

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA



TESIS DOCTORAL

Efecto de la selección natural sobre las consecuencias de la consanguinidad en poblaciones de censo reducido

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Diego Bersabé García

Directora

Aurora García-Dorado García

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE BIOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA



**Efecto de la selección natural sobre las consecuencias de
la consanguinidad en poblaciones de censo reducido**

Diego Bersabé García

TESIS DOCTORAL

MADRID 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE BIOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

**Efecto de la selección natural sobre las consecuencias de
la consanguinidad en poblaciones de censo reducido**

MEMORIA QUE PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR

POR LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

PRESENTA

Diego Bersabé García

Vº Bº del Director

El Doctorando

Aurora García-Dorado García

Diego Bersabé García

MADRID 2015

Esta Tesis Doctoral ha sido financiada con una beca predoctoral FPU del Ministerio de Educación y con el proyecto de investigación CGL2011-25096 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

*A mi familia,
en el sentido más amplio de la palabra*

Agradecimientos

Más de una vez ha pasado por mi cabeza la idea de comparar este pequeño libro con un álbum de fotografías. Por mucho que se esfuerce el fotógrafo en documentar una realidad, por muchos fotogramas que se moleste en capturar, difícilmente será capaz de representarla de forma totalmente fidedigna. A esta tesis le sucede un poco lo mismo. Condensar las experiencias de cinco años de trabajo en un tomo resulta imposible cuando tanta gente ha colaborado en que esta carrera de fondo llegara a su término. Afortunadamente, las tesis cuentan con esta pequeña sección en la que los doctorandos podemos intentar hacer un poco de justicia y agradecer, aunque solo sea brevemente, a aquellos que han colaborado directa o indirectamente a este trabajo. Por eso, gracias:

A Aurora García-Dorado, por confiar en mí y haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis. Por su constante atención, orientación y apoyo a lo largo de todos estos años, y por su extraordinaria capacidad para explicar aquellos resultados que más se me resistían.

A Carlos López-Fanjul, por todas las buenas ideas que ha aportado a esta tesis, y por aquellas estimulantes clases a lo largo de la licenciatura que tuvieron mucha “culpa” de que me enganchara a este campo de forma irremediable.

A Armando Caballero, por acogerme de manera tan hospitalaria en todas mis visitas a la Universidad de Vigo, y por cedernos el código fuente que utilicé como punto de partida para escribir los programas de simulación del segundo estudio de esta tesis. También quiero darle las gracias por sus comentarios constructivos sobre el manuscrito.

A Lucas Sánchez, por facilitarnos la cepa balanceadora de *Drosophila* que empleamos en el primer estudio de esta tesis.

A todo el personal del Departamento de Genética, por brindarme su apoyo durante estos años. Gracias, en especial, a Rosario Linacero, a Javier Gallego y a Concepción Romero, por su gestión al frente del mismo y por su ayuda cada vez que he necesitado realizar algún trámite. Y a Juan Luis Santos, al que considero uno de mis padrinos científicos.

A Rosa Rodríguez, por resolver todas mis dudas y problemas burocráticos relacionados con el doctorado de forma tan eficiente, incluso fuera del horario de trabajo.

A los que han sido mis compañeros de laboratorio durante estos años. A Carmen, por su ayuda en mis inicios y por ser una compañera de cursos y congresos tan estupenda. Por su constante apoyo y sus consejos, que siempre he tenido y tengo en alta estima. A Enrique, por estar siempre dispuesto a echarme una mano cada vez que el trabajo con las moscas me desbordaba. A Eugenio, por sufrirme en las últimas fases de la tesis, que no es poca cosa.

A todos los que han sido mis compañeros de “aventuras” en esta casa, con los que he pasado grandes momentos dentro y fuera de estas cuatro paredes. A los ya mencionados Carmen, Enrique y Eugenio. A mis compañeras de despacho, Ceci y Naike, por aguantar mis ratos de cabreo cada vez que algo no salía bien. A ellas, y a Bea, Alejandra, Patri, Miriam, María, Mónica y Nohelia, porque no se puede pedir unas compañeras más simpáticas y afectuosas en el día a día. A Javi,

por ser siempre tan positivo y por sacarme de algún que otro aprieto a última hora. Bueno, y por Raúl, claro. A Pablo, por traer buenas vibraciones al departamento en los últimos tiempos. A Natalia, Celia, Marina, Mónica M., Carlos y los “joteros” Alberto, Bárbara y Silva, por ser mis *outliers* favoritos. Pero por encima de cualquier apelativo afectivo, que siempre se quedará corto, gracias a todos por vuestra amistad.

A mis compañeros de los grupos XB2 y XB5 de la Universidad de Vigo, por hacerme sentir como en casa durante mis estancias allí, tanto dentro como fuera del laboratorio. Gracias especialmente a Andrés, por introducirme en el mundo de la simulación y por responder pacientemente a todas mis dudas sobre el tema.

A todos mis amigos, por su cariño y apoyo continuo, y por comprender que los doctorandos a menudo tenemos horarios extraños que hacen que nos perdamos más reuniones sociales de las que quisiéramos. Eric, Miguel, Dani: gracias, gracias, gracias por estar siempre ahí.

A mi familia, por su apoyo incondicional durante estos años. A mis abuelos, cuyos consejos he tenido siempre en mente. A mi hermana Sara, por sus sugerencias estilísticas sobre el manuscrito, y por ser prácticamente mi segunda conciencia (y la más sabia, sin duda) en muchas tomas de decisiones. A mis padres, por transmitirme desde pequeño la mentalidad de que los éxitos no llegan solos, sino a base de trabajo y responsabilidad. Este es mi primer pequeño gran éxito y es, en buena parte, gracias a ellos.

Y a todo aquel que durante estos años me ha preguntado: “¿qué tal?, ¿cómo llevas la tesis?”

Índice

Resumen	3
Summary	9
Introducción	15
La base genética de la depresión consanguínea	15
La purga de la depresión consanguínea	19
Repercusiones de la selección sobre la pérdida de variabilidad genética neutra	28
Objetivos	31
Capítulo 1: Estimación del coeficiente efectivo de purga en una población silvestre de <i>Drosophila melanogaster</i>	33
1.1 Material y métodos	33
1.1.1 Modelo teórico	33
1.1.2 Diseño experimental	37
1.1.2.1 Material biológico	37
1.1.2.2 Condiciones de mantenimiento de los individuos	37
1.1.2.3 Carácter estudiado	38
1.1.2.4 Protocolo experimental	39
1.1.3 Análisis de datos	48
1.1.3.1 Variables analizadas y contrastes estadísticos	48
1.1.3.2 Estimación de parámetros genéticos	49

1.2 Resultados	57
1.2.1 Población base	57
1.2.1.1 Estimaciones de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa	57
1.2.2 Líneas de censo reducido	58
1.2.2.1 Estimaciones del censo efectivo	58
1.2.2.2 Efecto de la extinción de líneas sobre las estimaciones de la media de la viabilidad huevo-pupa	60
1.2.2.3 Estimaciones de la media de la viabilidad huevo-pupa	65
1.2.2.4 Estimaciones del coeficiente efectivo de purga de la viabilidad huevo-pupa	66
1.3 Discusión	69
Capítulo 2: Estudio de las consecuencias de la purga sobre la pérdida de diversidad genética neutra en poblaciones de censo reducido	83
2.1 Modelo de simulación estocástica	83
2.1.1 Poblaciones base	84
2.1.1.1 Características generales	84
2.1.1.2 Mantenimiento de las poblaciones base	85
2.1.2 Líneas de censo reducido	88
2.1.2.1 Origen de las líneas	88
2.1.2.2 Mantenimiento de las líneas en distintos escenarios	88
2.1.3 Parámetros empleados	90
2.2 Resultados y discusión	91
2.2.1 Poblaciones base	91
2.2.2 Líneas de censo reducido	99
2.2.2.1 Cambios en la eficacia biológica media	99
2.2.2.2 Cambios en la variabilidad genética neutra	107
Conclusiones	135
Bibliografía	137
Apéndice 1	149
Apéndice 2	155

Resumen

Efecto de la selección natural sobre las consecuencias de la consanguinidad en poblaciones de censo reducido

La depresión consanguínea –la reducción de la eficacia biológica en la descendencia de individuos emparentados– es un fenómeno de gran relevancia en biología evolutiva, así como en la gestión de programas de conservación o de mejora genética. Este deterioro de la eficacia biológica se puede atribuir fundamentalmente a un aumento de la homocigosis de alelos deletéreos recesivos, cuyo efecto permanecería parcial o completamente oculto en heterocigosis en ausencia de consanguinidad. Sin embargo, este incremento de la expresión de alelos deletéreos también induce un aumento de la presión selectiva en su contra conocido como purga genética. Por tanto, la purga puede reducir la depresión de la eficacia biológica debida a consanguinidad.

Hasta la fecha, las evidencias empíricas disponibles acerca de las consecuencias de la purga son escasas y poco concluyentes. Recientemente se ha desarrollado un modelo teórico que permite predecir de forma aproximada las consecuencias conjuntas de la consanguinidad y de la purga sobre la evolución de la eficacia biológica media de una población. Estas predicciones teóricas dependen

de un parámetro denominado coeficiente efectivo de purga que determina la magnitud de la misma. Además de limitar la depresión consanguínea, la purga reduce las contribuciones de descendientes de los apareamientos entre reproductores más emparentados, lo que podría retrasar la pérdida de diversidad genética neutra que se espera en poblaciones de censo reducido.

Así pues, los objetivos de esta tesis fueron los siguientes:

1. Validar experimentalmente el modelo teórico mencionado y obtener la primera estima empírica disponible del coeficiente efectivo de purga.
2. Investigar las consecuencias de la purga sobre la pérdida de diversidad genética neutra en poblaciones de censo reducido.

Para abordar el primer objetivo, se realizó un experimento de laboratorio con una población recién capturada de *Drosophila melanogaster* en la que se estudió la magnitud de la purga sobre la viabilidad huevo-pupa.

En primer lugar se obtuvo una estima de la tasa de depresión consanguínea global de la viabilidad huevo-pupa (δ) en la población base recién capturada. Dicho parámetro representa la tasa a la que la media de la viabilidad huevo-pupa se deprimiría a medida que la consanguinidad se incrementase en ausencia de selección, y mide la magnitud del lastre oculto en heterocigosis en la población, es decir, aquel atribuible a efectos deletéreos que no se manifiestan en la población panmíctica por presentarse en heterocigosis. Además, se obtuvo por separado una estima de la tasa de depresión consanguínea atribuible solo a alelos letales o solo a alelos deletéreos no letales. A continuación se originaron dos juegos diferentes de líneas a partir de esta población base, que se mantuvieron mediante

apareamiento individual y censo constante ($N = 6$ o $N = 12$) durante 15 o 20 generaciones. La media de la viabilidad huevo-pupa se evaluó de forma regular en estas líneas y se comparó con la evaluada simultáneamente en cruzamientos realizados entre las mismas para obtener una estima del parámetro efectivo de purga (d_e) que explicaba la magnitud de la purga observada.

Los declives de la viabilidad huevo-pupa que se observaron en estas líneas fueron considerablemente más pequeños que los esperados exclusivamente por consanguinidad, lo que puede atribuirse a una purga eficiente. Estos declives son compatibles con un coeficiente efectivo de purga global $d_e \approx 0,1$ para el conjunto de la depresión consanguínea atribuible a alelos letales y a alelos deletéreos no letales. Estos resultados también indican que el 40 % de δ se debía a alelos letales recesivos con un coeficiente de purga $d_L = 0,5$, mientras que el 60 % restante podía atribuirse a alelos deletéreos no letales con un coeficiente efectivo de purga $0,02 \leq d_{eNL} \leq 0,08$. Estas estimas de d_e sugieren que la purga es una fuerza eficiente para limitar el avance de la depresión consanguínea en poblaciones con censos efectivos del orden de unas decenas o más grandes, aunque podría ser insuficiente para eliminar la depresión debida a alelos deletéreos no letales en poblaciones más pequeñas.

Las consecuencias de la purga sobre la evolución de la diversidad genética neutra en poblaciones de censo reducido se analizaron mediante simulación por ordenador.

En una primera fase del estudio se obtuvieron poblaciones base de censo elevado en equilibrio mutación-selección-deriva respecto a eficacia biológica utilizando diferentes combinaciones de efectos deletéreos y de longitudes del genoma. En estas simulaciones también se incluía la evolución de loci neutros segregantes. A continuación se originaron diferentes líneas de censo $N = 2$, $N = 10$

o $N = 50$ a partir de cada población base, que se mantuvieron con censo constante durante 100 generaciones. Durante este período se evaluaron la eficacia biológica media, la consanguinidad genealógica, la varianza de la contribución de gametos al grupo reproductor de la generación siguiente y la diversidad genética en los loci neutros dentro de cada línea.

Los resultados muestran que, en aquellos casos en los que el lastre oculto en heterocigosis de las poblaciones base se debía a loci estrechamente ligados en los que segregaban alelos recesivos de efecto severo (esto es, coeficientes de purga elevados), existía una cierta tendencia a que se generase desequilibrio de ligamiento positivo entre los loci sometidos a selección. Dicha tendencia puede atribuirse a una pérdida de eficiencia de la selección en contra de los grupos de alelos deletéreos ligados en fase de acoplamiento durante el período de mantenimiento. Este exceso de grupos de acoplamiento incrementaba la magnitud del lastre oculto y producía, tras la reducción del censo, un retardo de su expresión, lo que se reflejaba en un retraso de la depresión consanguínea y de la purga en las líneas de censo reducido. Además, en estos casos la purga era más intensa, pero su eficiencia era menor, posiblemente debido a una reducción del censo efectivo.

La diversidad genética neutra en las poblaciones base nunca excedió el valor esperado en ausencia de selección. Tras la reducción del censo, la purga de deletéreos recesivos producía menos aumento de la consanguinidad genealógica que lo esperado en función de la varianza de contribución de gametos y, en presencia de ligamiento, producía menos pérdida de diversidad genética neutra que lo esperado en función de las genealogías. Estos resultados sugieren que la purga puede proteger la diversidad genética neutra mediante dos mecanismos diferentes. Por una parte, la purga favorece las contribuciones de las parejas de individuos menos emparentados, reduciendo la varianza de las contribuciones de los

diferentes ancestros de las líneas a las generaciones futuras. Por otra, la purga disminuye la varianza intraindividual de las contribuciones de las dos dotaciones genéticas para los loci sometidos a purga y las posibles variantes neutras ligadas. Sin embargo, estos procesos solo tenían repercusiones importantes en los casos en los que el ligamiento era estrecho, el lastre oculto ancestral era elevado y la purga era intensa. De hecho, aunque la pérdida de diversidad genética neutra en presencia de purga era menor que la esperada con selección no purgadora, en la mayoría de los casos continuaba siendo mayor que la esperada en un modelo completamente neutro.

En conclusión, los resultados de esta tesis implican que la purga debe tenerse en cuenta para predecir la depresión consanguínea en poblaciones de censos moderados, y que el modelo teórico en el que se ha fundamentado este trabajo proporciona un marco de trabajo adecuado para predecir las consecuencias conjuntas de la consanguinidad y de la purga sobre la evolución de la eficacia biológica media de dichas poblaciones. Además, ponen de manifiesto que la selección purgadora puede llegar a ser bastante intensa sin inducir una aceleración importante de la pérdida de diversidad genética neutra, e incluso, en casos con ligamiento estrecho, puede causar una cierta protección de dicha diversidad. De todos modos, las repercusiones prácticas de estos últimos resultados deben comprobarse en estudios futuros utilizando modelos mutacionales realistas y datos empíricos.

