

Juan Zapala, Johanne Brunet y Raymond Guries



Ulmus pumila



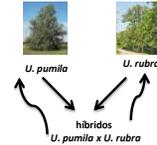
U. rubra

Patterns of hybridization and introgression between invasive *Ulmus pumila* (Ulmaceae) and native *U. rubra*

Efectos de la introducción de especies

Provocan cambios en la composición de las especies nativas
En ocasiones son mejores competidores que las especies nativas
Hibridación e introgresión

Eventual pérdida de una especie
Los híbridos son mejor adaptados
"super invasive species"



Hibridación e introgresión

Dutch Elm disease (DED)



Enfermedad causada por hongos que es mortal
Las especies más susceptibles son las de Europa y Norteamérica
Las especies de Eurasia son más resistentes
Tal es el caso de *Ulmus pumila*, especie nativa al este de Asia



U. pumila fue introducida en 1900 y desde entonces se ha naturalizado y ahora se considera una plaga

Dutch Elm disease

Dada su resistencia natural a la enfermedad se ha tratado de hibridar con ciertas especies nativas para generar híbridos artificiales que sean resistentes a la enfermedad

En un ambiente natural se ha documentado la formación de híbridos, sobre todo en Europa



Ulmus rubra

Es una especie nativa al Este de Estados Unidos y se presume que cuando existe en simpatria con *U. pumila* forman híbridos

Altamente susceptible al DED
Los números poblacionales se están reduciendo

U. pumila esta reemplazando a *U. rubra*

Hay hibridación? De ser así, hay introgresión? Es bidireccional?



U. rubra

Que marcador utilizar?

Uno que sea altamente variable y que nos permita identificar a cada individuo

Isoenzimas

AFLPs

ISSRs

RAPDs

Microsatélites

Objetivos

Repaso de marcadores moleculares




Ulmus pumila *U. rubra*

Determinar el genotipo de individuos que son 100% puros de cada especie

Utilizaron para *U. pumila* arboles procedentes de China (53)

Para *U. rubra* se colectaron localmente (100 arboles) y adicionalmente se trabajo con material de herbario de ejemplares colectados antes de que se estableciera *U. pumila*

Se colectaron 95 individuos que se consideraron híbridos putativos

Metodología

Utilizaron 9 microsatélites y caracterizaron a cada individuo

<i>U. rubra</i>	<i>U. pumila</i>
AA	aa
BB	bb
CC	cc
DD	dd

Híbrido (F1)	Retro cruza (F2)
Aa	AA
Bb	Bb
Cc	CC
Dd	Dd

Metodología

Principal Coordinate Analysis (PCoA)

Resume las distancias genéticas entre individuos

STRUCTURE

Paquete estadístico que sin asumir ninguna relación previa entre las muestras asigna cada individuo a una categoría basado solamente en su similitud

K = 2

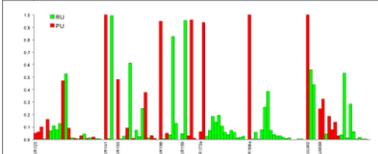
q = 0.5 para híbridos y 1 para especies puras

Análisis genéticos estadísticos

- Niveles de heterocigosidad
- numero de alelos
- AMOVA
- Nivel de diferenciación entre grupos (Fst)

Análisis

Linea	Español	<i>U. rubra</i> (RU), N = 128	<i>U. pumila</i> (PU), N = 53
UR1013	250	(12) 244, 246, 248, 251, 232, 234, 256, 258, 260, 262, 264, 268	(10) 239, 241, 243, 245, 253, 255, 257, 259, 261, 263
UR1014	136	(7) 132, 134	(1) 130
UR1015	191	(7) 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 199	(6) 176, 182, 190, 197, 200, 208
UR1016	199	(5) 184, 190, 200, 205	(2) 180, 187
UR1019	245	(2) 236, 245	(3) 240, 257, 279
UR1070	175	(15) 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 177, 179, 180	(2) 175, 186
UR1066	134	(16) 132, 134, 140, 138, 132, 134, 132, 137, 139, 141, 132, 134, 140, 142, 144, 143, 146	(1) 140
Urbn-2	110	(2) 105, 106	(1) 100
Urbn-16	151	(19) 126, 143, 145, 146, 147, 148, 150, 151, 152, 165	(6) 122, 124, 128, 130, 134, 136



