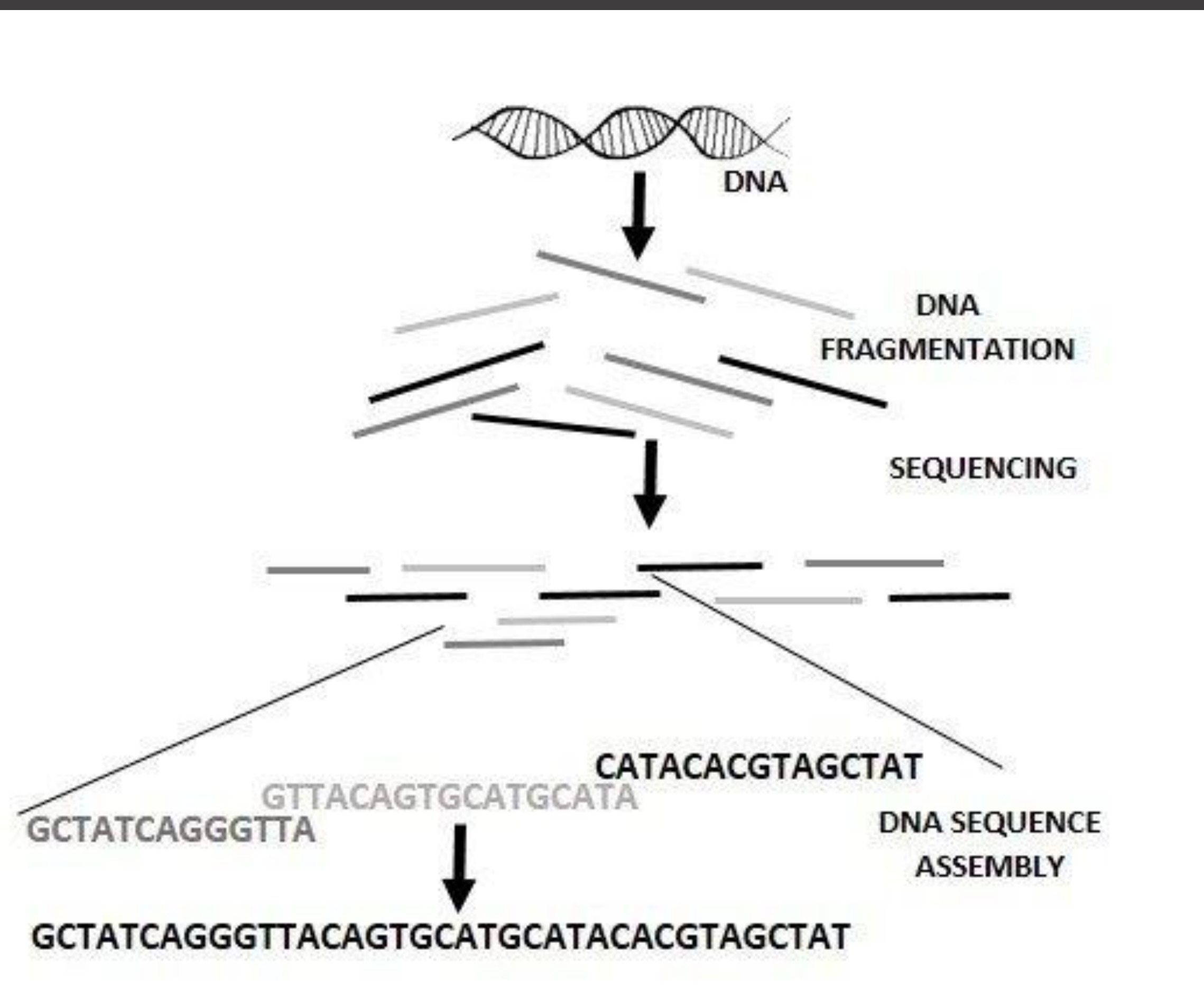


Genomas de referencia



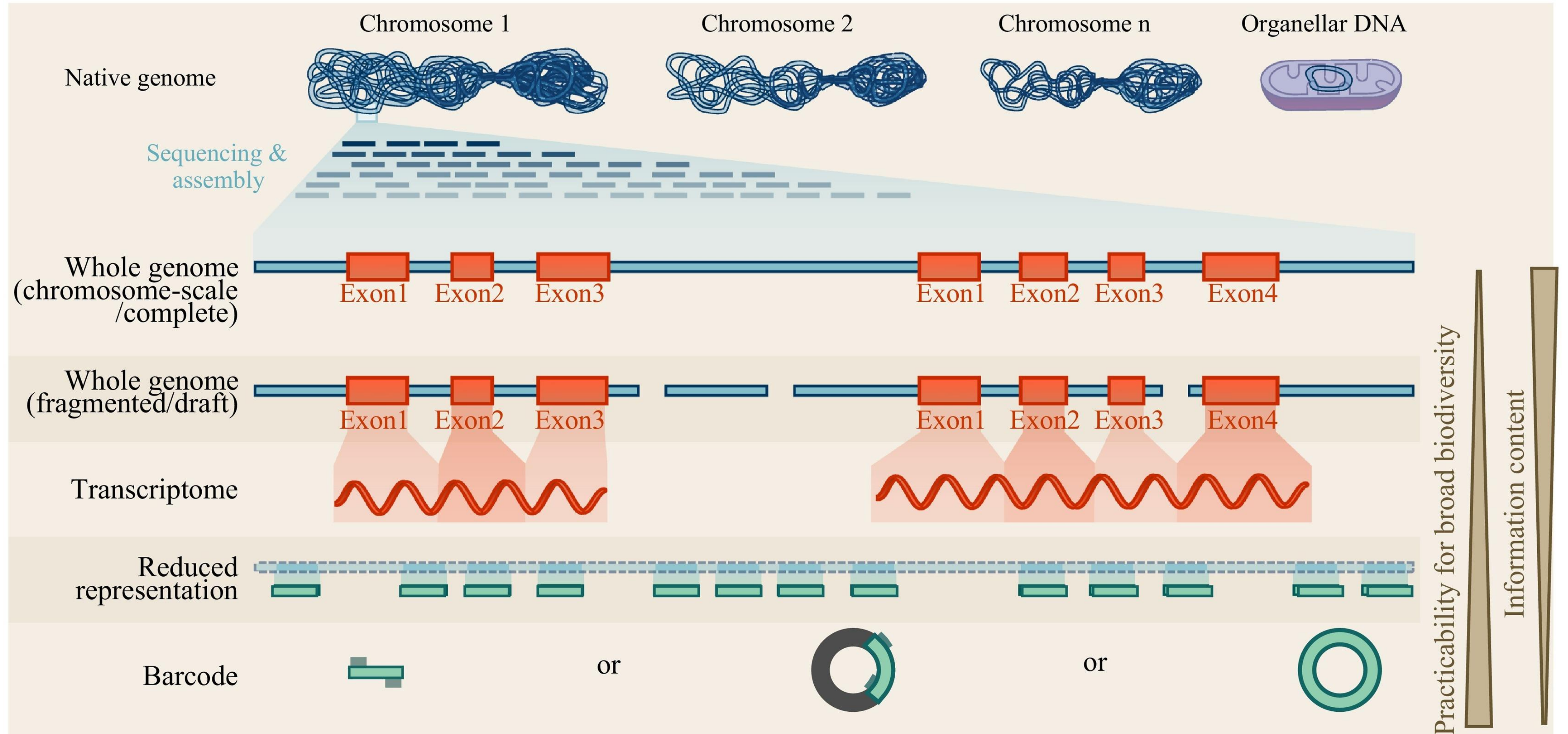
Long-read genome sequencing





Secuenciación de representación reducida

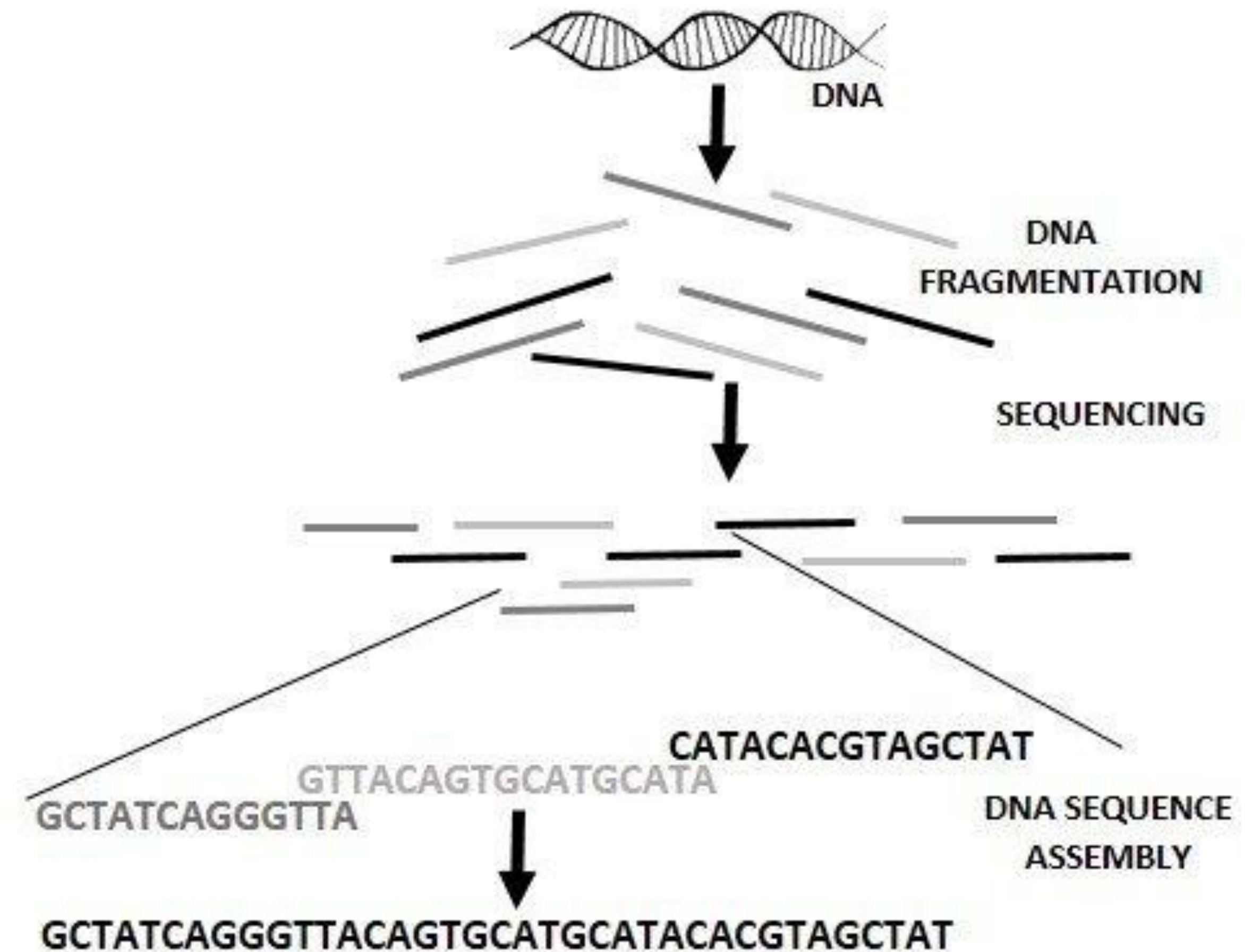
Abordajes genómicos y biodiversidad



Aproximaciones por NGS

Métodos basados en ADN

- 1 - fragmentación o digestión al azar con una o más enzimas de restricción
- 2- selección de fragmentos por tamaño
- 3- secuenciación utilizando una plataforma de NGS
- 4- identificación de polimorfismos



Aproximaciones por NGS

Métodos basados en ARN

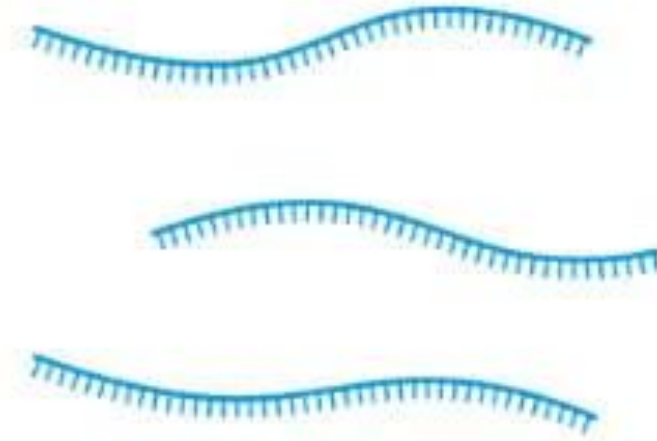
1 - aislamiento, fragmentación y retrotranscripción de ARN poly-A celular para generar fragmentos de ADNc