Summary

Joint effects of natural selection and inbreeding in small populations

Inbreeding depression –the reduction of fitness in the offspring of related individuals– is a topic of special interest in evolutionary and conservation biology, as well as in animal breeding. Inbreeding depression is mainly ascribed to (partially) recessive deleterious alleles, which only show their full harmful effect in homozygosis. However, following an inbreeding process, the increased expression of these alleles also leads to an enhancement of the selection against them that is known as genetic purging. Thus, purging may reduce the actual fitness depression ascribed to inbreeding.

To date, empirical evidences about the consequences of purging have been scarce and quite inconsistent. Recently, a theoretical model has been developed to predict the joint effects of inbreeding and purging on mean fitness depression, in which the magnitude of purging is measured by an effective purging coefficient. In addition to limiting inbreeding depression, purging reduces the number

of offspring contributed by related couples to the breeding pool of the next generation, so that it may also delay the rate of loss of neutral genetic variation expected in small populations.

Hence, this thesis was designed to address two main objectives:

1. To experimentally validate the above-mentioned theoretical model and to obtain the first available estimate of the effective purging coefficient.
2. To investigate the consequences of purging on the rate of loss of neutral genetic variation in small populations.

In order to fulfill the first objective, we carried out a laboratory experiment to evaluate the magnitude of purging upon egg-to-pupae viability in a recently captured population of *Drosophila melanogaster*.

Starting from this large base population, we first obtained an estimate of the total inbreeding depression rate for egg-to-pupae viability (δ). This parameter represents the rate at which the mean egg-to-pupae viability would have been expected to decline with increasing inbreeding in the absence of selection. It also measures the genetic load concealed in heterozygosity in the population, *i.e.*, the fraction of the load due to deleterious effects that are not expressed in the panmictic population because they occur in heterozygosity. Estimates of the inbreeding depression rate due only to recessive lethals or only to non-lethal deleterious alleles were separately obtained. Then, two different sets of lines were founded from this base population and were maintained through single-pair mating and constant size ($N = 6$ or $N = 12$) for 15 or 20 generations. Mean egg-to-pupae viability was regularly assayed in both reduced populations and was compared to

that synchronously assayed in between-line crosses to obtain an empirical estimate of the effective purging coefficient (d_e).

Our results show that the observed viability declines were considerably smaller than those expected only from inbreeding, which should be ascribed to efficient purging. They suggest an effective purging coefficient $d_e \approx 0,1$ against the pooled inbreeding depression from lethal and non-lethal deleterious alleles. These results also indicate that about 40 % of δ was due to segregating recessive lethal alleles with purging coefficient $d_L = 0,5$, while the remaining 60 % was attributable to non-lethal deleterious alleles with $0,02 \leq d_{eNL} \leq 0,08$. These estimates suggest that purging should be efficient enough to reduce the inbreeding depression expected for population sizes of the order of a few tens or larger, but may be inefficient against non-lethal deleterious alleles in smaller populations.

The consequences of purging on the evolution of neutral genetic diversity in small populations were explored using computer simulation.

In a first phase of the study, we obtained several large base populations at mutation-selection-drift balance for a variety of deleterious effects and genome lengths. Neutral segregating loci were also simulated. Then, a large number of lines of size $N = 2$, $N = 10$ or $N = 50$ were randomly sampled from each base population and maintained with constant size for 100 generations. Mean fitness, the pedigree inbreeding coefficient, the variance of the number of gametes contributed per parent to the breeding pool of the next generation, and the genetic diversity at neutral loci within each line were continuously assayed during this period.

The results indicate that base populations where the concealed load was due to tightly linked loci with highly recessive severely deleterious alleles (*i.e.*, large purging coefficients) tended to show some positive linkage disequilibrium

between the loci under selection. This was due to a reduced efficiency of selection against deleterious alleles linked in coupling phase during the maintenance period. As a result, these populations also showed a somewhat larger concealed load. After size reduction, this phenomenon produced a delayed expression of the concealed load in the inbred lines, delaying both inbreeding depression and purging. In addition, purging was more intense but less efficient, possibly due to a reduction of the effective population size.

Neutral genetic diversity in the base populations was never greater than that expected in the absence of selection. After size reduction, purging increased both the pedigree inbreeding coefficient and the variance of the number of gametes contributed to the breeding pool, but the increase of the former was smaller than that expected from the latter. Furthermore, with tight linkage, the rate of loss of neutral genetic diversity was slower than that expected from the pedigree inbreeding coefficient. Thus, purging can protect neutral genetic diversity through two different mechanisms. On one hand, it reduces the variance of the number of offspring contributed by related couples. On the other hand, for each individual, it tends to equalize the contribution of both genetic sets to future generations for purged loci and neutral polymorphisms linked to them. However, these processes were only important with tight linkage, large inbreeding load, and intense purging. In fact, the rate of loss of neutral genetic diversity under purging selection was lower than that expected under non-purging selection, but it was usually greater than that expected from neutral theory.

In conclusion, results from both studies imply that purging should be taken into account when predicting the expected inbreeding depression of moderate to large populations, and that the theoretical model used here provides a suitable

framework to predict the joint consequences of inbreeding and purging on fitness. Furthermore, they show that rather intense purging selection causes only little acceleration of the rate of loss of neutral genetic diversity and, in some circumstances involving tight linkage, it can even boost some protection of that diversity. In any case, the practical relevance of these last results should be tested in future studies using realistic mutational models and empirical data.

Introducción

La base genética de la depresión consanguínea

Las consecuencias negativas de la consanguinidad sobre la supervivencia y la capacidad reproductiva de las poblaciones diploides se conocen desde hace siglos. Sin embargo, no fue hasta mediados del siglo XIX cuando el cuerpo experimental en torno a esta materia comenzó a crecer considerablemente. Entre las contribuciones realizadas en esta época destaca la obra de Charles Darwin, quien, motivado por los trabajos previos de Knight (1799) y de otros botánicos contemporáneos, estudió con profundidad los mecanismos de autofecundación y de fecundación cruzada en diferentes especies de angiospermas con el fin de comprender la relevancia de la consanguinidad en la evolución de los sistemas de reproducción en plantas (Darwin, 1876).

El interés por investigar los efectos de la consanguinidad ha aumentado notablemente a lo largo del último siglo, y se ha convertido en un tema central de estudio tanto en investigación básica como en investigación aplicada. Buena parte de este interés procede del ámbito de la biología evolutiva, pues, como suponía Darwin, la consanguinidad parece jugar un papel importante en la evolución de los sistemas de reproducción, los mecanismos de dispersión y otras características de los ciclos biológicos de los organismos (Charlesworth y Charlesworth,

1987; Goodwillie *et al.*, 2005; Szulkin *et al.*, 2013). Además, es un factor de especial consideración en los programas de mejora genética animal y vegetal (Falconer y Mackay, 1996; Lynch y Walsh, 1998; Leroy, 2014), así como en programas de conservación, en los que se considera uno de los principales agentes responsables de la extinción de poblaciones amenazadas (Hedrick y Kalinowski, 2000; Keller y Waller, 2002; Frankham, 2005; Frankham *et al.*, 2010). Las consecuencias de la consanguinidad también se han estudiado en la especie humana, bien desde la vertiente evolutiva (Cavalli-Sforza *et al.*, 1994), o bien por motivos clínicos, culturales o históricos (Bittles, 2004).

El fenómeno por el cual se produce una reducción del valor fenotípico promedio de caracteres relacionados con la eficacia biológica en la descendencia de progenitores emparentados recibe el nombre de depresión consanguínea (Falconer y Mackay, 1996). Las primeras hipótesis que se postularon para explicar la base genética de este proceso se formularon a comienzos del siglo XX, pocos años después del redescubrimiento de los experimentos de Mendel (Crow, 2008). La difusión de los principios mendelianos de la herencia fue fundamental para relacionar el concepto del apareamiento entre parientes con su consecuencia genética inmediata: el aumento de la probabilidad de homocigosis de su descendencia. Esto condujo a la elaboración en paralelo de dos modelos alternativos que intentaban explicar los efectos adversos de la consanguinidad basándose en el incremento de la probabilidad de homocigosis inherente a este proceso. Sin embargo, ambos modelos diferían en el tipo de acción génica supuesto con respecto a eficacia biológica de los diversos loci implicados en el control de la misma.

La primera de estas hipótesis, conocida como hipótesis de dominancia (Davenport, 1908), proponía que los heterocigotos para un alelo causante de un defecto de función suelen poseer una eficacia biológica similar o solo ligeramente inferior a la del homocigoto silvestre. Así, la depresión consanguínea se debería

al aumento de la expresión en homocigosis del efecto deletéreo de estos alelos recesivos. En cambio, los defensores de la hipótesis alternativa, denominada hipótesis de sobredominancia (East, 1908; Shull, 1908), sostenían que la reducción de la eficacia biológica estaría asociada a la disminución de la probabilidad de heterocigosis en loci para los cuales existiría una ventaja selectiva de dichos heterocigotos sobre cualquiera de los genotipos homocigotos.

A pesar de que ha transcurrido más de un siglo desde la propuesta de ambos modelos, todavía no se conoce con total certeza cuál es la importancia relativa de cada uno de ellos en relación con la naturaleza de la depresión consanguínea observada en las poblaciones. Las evidencias procedentes de experimentos clásicos, así como de estudios recientes de evolución molecular y de cartografiado de genes, sugieren que la depresión consanguínea se debe fundamentalmente al efecto acumulativo de muchos alelos deletéreos recesivos en diferentes loci. No obstante, es posible que algunos loci sobredominantes puedan contribuir a este fenómeno de forma ocasional (Charlesworth y Willis, 2009; Hedrick, 2012).

En cualquier caso, el mecanismo de dominancia es el único que ocurre necesariamente como consecuencia de la aparición continua por mutación espontánea de alelos deletéreos con distintos grados de recesividad. Estas mutaciones suelen segregarse en las poblaciones a frecuencias bajas, por lo que se encuentran mayoritariamente en heterocigosis, de modo que la acción de la selección natural en su contra es más ineficiente cuanto mayor es su recesividad (Falconer y Mackay, 1996). Por tanto, las mutaciones deletéreas más recesivas tienden a contribuir en mayor grado al lastre genético oculto en heterocigosis, es decir, a aquel atribuible a efectos deletéreos que no se expresan en la población panmíctica por presentarse en heterocigosis. Este lastre oculto también recibe el nombre de lastre de consanguinidad, ya que se expresa al incrementarse la consanguinidad de la

población, originando así el declive de la eficacia biológica conocido como depresión consanguínea (Morton *et al.*, 1956).

La magnitud del lastre oculto se puede cuantificar utilizando la tasa de depresión consanguínea, que se define como el porcentaje esperado de reducción de la eficacia biológica media de la población, en ausencia de selección, por cada 1 % de incremento en el coeficiente de consanguinidad de la misma. Así pues, la obtención de estimas de este parámetro resulta especialmente relevante porque permite predecir el deterioro que sufriría la eficacia biológica media de una población si esta expresase todo su lastre oculto.

La mayor parte de las estimas disponibles de la tasa de depresión consanguínea proceden de experimentos de laboratorio realizados con *Drosophila* (Simmons y Crow, 1977; Crow, 1993) o con plantas (Husband y Schemske, 1996; Byers y Waller, 1999), aunque también se ha estimado en poblaciones silvestres de diversos taxones (Crnokrak y Roff, 1999; O'Grady *et al.*, 2006), en poblaciones de mamíferos mantenidas en cautividad (Ralls *et al.*, 1988, Rodrigáñez *et al.*, 1998) y en poblaciones humanas (Morton *et al.*, 1956; Bittles y Neel, 1994; Ceballos y Álvarez, 2013). Estas estimas son altamente variables y dependen de diversos factores, como la especie y el carácter estudiado (DeRose y Roff, 1999), el censo efectivo histórico de la población (García-Dorado, 2003, 2007) o las condiciones ambientales en las que se realiza la evaluación (Armbruster y Reed, 2005; Fox y Reed, 2011). A pesar de que estos valores predicen, en general, que el impacto de la depresión consanguínea puede llegar a ser importante si la consanguinidad es lo suficientemente elevada, estas predicciones ignoran el efecto de la selección natural durante el período de consanguinidad (García-Dorado, 2012).

La purga de la depresión consanguínea

Como se ha mencionado anteriormente, el modelo de dominancia predice que la selección natural en contra de alelos deletéreos es más intensa cuando estos se combinan en homocigosis que cuando se presentan en heterocigosis. Por tanto, es de esperar que la eficiencia de la selección natural se incremente en aquellas poblaciones que experimenten un cierto aumento de su consanguinidad. Esta forma de selección, que surge como respuesta a la expresión del lastre mutacional que previamente se encontraba oculto en heterocigosis, recibe el nombre de purga (Crnokrak y Barrett, 2002; Leberg y Firmin, 2008; García-Dorado, 2008, 2012). Cabe destacar que tanto la depresión consanguínea como la purga pueden producirse como consecuencia del censo reducido en una población panmíctica o como resultado de apareamientos no aleatorios en una población de censo elevado. No obstante, las repercusiones del proceso serían diferentes en cada situación. En el primer caso, la deriva genética podría causar cambios erráticos en la frecuencia de los alelos deletéreos que interferirían con el proceso de purga (Glémin, 2003; García-Dorado, 2012).

La consecuencia más inmediata de la purga es que la depresión de la media de los caracteres próximos a la eficacia biológica causada por la consanguinidad será menor que la esperada si esta se calculase exclusivamente en función de la tasa de depresión consanguínea inicial y del progreso de la consanguinidad. Además, la purga actúa reduciendo el lastre oculto de la población, lo que limita la depresión que producirá la consanguinidad que se genere en el futuro. Sin embargo, debe advertirse que, cuando el incremento de la consanguinidad se produce por una reducción del censo, la pérdida de diversidad genética inducida por simple deriva se traducirá por si sola en una disminución proporcional del lastre oculto en heterocigosis. Esto implica que una simple reducción de la tasa de depresión consanguínea no supone una prueba definitiva de la acción de la

purga, a no ser que sea posible determinar que tal reducción es superior a la esperada como consecuencia de la deriva. En todo caso, es necesario señalar que la purga opera estrictamente sobre los alelos deletéreos recesivos, de modo que, por definición, la depresión consanguínea atribuible a acción génica sobredominante no puede ser purgada.

Evidencias empíricas

Experimentos de laboratorio y estudios de simulación

Los efectos de la purga fueron descritos por primera vez por Darwin durante sus experimentos de autofecundación y de fecundación cruzada en plantas (Darwin, 1876). Aunque la mayor parte de sus datos estaban en consonancia con su hipótesis de que “la fecundación cruzada es beneficiosa, mientras que la autofecundación es perjudicial” (Darwin, 1876, p. 436), Darwin observó que algunos de los ejemplares de líneas mantenidas por autofecundación presentaban un vigor que era muy superior al de sus ancestros y similar al de individuos contemporáneos obtenidos por fecundación cruzada. Además, sus descendientes mantenían dicha ventaja adaptativa a pesar del número creciente de generaciones de consanguinidad. No obstante, Darwin solo pudo concluir que algunas plantas podían adaptarse a las condiciones perjudiciales que imponía la autofecundación, ya que desconocía los mecanismos genéticos subyacentes a estos procesos.

