



Genómica de la conservación de la especie *Daphne gnidium* en poblaciones costeras atlánticas de Galicia

Carlos Mirás-Viña¹, Adrián Casanova¹, Fernando Cabana¹, Miguel Hermida¹, Andrés Blanco¹,
Javier Ferreiro², Pablo Ramil², Carmen Bouza¹, Manuel Vera¹
carlosmirasvina@gmail.com

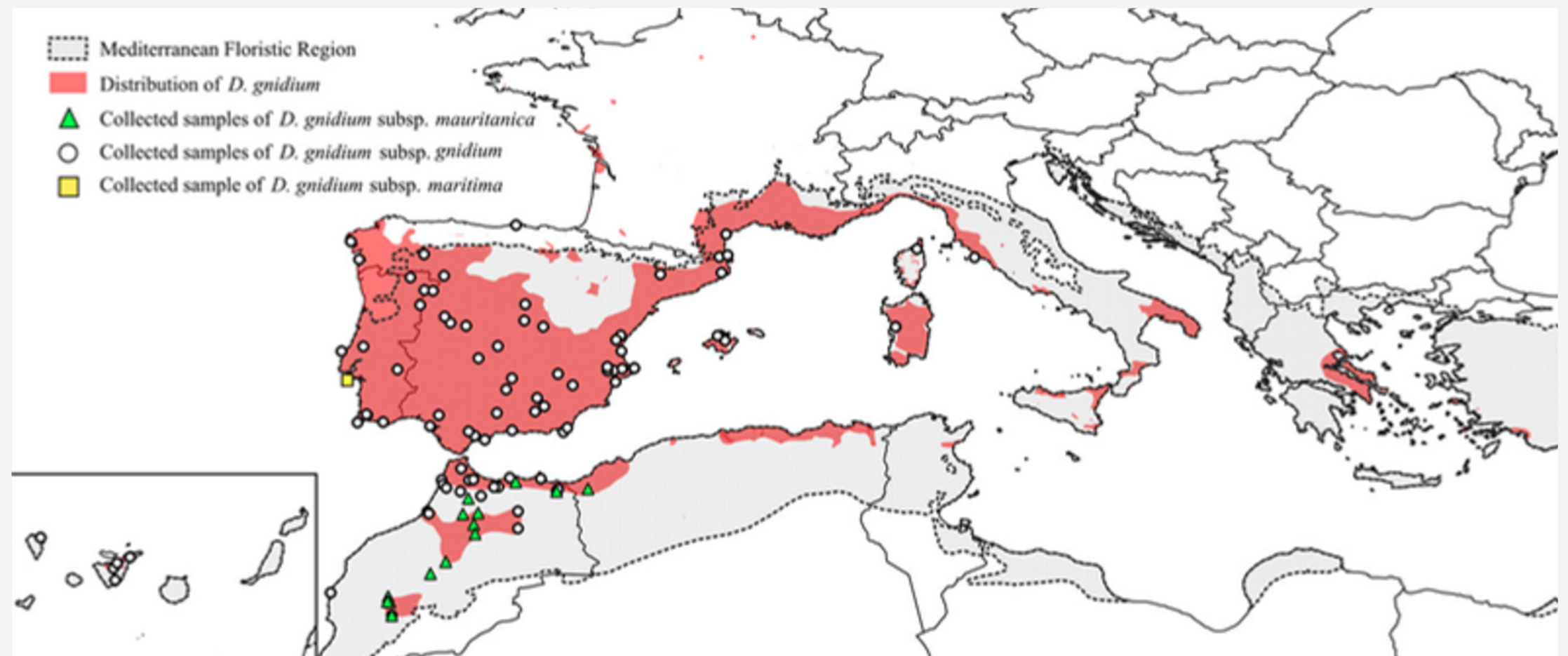
1. Grupo de investigación ACUIGEN (GI-1251), Departamento de Zoología, Genética y Antropología Física, Facultad de Veterinaria, Campus Terra, Universidade de Santiago de Compostela, 27002, Lugo, España, mcarmen.bouza@usc.es, manuel.vera@usc.es
2. 2. GI-1934-TB, IBADER, Campus Terra, Universidade de Santiago de Compostela, 27002, Lugo, España, ramil.rego@usc.es

Introducción

Daphne gnidium



- Arbusto de tipo esclerófilo (torvisco).
- Reproducción sexual: producción de frutos con semilla.
- Gran capacidad de revegetación.



Fuente: Ramos-Capón *et al.* (2024).

Introducción

Daphne gnidium

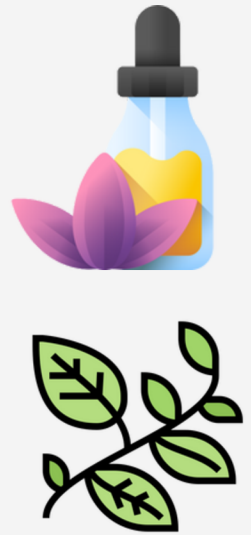


Compuestos
fitoquímicos

Propiedades
biológicas

Aceites esenciales

Extractos



Evitan su erosión

Proporciona
hábitat y recursos



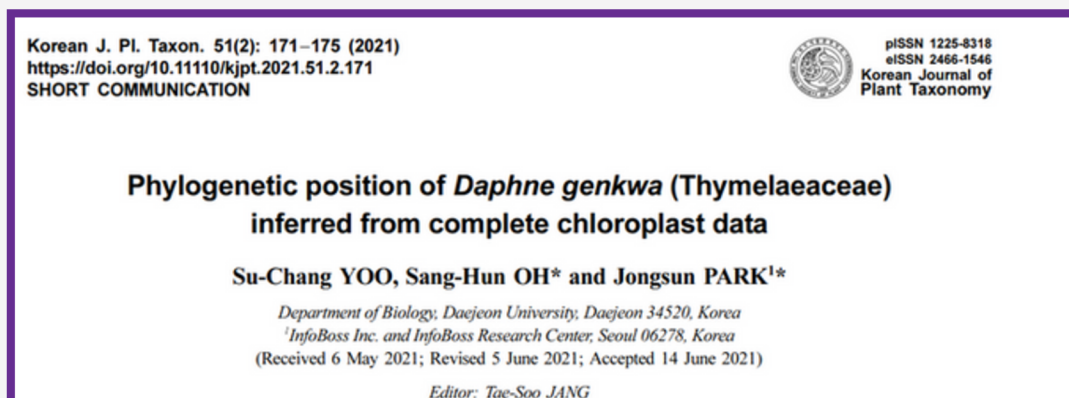
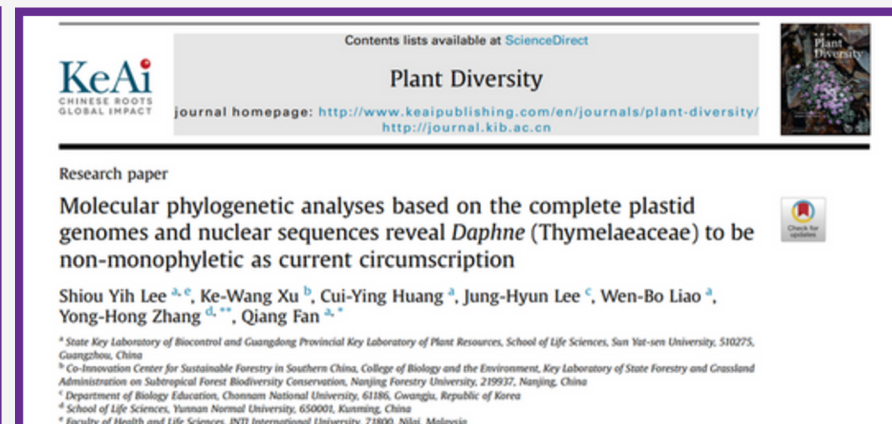
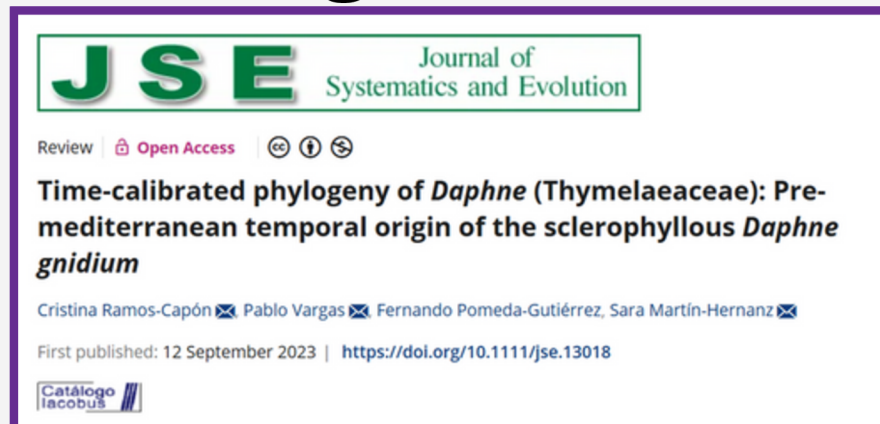
Introducción