2 - preparación de librerías a partir de los ADNc generados

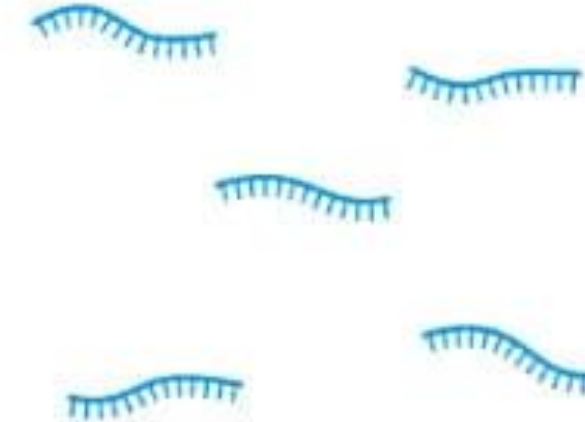
3- secuenciación de las librerías utilizando una plataforma de NGS

RNA Sequencing

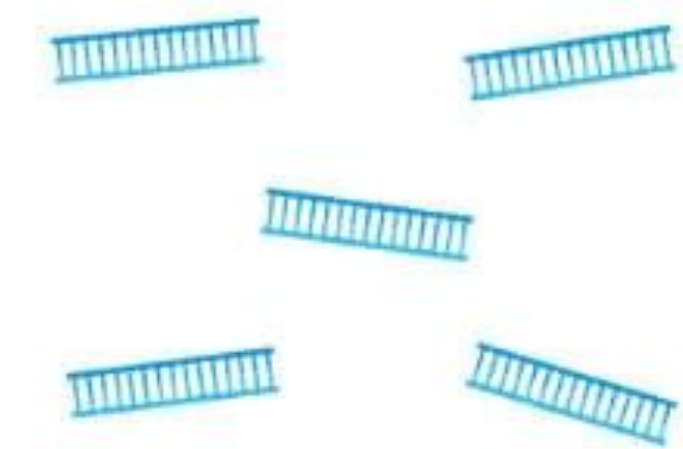
① Isolate RNA from samples



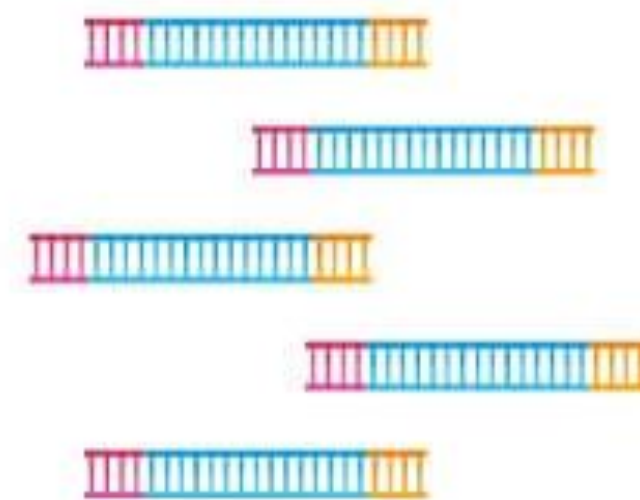
② Fragment RNA into short segments



③ Convert RNA fragments into cDNA



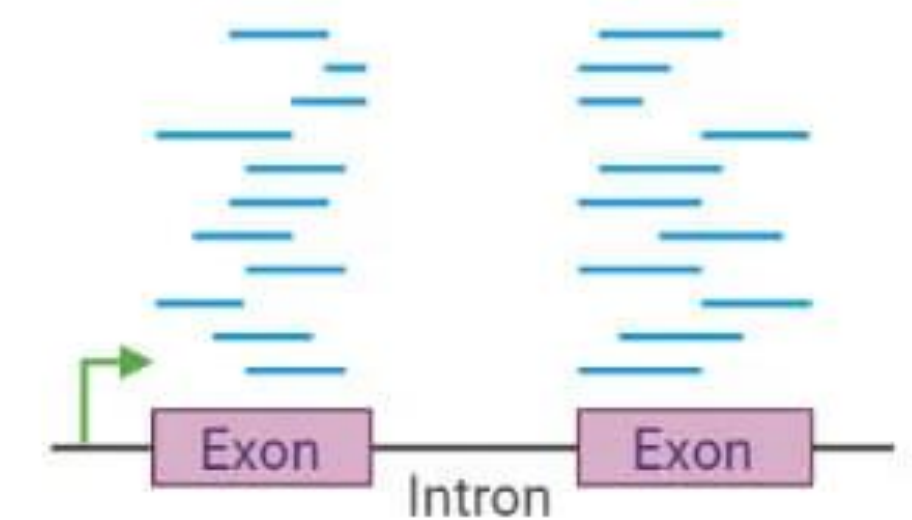
④ Ligate sequencing adapters and amplify