En los últimos años se ha dedicado un importante esfuerzo experimental a documentar las repercusiones de la purga en poblaciones consanguíneas. En general, los resultados de estas investigaciones han sido muy heterogéneos, incluso dentro de un mismo estudio o tratamiento experimental (Byers y Waller, 1999; Crnokrak y Barrett, 2002; Leberg y Firmin, 2008). Sin embargo, Crnokrak y Barrett (2002) han atribuido este carácter elusivo de la purga a limitaciones en la precisión de muchos de estos estudios. Estos autores han destacado que las evidencias

más claras de purga proceden de experimentos en los que se dispone de estimas fiables de la tasa de depresión consanguínea y de medidas de la eficacia biológica o de alguno de sus componentes para diferentes niveles de consanguinidad. Además, han enfatizado la necesidad de controlar de forma meticulosa las condiciones experimentales para evitar confundir los efectos de la purga con aquellos procedentes de factores ambientales y estocásticos, o con procesos de adaptación a las condiciones de laboratorio.

Generalmente, las evidencias empíricas en favor de la purga proceden de experimentos en los que la consanguinidad aumenta lentamente (Ehiobu *et al.*, 1989; Latter *et al.*, 1995; Day *et al.*, 2003; Reed *et al.*, 2003; Pedersen *et al.*, 2005; Swindell y Bouzat, 2006b; Demontis *et al.*, 2009; Pekkala *et al.*, 2012; Pekkala *et al.*, 2014). Este fenómeno también se ha observado en estudios de simulación (Wang *et al.*, 1999, Pérez-Figueroa *et al.*, 2009). Las ventajas de la purga con tasas de consanguinidad lentas pueden atribuirse al mayor número de generaciones que son necesarias para alcanzar un grado de consanguinidad equivalente a la producida por otras tasas más rápidas. Esto incrementaría el número de oportunidades (esto es, generaciones) disponibles para purgar el lastre oculto ancestral. Por otra parte, las tasas de consanguinidad pequeñas se asociarían a una baja probabilidad de fijación por deriva de los alelos deletéreos preexistentes y de aquellos surgidos por nueva mutación (Kimura *et al.*, 1963; Lynch *et al.*, 1995).

En otros estudios, las diferencias entre los tratamientos de consanguinidad rápida y de consanguinidad lenta no han sido tan apreciables (Bijlsma *et al.*, 2000; Swindell y Bouzat, 2006c; Mikkelsen *et al.*, 2010; Kristensen *et al.*, 2011). Sin embargo, en algunos de estos casos el efecto de la purga podría haber quedado enmascarado por procesos adaptativos simultáneos o por factores ambientales no controlados (Mikkelsen *et al.*, 2010; Kristensen *et al.*, 2011). En este sentido, algunos de estos autores han sugerido que la eficiencia de la purga depende, en

buena parte, de la expresión condicional del lastre oculto en función del ambiente (Bijlsma *et al.* 1999, 2000; Swindell y Bouzat, 2006c).

Los estudios de simulación han puesto de manifiesto que la magnitud de la purga aumenta con el efecto y la recesividad de los alelos deletéreos responsables del lastre oculto ancestral (Hedrick, 1994; Fu *et al.*, 1998; Fu, 1999; Wang *et al.*, 1999; Wang, 2000). Estos estudios muestran que los alelos letales o semiletal de elevada recesividad son fácilmente purgables y suelen eliminarse en tan solo unas pocas generaciones desde el comienzo de la consanguinidad. En cambio, la intensidad de la purga disminuye cuando el lastre oculto ancestral se debe a mutaciones de efecto deletéreo más pequeño y de recesividad intermedia. Estas observaciones son coherentes con los resultados teóricos disponibles, que indican que la intensidad de la purga depende de la magnitud de la fracción del efecto deletéreo que permanece oculto en heterocigosis, pero se expresa en homocigosis (véase el Apartado 1.1.1 para más detalles; García-Dorado, 2012). Además, en estos estudios de simulación se ha observado que, si el lastre oculto ancestral es lo suficientemente grande y el incremento de consanguinidad es demasiado rápido, la expresión generalizada de alelos deletéreos puede conducir a un declive severo de la eficacia biológica de la población y a la extinción de la misma antes de que puedan observarse los efectos de la purga. Sin embargo, si la población sobrevive a este período inicial, su viabilidad podrá recuperarse parcialmente gracias a la purga y su lastre oculto se verá reducido (Hedrick, 1994; Fu *et al.*, 1998; Fu, 1999; Wang *et al.*, 1999; Wang, 2000; Pérez-Figueroa *et al.*, 2009). De hecho, en algunos experimentos de laboratorio se ha observado un rápido declive de la eficacia biológica seguido de una recuperación parcial de la misma, incluso en líneas mantenidas con tasas de consanguinidad relativamente elevadas (García *et al.*, 1994; Husband y Schemske, 1996; Swindell y Bouzat, 2006a; Fox *et al.*, 2008; Larsen *et al.*, 2011; Pekkala *et al.*, 2012) o en poblaciones sometidas a ciclos de reducción y

de expansión del censo (Bryant *et al.*, 1990; Saccheri *et al.*, 1996; Miller y Hedrick, 2001; Reed y Bryant, 2001; Day *et al.*; 2003; Leberg y Firmin, 2008). No obstante, cabe destacar que la proporción de réplicas experimentales extintas en estos casos solía ser alta, por lo que la eficiencia de la purga podría haberse visto incrementada por la existencia de selección entre líneas (García *et al.*, 1994; Day *et al.*; 2003; Fox *et al.*, 2008; Leberg y Firmin, 2008; Larsen *et al.*, 2011; Pekkala *et al.*, 2012).

Estudios en poblaciones cautivas

Dados los posibles beneficios de la purga sobre la evolución de la eficacia biológica, no es de extrañar que se haya intentado detectar evidencias de este proceso en poblaciones amenazadas mantenidas en cautividad. El interés por estudiar las repercusiones de la purga en este tipo de poblaciones surgió tras el éxito aparente del programa de gestión genética que llevaron a cabo Templeton y Read (1984). Estos autores afirmaron haber logrado reducir significativamente la depresión consanguínea de una población de zoológico de la gacela de Speke mediante un sistema de apareamientos controlados entre parientes. No obstante, un reanálisis posterior de dicho estudio ha encontrado indicios que atribuyen estos resultados a un cambio temporal de la eficacia biológica de la población derivado de una mejoría de las condiciones ambientales (Kalinowski *et al.*, 2000). En cualquier caso, los resultados publicados por Templeton y Read (1984) bastaron para incentivar nuevas investigaciones similares en este campo que, hasta la fecha, han producido resultados muy dispares.

Por una parte, Ballou (1997) intentó detectar evidencias de purga sobre la viabilidad juvenil en 25 poblaciones de mamíferos de zoológico en las que se disponía de registros genealógicos. Para ello empleó un modelo basado en la premisa de que, como resultado de la purga, la descendencia consanguínea de individuos consanguíneos debe tener menos probabilidad de sufrir depresión que la

descendencia consanguínea de individuos no consanguíneos. Solo encontró evidencias estadísticamente significativas de purga en una de estas poblaciones, aunque en otras 15 observó una cierta asociación negativa entre el historial de consanguinidad de los padres y la depresión consanguínea de los hijos. Más tarde, Boakes *et al.* (2007) abordaron el análisis genealógico de 119 poblaciones de zoológico de múltiples taxones utilizando diversos modelos alternativos relacionados con la metodología de Ballou (1997). De forma similar, solo encontraron evidencia significativa de purga en 14 de estas poblaciones, obteniendo una reducción global de la depresión de la eficacia biológica media inferior al 1 %. Por otra parte, Mc Parland *et al.* (2009) encontraron un efecto consistente de la purga en una población de vaca frisona irlandesa para el carácter producción de leche, aunque no para fecundidad, lo que atribuyeron a la importante selección artificial aplicada sobre el primer carácter durante muchas generaciones. Así mismo, Silió *et al.* (2013) detectaron que la tasa de depresión consanguínea de caracteres relacionados con el índice de crecimiento en distintas estirpes de cerdo ibérico estaba correlacionada negativamente con la consanguinidad acumulada previamente en las mismas, siendo esta asociación considerablemente más intensa de lo esperado exclusivamente por deriva. Por el contrario, un estudio reciente en una población del ave endémica de Nueva Zelanda *Petroica traversi* sugiere que las poblaciones con un fuerte historial de consanguinidad pueden albergar importantes tasas de depresión consanguínea sin mostrar evidencias de efectos significativos de purga (Kennedy *et al.*, 2014). No obstante, cabe mencionar que la evaluación de la purga en este estudio se limitó a un período en el que el incremento total de consanguinidad fue muy limitado.

De todos modos, debe tenerse en cuenta que este tipo de estudios, que utilizan poblaciones mantenidas en cautividad o sometidas a algún tipo de manejo para su conservación, suelen enfrentarse a una serie de limitaciones que

pueden hacer muy difícil la detección de la purga. En primer lugar, el uso frecuente de estrategias que minimizan la varianza de las contribuciones familiares para mantener la diversidad genética de las poblaciones cautivas puede interferir con la acción de la selección natural sobre viabilidad y anularla para fecundidad (Fernández y Caballero, 2001; Rodríguez-Ramilo *et al.*, 2006; Sánchez-Molano y García-Dorado, 2011), tanto en lo que respecta a la purga como a la selección purificadora estándar o selección no purgadora. Por otra parte, la selección natural también puede relajarse como consecuencia de los cuidados que reciben los animales durante el período de cautividad (Frankham *et al.* 2010). Además, el reducido número de individuos disponibles y el escaso número de generaciones analizadas en muchos de estos estudios puede limitar la potencia de los contrastes estadísticos empleados, pues, como ya se ha mencionado, en intervalos cortos de tiempo solo se esperaría detectar la purga atribuible a alelos de efecto deletéreo elevado. Este problema podría ser particularmente relevante si una fracción importante del lastre oculto de estas poblaciones se hubiese purgado antes de iniciar los registros genealógicos (Boakes *et al.*, 2007; Gulisija y Crow, 2007). Todas estas dificultades contribuyen a que la relevancia de la purga en este tipo de poblaciones todavía sea objeto de debate.

Modelos teóricos

Recientemente se han desarrollado dos análisis teóricos diferentes que tratan de explicar los mecanismos responsables de la purga y de predecir sus consecuencias. En estos análisis también se estudian las condiciones necesarias para permitir una purga eficiente, aunque las conclusiones de cada modelo dependen de los términos en los que se defina dicha eficiencia.

Así, Glémin (2003) ha propuesto evaluar la purga atribuible a limitaciones en el censo efectivo (N_e) de la población mediante la reducción que induce en la

frecuencia esperada de alelos deletéreos en poblaciones de censo reducido en equilibrio mutación-selección-deriva en comparación con lo que ocurriría en una hipotética población infinita en equilibrio mutación-selección. Utilizando este criterio, ha demostrado que la purga proporciona una ventaja a la población purgada respecto de la población infinita a partir de un valor concreto de N_e , aunque la reducción de la frecuencia esperada de deletéreos solo es máxima para un rango restringido de valores de N_e y disminuye cuando toma valores demasiado elevados. Esta observación está en aparente contradicción con las evidencias experimentales mencionadas anteriormente, que muestran una mayor eficiencia de la purga a medida que la tasa de consanguinidad es menor (mayor N_e). La razón de esta discrepancia es que la reducción de la frecuencia esperada de alelos deletéreos no se refleja necesariamente en una mayor eficacia biológica media, pues esta también depende del cuadrado de dichas frecuencias (Falconer y Mackay, 1996). En otras palabras, a partir de un valor determinado de N_e , los incrementos adicionales del censo efectivo se acompañan de un cierto aumento de la frecuencia total de alelos deletéreos recesivos, pero esto no implica que se produzcan reducciones de la eficacia biológica media porque al mismo tiempo disminuye la varianza de las frecuencias y, por tanto, la probabilidad de que dichos deletéreos se expresen en homocigosis.

Por otra parte, García-Dorado (2008, 2012) ha desarrollado un modelo que describe las consecuencias conjuntas de la consanguinidad y de la purga sobre el declive de la eficacia biológica poblacional tras una reducción del censo. Este método utiliza un tratamiento determinista para predecir la evolución de la eficacia biológica media de la población durante el período en que se incrementa la consanguinidad como resultado de la disminución del tamaño poblacional. Además, la eficiencia de la purga en dicha población no se evalúa tomando como referencia la población ancestral no consanguínea, sino que se establece por comparación

con una población sometida al mismo proceso de reducción del censo, pero que evoluciona en ausencia de purga. Por tanto, esta aproximación produce resultados diferentes a la de Glémin (2003), prediciendo una limitación de la depresión consanguínea, atribuible a la purga, que aumenta de forma monótona con N_e , es decir, es mayor cuanto menor es la tasa de consanguinidad.

El modelo de García-Dorado (2012) predice la depresión consanguínea de la población en función de la tasa de depresión consanguínea en la población ancestral, de la tasa de consanguinidad y de un coeficiente efectivo de purga (d) que mide la intensidad de dicha purga en la población consanguínea. Suponiendo un modelo de un locus, este coeficiente se corresponde con la magnitud de la fracción del efecto deletéreo que se expresa en homocigosis, pero permanece oculto en el heterocigoto como resultado de la recesividad total o parcial del alelo. Por tanto, este modelo teórico identifica con mayor precisión las propiedades del efecto deletéreo que son responsables de la purga, distinguiendo d del resto del efecto deletéreo, que solo estaría sometido a selección purificadora estándar o selección no purgadora. Este valor d es más grande cuanto más deletéreo y más recesivo es el alelo responsable de la depresión consanguínea, por lo que las predicciones del modelo son consistentes con los resultados de simulación discutidos anteriormente.

En la práctica, la depresión consanguínea se debe a muchos loci en los que, debido a la ocurrencia continua de mutaciones, segregan alelos cuyos efectos deletéreos son desconocidos y de diferente magnitud (García-Dorado *et al.*, 2004; Eyre-Walker y Keightley, 2007). Por esta razón, para describir las consecuencias conjuntas de la consanguinidad y de la purga de forma aproximada, es necesario definir el coeficiente efectivo de purga (d_e), que es el valor de d que mejor explica las consecuencias de la purga sobre la depresión global observada atribuible al genoma completo. Este parámetro se puede estimar empíricamente a partir del

declive medio de la eficacia biológica bajo diferentes tasas de consanguinidad, pero exige un diseño experimental preciso, en el que la eficacia biológica y el progreso de la consanguinidad se deben evaluar bajo condiciones experimentales controladas para evitar sesgos procedentes de efectos ambientales y de procesos estocásticos o adaptativos. La obtención de estimas del coeficiente efectivo de purga puede contribuir de forma decisiva a la comprensión del alcance de la purga sobre la depresión consanguínea. No obstante, hasta el momento de llevar a cabo el presente estudio no se disponía de ninguna estima empírica de este parámetro.