Estudios genéticos previos

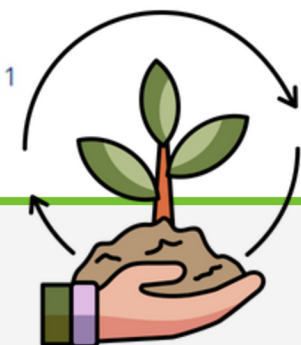
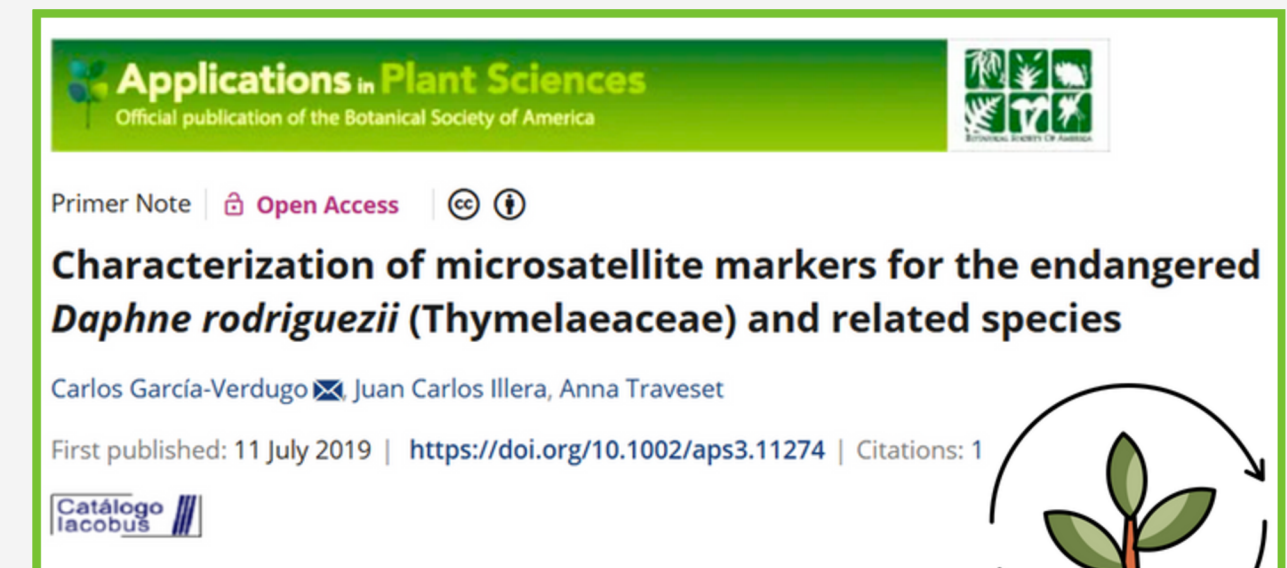
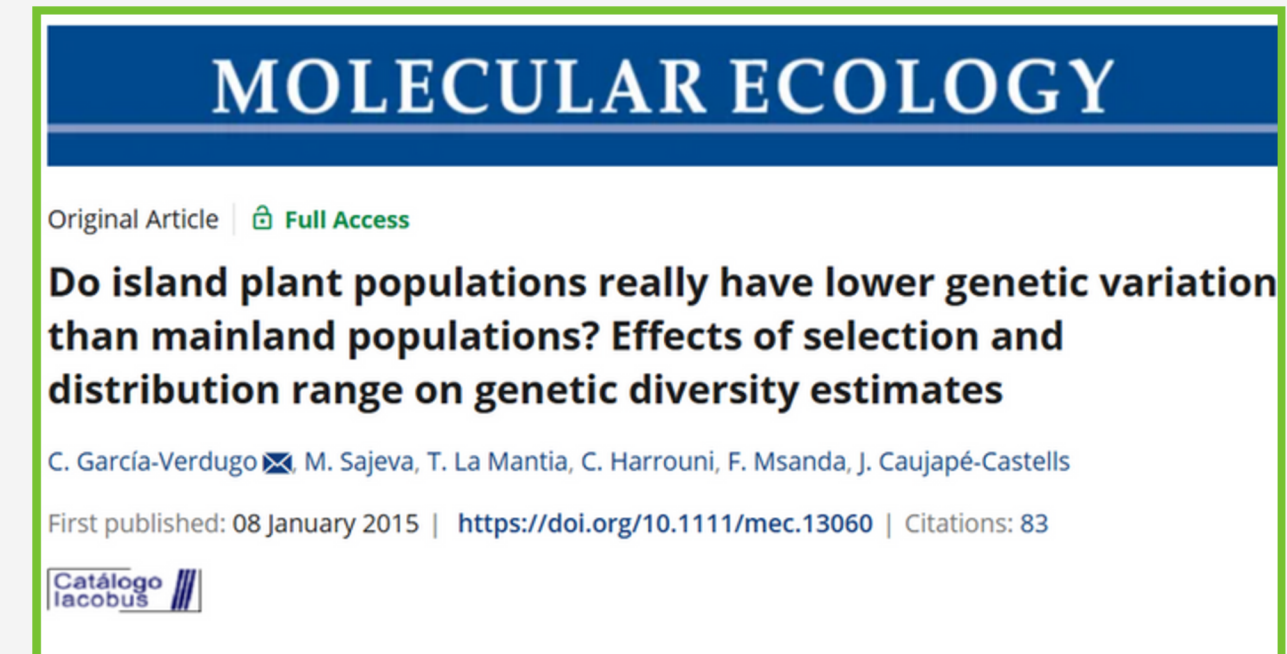
• Bioquímica



• Filogenia



• Conservación



Introducción

Marcadores moleculares

```
CTTCAGCATATGCAG
      TATGCAGC
TCCTTCAGCATA
      GCATATGCAGC
      CAGCATATGC
....TCCTTCAGCATTTCAGC....
```

SNPs



Abundancia y
estabilidad

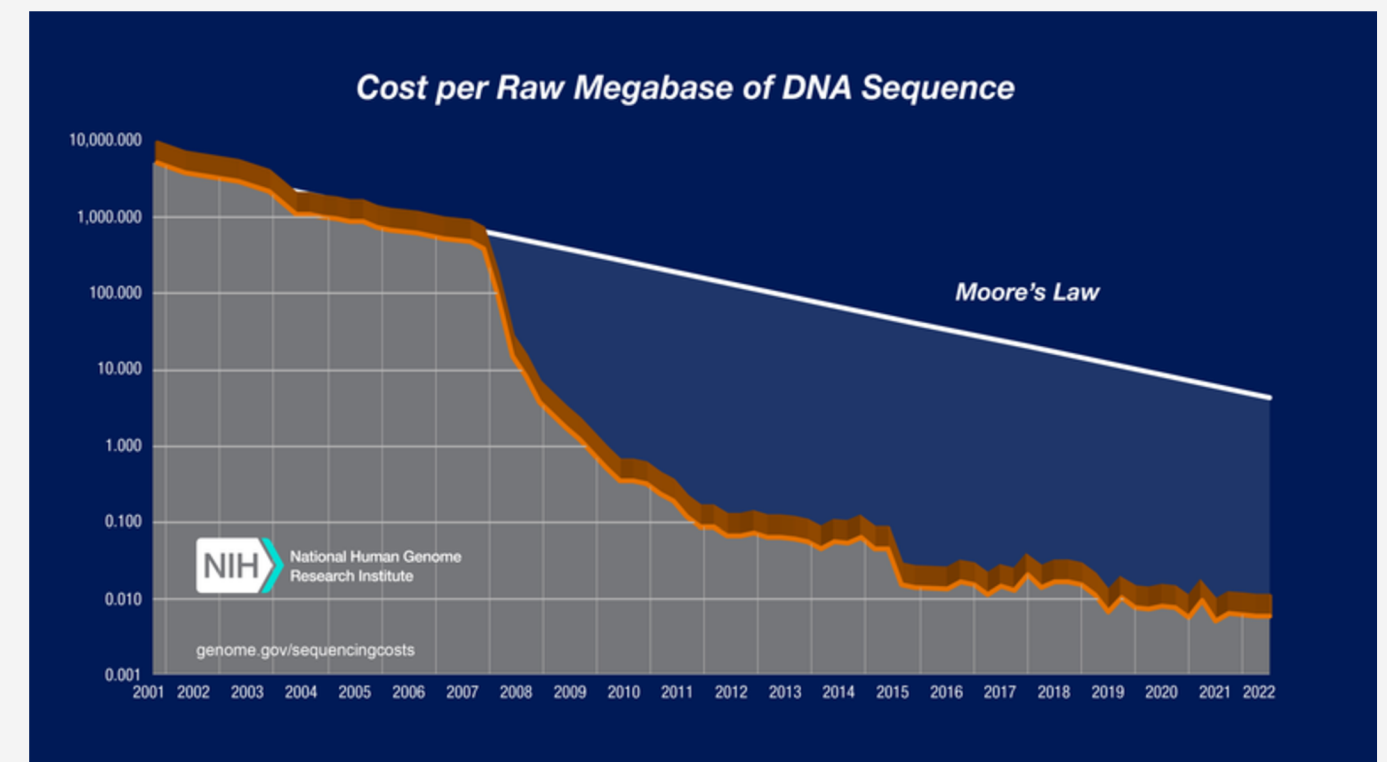
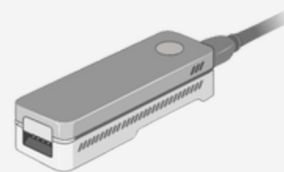