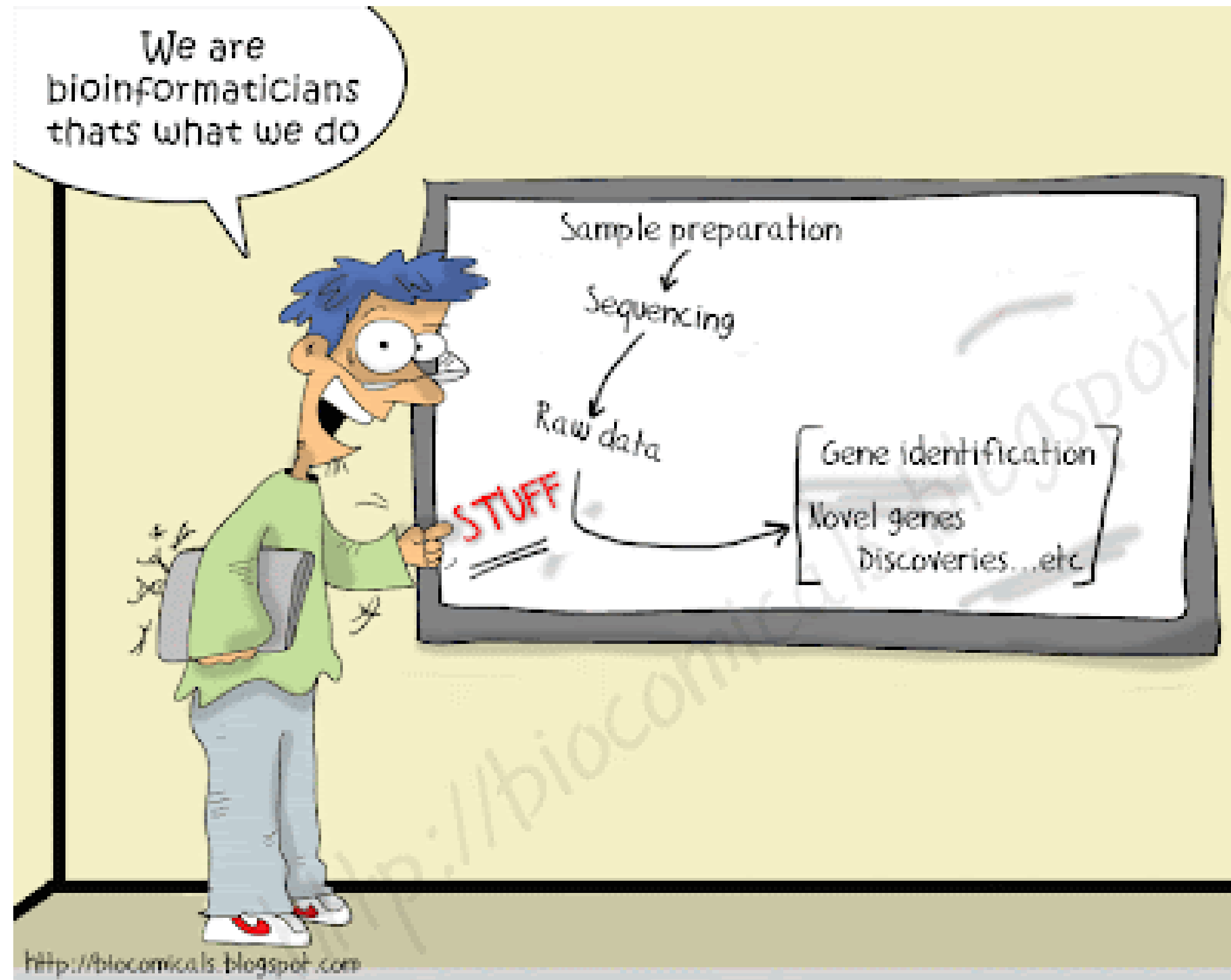
⑤ Perform NGS sequencing



⑥ Map sequencing reads to the transcriptome/genome

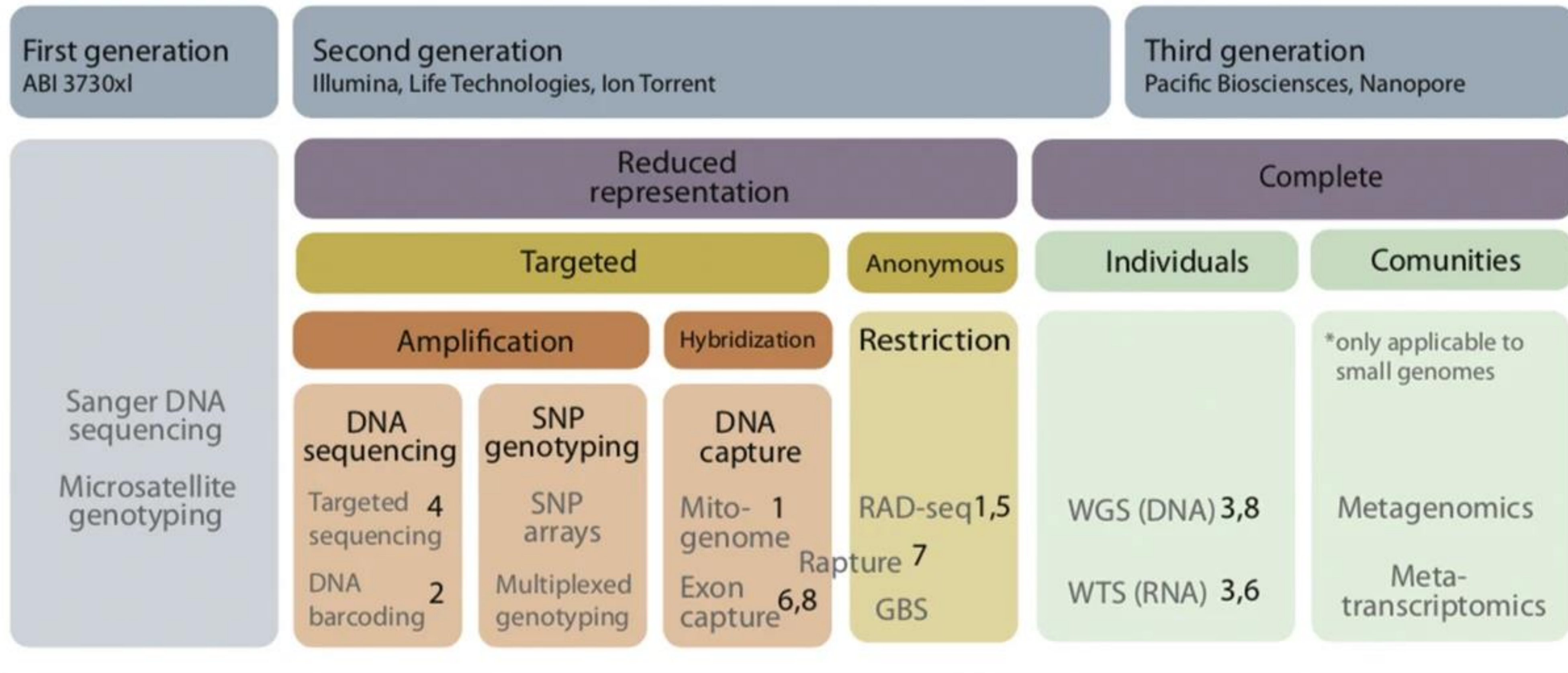


Puntos a tener en cuenta...