Repercusiones de la selección sobre la pérdida de variabilidad genética neutra

Hasta ahora se han considerado los posibles efectos de la consanguinidad y de la purga sobre la eficacia biológica media de una población. En poblaciones de censo reducido, este fenómeno va acompañado de una pérdida de variabilidad genética que, en lo referente a genes no sometidos directamente a purga, puede atribuirse al efecto estocástico de la deriva genética. Esta pérdida de diversidad también resulta indeseable para la viabilidad de la población, pues limita el potencial adaptativo de la misma frente a posibles cambios ambientales (Frankham, 2005; Frankham *et al.*, 2010).

Una de las formas más comunes de describir la variabilidad genética de una población es mediante la heterocigosis esperada o diversidad genética evaluada en loci neutros. Esta medida tiene la ventaja de que puede compararse fácilmente entre distintas poblaciones y de que suele estar correlacionada con la varianza genética aditiva de caracteres cuantitativos (Frankham *et al.*, 2010; Caballero y García-Dorado, 2013). Según la teoría clásica, la pérdida de heterocigosis que se

espera para un locus neutro en una población de censo reducido con apareamiento aleatorio es proporcional a la tasa de consanguinidad de la misma (Falconer y Mackay, 1996). En estos casos, el coeficiente de consanguinidad y la heterocigosis neutra de la población representarían dos modos alternativos de describir un mismo proceso.

Sin embargo, esta expectativa puede incumplirse como resultado de la acción simultánea de la selección natural. En general, la selección aumenta la varianza de las contribuciones de descendientes a la generación siguiente por parte de los individuos con distinto éxito reproductivo, incrementando la tasa de consanguinidad y, por tanto, reduciendo la diversidad genética en los loci neutros (Wright, 1931). Esta pérdida de diversidad depende de las asociaciones que se establezcan entre los loci con efecto sobre eficacia biológica y los loci neutros, es decir, del desequilibrio de ligamiento entre los mismos, y se acelera en la medida en que la variabilidad del éxito reproductivo tenga un componente genético aditivo, pues entonces la ventaja selectiva de los individuos se transmite a su descendencia (Robertson, 1961; Nei y Murata, 1966; Santiago y Caballero, 1995). Este fenómeno puede ser particularmente importante si dichos loci se encuentran ligados (Nordborg *et al.*, 1996; Santiago y Caballero, 1998; Charlesworth, 2012).

En cambio, en algunos estudios realizados con poblaciones consanguíneas de *Drosophila melanogaster* se han observado pérdidas de diversidad genética más lentas que la esperada según el modelo neutro (Rumball *et al.*, 1994; Latter *et al.*, 1995; Gilligan *et al.*, 2005; Demontis *et al.*, 2009). En general, los autores de estos experimentos han atribuido esta observación a fenómenos de sobredominancia asociativa o pseudosobredominancia, que serían resultado de la asociación entre alelos neutros y alelos deletéreos (parcialmente) recesivos. La formación y el mantenimiento de estas asociaciones se verían favorecidos por la desventaja que

confieren estos deletéreos, en promedio, a los genotipos más homocigotos (Ohta, 1971; Pálsson y Pamilo, 1999; Wang y Hill, 1999).

En definitiva, cabría esperar dos efectos contrapuestos de la purga y del resto de la selección natural (selección purificadora estándar) en relación con la evolución de la variabilidad genética neutra en poblaciones de censo reducido. En general, la selección natural reduciría las contribuciones de descendientes a la generación siguiente por parte de los individuos que expresasen más alelos deletéreos, incrementando la varianza de dichas contribuciones y la tasa de consanguinidad y causando, como resultado de lo anterior, una mayor pérdida de diversidad genética neutra. Sin embargo, la purga tiende a restringir el muestreo de reproductores en favor de las contribuciones de las parejas de individuos menos emparentados, pues, aunque la purga actúa directamente sobre la frecuencia de homocigotos deletéreos, esta depende del parentesco promedio de los individuos de la generación anterior (García-Dorado, 2012). Es decir, esta tendencia a la producción de descendientes menos consanguíneos también podría provocar una menor pérdida de diversidad en los loci neutros, en la medida en que estos se encontrasen asociados a los loci con efecto sobre eficacia biológica. Por tanto, resulta de interés dilucidar cuál es el efecto neto de la selección natural, purga incluida, sobre el proceso de pérdida de diversidad genética neutra inducido por la reducción del censo poblacional, y cómo dicho efecto depende del ligamiento entre los loci neutros y aquellos sometidos a selección.

Objetivos

El propósito principal de esta tesis es profundizar en el análisis de las repercusiones de la purga sobre la evolución de la eficacia biológica y de la diversidad genética neutra en poblaciones de censo reducido. Para ello se han planteado dos objetivos:

1. Investigar la eficiencia de la purga sobre la evolución de la media de la viabilidad huevo-pupa en líneas panmícticas de censo reducido de *Drosophila melanogaster*. Las consecuencias de la purga se analizan a la luz de la metodología propuesta por García-Dorado (2012), estimándose el coeficiente efectivo de purga (d_e) que determina la magnitud de la misma y que permite predecir la evolución esperada de dicho componente de eficacia biológica en función de la tasa de consanguinidad y del lastre inicial de consanguinidad.
2. Evaluar las repercusiones de la purga sobre la pérdida de diversidad genética neutra y el incremento de consanguinidad en poblaciones de censo reducido utilizando simulaciones por ordenador.

Esta memoria se ha estructurado en dos capítulos centrales, en cada uno de los cuales se exponen la metodología y los resultados obtenidos en relación con uno de los objetivos citados. Finalmente se recogen las conclusiones globales derivadas de ambos estudios.

Capítulo 1

Estimación del coeficiente efectivo de purga en una población silvestre de *Drosophila melanogaster*

1.1 Material y métodos

1.1.1 Modelo teórico

El protocolo experimental empleado en este estudio se fundamenta en el modelo teórico desarrollado por García-Dorado (2012). Este método permite predecir el cambio de la eficacia biológica media de una población que sufre una reducción de su censo teniendo en cuenta las consecuencias conjuntas de la depresión consanguínea y de la selección natural, así como el declive de la eficacia biológica causado por nueva mutación. En este trabajo se utiliza una versión simplificada de dicho modelo que supone que la evolución de la eficacia biológica media a corto y medio plazo depende exclusivamente de los efectos de la consanguinidad y de la purga sobre la variabilidad genética de la población ancestral.

Considérese una población panmíctica de censo efectivo elevado que se encuentra próxima al equilibrio mutación-selección-deriva respecto a eficacia biológica o alguno de sus componentes principales, de modo que se pueda suponer que el lastre genético oculto en heterocigosis se debe a la segregación a frecuencia baja de alelos deletéreos parcial o completamente recesivos. El lastre oculto en

heterocigosis de esta población se puede cuantificar mediante la tasa de depresión consanguínea δ , que es la tasa a la que se espera que la eficacia biológica media w se reduzca, en ausencia de selección, con valores crecientes del coeficiente de consanguinidad f .

Supóngase que la composición de este lastre oculto se debe a un número desconocido de loci no epistáticos en ausencia de desequilibrio de ligamiento, en cada uno de los cuales segrega un alelo deletéreo recesivo m con frecuencia $q \ll (1 - q)$. La desventaja selectiva de cada genotipo homocigoto deletéreo mm es s y la de cada heterocigoto $+m$ es hs , donde s es el coeficiente de selección en contra de los homocigotos deletéreos y h es el coeficiente de dominancia, es decir, la proporción de s que se expresa en heterocigosis. De esta forma, el efecto deletéreo que se esperaría en el homocigoto mm si la acción génica fuese aditiva sería $2hs$. La diferencia entre el efecto deletéreo real en homocigosis y su esperanza aditiva es, por tanto, $s - 2hs = 2d$, donde d representa el exceso del efecto deletéreo por copia del alelo m atribuible a la expresión en homocigosis, y se corresponde con el valor genotípico del heterocigoto para eficacia biológica relativa en la escala de Falconer (Falconer y Mackay, 1996).

Asúmase ahora que en la generación $t = 0$ esta población sufre una reducción importante y estable de su censo caracterizada por un nuevo censo efectivo N_e . La población continúa siendo panmíctica, pero la disminución de su tamaño conduce a un incremento de la consanguinidad que repercute en un aumento de la proporción de los homocigotos deletéreos que son responsables de la depresión de la eficacia biológica media. La acumulación progresiva de esta consanguinidad induce una selección adicional, denominada purga, que actúa sobre el exceso d de desventaja selectiva que muestran estos alelos deletéreos por presentarse en homocigosis (mm) en lugar de en heterocigosis ($+m$). Por este motivo, este parámetro d recibe el nombre de coeficiente de purga.

Así pues, suponiendo que los efectos de los diferentes loci que contribuyen a la depresión consanguínea se combinan de forma multiplicativa, la evolución esperada de la eficacia biológica media teniendo en cuenta las consecuencias conjuntas de la consanguinidad y de la purga es

$$w_t \approx w_0 \exp(-\delta g_t), \quad (1.1)$$

donde w_0 es la eficacia biológica media en la población ancestral, w_t es la eficacia biológica media esperada tras t generaciones de mantenimiento con censo efectivo N_e , δ es la tasa de depresión consanguínea en la población ancestral y g_t es el coeficiente de consanguinidad purgado en la generación t . El coeficiente de consanguinidad purgado se define como $g_t = E[f_t q_t] / q_0$, siendo q_t la frecuencia de m en la generación t . Por tanto, este parámetro tiene en cuenta la reducción de la frecuencia de los homocigotos mm que sería atribuible a la purga. Su evolución puede predecirse de forma aproximada como

$$g_t \approx \left[\frac{1}{2N_e} + \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right) g_{t-1} \right] (1 - 2df_{t-1}), \quad (1.2)$$

donde f_t es el coeficiente de consanguinidad estándar en la población de censo efectivo N_e en la generación t . Dicho coeficiente puede predecirse con buena aproximación utilizando la expresión propuesta por Wright (1931) para describir el progreso de la consanguinidad en la población ideal subdividida, es decir,

$$f_t = \left[\frac{1}{2N_e} + \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right) f_{t-1} \right], \quad (1.3a)$$

que puede reescribirse como

$$f_t = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right)^t. \quad (1.3b)$$

De las Ecuaciones 1.2 y 1.3 se deduce que el coeficiente de consanguinidad purgado no tiende a 1, a diferencia de lo que ocurre con el coeficiente de consanguinidad estándar, sino a un valor de equilibrio que es más pequeño cuanto más

grandes son d y N_e y que se alcanza antes cuanto mayor es d y menor es N_e . Además, la Ecuación 1.2 muestra formalmente que la purga solo actúa cuando se ha acumulado cierta consanguinidad en la población. En un hipotético caso en el que no se produjese purga tras la reducción del censo ($d = 0$), ambos coeficientes de consanguinidad serían equivalentes y la Ecuación 1.1 se reduciría a la expresión neutra empleada clásicamente para describir el cambio en eficacia biológica media de una población consanguínea, es decir, $w_t = w_0 \exp(-\delta f_t)$ (Morton *et al.*, 1956).

En definitiva, la utilidad potencial de estas predicciones teóricas depende del conocimiento de la tasa de depresión consanguínea en la población ancestral (δ), del censo efectivo de la población de censo reducido (N_e) y del coeficiente de purga (d) correspondiente a los loci implicados en la reducción de la eficacia biológica media. Sin embargo, como ya se mencionó en la Introducción, en situaciones realistas se espera que d varíe de locus a locus en función de la distribución conjunta de s y h , que suele ser desconocida (García-Dorado *et al.*, 2004; Eyre-Walker y Keightley, 2007). Para solventar este problema práctico, García-Dorado (2012) ha propuesto sustituir d por un coeficiente efectivo de purga d_e en la Ecuación 1.2. Este valor efectivo, cuya estimación es el objetivo principal de este estudio, se define como el valor de d que explicaría la purga observada en la población de censo reducido. Los análisis realizados mediante cálculo numérico y simulación han mostrado que, cuando d varía entre loci, las predicciones obtenidas utilizando un único valor d_e son relativamente robustas para distribuciones plausibles de los efectos deletéreos, en lo referente a los efectos de alelos deletéreos no letales (Pérez-Figueroa *et al.*, 2009; García-Dorado, 2012).

1.1.2 Diseño experimental

1.1.2.1 Material biológico

En este experimento se ha empleado una población silvestre del díptero *Drosophila melanogaster*. El muestreo de los individuos se realizó en una bodega de la localidad de San Sadurní de Noya (Barcelona). Los individuos capturados llegaron al día siguiente a Madrid, donde se estableció una población base formada por un total de 229 machos y 276 hembras fecundadas.

Durante la primera etapa experimental también se utilizó una cepa *If/CyO*, portadora de los marcadores del cromosoma II *Irregular facets (If)* y *Curly (Cy)* en heterocigosis y en fase de repulsión. *Curly of Oster (CyO)* es un cromosoma II con múltiples inversiones que impiden el sobrecruzamiento en los heterocigotos para dicho cromosoma durante la meiosis. Esta propiedad permite que la constitución *If/CyO* de esta cepa se mantenga estable con el paso de las generaciones, ya que los individuos homocigotos para *Cy* o para *If* son, en su gran mayoría, inviables. Además, estos marcadores confieren un fenotipo característico en heterocigosis que permite distinguir fácilmente a los individuos portadores de los individuos silvestres no portadores. El marcador *Cy* se localiza en la posición 6.1 de *CyO* y produce en heterocigosis un fenotipo de alas curvadas. El marcador *If* se sitúa en la posición 107.6 del cromosoma II homólogo, y su efecto en heterocigosis es una reducción considerable del tamaño del ojo en relación con el fenotipo silvestre (St. Pierre *et al.*, 2014).

1.1.2.2 Condiciones de mantenimiento de los individuos

La población estudiada se mantenía en tubos de vidrio de fondo plano de 2 cm de diámetro y 9 cm de altura, en cuyo fondo se añadía una capa de medio de

cultivo de aproximadamente 2 cm de espesor. La cepa *If/CyO* se mantenía en botellas de vidrio de 5 cm de diámetro de fondo, 3 cm de diámetro de boca y 14 cm de altura, con una capa de medio de cultivo de unos 2 cm de grosor.

El medio de cultivo se preparaba por cocción de 100 g de levadura, 70 g de azúcar, 50 g de harina de trigo y 11,5 g de agar industrial por cada litro de agua. A continuación se enfriaba el medio a 55 °C aproximadamente, y se añadían 5 ml de ácido propiónico por cada litro de agua para evitar la contaminación fúngica. Además, en aquellos casos en los que el medio iba a ser destinado para el conteo de huevos (véase el Apartado 1.1.2.3), se incorporaban 25 gotas de colorante alimentario McCormick® verde y otras tantas de rojo y de azul por litro de medio para favorecer el contraste.

Los cultivos se mantenían a una temperatura constante de 25 ± 1 °C, con iluminación continua y con un 45 ± 5 % de humedad relativa. De este modo, el desarrollo de los individuos (huevo-larva-pupa-adulto) se completaba en diez días aproximadamente.

La manipulación de los individuos se realizaba a la temperatura ambiente del laboratorio utilizando CO₂ como anestésico. Todas las hembras empleadas en los cruzamientos descritos en el Apartado 1.1.2.4 eran vírgenes.