Marcadores ideales para estudios ómicos

illumina®



Oxford
NANOPORE
Technologies



Fuente: www.genome.gov/sequencingcostsdata

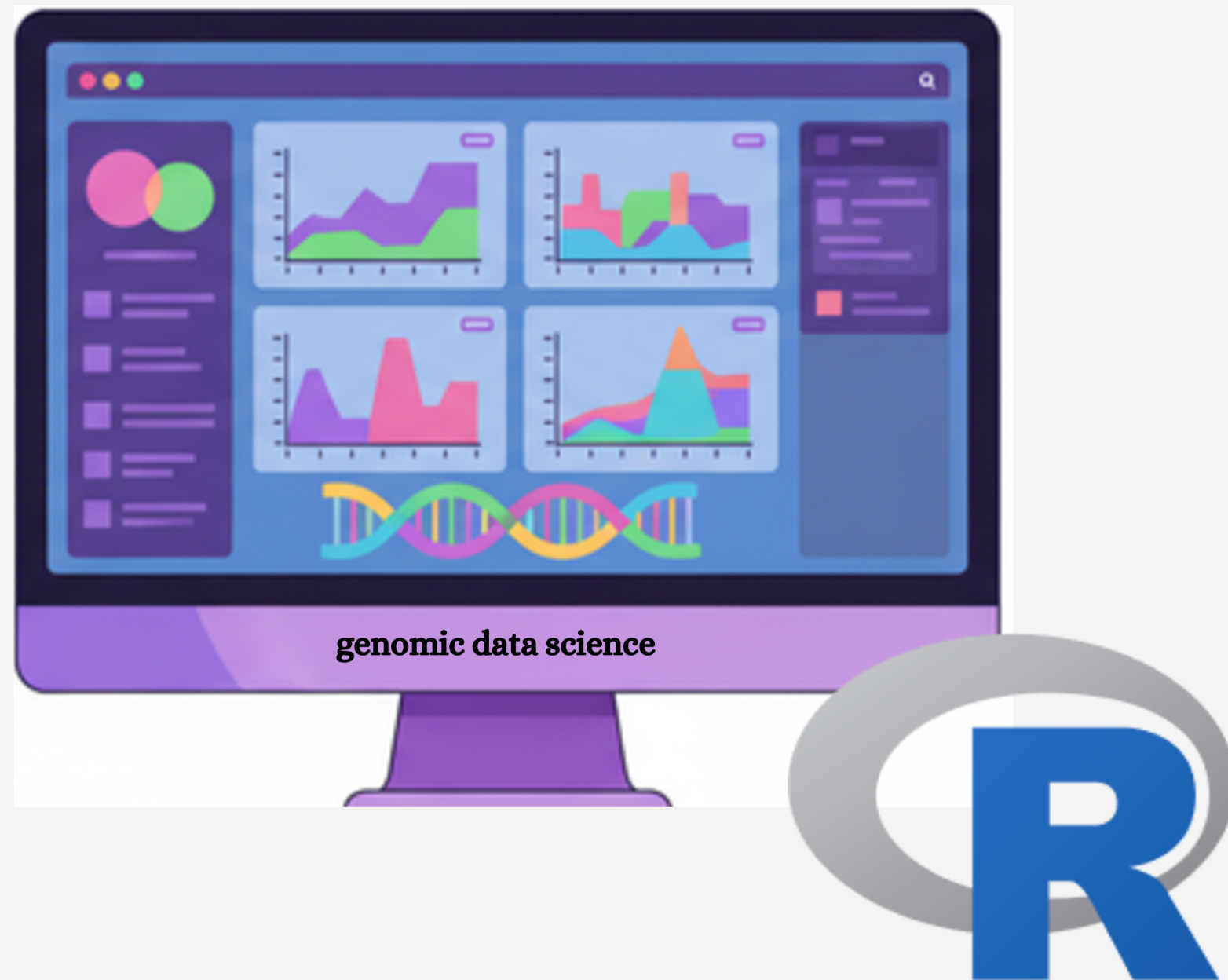
Introducción



Fuente: <https://www.lifeinsular.eu/>

Introducción

RStudio en análisis genómico: datos genómicos



Procesamiento

Filtrado



Análisis estadístico

Visualización de resultados



Objetivos



Obtención de un panel de SNPs robusto.



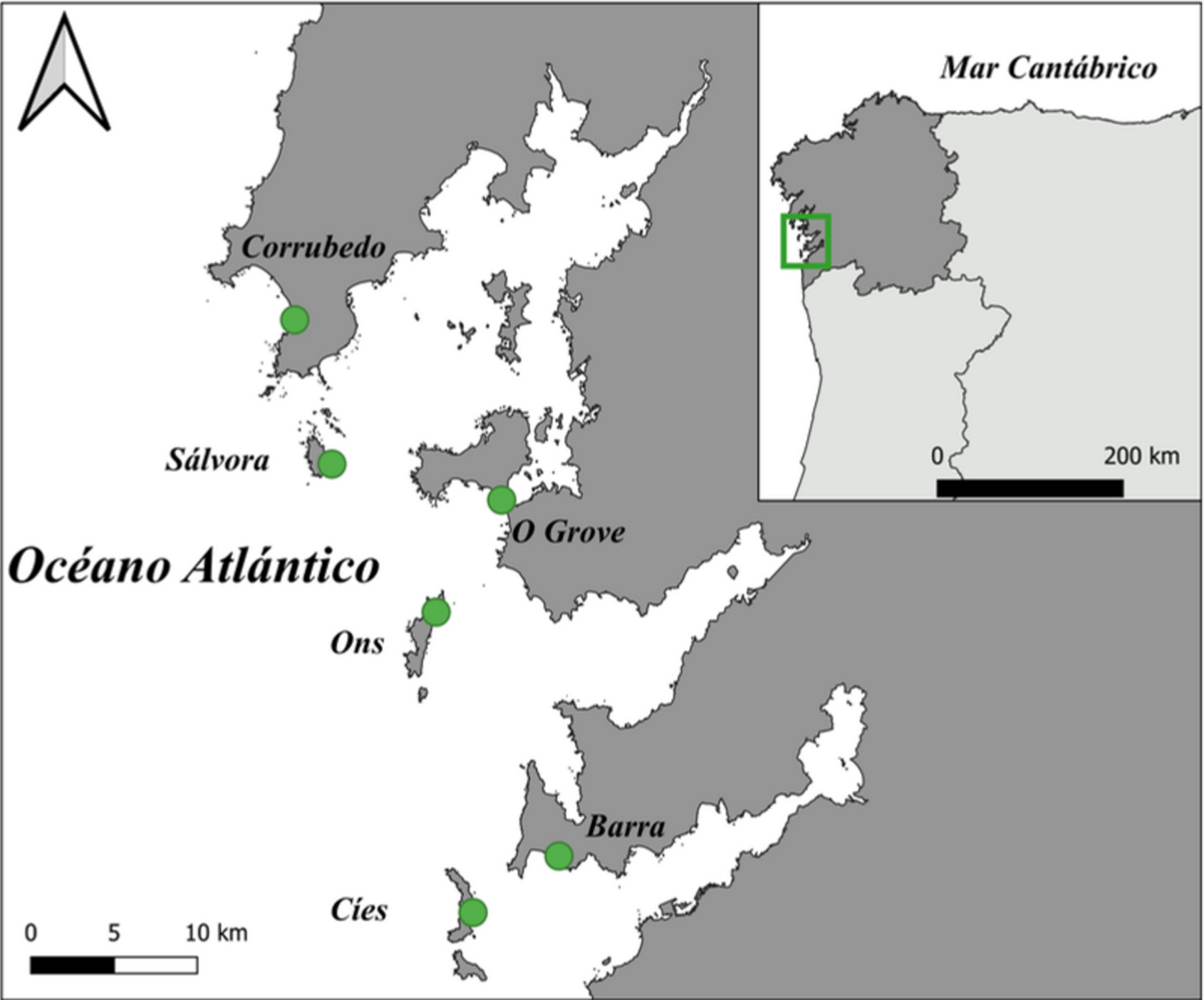
Análisis genómico-poblacional de la especie.



Obtención de información que pueda ser aplicable al apoyo de la gestión y conservación de recursos genéticos.

Material y métodos

Material biológico y extracción de ADN

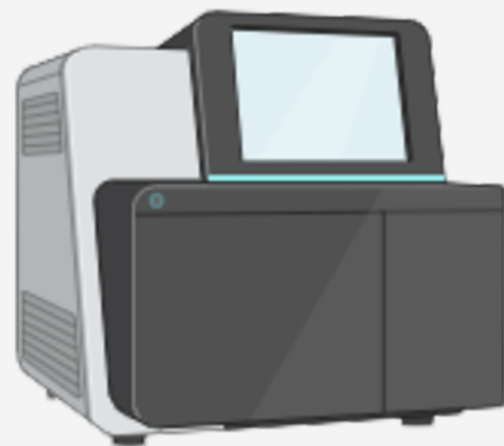


Localidad (Código genético)	Número de muestras	Áreas protegidas
Barra (C1)	19	ZEC Costa da Vela
O Grove (C2)	16	ZEC Complejo Ons-Grove
Corrubedo (C3)	16	ZEC Complejo Corrubedo
Cíes (I1)	19	ZEC Illas Cíes/PNIA
Ons (I2)	18	ZEC Complejo Ons-Grove/PNIA
Sálvora (I3)	20	ZEC Complejo Corrubedo/PNIA
Total	108	

Material y métodos

Genotipado por secuenciación y filtrado de lecturas

2b-RADseq ...~~TCGATTGGATTGCGA~~AAGCACCCACTCG**GCA**GGGATT**TGC**ATCTCAGTTTAAGGGCTAGTTACTGA...