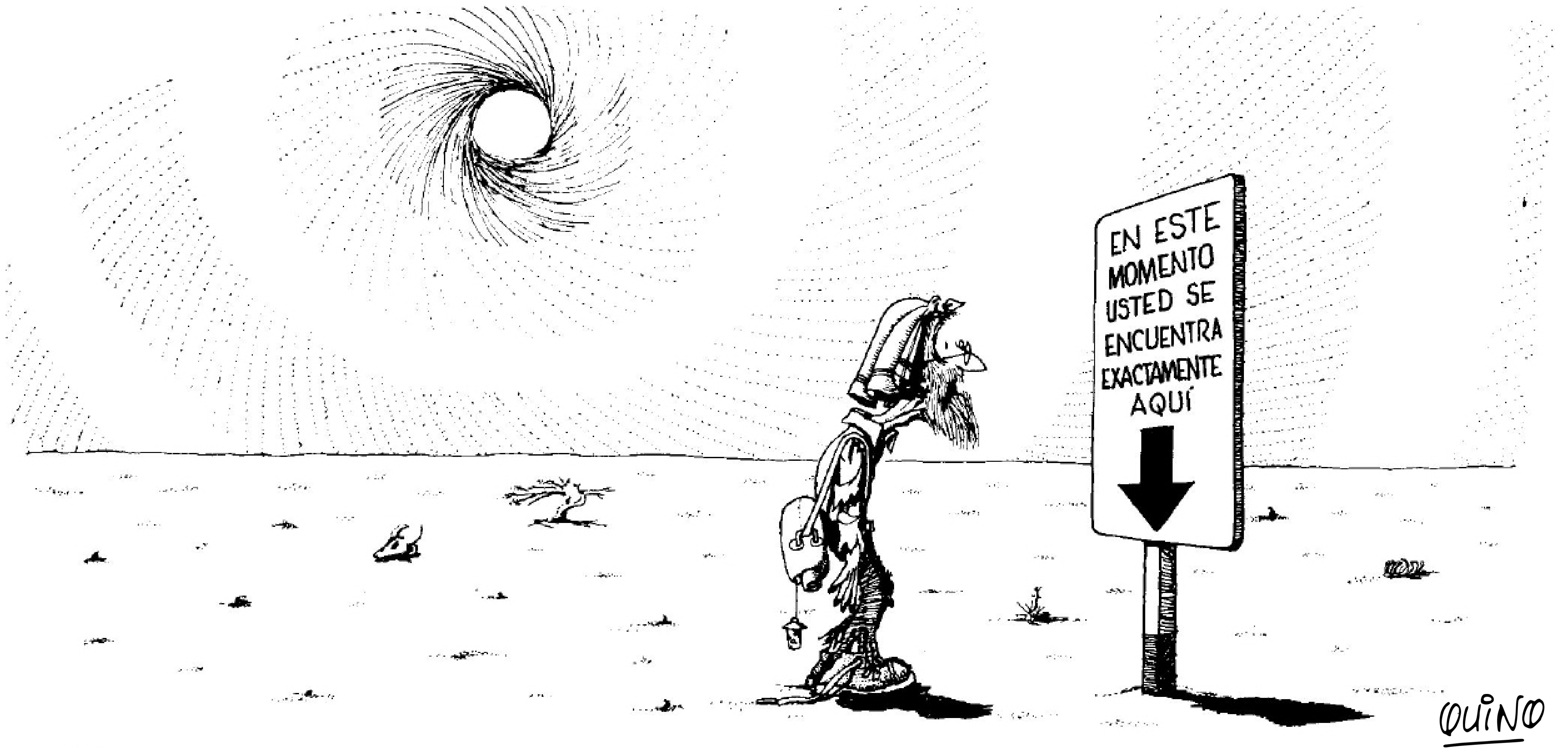


- Obtención de la muestra
- Tipo de muestras
- Disponibilidad de genoma de referencia
- Costo computacional
- Presupuesto

Sequencing approaches



Genome coverage	-	-	-	~2%	~0.1-10%	~90%	~90%*
Number loci	1-30	10-100's	100-1,000's	100-10,000's	1,000-100,000's	1,000,000's	1,000-100,000's
Sample quality	Low	Low	Low-moderate	Low	Moderate-high	High	Low
Sequencing effort	Low	Low-moderate	Low-moderate	Low	Moderate-high	Very high	Moderate-high
Development cost	\$	\$-\$\$\$	\$\$	\$\$\$	-	-	-
Cost per sample	\$-\$\$	\$	\$	\$	\$\$\$	\$\$\$-\$\$\$\$	\$\$-\$\$\$



Soluciones genómicas



Estimación de parámetros demográficos

Diversidad genética

Estructura poblacional

Identificación de Unidades de Conservación,
Unidades Evolutivamente Significativas, Unidades
de Manejo