1.1.2.3 Carácter estudiado

La elección del carácter estudiado en los experimentos en los que se evalúa la acción de la purga está condicionada por el esquema de mantenimiento de las poblaciones experimentales y por el muestreo de reproductores. Por motivos que se explican más adelante, este experimento se diseñó de forma que la selección natural actuase en cada generación sobre el número de pupas producidas por cada pareja. Así, la selección operaba principalmente sobre la fecundidad de los padres y sobre los componentes de viabilidad de la descendencia que se expresan

en las fases del ciclo biológico previas al estadio de pupa. Por esta razón, el carácter que se eligió evaluar en este estudio fue la viabilidad huevo-pupa, que en este contexto experimental se define como la proporción de pupas emergidas a partir de una muestra igual o inferior a 30 huevos puestos por una hembra de aproximadamente siete días de edad.

La evaluación de este carácter comenzaba con el apareamiento individual de hembras vírgenes de tres o cuatro días de edad con machos de la misma edad. Tres días después se transfería cada pareja a un pocillo de 1,6 cm de diámetro en el que se habían añadido previamente 2 ml de medio de cultivo coloreado. A continuación se permitía la puesta durante 24 h, tras las cuales se descartaban los reproductores para realizar el conteo de huevos. En ese momento se cortaba una porción de medio coloreado que contuviera 30 huevos o toda la puesta, en el caso de que esta fuese inferior a 30, y se transfería a un nuevo tubo de vidrio con medio fresco. La viabilidad huevo-pupa de la descendencia se obtenía como el cociente entre el número total de pupas tras ocho días de desarrollo y el número de huevos transferidos originalmente.

1.1.2.4 Protocolo experimental

Estimación de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base

Las Ecuaciones 1.1-1.3 muestran que, para obtener estimas del coeficiente de purga utilizando la aproximación teórica descrita, primero se debe disponer de una estima de la tasa de depresión consanguínea del carácter estudiado antes de que se produzca la reducción del censo poblacional. Así pues, el objetivo inicial de este experimento fue estimar la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base recién establecida.

No obstante, es necesario tener en cuenta que una importante fracción de la tasa de depresión consanguínea para viabilidad que se ha estimado en otras poblaciones naturales de *Drosophila* se ha atribuido a alelos letales prácticamente recesivos (Simmons y Crow, 1977; Crow, 1993). Este factor podría tener especial relevancia en este experimento porque se espera que los coeficientes de purga de los alelos letales recesivos sean, en general, mucho más grandes que los valores correspondientes del resto de alelos deletéreos no letales parcialmente recesivos. Por tanto, si el lastre oculto de nuestra población tuviese unas características similares a las de los estudios citados, sería de esperar que la distribución de los coeficientes de purga del conjunto de loci implicados fuese marcadamente bimodal y presentara una elevada varianza, lo cual reduciría la calidad de las predicciones realizadas con un único coeficiente efectivo de purga (Apartado 1.1.1).

Por esta razón, esta primera etapa experimental se dividió en dos ensayos simultáneos (Figura 1.1). En el primero de ellos se evaluó la viabilidad huevo-pupa en la población base en un esquema de apareamientos consanguíneo y en otro no consanguíneo, lo que permitió obtener una estima de la tasa de depresión consanguínea global de dicho carácter. En el segundo ensayo se estimó la proporción de cromosomas II letales en la población base con el fin de desglosar la estima de la tasa de depresión consanguínea global en dos componentes: uno atribuible a alelos letales y otro a alelos deletéreos no letales. Al considerar por separado la fracción letal y no letal de la tasa de depresión consanguínea, el ajuste entre las observaciones y las predicciones teóricas debería mejorar sustancialmente.

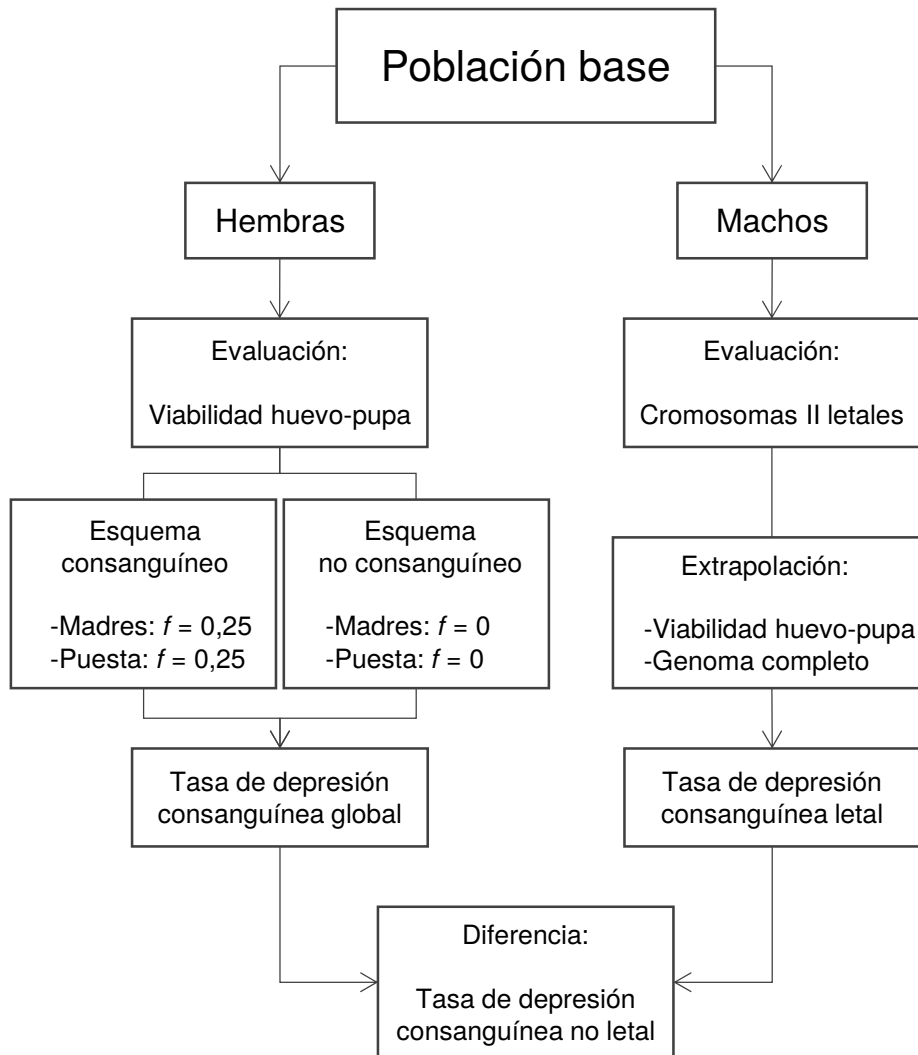


Figura 1.1 Esquema simplificado del protocolo experimental empleado para estimar la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base.

Evaluación de la viabilidad huevo-pupa en un esquema de apareamientos consanguíneo y en un esquema de apareamientos no consanguíneo

El protocolo experimental diseñado para estimar la tasa de depresión consanguínea global de la viabilidad huevo-pupa se llevó a cabo utilizando como material de partida hembras fecundadas procedentes de la población base. Sin embargo, las hembras capturadas podrían haber sido fecundadas por más de un macho en la naturaleza, por lo que el grado de parentesco entre los descendientes de una misma hembra era incierto. Es decir, la descendencia de estas hembras no podía ser empleada directamente para obtener una estima fiable de la tasa de

depresión consanguínea. Para solventar este problema inicial se muestrearon una hembra y un macho de la descendencia de cada una de las 276 hembras silvestres fecundadas y se aparearon al azar y de forma individual en 276 tubos nuevos.

A continuación se escogieron 120 tubos al azar de los 276 disponibles y se muestrearon ocho machos y ocho hembras de la descendencia de cada uno de ellos (generación $t = -3$). Cuatro hembras del tubo i se aparearon de forma individual con sus hermanos, y las cuatro hembras restantes se aparearon de forma individual con cuatro machos del tubo $i + 1$, cruzándose las hembras del tubo 120 con los machos del tubo 1. Estos apareamientos sirvieron para establecer cuatro réplicas cuya progenie sería consanguínea y cuatro réplicas cuya progenie sería no consanguínea, respectivamente. En la generación $t = -2$ los individuos del grupo no consanguíneo se aparearon de nuevo de forma individual siguiendo un esquema destinado a evitar la consanguinidad. Para ello se cruzó una hembra procedente de cada apareamiento [$i \times (i + 1)$] con un macho procedente de un apareamiento [$(i + 2) \times (i + 3)$]. Simultáneamente, en el grupo consanguíneo se cruzaron primos dobles, es decir, una hembra de la réplica j se apareó con un macho obtenido de la réplica $j + 1$ procedente del mismo tubo i original. Estos cruzamientos se realizaron según las condiciones descritas en el Apartado 1.1.2.3 para evaluar la viabilidad huevo-pupa de la puesta de estas hembras. Así pues, la viabilidad huevo-pupa se midió en la puesta no consanguínea de 480 hembras no consanguíneas y en la puesta consanguínea de 480 hembras consanguíneas.

Este procedimiento garantiza la misma consanguinidad en las madres y en la puesta cuya viabilidad se evalúa, lo que permitió estimar la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa que incluía los componentes de la depresión atribuibles a componentes genéticos de la madre y de la propia puesta.

Estimación de la proporción de cromosomas II letales

La estima de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa debida a alelos letales se obtuvo a partir de la proporción de cromosomas II letales estimada en una muestra de 229 cromosomas II, cada uno procedente de un macho distinto de la población base y representado por + en el esquema experimental que prosigue.

Cada uno de los 229 machos silvestres de la población base se apareó en un tubo con dos hembras procedentes de la cepa *If/CyO*. De la descendencia de cada apareamiento se obtuvo un macho *+/CyO* que se retrocruzó con tres o cuatro hembras de la cepa *If/CyO*. A continuación se muestrearon un macho *+/CyO* y tres hembras *+/CyO* de la descendencia de cada tubo y se aparearon entre sí para fundar una línea cromosómica. Todos los individuos de una línea cromosómica debían portar, como mínimo, una copia idéntica del mismo cromosoma II silvestre + muestreado de la población base, debido a la letalidad de los homocigotos para *CyO* y a la supresión del sobrecruzamiento causada por este cromosoma. Se clasificaron como cromosomas letales los cromosomas II silvestres de aquellas líneas cromosómicas en las que no se observaron descendientes *+/+* durante los diez primeros días de emergencia. La proporción de cromosomas II letales se estimó a partir del cociente entre el número de líneas letales y el número total de líneas cromosómicas evaluadas.

Estimación del coeficiente efectivo de purga de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo reducido

Una vez estimada la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base, se llevó a cabo el protocolo experimental necesario para estimar el coeficiente efectivo de purga a partir del declive medio observado para este carácter en poblaciones de censo reducido. Para ello se emplearon líneas

derivadas de la población base de censo $N = 6$ (30 réplicas) y de censo $N = 12$ (15 réplicas) que se mantuvieron mediante apareamientos individuales con una pareja en cada tubo. La viabilidad huevo-pupa se evaluó en las generaciones $t = 6$ y $t = 15$ en las líneas $N = 6$, y en las generaciones $t = 11$ y $t = 20$ en las líneas $N = 12$ (Figura 1.2).

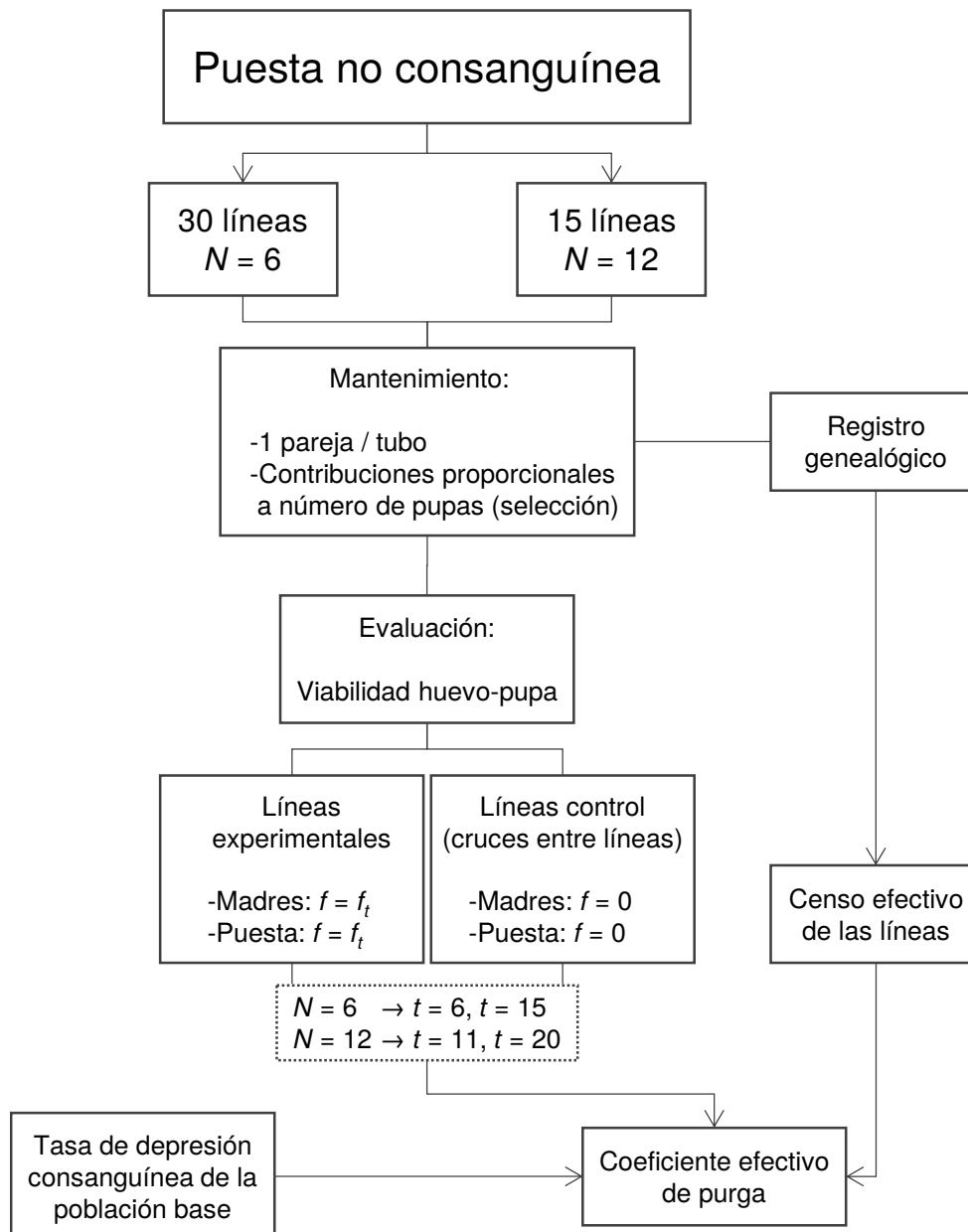


Figura 1.2 Esquema simplificado del protocolo experimental empleado para estimar el coeficiente efectivo de purga de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo reducido.