Illumina NextSeq 500
(protocolo 50 pb *single-end*)



FastQC

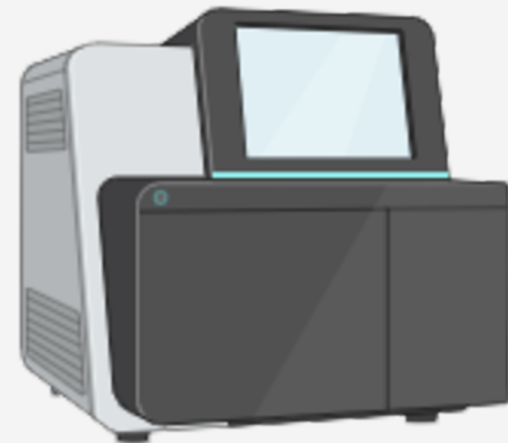


MultiQC

Material y métodos

Genotipado por secuenciación y filtrado de lecturas

2b-RADseq ...~~TCGATTGGATTGGGAAGCACCCACTCG~~**GCA**GGGATT**TGC**ATCTCAGTTTAAGGGCTAGTTACTGA...



Illumina NextSeq 500
(protocolo 50 pb *single-end*)

Filtrado de lecturas

1. Por longitud de lectura (36 pb)
2. Por el sitio de reconocimiento
3. Por calidad de secuenciación



Stacks



Material y métodos

Alineamiento de lecturas y filtrado de SNPs

con genoma de referencia

Genoma de referencia



1. *Daphne laureola*
2. *Stellera chamaejasme*
3. *Aquilaria yunnanensis*

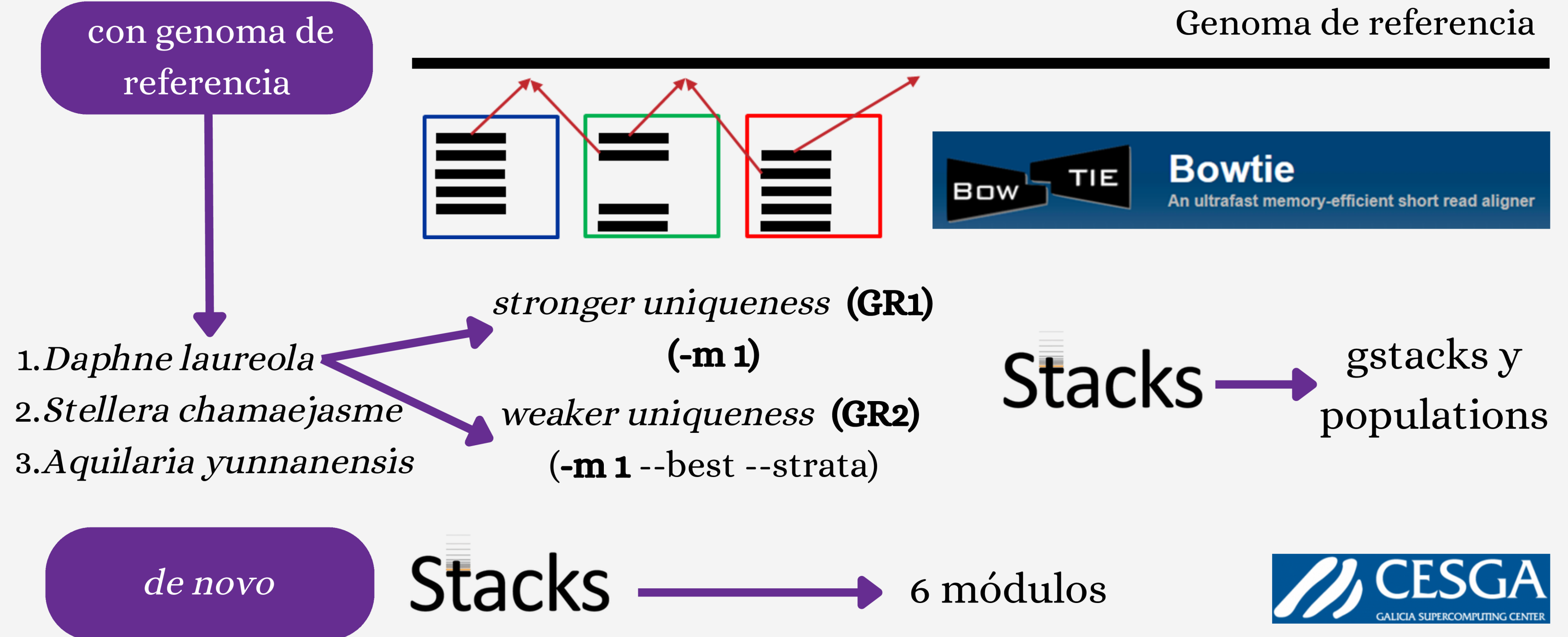
stronger uniqueness (GR1)
(-m 1)

weaker uniqueness (GR2)
(-m 1 --best --strata)

Stacks → gstacks y populations

Material y métodos

Alineamiento de lecturas y filtrado de SNPs



Material y métodos

Caracterización genética poblacional

con genoma de
referencia

de novo

SNPs outliers

Análisis de los genotipos

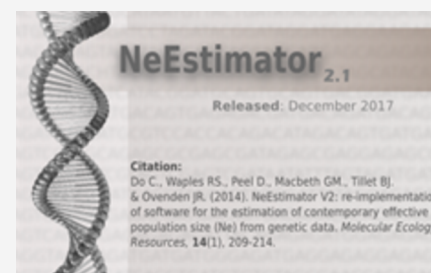
VCFTools (% *missing data*...)

Análisis de diversidad
genética

Censo efectivo (N_e), ajuste al equilibrio
HW (F_{IS}), estimadores de diversidad
genética (N_a , A_r , H_o , H_e)

Análisis de diferenciación
y estructura genética

Coeficiente de diferenciación interpoblacional (F_{ST}) a nivel
global y por pares entre las localidades estudiadas