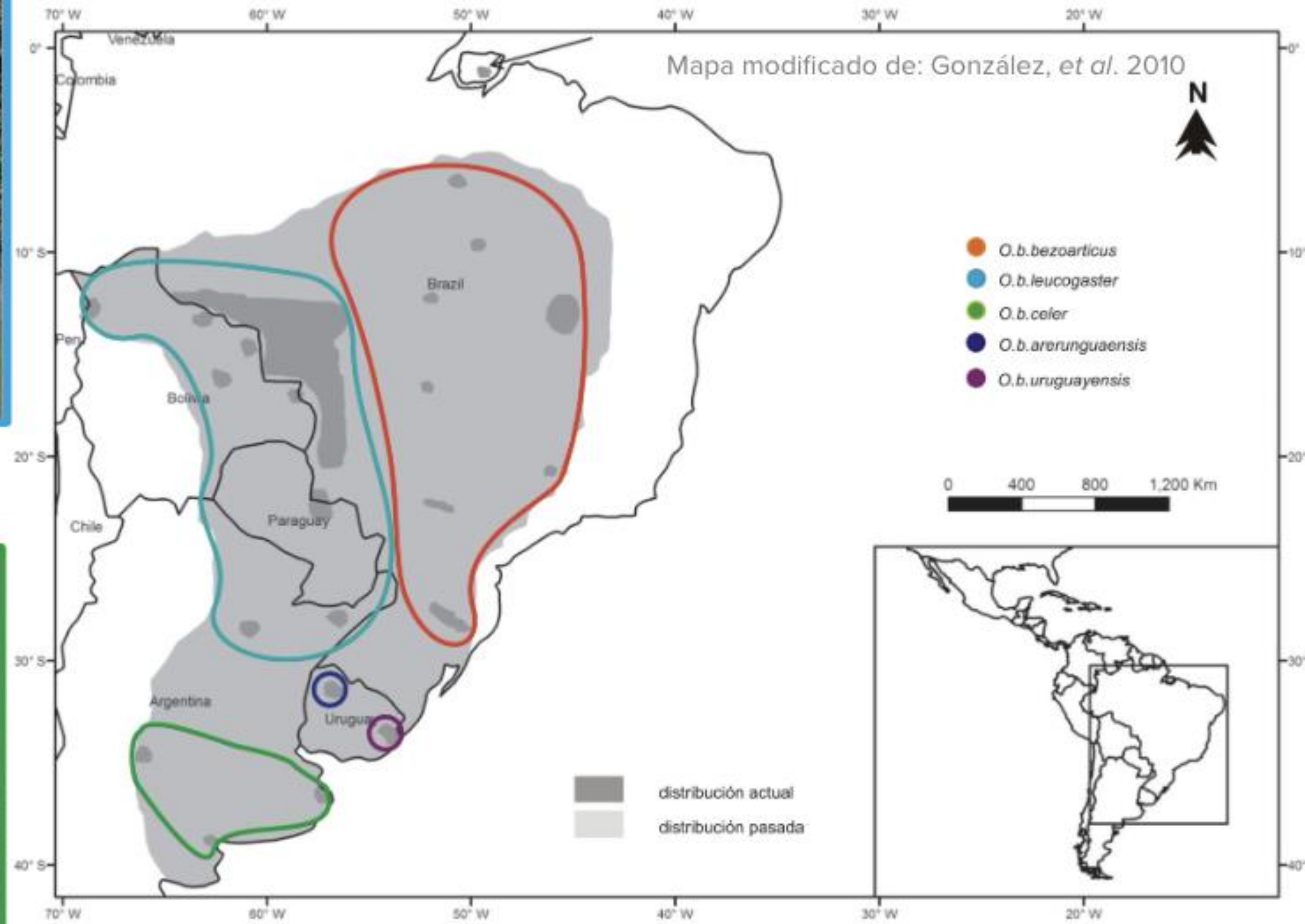
Reducción de la adaptación en cautiverio

Predicción de efectos de la depresión endogámica

Predicción de la viabilidad poblacional

Predicción de la capacidad de adaptación al
cambio climático y otros desafíos antropogénicos

Venado de campo, *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758)



Subespecies
(Cabrera, 1943; González et al., 2002)

Genómica para la conservación del venado de campo en Uruguay

Distribución geográfica del venado de campo, *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758)



Mapa tomado de Cosse, 2001



CAUSAS



Poblaciones pequeñas y aisladas

> riesgo de extinción

Genómica para la conservación del venado de campo en Uruguay

Población silvestre de
O. b. arerunguensis
120 km², N ~ 2000



Población en cautiverio
de *O. b. arerunguensis*
~ 150 individuos



~ 2500 ejemplares
2 subespecies (González *et al.*, 2002)

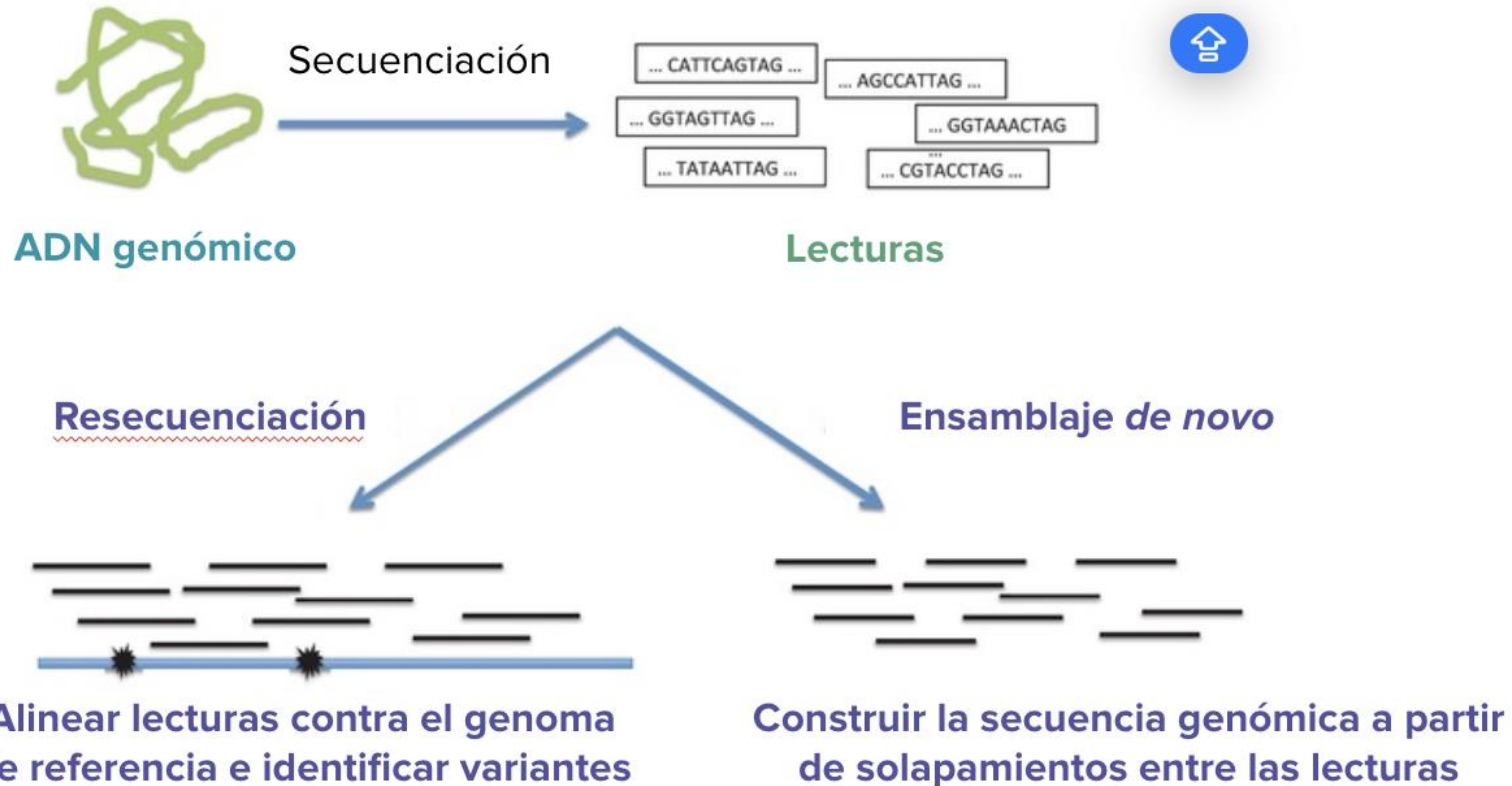
Poblaciones actuales de venado de campo en Uruguay