Todas las muestras de *U. rubra* (herbario e individuos vivos) fueron similares genéticamente. Se encontraron un total de 99 alelos, 67 específicos a *U. rubra* y 32 específicos a *U. pumila*. Todos los alelos fueron polimórficos en *U. rubra*, solo 6 en *U. pumila*.

Análisis

Tabla 2. Genetic diversity characteristics for *Ulmus rubra*, *U. pumila*, and putative hybrids based on species-specific allelic variation at nine microsatellite loci. Allele frequencies, N = number of individuals, A_o = observed average number of alleles per locus, A_e freq. > 5% = mean number of alleles with frequency greater than 0.05 per locus, A_e = average effective number of alleles per locus, I = Shannon index of diversity, H_e = average observed heterozygosity per locus, and H_e = average expected heterozygosity per locus.

Métricas de diversidad	Población autógama (puras)				Híbridos (híbridos puros)			
	RU	PU	HY	HY(HY)	PU(HY)	HY(HY)	F ₁ (HY)	B ₁ (HY)
N	125	53	9	32	32	35	35	16
A _o	7.44	3.56	8.73	3.22	2.78	2.77	7.00	5.44
A _e freq. > 5%	3.33	2.44	3.56	2.32	2.22	4.11	4.00	3.67
A _e	2.89	1.89	3.30	2.38	1.83	3.48	3.48	3.25
I	1.07	0.56	1.32	0.83	0.50	1.37	1.38	1.27
H _e	0.49	0.25	0.63	0.52	0.26	0.90	1.00	0.69
H _e	0.49	0.27	0.63	0.43	0.26	0.67	0.67	0.64

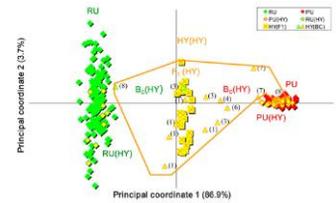
Note: RU = Wisconsin *U. rubra* individuals (populations + herbarium); PU = Chinese *U. pumila* individuals; HY = all individuals from putative hybrid populations; RU(HY) = *U. rubra* individuals from contact zones; PU(HY) = *U. pumila* individuals from contact zones; HY(HY) = all confirmed hybrid individuals from contact zones; F₁(HY) = confirmed first-generation hybrids; B₁(HY) = confirmed backcrossed hybrids.

En los híbridos se encontraron

- Alelos específicos a ambas especies
- Alelos específicos a los híbridos que probablemente provienen de *U. rubra*

Resultados

Principal Coordinate Analysis (PCoA)



Hay una clara separación entre las especies y los híbridos (86.9%)

Hay más variación entre los individuos de *U. rubra* que entre los híbridos y aun más que en *U. pumila*

Resultados

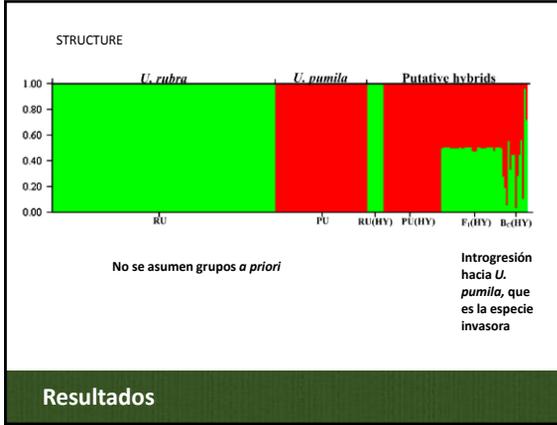


Table 2. Genetic diversity characteristics for *Ulmus rubra*, *U. pumila*, and putative hybrids based on species-specific allelic variation at nine microsatellite loci. Allele frequencies, N = number of individuals, A_n = observed average number of alleles per locus, A_e (freq. > 5%) = mean number of alleles with frequency greater than 0.05 per locus, A_e = average effective number of alleles per locus; H = Shannon index of diversity; H_e = average observed heterozygosity per locus; and H_e = average expected heterozygosity per locus.