STRUCTURE v.2.3.4
BayeScan v2.1



Material y métodos

Paquetes de RStudio utilizados y funcionalidades

Genepop 1.2.2

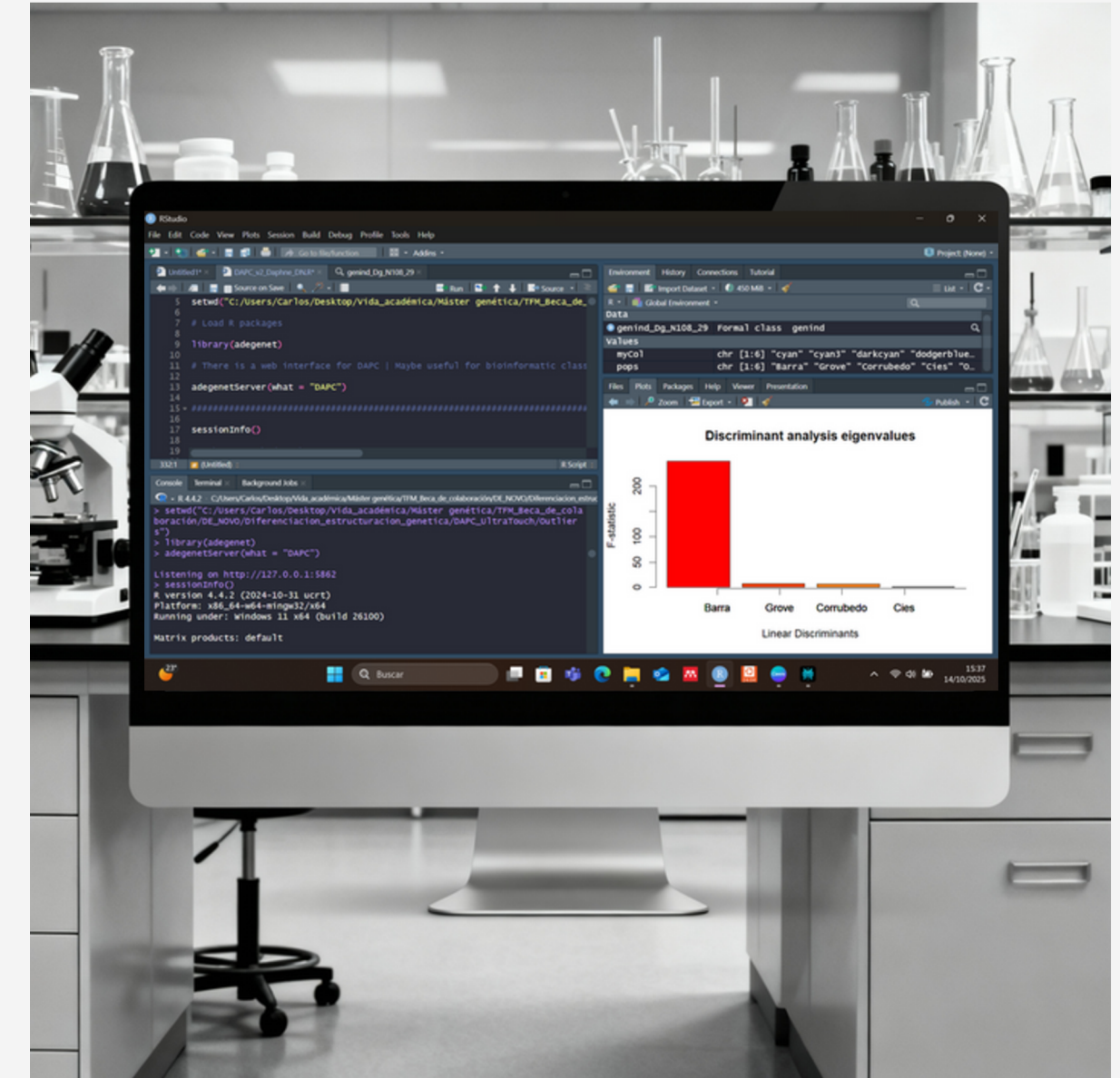
DiveRsity 1.9.90

StAMPP 1.6.3

adegenet 2.1.11

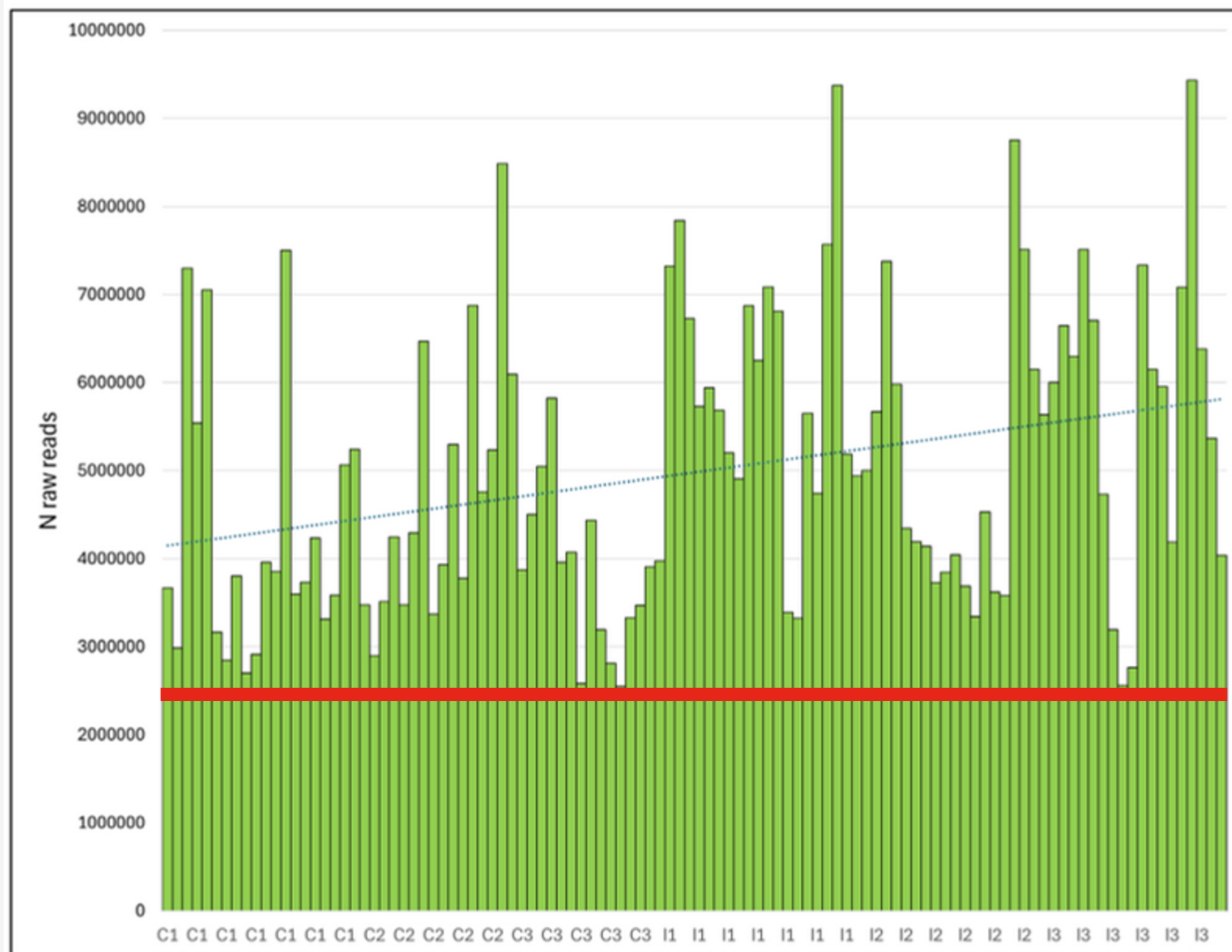
dartR 2.9.9.5

ParallelStructure 1.0.0



Resultados y discusión

Evaluación de datos brutos y filtrado de lecturas



Número total de datos brutos

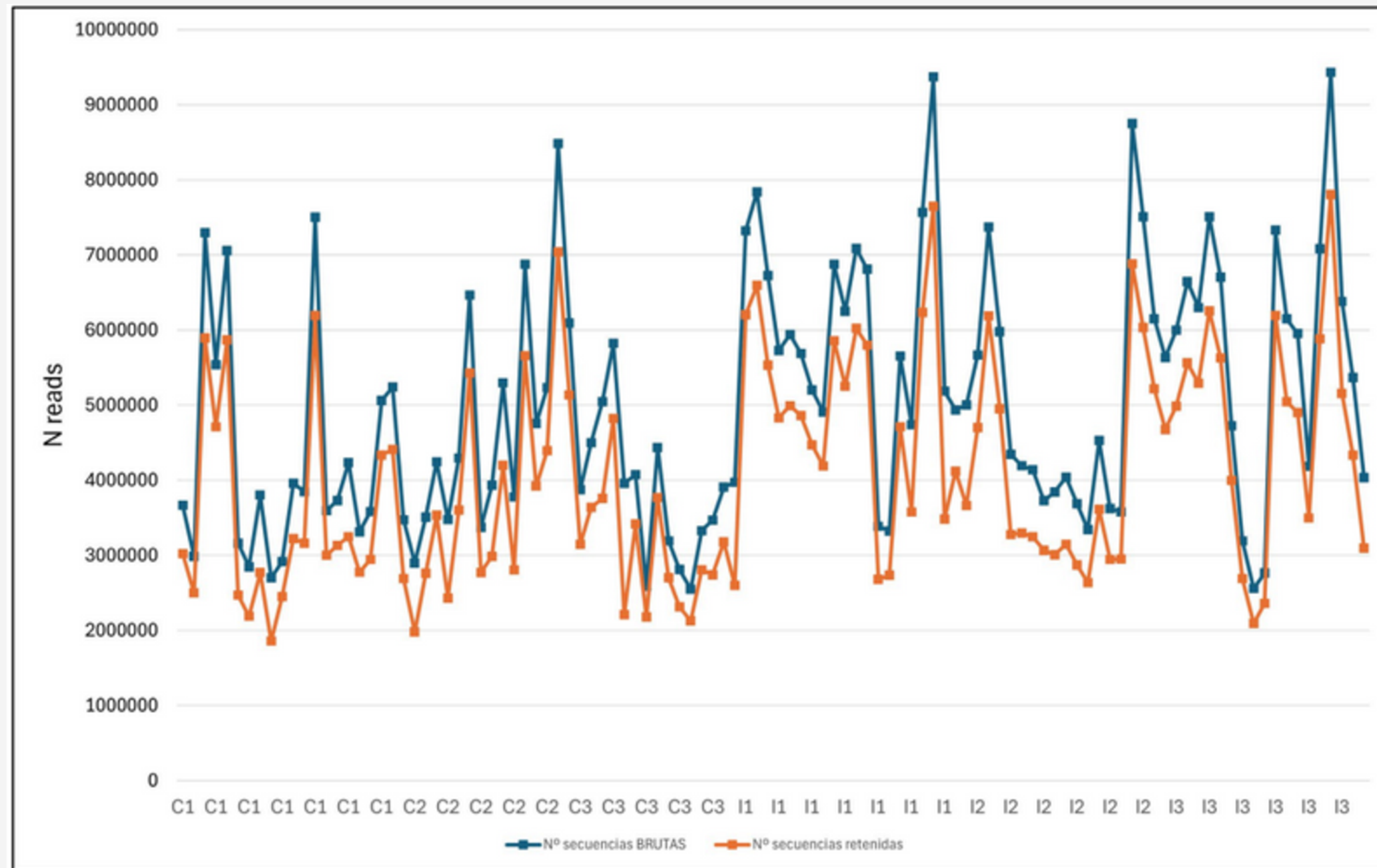
537 823 307 lecturas

$(4\,979\,845,4 \pm 1\,650\,182,5$
por muestra)

- Mayor en localidades insulares
- Sin individuos eliminables (e.g., muestra con 15 000 lecturas).