Origen de las líneas de censo reducido

Las líneas de censo reducido se fundaron a partir de la descendencia de 120 hembras no consanguíneas de las 480 empleadas para estimar la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base. Para ello se muestrearon dos machos y dos hembras de un tubo elegido al azar de cada juego de cuatro réplicas procedentes del mismo tubo i ancestral ($t = -1$). Al igual que en generaciones anteriores, estos individuos se aparearon de manera individual y evitando la consanguinidad, por lo que las hembras de origen $\{[i \times (i + 1)] \times [(i + 2) \times (i + 3)]\}$ se cruzaron con machos de origen $\{[(i + 4) \times (i + 5)] \times [(i + 6) \times (i + 7)]\}$. A continuación se eligieron al azar dos juegos idénticos de 90 parejas a partir de los 120 apareamientos individuales efectuados por duplicado. Uno de ellos se empleó para fundar 30 réplicas de líneas $N = 6$, y el otro se utilizó para formar 15 réplicas de líneas $N = 12$.

Nótese que la numeración de las generaciones se ha asignado con el fin de que este diseño induzca un incremento del parentesco promedio entre los individuos de una misma línea en la generación $t = 0$. Por tanto, los reproductores de $t = 1$ habrían sido los primeros en sufrir consanguinidad y purga debido a la reducción del censo.

Mantenimiento de las líneas de censo reducido

El mantenimiento de las líneas de censo reducido se realizó de acuerdo a un esquema en el que cada pareja de la generación t contribuía al grupo reproductor de la generación $t + 1$ un número aleatorio de machos y de hembras cuyo valor esperado era proporcional al número de pupas producidas en el tubo de dicha pareja. De esta manera, se simulaba la acción de la selección natural sobre la viabilidad huevo-pupa al tiempo que se garantizaban las oportunidades reproductivas de las tres ($N = 6$) o seis ($N = 12$) parejas de cada línea. Este método también

permitía registrar la identidad y el número de individuos procedentes de cada familia, lo cual proporcionaba la información necesaria para estimar el censo efectivo de dichas líneas. Este protocolo de mantenimiento se describe detalladamente a continuación.

En cada generación t se contaba el número de pupas k_i producidas en cada tubo i de cada línea al cabo de diez días tras el apareamiento. Siendo $K = \sum_i k_i$ el número total de pupas producidas por una línea, se asignaban conceptualmente números de orden consecutivo de 1 a K a todas las pupas de los tres ($N = 6$) o seis ($N = 12$) tubos de la misma. A continuación se muestreaba un número aleatorio de 1 a K sin reemplazamiento. Este número representaba el número de orden de una pupa en la línea y se empleaba para conocer el tubo de procedencia de una hembra reproductora. Dicha hembra se muestreaba al azar de entre todas las hembras vírgenes obtenidas en el tubo en el que se localizaba esa pupa. Este procedimiento se repetía hasta obtener tres hembras en cada línea $N = 6$ y seis en cada línea $N = 12$. En el caso de que alguno de los números muestreados correspondiese a la contribución de un tubo sin hembras vírgenes disponibles, se sustituía por otro número aleatorio de 1 a K . La procedencia de los machos se establecía de forma análoga. Una vez elegidas las hembras y situadas de forma consecutiva en los nuevos tubos de apareamiento, se generaba una permutación aleatoria que indicaba el orden de los machos asignados en estos tubos.

Además, en cada generación se mantenían uno ($N = 6$) o dos ($N = 12$) tubos de repuesto para cada una de las líneas de censo N . Estos tubos de reserva se originaban siguiendo el mismo procedimiento referido anteriormente para los tubos titulares y solo se empleaban en caso de que alguna de las parejas titulares no produjese pupas.

Estas líneas se mantuvieron utilizando el sistema descrito durante 15 ($N = 6$) o 20 ($N = 12$) generaciones, tras las cuales fueron descartadas.

Evaluación del declive de la media de la viabilidad huevo-pupa debido a la reducción del censo

El declive de la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo reducido se evaluó utilizando como control líneas generadas a partir de cruza- mientos entre las propias líneas de censo reducido. Así, la variabilidad genética de los controles y de las líneas experimentales habría estado sometida a idénticas presiones adaptativas a lo largo del experimento.

Para cada evaluación de la viabilidad huevo-pupa en la generación t se ge- neraba una población control constituida por líneas obtenidas a partir del apa- reamiento individual de hembras de la línea l con machos procedentes de la línea $l + 1$ en la generación $t - 1$. Estos individuos se muestreaban según el método de contribuciones proporcionales al número de pupas por tubo explicado en el apar- tado anterior y se apareaban al mismo tiempo que se realizaban los aparea- mientos de mantenimiento de las líneas de censo reducido. En la generación t se muestreaban cuatro hembras del tubo i de la línea control $[l \times (l + 1)]$ y se cruza- ban de forma individual con cuatro machos del tubo i de la línea control $[(l + 2) \times (l + 3)]$ siguiendo el protocolo descrito en el Apartado 1.1.2.3 para me- dir la viabilidad huevo-pupa de la puesta de estas hembras. Simultáneamente, se evaluaba la viabilidad huevo-pupa de las líneas de censo reducido en la puesta de cuatro hembras procedentes del tubo i de la línea l que previamente se habían cruzado de forma individual con cuatro machos del tubo $i + 1$ de la misma línea. El apareamiento entre individuos muestreados de distintos tubos de una misma línea demora una generación el incremento de la consanguinidad, por lo que la consanguinidad esperada de dicha puesta sería idéntica a la consanguinidad de las correspondientes madres, tal y como sucedía en la evaluación de la viabilidad huevo-pupa en la población base.

Por tanto, la viabilidad huevo-pupa se evaluaba en cuatro réplicas por tubo de mantenimiento (esquema consanguíneo) y en otras tantas réplicas en las que la consanguinidad debida a la reducción del censo habría sido destruida por cruzamiento entre líneas, tanto para la hembra que efectuaba la puesta como para su descendencia (esquema no consanguíneo).

1.1.3 Análisis de datos

1.1.3.1 Variables analizadas y contrastes estadísticos

El principal carácter evaluado en este estudio fue la viabilidad huevo-pupa, medida como la proporción de pupas emergidas a partir de un máximo de 30 huevos puestos por una hembra. Para realizar los análisis estadísticos de interés se utilizó una variable v , definida como el promedio de esta proporción en la puesta de cuatro hembras muestreadas de la descendencia de un mismo apareamiento individual.

Los contrastes estadísticos que se realizaron con esta variable se limitaron a simples pruebas t de Student de comparación de dos muestras independientes. En la población base se compararon las medias de v en los 120 tubos del grupo no consanguíneo (v_{NC}) y en los 120 tubos del grupo consanguíneo (v_C). En las líneas, con los datos obtenidos en cada evaluación de la media de la viabilidad huevo-pupa en la generación t , se procedió de forma análoga, calculándose primero el promedio de v en cada línea de censo N para cada tipo de esquema. A continuación se compararon las medias generales en las líneas de censo N (v_t) y en las correspondientes líneas control (v_0). En todos los contrastes realizados se detectaron diferencias significativas en la varianza del error entre esquemas, por lo que se aplicó la corrección de Welch (Welch, 1947), que permite no asumir homogeneidad de varianzas.

Así mismo, se estudió la evolución del número de pupas producidas en los tubos de mantenimiento durante el período de censo reducido mediante una variable p , definida como el número medio de pupas producido por una pareja de reproductores al cabo de diez días tras el apareamiento. El análisis estadístico correspondiente se explica de un modo más detallado en el apartado siguiente.

1.1.3.2 Estimación de parámetros genéticos

Estimación de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base

Estimación de la tasa de depresión consanguínea global de la viabilidad huevo-pupa

Se puede considerar que, al tratarse de un componente principal de eficacia biológica, la viabilidad huevo-pupa es un carácter que posee naturaleza multiplicativa, por lo que las causas que contribuyen a su variación tienen efectos proporcionales a la media del carácter. En estas condiciones, el valor esperado de la viabilidad huevo-pupa de los individuos consanguíneos obtenidos después de una generación de apareamientos entre parientes sería igual a la media de la viabilidad huevo-pupa de los individuos no consanguíneos multiplicada por $\exp(-\delta f)$, donde δ es la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa y f es el coeficiente de consanguinidad de dichos individuos (Morton *et al.*, 1956). De este modo, la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base se estimó como

$$\delta = \frac{\log_e(v_{NC}/v_C)}{f}, \quad (1.4)$$

donde v_C y v_{NC} son las medias muestrales de la viabilidad huevo-pupa del grupo consanguíneo y del grupo no consanguíneo, respectivamente, y f es el coeficiente de consanguinidad de los primeros, que es $f = 0,25$ tanto para la madre que pro-

dujo la puesta evaluada como para la propia puesta, debido al esquema de apareamientos impuesto. El error típico de esta estima se calculó mediante *bootstrap* como la raíz cuadrada del promedio del cuadrado de las desviaciones de las estimas de δ obtenidas en 500 muestras *bootstrap* respecto a la estima empírica de δ . Este error típico se obtuvo utilizando el paquete *boot* (Canty y Ripley, 2014) del programa informático R (R Core Team, 2014).

Estimación de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa atribuible a alelos letales o a alelos deletéreos no letales

Los alelos letales que segregan en las poblaciones naturales de *Drosophila* suelen estar a frecuencias bajas y tienen escaso efecto deletéreo en heterocigosis (Crow, 1993), por lo que se espera que apenas reduzcan la viabilidad media poblacional. Así pues, la viabilidad esperada de los individuos consanguíneos considerando únicamente los alelos letales recesivos del cromosoma II sería aproximadamente $\exp(-\delta_{L_{II}}^* f_{II})$, donde $\delta_{L_{II}}^*$ es la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad correspondiente a alelos letales del cromosoma II y f_{II} es la consanguinidad del cromosoma II. Si se forzara la homocigosis completa del cromosoma II en la población ($f_{II} = 1$), una proporción Q_{II} de los individuos sería homocigota para un cromosoma II letal, mientras que el resto lo serían para cromosomas II no letales. Es decir, en dicho supuesto la viabilidad esperada de los individuos consanguíneos en lo relativo a su constitución genética en el cromosoma II sería $\exp(-\delta_{L_{II}}^*) = 1 - Q_{II}$.

En este estudio se aisló una muestra de $n = 229$ cromosomas II de la población base, lo que permitió estimar la proporción de los mismos que eran letales (Q_{II}) como

$$Q_{II} = \frac{L_{II}}{n}, \quad (1.5)$$

donde L_{II} es el número de líneas cromosómicas letales observadas. Debe notarse que estos cromosomas letales incluían todas las mutaciones que eran letales en homocigosis en algún momento del desarrollo entre el estadio de huevo y la emergencia del adulto. Por tanto, esta estima de Q_{II} solo permite obtener una estima directa de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-adulto debida a alelos letales del cromosoma II (esto es, $\delta_{L_{II}}^* = -\log_e(1 - Q_{II})$). No obstante, la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa de origen letal correspondiente al genoma completo (δ_L) se puede inferir empleando información adicional procedente de evidencias experimentales previas.

Según diversos estudios, aproximadamente el 75,6 % de los letales recesivos de *D. melanogaster* afectan a las fases del ciclo biológico comprendidas entre el estadio de huevo y el estadio de pupa (Shearn *et al.*, 1971; Ripoll, 1977; Perrimon *et al.*, 1989; Török *et al.*, 1993; Deák *et al.*, 1997; con un rango observado del 71 % al 82 % y un porcentaje promedio del 75,6 %). Teniendo esto en cuenta, la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa atribuible a alelos letales del cromosoma II se estimó como

$$\delta_{L_{II}} = -0,756 \log_e(1 - Q_{II}). \quad (1.6)$$

La tasa de depresión consanguínea del genoma completo debería atribuirse fundamentalmente a los cromosomas II y III. El cromosoma X se encuentra en hemicigosis en los machos, lo que sugiere que los alelos recesivos con efecto deletéreo sobre viabilidad sufren el efecto continuo de la selección purificadora. Es decir, la contribución del cromosoma X al lastre oculto de viabilidad debería ser insignificante, tal y como se ha comprobado en otros estudios experimentales (Eanes *et al.*, 1985; Mallet y Chippindale, 2011). Suponiendo que la aportación de cada cromosoma al lastre oculto de viabilidad fuese proporcional a su contenido génico y considerando que el cromosoma II contiene cerca del 46 % de los genes

nucleares descritos hasta la fecha si se excluye al cromosoma X del cómputo total (St. Pierre *et al.*, 2014), obtuvimos una estima de la tasa de depresión de la viabilidad huevo-pupa de origen letal aplicable al genoma completo mediante la extrapolación

$$\delta_L = \frac{\delta_{LII}}{0,46}. \quad (1.7)$$

El error típico de esta estima se calculó mediante *bootstrap* como la raíz cuadrada del promedio de las desviaciones cuadráticas de las estimas de δ_L obtenidas en 500 muestras *bootstrap* respecto a la estima experimental de δ_L . Este error típico se obtuvo utilizando el paquete *boot* (Canty y Ripley, 2014) del programa informático R (R Core Team, 2014).

Finalmente, la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa de origen no letal se infirió como

$$\delta_{NL} = \delta - \delta_L. \quad (1.8)$$

Estimación del censo efectivo de las líneas de censo reducido

El sistema de mantenimiento de las líneas de censo reducido se concibió de manera que permitiera estimar el censo efectivo de las mismas a partir de la información genealógica. El coeficiente de consanguinidad de los individuos de cada línea en cada generación se calculó con la ayuda del programa informático ENDOG 4.8 (Gutiérrez y Goyache, 2005). Como las Ecuaciones 1.2 y 1.3 del modelo teórico de García-Dorado (2012) se desarrollaron suponiendo un modelo de población ideal subdividida con autofecundación permitida, el censo efectivo N_e de las líneas de censo N se estimó como el valor que explicaba, utilizando la Ecuación 1.3b, el promedio del coeficiente de consanguinidad genealógico en el conjunto de líneas de censo N tras finalizar el período de mantenimiento de las mismas.

Por otra parte, se obtuvo una estima adicional del censo efectivo utilizando la relación existente entre este parámetro y la varianza de las contribuciones familiares (V_k). Como se acaba de mencionar, el modelo de García-Dorado (2012) se basa en ecuaciones predictivas de la consanguinidad estándar y de la consanguinidad purgada que están desarrolladas para poblaciones panmícticas en las que puede producirse autofecundación. Evidentemente, la autofecundación no era posible en este experimento, pero la única consecuencia importante que se espera de esto es que, tras la reducción del censo efectivo ancestral a un nuevo valor N_e , la consanguinidad aparezca con una generación de retraso (Crow y Kimura, 1970). Por lo demás, las repercusiones esperadas de la ausencia de autofecundación respecto de la evolución de la consanguinidad deben ser mínimas una vez se utilice un censo efectivo adecuado. En una población panmíctica con un censo de reproductores N constante en la que la varianza de las contribuciones familiares V_k puede no coincidir con la esperada en la población ideal, el censo efectivo N_e que se debe utilizar en las ecuaciones de la población ideal con autofecundación es (Crow y Kimura, 1970)

$$N_e = \frac{4N - 2}{2 + V_k}. \quad (1.9)$$

El censo efectivo de cada línea de censo N se estimó como el promedio de estos valores a lo largo de todo el período de mantenimiento de la misma. El censo efectivo del conjunto de líneas de censo N se obtuvo como el promedio de los censos efectivos de las distintas líneas. Las consecuencias de la ausencia de autofecundación se pueden incluir de forma aproximada si las estimas obtenidas mediante la Ecuación 1.9 se incrementan en 0,5 (Falconer y Mackay, 1996).