Población silvestre de
O. b. uruguayensis
15km² ~300 individuos

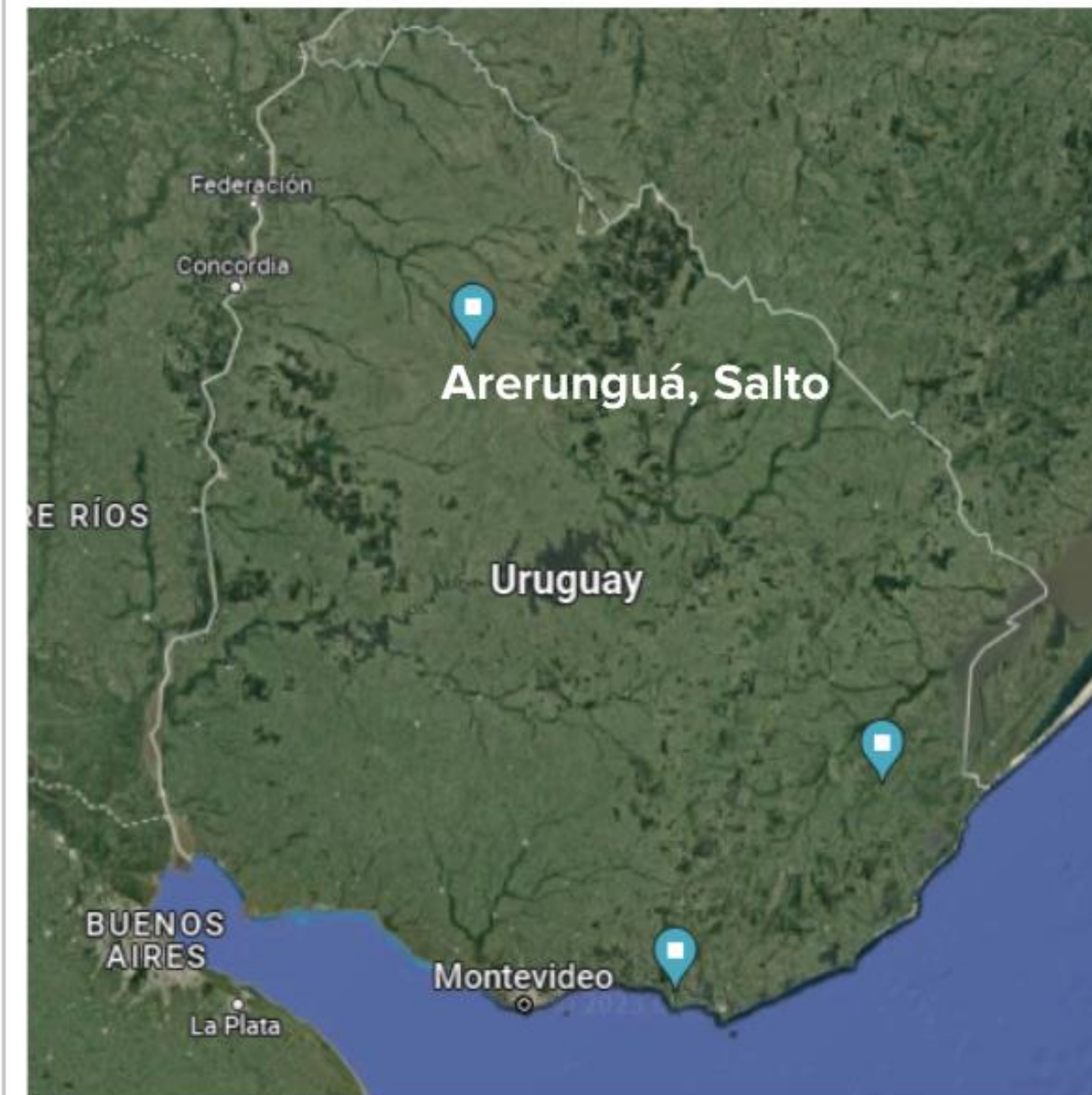


- ✓ Especie focal conservación del paisaje de pastizal
- ✓ Papel ecológico importante
 - herbívoro
 - agente dispersor de semillas