Resultados y discusión

Evaluación de datos brutos y filtrado de lecturas



Número total de datos retenidos

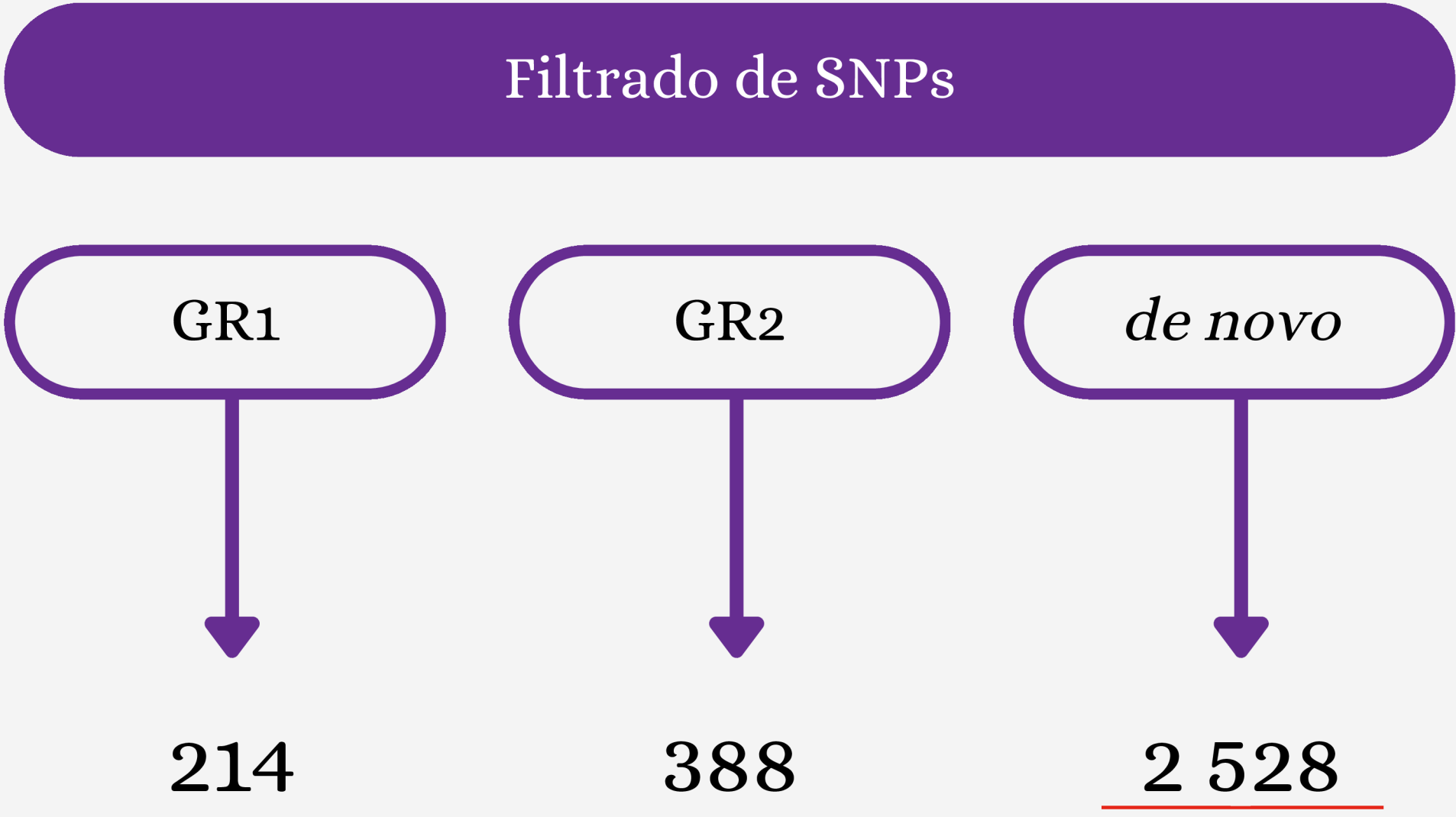
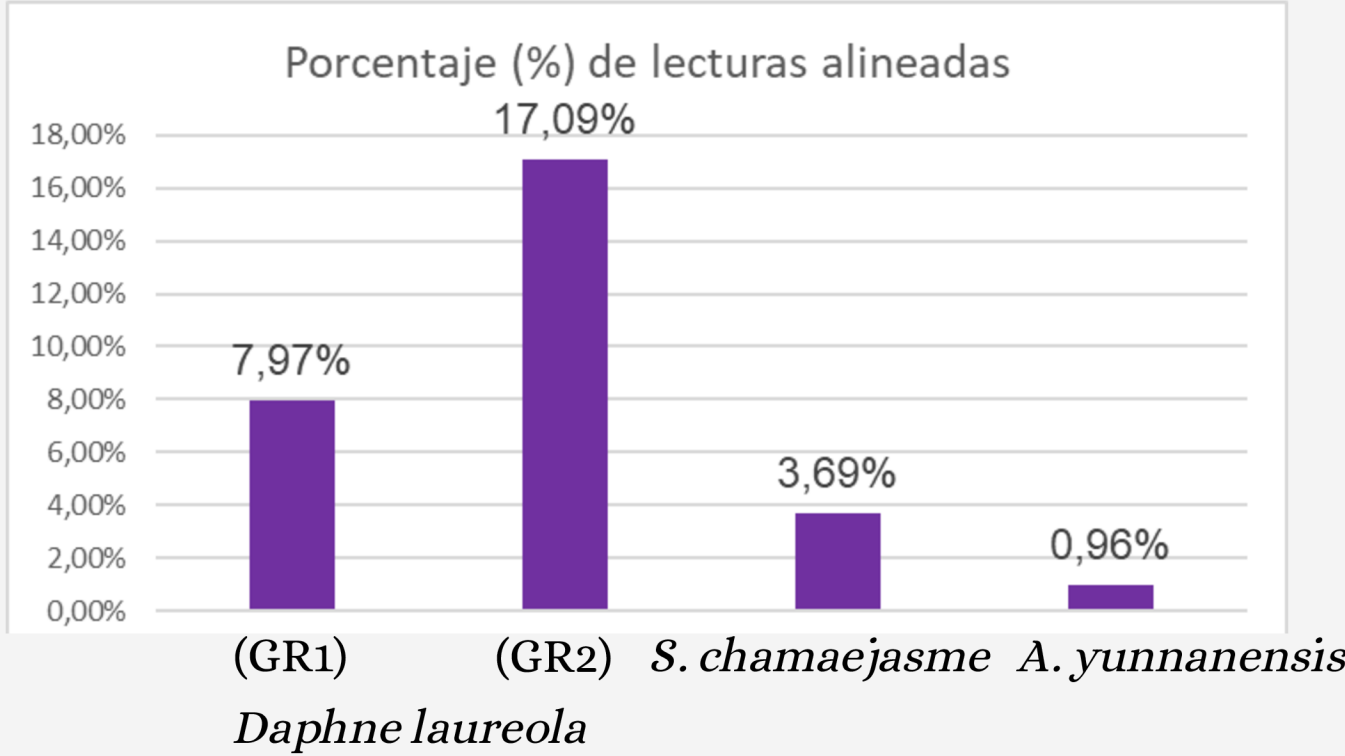
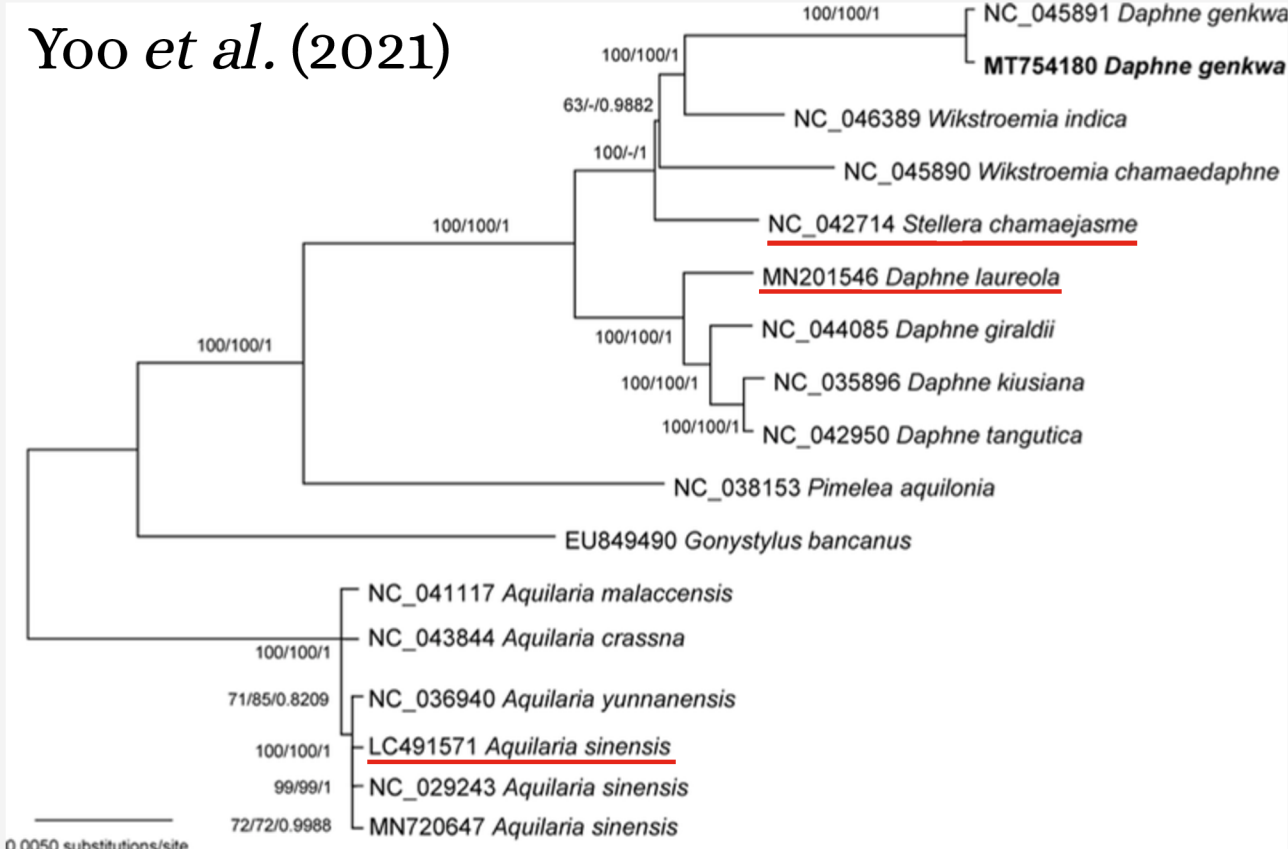
437 959 457 lecturas