Efecto de la extinción de líneas sobre las estimas de la media de la viabilidad huevo-pupa

Durante el transcurso de la segunda etapa del experimento se extinguieron algunas de las líneas que se mantenían con censo reducido. Con el fin de inferir la repercusión que pudo haber tenido la extinción de estas líneas en los resultados obtenidos, se comparó el número medio de pupas producidas en las líneas que terminaron por extinguirse con la media general en el conjunto de líneas del mismo censo. Para ello se calculó la diferencia D_{l_t} entre el número medio de pupas producidas en cada línea extinta l de censo N en la generación t (p_{l_t}) y el número medio de pupas producidas en el conjunto de líneas de censo N en la generación t (p_t), esto es, $D_{l_t} = p_{l_t} - p_t$. Dicha diferencia se obtuvo para todas las líneas extintas en todas las generaciones previas a su extinción.

La tendencia temporal de D_{l_t} resulta difícil de analizar porque, al haberse extinguido las distintas líneas en generaciones diferentes, dicha tendencia no se expresará de forma sincrónica en las diferentes líneas. Además, este valor presenta un importante error de muestreo, que produce grandes fluctuaciones temporales en cada línea. Por este motivo, se obtuvo, para cada línea l que llegó a extinguirse, el promedio de D_{l_t} durante todo el proceso previo a la extinción como

$$D_l = \frac{\sum_{t=0}^{t=r_l} D_{l_t}}{r_l + 1}, \quad (1.10)$$

donde r_l se corresponde con la penúltima generación antes de que se registrara la extinción de la línea l . Los datos relativos a la generación previa a cada evento de extinción no se incluyeron en el análisis porque la extinción en una generación suele desencadenarse por un número insuficiente de reproductores y, por tanto, de pupas en la generación previa. Para contrastar si cada promedio de diferencias

D_l era significativamente menor que cero, se empleó una prueba t de Student unilateral de una muestra con r_l grados de libertad.

Alternativamente, se calculó el promedio de D_{l_t} considerando únicamente las cuatro últimas generaciones en las que sobrevivió cada línea como

$$D'_l = \frac{\sum_{t=r_l-3}^{t=r_l} D_{l_t}}{4}. \quad (1.11)$$

Este promedio también excluye la generación previa a la extinción de cada línea. El contraste estadístico que se utilizó en este caso para comprobar si cada promedio D'_l era significativamente menor que cero fue una prueba t de Student unilateral de una muestra con tres grados de libertad.

Estimación del coeficiente efectivo de purga de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo reducido

Las ecuaciones de predicción propuestas por García-Dorado (2012) pueden aplicarse al componente de eficacia biológica analizado en este experimento reescribiendo la Ecuación 1.1 como

$$v_t \approx v_0 \exp(-\delta g_t), \quad (1.12)$$

donde v_t es la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo N en una generación t determinada, v_0 es la media de la viabilidad huevo-pupa en las correspondientes líneas control en ausencia de consanguinidad, δ es la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base y g_t es el coeficiente de consanguinidad purgado en el conjunto de líneas de censo N en la generación t . La evolución de este coeficiente de consanguinidad purgado viene dada por la Ecuación 1.2, reemplazando d por un coeficiente efectivo de purga d_e que explique la purga observada en las líneas de censo N . Así pues,

$$g_t \approx \left[\frac{1}{2N_e} + \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right) g_{t-1} \right] (1 - 2d_e f_{t-1}). \quad (1.13)$$

En esta expresión, N_e es el censo efectivo en el conjunto de líneas de censo N y f_t es el coeficiente de consanguinidad esperado para dicho censo efectivo en la generación t , cuyo valor se puede calcular utilizando la Ecuación 1.3b.

El coeficiente efectivo de purga d_e se estimó mediante un ajuste de mínimos cuadrados, es decir, como el valor que minimizaba el error cuadrático medio de las cuatro estimas experimentales de v_t/v_0 respecto a las predicciones teóricas calculadas utilizando las estimas de N_e y de δ en las Ecuaciones 1.12 y 1.13.

Esta estima de d_e hace referencia a la purga global sobre el exceso del efecto deletéreo en homocigosis de todos los alelos implicados en la depresión de la media de la viabilidad huevo-pupa, incluyendo letales y no letales. Como se ha mencionado previamente, la calidad de las predicciones obtenidas con d_e puede verse afectada negativamente por la bimodalidad y por la elevada varianza de la distribución de d que se espera cuando los alelos letales y no letales se analizan de forma conjunta. No obstante, se deberían obtener predicciones más precisas al emplear los componentes letal y no letal de la tasa de depresión consanguínea de la población base (δ_L y δ_{NL} , respectivamente) por separado. Para ello, las Ecuaciones 1.12 y 1.13 deben reescribirse para descomponer los efectos de la depresión consanguínea en sus fracciones letal y no letal. De este modo, la evolución esperada de la media de la viabilidad huevo-pupa vendría dada por

$$v_t \approx v_0 \exp(-\delta_L g_{L_t} - \delta_{NL} g_{NL_t}), \quad (1.14)$$

donde g_{NL_t} y g_{L_t} son el coeficiente de consanguinidad purgado aplicable a alelos deletéreos no letales y el coeficiente de consanguinidad purgado aplicable a letales recesivos, respectivamente. De esta manera, g_{NL_t} depende de $d_{e_{NL}}$, que es el coeficiente efectivo de purga de los alelos deletéreos no letales,

$$g_{NL_t} \approx \left[\frac{1}{2N_e} + \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right) g_{NL_{t-1}} \right] (1 - 2d_{e_{NL}} f_{t-1}), \quad (1.15)$$

mientras que g_{L_t} depende de d_L , que es el coeficiente de purga de los alelos letales recesivos,

$$g_{L_t} \approx \left[\frac{1}{2N_e} + \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right) g_{L_{t-1}} \right] (1 - 2d_L f_{t-1}). \quad (1.16)$$

Nótese que, a efectos de este estudio, se puede suponer que la acción génica de los alelos letales es completamente recesiva ($s = 1$ y $h = 0$; por tanto, $d_L = 0,5$), por lo que solo habría que estimar d_{eNL} . La estima de d_{eNL} se obtuvo de forma análoga a la de d_e , esto es, mediante un ajuste de mínimos cuadrados consistente en minimizar el error cuadrático medio de las cuatro estimas de v_t/v_0 obtenidas en el experimento respecto a las predicciones teóricas calculadas utilizando las estimas de N_e , δ_L y δ_{NL} , y con $d_L = 0,5$, en las Ecuaciones 1.14–1.16.

1.2 Resultados

1.2.1 Población base

1.2.1.1 Estimaciones de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa

La media de la viabilidad huevo-pupa fue significativamente menor en el grupo consanguíneo ($v_C = 0,534 \pm 0,018$) que en el grupo no consanguíneo ($v_{NC} = 0,800 \pm 0,012$; $P < 9,2 \times 10^{-28}$ en la prueba t de Student de comparación de medias). Estas medias muestrales se emplearon para obtener una estima de la tasa de depresión consanguínea global de dicho carácter (δ ; Ecuación 1.4), cuyo valor se recoge en la Tabla 1.1.

Por otra parte, se detectaron 73 cromosomas II letales entre los 229 evaluados, obteniéndose una estima de la proporción de cromosomas II letales $Q_{II} = 0,319 \pm 0,031$ (Ecuación 1.5). El componente de la tasa de depresión consanguínea atribuible a alelos letales (δ_L) se estimó a partir de Q_{II} utilizando las Ecuaciones

1.6 y 1.7. La estima resultante de δ_L , así como el valor inferido de la tasa de depresión consanguínea atribuible a alelos deletéreos no letales (δ_{NL} ; Ecuación 1.8), se da en la Tabla 1.1. Se observa que el componente letal constituía alrededor del 40 % de la tasa de depresión consanguínea total.

Tabla 1.1 Estima de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en la población base (δ) y de los componentes de la misma atribuibles a alelos letales (δ_L) o a alelos deletéreos no letales (δ_{NL}).

Parámetro	Origen del lastre oculto	Estima [†]
δ	Global	1,619 ± 0,147
δ_L	Letal	0,631 ± 0,080
δ_{NL}	No letal	0,988 ± 0,167

[†] Error típico de la estima obtenido mediante *bootstrap*.

1.2.2 Líneas de censo reducido

1.2.2.1 Estimaciones del censo efectivo

La Figura 1.3 muestra la evolución del promedio de los coeficientes de consanguinidad genealógicos en las líneas de censo reducido, así como de los coeficientes de consanguinidad calculados suponiendo $N_e = N$ en la Ecuación 1.3b. En las líneas $N = 12$ se aprecia una ligera reducción del coeficiente de consanguinidad genealógico respecto del esperado entre las generaciones $t = 4$ y $t = 7$. Por otra parte, en ambos tipos de líneas se observa que el coeficiente de consanguinidad genealógico tiende a ser mayor que el esperado a medida que avanzan las generaciones, especialmente a partir de $f \approx 0,4$. En cualquier caso, estas diferencias son pequeñas y, en términos generales, la evolución de la consanguinidad genealógica en las líneas $N = 6$ y en las líneas $N = 12$ es muy parecida a la correspondiente predicción teórica calculada en función del censo real de reproductores, aun a pesar de la ausencia de autofecundación en las mismas. En consonancia con esta observación, las estimaciones del censo efectivo que se obtuvieron a

partir del valor final de la consanguinidad genealógica promediada sobre réplicas utilizando la Ecuación 1.3b fueron muy similares a los respectivos censos reales de reproductores (Tabla 1.2).

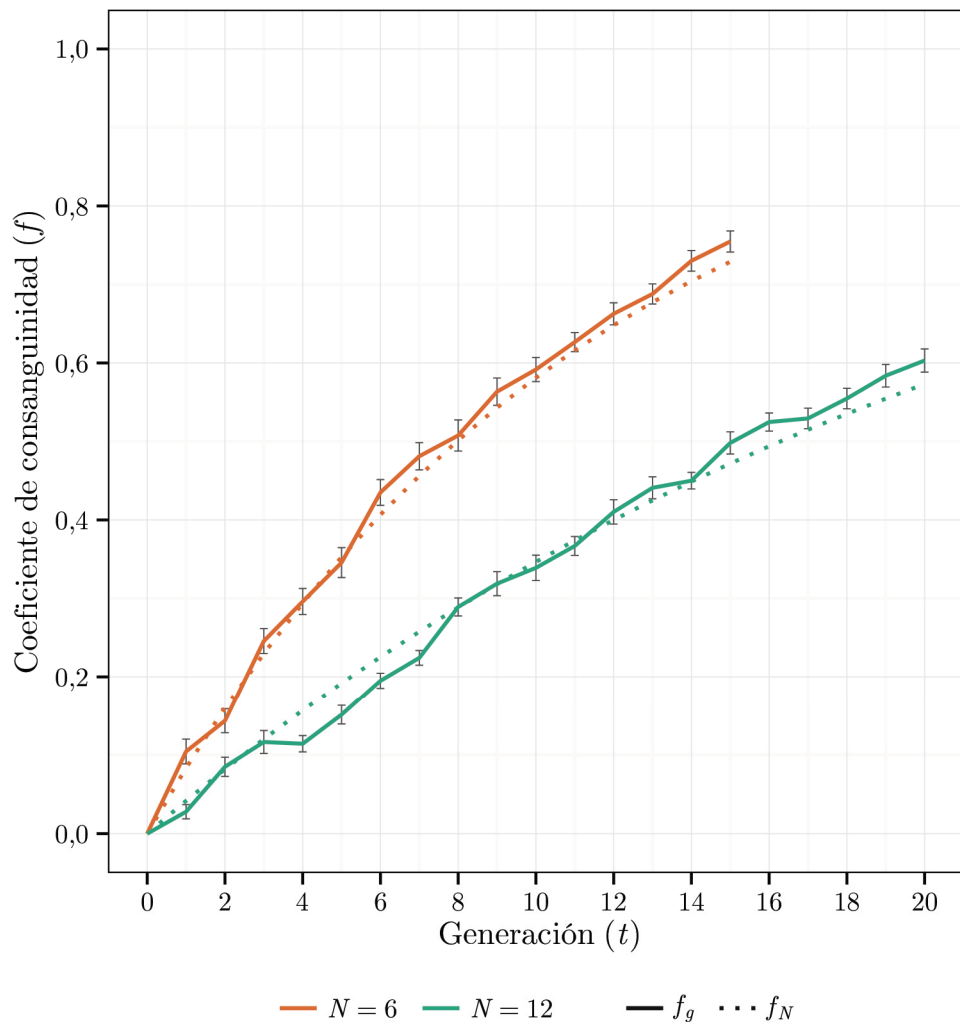


Figura 1.3 Evolución de la media del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) y del valor esperado del coeficiente de consanguinidad calculado en función del censo real de reproductores (f_N) en las líneas de censo $N = 6$ y en las líneas de censo $N = 12$. Se incluyen barras de un error típico de radio para f_g .

Tabla 1.2 Estimaciones del censo efectivo en las líneas de censo $N = 6$ y en las líneas de censo $N = 12$, obtenidas bien utilizando la información genealógica ($N_{e,g}$), o bien a partir de las varianzas de las contribuciones familiares (N_{e,V_k}).

N	$N_{e,g}$	N_{e,V_k}
6	5,59	6,44
12	11,07	11,95

La Tabla 1.2 también muestra las estimas del censo efectivo que se obtuvieron a partir de las varianzas de las contribuciones familiares observadas en las líneas experimentales (véanse las Tablas A1.1 y A1.2 del Apéndice 1 para más detalles). Este censo efectivo, calculado con la Ecuación 1.9, es el adecuado para predecir de forma aproximada la evolución de la consanguinidad utilizando la Ecuación 1.3b, aunque dicha aproximación puede mejorarse si estas estimas se incrementan en 0,5 para dar cuenta de la ausencia de autofecundación. En dicho caso se obtienen valores ligeramente superiores a los respectivos censos reales de reproductores ($N_e = 6,94$ para las líneas $N = 6$ y $N_e = 12,45$ para las líneas $N = 12$).

Esta semejanza entre N y N_e parece indicar que la disponibilidad de familias de reserva durante el mantenimiento de las líneas ha compensado, en cierto modo, la reducción del censo efectivo que se espera en poblaciones que no cumplan con las condiciones de la población ideal de Wright, las cuales suelen caracterizarse por una varianza de las contribuciones familiares relativamente elevada en comparación con la población ideal (Falconer y Mackay, 1996). Dado que ambos métodos proporcionaban estimas del censo efectivo muy cercanas a los correspondientes censos reales de reproductores, se optó por asumir $N_e \approx N$ en las Ecuaciones 1.13, 1.15 y 1.16 para obtener las estimas del coeficiente efectivo de purga.