Microsatellite locus	Parental and putative hybrids			Hybrid identification				
	RU	PU	HY	RU(HV)	PU(HV)	HY(HV)	F ₁ (HV)	B _{c1} (HV)
N	125	53	92	9	32	51	35	16
A_n	17.44	17.96	17.11	3.22	2.78	7.22	7.00	5.44
A_e (freq. > 5%)	1.91	1.81	1.96	1.22	1.22	4.11	4.00	3.67
A_e	1.86	1.80	1.96	2.38	1.83	3.48	3.48	3.25
H	1.00	0.96	1.00	0.83	0.80	1.37	1.38	1.27
H_e	0.82	0.77	0.83	0.52	0.26	0.90	1.00	0.69
H_e	0.82	0.77	0.83	0.49	0.26	0.67	0.67	0.64

- Mayor diversidad genética en *U. rubra* y los híbridos
- Heterozygosis mayor en los híbridos
- La mayor diversidad genética esta en los híbridos

Resultados

Diferenciación genética (F_{ST})

Table 3. Pairwise genetic differentiation (F_{ST} values) among *Ulmus rubra*, *U. pumila*, and putative hybrids based on species-specific variance at nine microsatellite loci.

Population	RU	PU	HY	RU(HV)	PU(HV)	HY(HV)	F ₁ (HV)	B _{c1} (HV)
RU	0.500							
PU	0.214	0.112						
HY	0.032	0.528	0.232					
RU(HV)	0.499	0.018	0.112	0.528	0			
PU(HV)	0.153	0.164	0.008	0.172	0.165	0		
HY(HV)	0.120	0.170	0.013	0.159	0.170	0.001	0	
F ₁ (HV)	0.198	0.127	0.004	0.218	0.130	0.007	0.013	0

AMOVA

Indico que 57 % de la variación se encuentra entre los tres grupos

Resultados

Fue importante incluir material de herbario (pre-introducción) para verificar que se tenían individuos puros de *U. rubra*

Los de *U. pumila* provenían de China por lo tanto eran puros

Es importante tener un buen perfil genético de las especies parentales antes de iniciar a caracterizar a los híbridos

Se observo que con solo 2 primers (super variables) es posible identificar a un 96% de los híbridos, pero mientras mas primers se tenga mejor, sobre todo si se requiere encontrar retro cruza.

Conclusiones

Resultados similares se han encontrado en otras especies de olmos en Europa.

La presencia de gran cantidad de híbridos F1 y retro cruza en menor proporción aunado al ciclo de vida largo de estas especies sugiere que la hibridización es reciente.

Tienen floración sobrelapada y el polen se dispersa por viento => escenario perfecto para favorecer la hibridización

Conclusión

No se encontró evidencia de reproducción entre los híbridos, sino mas comúnmente retro cruza hacia *U. pumila*

Resultado de autoincompatibilidad ???
Selección negativa de los híbridos x híbridos

Las retro cruza asimétricas hacia una especie pueden ser el resultado de Mayor abundancia de una de las especies incompatibilidades genéticas

En este caso:
U. pumila es mas abundante y es mas resistente al DED por lo que es mas probable que se reproduzca exitosamente

Conclusión

Si las retro cruas direccionales se siguen llevando a cabo podrían con tiempo llevar a la pérdida de los genes de *U. rubra*



Lo cual complica el escenario de *U. rubra*

Introgresión + DED + Fragmentación de los bosques

Los híbridos presentan una mayor diversidad genética y por lo tanto teóricamente son capaces de colonizar una mayor cantidad de hábitats



Si las retro cruas sucedieran en dirección a *U. rubra* entonces sería benéfico para la especie ya que podría adquirir la resistencia al DED

Conclusión