(4 055 180,2 $\pm$ 1 426 964
por individuo)

81,4% de las
lecturas retenidas

Resultados y discusión

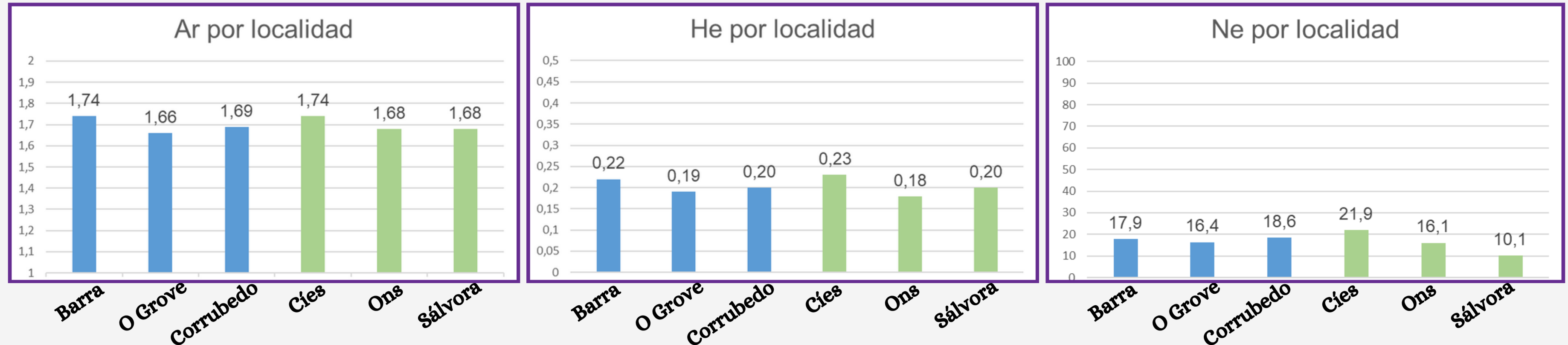
Alineamiento de lecturas y filtrado de SNPs



Resultados y discusión

Análisis de diversidad genética

Panel de SNPs *de novo*



Valores similares entre localidades
Mayor en Barra y Cíes

Bajo censo efectivo en
todas las localidades

TFG/ TFM: Resultados y discusión

Análisis de diferenciación y estructura genética

Panel de SNPs *de novo*

F_{ST} Global= 4%

Localidades	Barra	O Grove	Corrubedo	Cíes	Ons	Sálvora
Barra		***	***	***	***	***
O Grove	0,057		***	***	***	***
Corrubedo	0,048	0,029		***	***	***
Cíes	0,013	0,063	0,062		***	***
Ons	0,047	0,015	0,035	0,051		***
Sálvora	0,052	0,023	0,032	0,046	0,024	

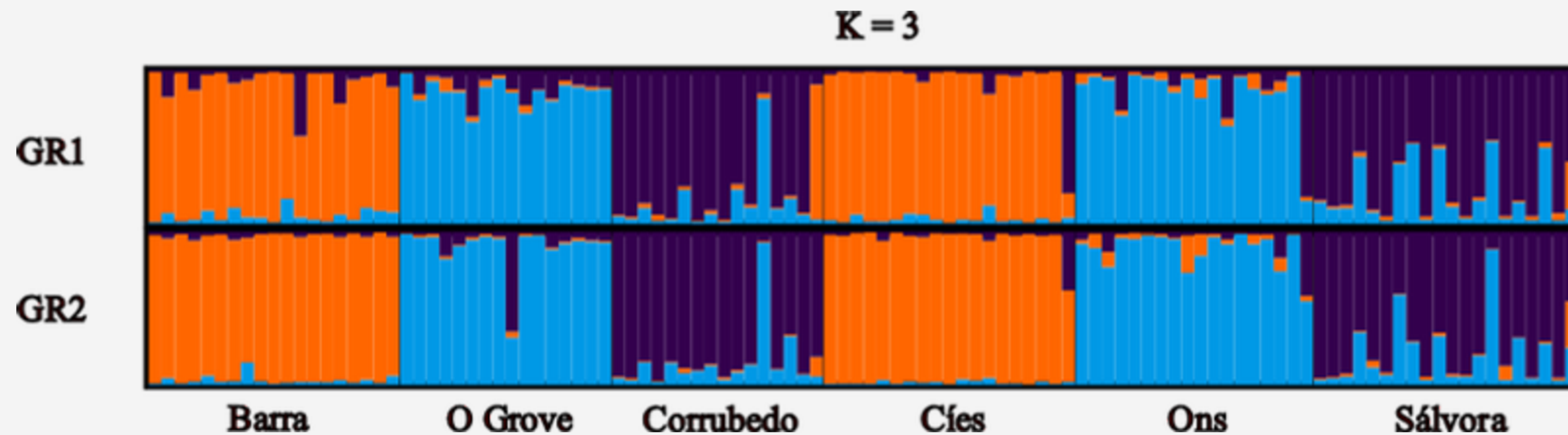
*** p-valor < 0,001

- Todos los valores significativos
- Valores bajo-moderados
- Valores menores entre islas y localidades continentales más próximas