Genómica para la conservación del venado de campo en Uruguay



Genómica para la conservación del venado de campo en Uruguay



Ensamblaje y anotación del genoma de referencia **Etapa 1**



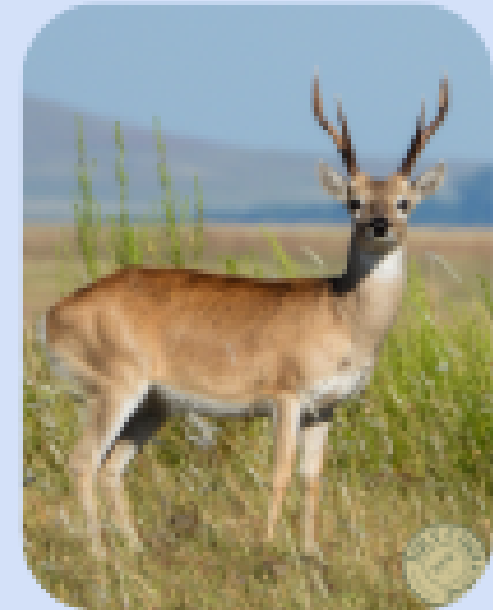
Subespecie: *O.b. arerunguaensis*

Población: Arerunguá, Salto

N = 1 ejemplar macho

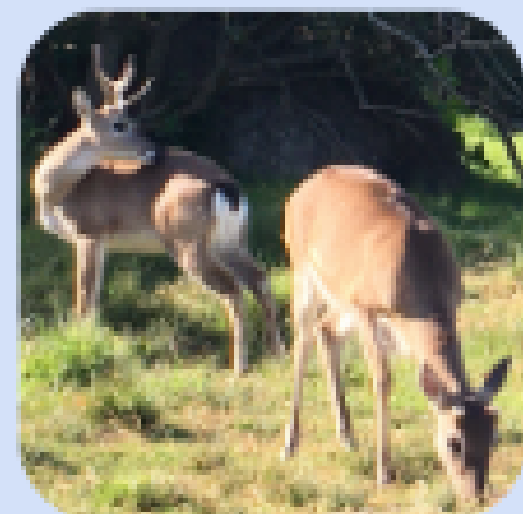
Banco de muestras Dpto Biodiversidad y Genética

Genómica para la conservación del venado de campo en Uruguay



Subespecie: *O.b. arerunguaensis*
Población: Arerunguá, Salto
N = 9

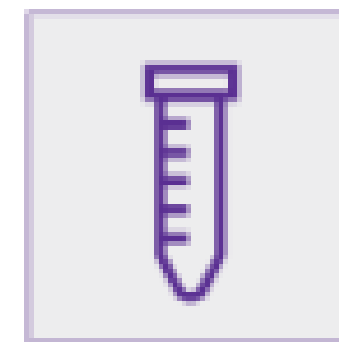
Subespecie: *O.b. uruguayensis*
Población: Sierra Los Ajos, Rocha
N = 10



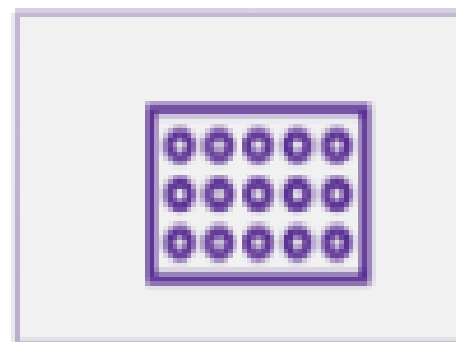
Subespecie: *O.b. arerunguaensis*
Población: ECFA, Maldonado
N = 10

Resecuenciación (WGR)

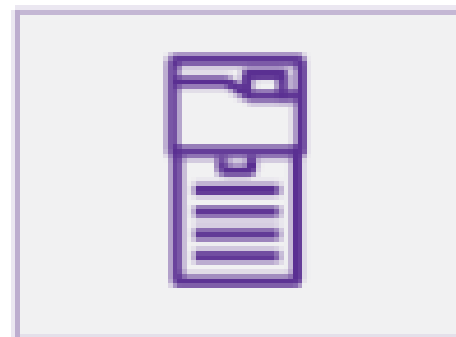
Etapa 2



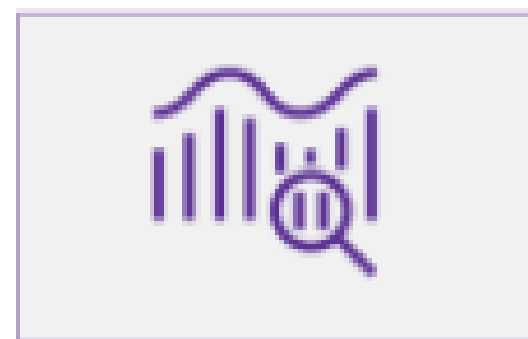
Extracción de
ADN genómico



Preparación de las librerías



Secuenciación 5X,
lecturas pareadas 150 pb

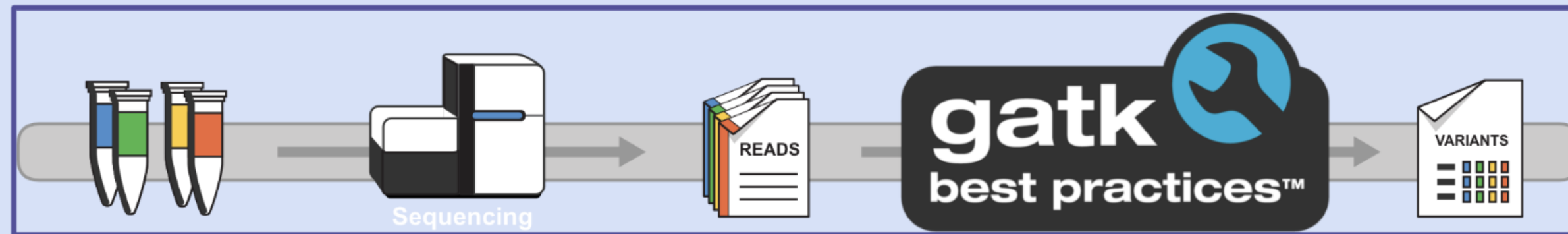


Obtención de los datos

Genómica para la conservación del venado de campo en Uruguay

Etapa 2

Rastrear SNPs polimórficos en el genoma de venado de campo



- Alineamiento de las lecturas crudas al genoma de referencia de *Ozotoceros bezoarticus*.
 - Obtención del perfil genómico de la especie.
 - Cantidad y tipo de variantes (SNPs, InDels, CNV).

Estimar

los niveles de endogamia de las dos poblaciones en estado silvestre y en la población en cautiverio

Evaluar

si a nivel genómico existen huellas que denotan procesos adaptativos sufridos por la especie

Inferir

eventos demográficos recientes

Analizar

si el manejo diferencial de las poblaciones modifica el paisaje genómico



Muchas gracias por su atención.