Resultados y discusión

Análisis de diferenciación y estructura genética

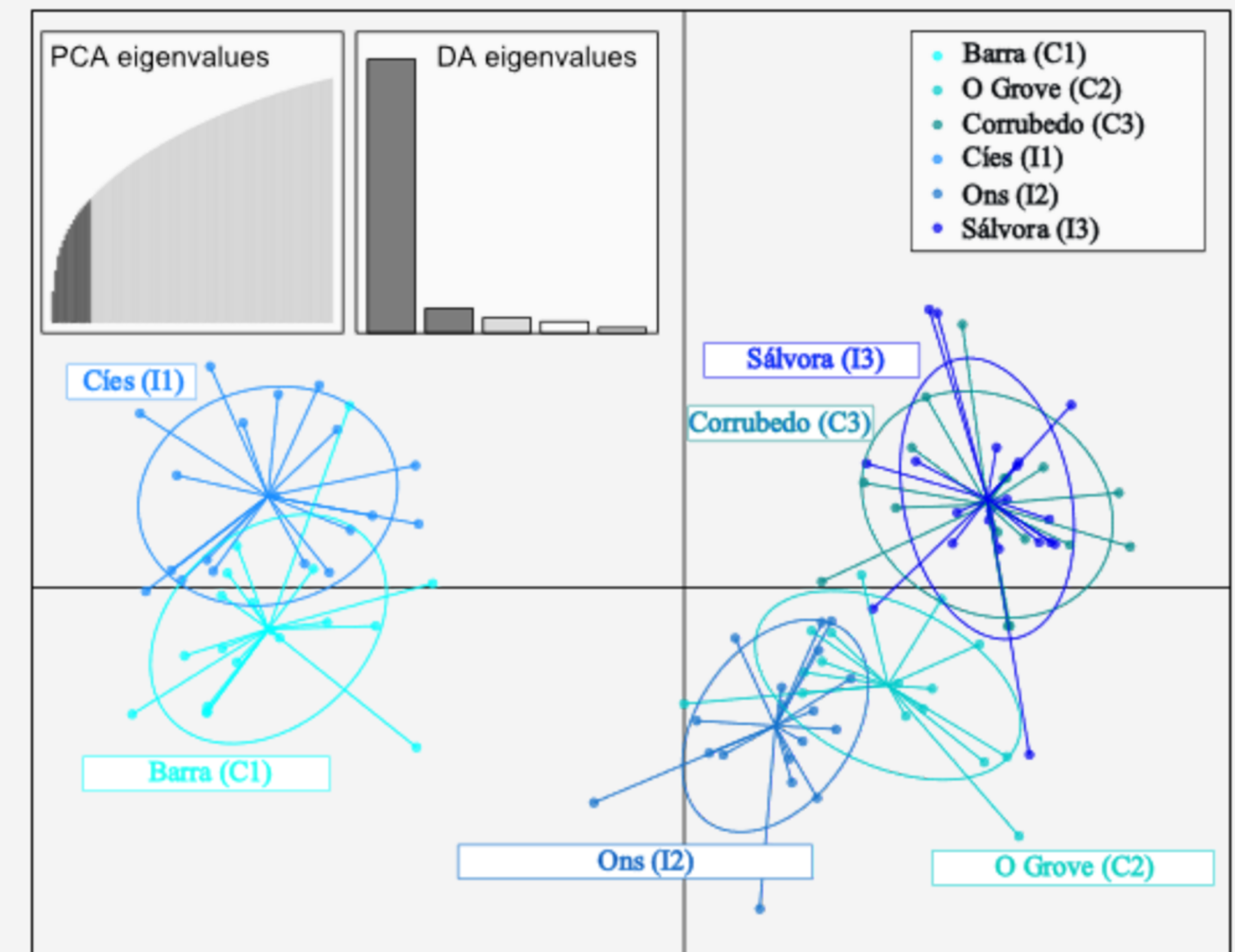
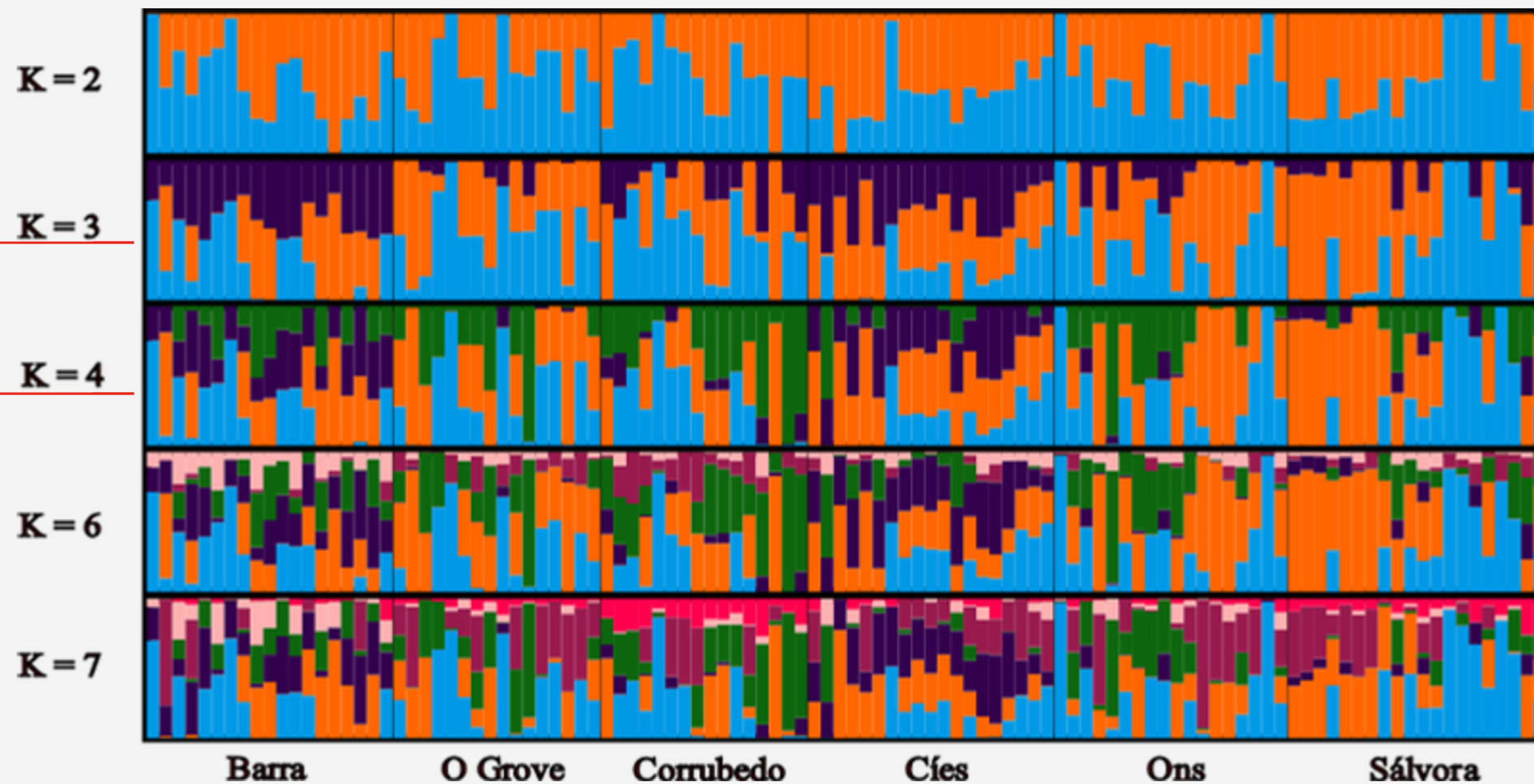
STRUCTURE: paneles de SNPs con genoma de referencia



Resultados y discusión

Análisis de diferenciación y estructura genética

STRUCTURE y DAPC: panel de SNPs *de novo*



Resultados y discusión

Análisis de diferenciación y estructura genética

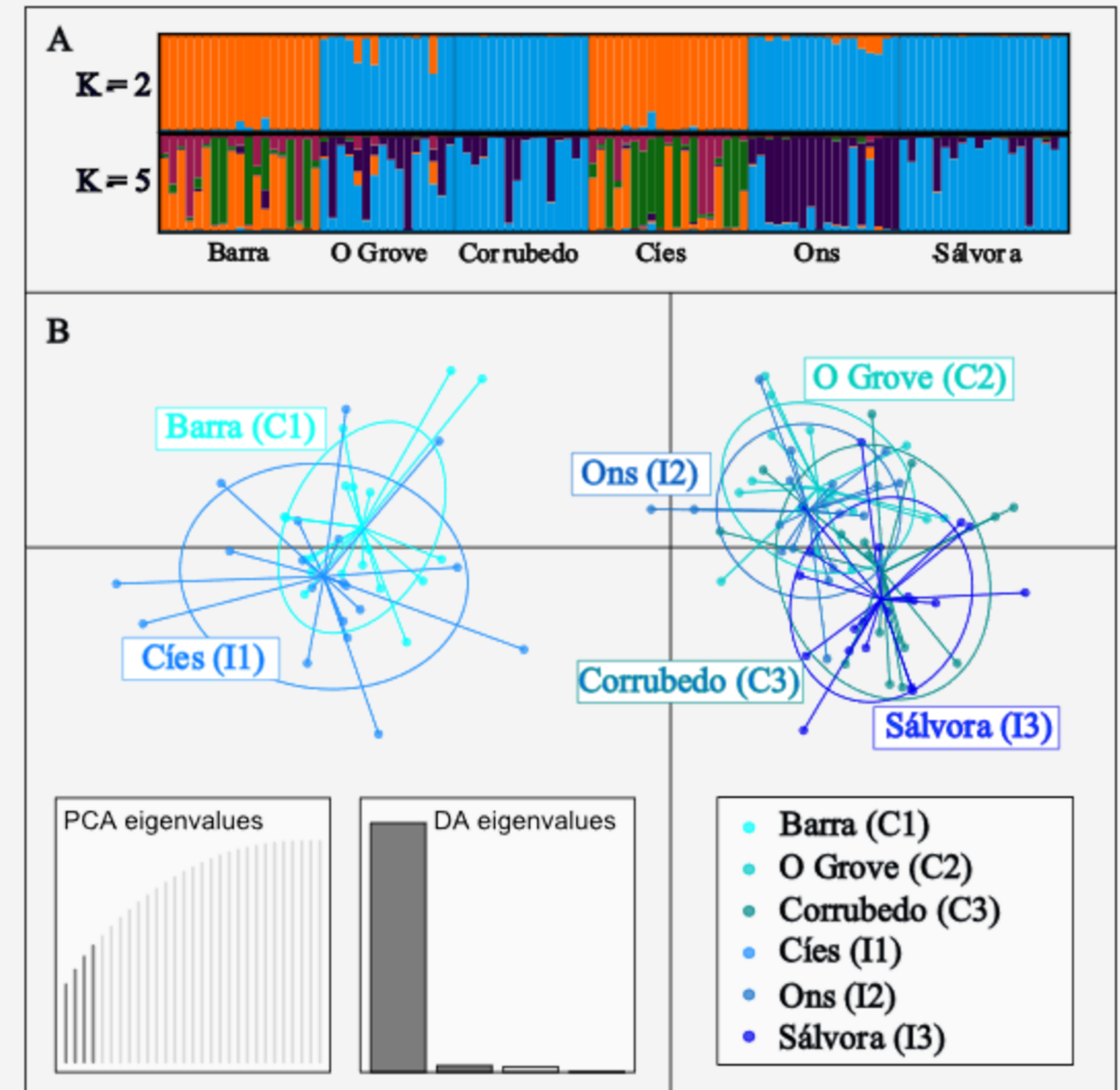
SNPs *outliers*

29 *outliers* divergentes

F_{ST} Global= 25,6%

Localidades	Barra	O Grove	Corrubedo	Cíes	Ons	Sálvora
Barra		***	***	***	***	***
O Grove	0,283		***	***	***	***
Corrubedo	0,383	0,050		***	***	***
Cíes	0,025	0,316	0,405		***	***
Ons	0,296	0,044	0,104	0,317		***
Sálvora	0,368	0,060	0,033	0,381	0,071	

*** p-valor < 0,001



Conclusiones



Estrictos protocolos de filtrado = fiabilidad de análisis genómicos.



El análisis genómico: una diversidad genética moderada y similar en las poblaciones insulares y continentales.



El análisis de estructuración genética mostró una organización:

Cíes-Barra, Ons-O Grove y Sálvora-Corrubedo.

Las señales de adaptación local en SNPs *outliers*, subraya la necesidad de diseñar estrategias de conservación específicas para cada grupo diferenciado.

Conclusiones

**Base para orientar la gestión y conservación de *D. gnidium*.
Se recomienda:**

- conservación *in situ* de la diversidad genética
- recolección/ regeneración de germoplasma representativo
- seguimiento poblacional periódico





Muchas gracias por su atención

Carlos Daniel Mirás Viña

carlosmirasvina@gmail.com



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE EDUCACIÓN, FORMACIÓN PROFESIONAL
Y DEPORTES

SECRETARÍA DE ESTADO
DE EDUCACIÓN

Beca de Colaboración