1.2.2.2 Efecto de la extinción de líneas sobre las estimas de la media de la viabilidad huevo-pupa

Durante el período de censo reducido se extinguieron dos de las treinta líneas $N = 6$ antes de realizar la primera evaluación de las mismas ($t = 6$). En el momento de llevar a cabo la segunda evaluación ($t = 15$) este número había aumentado a nueve líneas. En cambio, no se produjeron extinciones en las líneas

$N = 12$. Esta pérdida de líneas de censo pequeño podría haberse debido, en parte, a fenómenos de estocasticidad demográfica (Keller y Waller, 2002; Frankham, 2005), que en este experimento serían atribuibles, en buena medida, a la esterilidad ocasional de las parejas de reproductores. En este sentido, era de esperar que la tasa de extinción fuese superior en las líneas $N = 6$ que en las líneas $N = 12$ porque cuanto menor es el número de familias disponibles por línea, más probable resulta que en alguna generación no se obtenga suficiente descendencia para continuar con el mantenimiento de la misma. Además, el valor esperado de la eficacia biológica se reduce a mayor ritmo en las líneas $N = 6$ que en las líneas $N = 12$ durante el proceso de consanguinidad (Ecuación 1.1), lo cual contribuye a incrementar el riesgo de extinción de las primeras.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que la probabilidad de extinción podría haber sido más elevada en aquellas líneas $N = 6$ cuyo valor genotípico de la eficacia biológica hubiese sido inferior al del resto de líneas del mismo censo. Es decir, la extinción de las nueve líneas $N = 6$ también podría atribuirse, en parte, a selección entre líneas. De ser así, las estimas de la media de la viabilidad huevo-pupa (v_t) obtenidas en las líneas $N = 6$ supervivientes sobreestimarían la viabilidad huevo-pupa esperada en ausencia de dicha selección entre líneas, esto es, aquella debida exclusivamente a la depresión consanguínea y a la purga ocurrida dentro de líneas. A su vez, esta sobreestimación de la viabilidad de las líneas induciría una cierta sobreestimación del coeficiente efectivo de purga.

Un análisis minucioso de las repercusiones de la selección entre líneas sobre las estimas de v_t habría requerido el registro continuo de la viabilidad huevo-pupa en todas las líneas a lo largo del período de mantenimiento de las mismas, lo cual suponía una tarea inabordable desde el punto de vista del manejo experimental. Sin embargo, como la selección natural actuaba en cada generación sobre el número medio de pupas producidas por pareja (p), la evolución de p podría

utilizarse como un indicador indirecto de la evolución de v . De hecho, en las líneas $N = 12$, en las cuales no se produjo selección entre líneas, la media del número de pupas y la media de la viabilidad huevo-pupa se redujeron de forma bastante similar. Para el número medio de pupas, esta reducción fue del 62 % y del 71 % en las generaciones $t = 11$ y $t = 20$, respectivamente (expresada como el porcentaje de la media en $t = 0$), mientras que la depresión de la media de la viabilidad huevo-pupa en estas generaciones fue del 57 % y del 66 %. Basándonos en esta similitud, hemos inspeccionado los efectos de la selección entre líneas sobre el número medio de pupas para valorar, de un modo aproximado, los efectos que este fenómeno pudo haber tenido sobre las estimas experimentales de la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas $N = 6$.

La Figura 1.4 representa la evolución del número medio de pupas en cada línea experimental y de la media general en el conjunto de líneas del mismo censo. Las líneas $N = 6$ muestran una mayor dispersión del número medio de pupas entorno a la media general que las líneas $N = 12$, tal como se espera como resultado de la mayor deriva genética y del menor número de familias evaluadas por línea. En la Tabla 1.3 se muestran los promedios de las diferencias entre el número de pupas en cada una de las líneas $N = 6$ que llegaron a extinguirse y la media global en el conjunto de líneas $N = 6$ (Ecuaciones 1.10 y 1.11). Un valor negativo sugiere una posible desventaja genética de la línea e implica que su extinción podría haberse debido, en parte, a selección entre líneas.

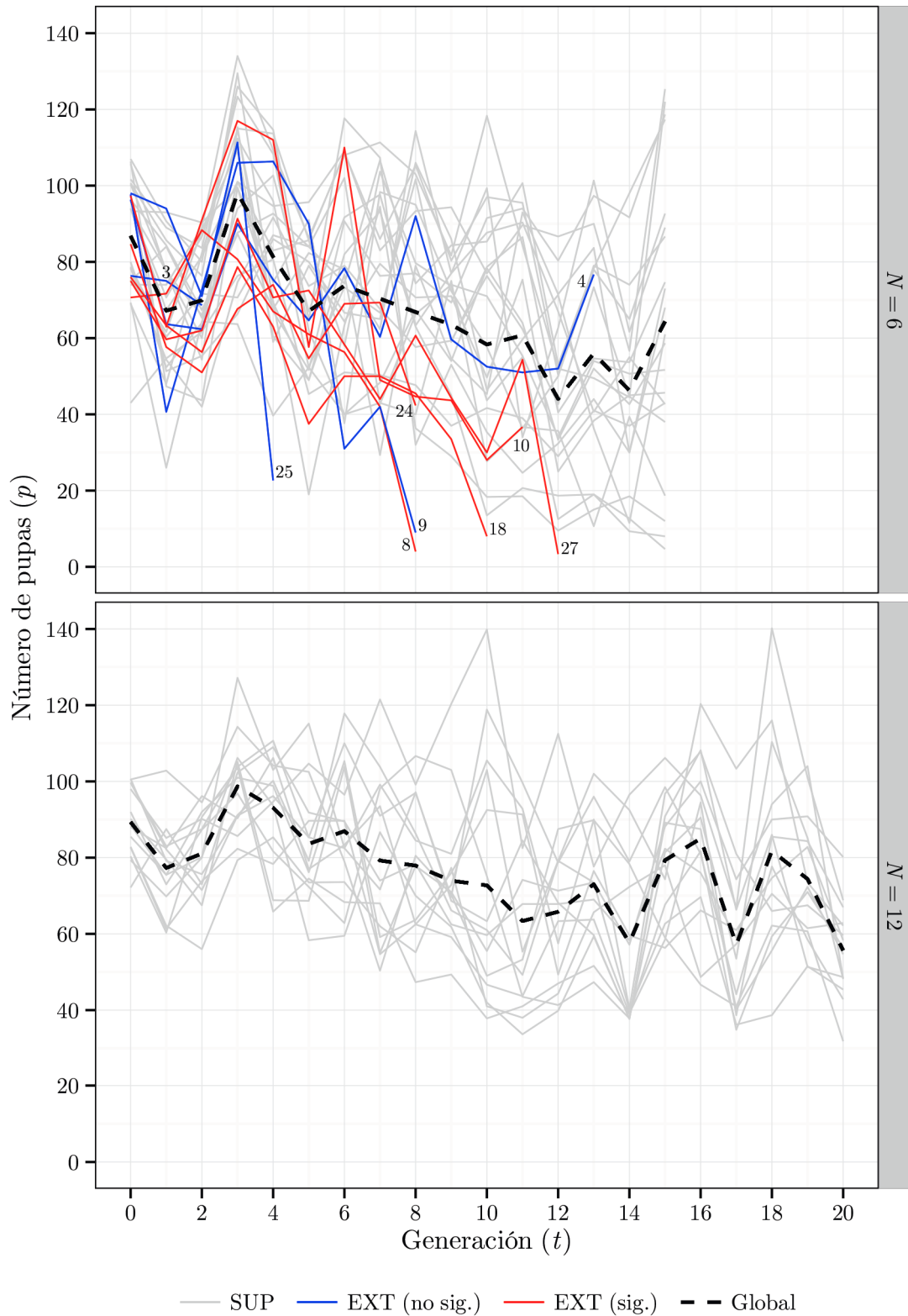


Figura 1.4 Evolución del número medio de pupas en cada línea y de la media global de pupas en el conjunto de líneas en las líneas de censo $N = 6$ (panel superior) y en las líneas de censo $N = 12$ (panel inferior). SUP: líneas supervivientes; EXT: líneas extintas; sig: desviación D_l o D'_l significativamente menor que cero ($P < 0,05$ en la Tabla 1.3). Las anotaciones numéricas indican el número que identificaba a cada línea extinta.

Tabla 1.3 Estimaciones de la desviación del número medio de pupas en cada línea extinta de censo $N = 6$ respecto al número medio de pupas en el conjunto de líneas $N = 6$, bien teniendo en cuenta todas las generaciones de mantenimiento de la misma (D_l), excluyendo la previa a su extinción, o bien considerando solo las cuatro últimas (D'_l).

Línea	Generación de extinción	D_l		D'_l	
		Estima	P^+	Estima	P^+
3	3	-1,339	0,454	-1,339	0,454
4	14	-0,752	0,396	-2,868	0,253
8	9	-9,600	0,055	-16,540	0,019
9	9	-3,517	0,354	-5,790	0,381
10	12	0,926	0,551	-23,423	0,001
18	11	-19,099	< 0,001	-23,862	< 0,001
24	9	-10,809	0,008	-6,373	0,038
25	5	13,090	0,955	13,090	0,955
27	13	-11,754	< 0,001	-15,019	0,034
Promedio		-4,761		-9,125	

[†] Valor P correspondiente a la prueba t de Student unilateral de una muestra.

La Tabla 1.3 muestra que antes de realizar la primera evaluación de las líneas $N = 6$ ($t = 6$) solo se habían extinguido dos líneas (3 y 25), que producían, en promedio, un número de pupas que no era significativamente inferior al del resto de líneas del mismo censo ($P > 0,05$ para D_l y D'_l). Esto sugiere que los efectos de la selección entre líneas solo habrían estado involucrados en la evaluación de las líneas $N = 6$ en $t = 15$. En la Tabla 1.3 también se observa que D_l es significativamente menor que cero en tres de estas líneas (18, 24 y 27) y D'_l en cinco (las tres anteriores junto con la 8 y la 10). En efecto, la Figura 1.4 muestra cómo el número medio de pupas de estas cinco líneas tendía a desviarse por debajo de la media del conjunto de líneas $N = 6$ de un modo más pronunciado y consistente que en el resto de líneas extintas, en las que el evento de extinción se produjo de forma más súbita. Es necesario señalar que D'_l representa un mejor indicador de

la desventaja genética de una línea que D_l porque restringe las generaciones estudiadas a aquellas más cercanas a la extinción de la misma –cuatro, elegidas de forma arbitraria antes de llevar a cabo el análisis–. Por el contrario, D'_l , al estar basada en solo cuatro observaciones, presenta la desventaja de ser más sensible a las fluctuaciones de p entre generaciones consecutivas porque tiene más error de muestreo.

Al analizar en conjunto las nueve líneas extintas se observa que la mayor parte de estas manifestaron previamente una tendencia a producir menos pupas que el resto de líneas, siendo la reducción media de 9,125 pupas si se promedia para las cuatro generaciones previas a la última generación antes de la extinción. Esto sugiere que si las nueve líneas extintas se hubiesen podido evaluar en $t = 15$, la media general se hubiese reducido en torno a 2,738 pupas, lo que representa aproximadamente un 3,2 % del número medio de pupas en $t = 0$. Extrapolando, estos resultados sugieren que la estima de v_{15} relativa al control en las líneas $N = 6$ se podría haber sobreestimado en 0,032 debido a la selección entre líneas.

Por tanto, este análisis, si bien requiere algunas extrapolaciones y se basa en un carácter que presenta mucho error de muestreo, indica que la selección entre líneas solo ha podido afectar de modo apreciable a la estima de v_t obtenida en la segunda evaluación de las líneas $N = 6$. Además, los resultados sugieren que dicho efecto debe haber sido modesto, por lo que, en lo que sigue, se ignorarán las consecuencias de la selección entre líneas sobre las estimas de la media de la viabilidad huevo-pupa.

1.2.2.3 Estimaciones de la media de la viabilidad huevo-pupa

La Tabla 1.4 recoge las estimaciones de la media de la viabilidad huevo-pupa obtenidas en las líneas de censo reducido y en las líneas control a lo largo del expe-

rimento (véanse las Tablas A1.3 y A1.4 del Apéndice 1 para más detalles). Se observa que la media general de la viabilidad huevo-pupa en las primeras (v_t) fue significativamente inferior que la correspondiente media general en ausencia de consanguinidad (v_0) en las cuatro evaluaciones realizadas.

Tabla 1.4 Estimaciones de la media global de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo $N = 6$ y en las líneas de censo $N = 12$, así como en sus correspondientes líneas control.

Generación	Esquema	v^\dagger	P^\ddagger
6	Líneas $N = 6$	$0,574 \pm 0,034$	$< 2,7 \times 10^{-10}$
	Control $N = 6$	$0,875 \pm 0,021$	
11	Líneas $N = 12$	$0,552 \pm 0,036$	$< 6,4 \times 10^{-7}$
	Control $N = 12$	$0,823 \pm 0,018$	
15	Líneas $N = 6$	$0,445 \pm 0,043$	$< 1,1 \times 10^{-9}$
	Control $N = 6$	$0,836 \pm 0,026$	
20	Líneas $N = 12$	$0,464 \pm 0,039$	$< 5,7 \times 10^{-9}$
	Control $N = 12$	$0,812 \pm 0,016$	

† Media global de la viabilidad huevo-pupa \pm error típico.

‡ Valor P correspondiente a la prueba t de Student de comparación de medias.

1.2.2.4 Estimaciones del coeficiente efectivo de purga de la viabilidad huevo-pupa

Las estimaciones de mínimos cuadrados del coeficiente efectivo de purga global (d_e) y del coeficiente efectivo de purga de alelos deletéreos no letales ($d_{e_{NL}}$), junto con los correspondientes errores cuadráticos medios, se dan en la Tabla 1.5. El valor estimado de d_e es superior al de $d_{e_{NL}}$, dado que el primero tiene en cuenta la purga conjunta sobre alelos letales y alelos deletéreos no letales. Además, se observa que el método empleado produce un menor error cuadrático medio en la estimación de $d_{e_{NL}}$ que en la estimación de d_e , lo cual justifica el análisis de alelos letales y de alelos deletéreos no letales por separado.

Tabla 1.5 Estimaciones de mínimos cuadrados del coeficiente efectivo de purga correspondiente a la depresión consanguínea observada en las líneas de censo reducido (d_e) y del coeficiente efectivo de purga aplicable a la fracción de esta depresión debida a alelos deletéreos no letales (d_{eNL}).

Parámetro	Origen del lastre oculto	Estima [†]
d_e	Global	0,090 (0,0030)
d_{eNL}	No letal	0,018 (0,0007)

[†] Error cuadrático medio entre paréntesis.

El error de muestreo de las estimaciones obtenidas de d_e y de d_{eNL} es desconocido. No obstante, es posible obtener, para cada una de estas estimaciones, el rango de valores que producen predicciones de la media de la viabilidad huevo-pupa relativa al control (v_t/v_0) comprendidas dentro de un intervalo de confianza del 95 % para cada una de las cuatro estimaciones experimentales disponibles de v_t/v_0 . De este modo, únicamente aquellos valores de d_e comprendidos en el intervalo (0,099, 0,115) originan predicciones teóricas de v_t/v_0 compatibles con los cuatro intervalos de confianza mencionados. Cuando se intenta estimar el coeficiente efectivo de purga d_{eNL} correspondiente a la depresión consanguínea debida a alelos deletéreos no letales utilizando la predicción de v_t/v_0 en función de d_{eNL} y d_L , el rango de valores de d_{eNL} se extiende desde 0 hasta 0,052. La amplitud de este último rango refleja la limitada potencia estadística del método empleado. Esta dificultad es común a otros métodos diseñados para detectar la purga, caracterizados por un reducido poder estadístico y una tendencia a infraestimar la purga en contra de alelos deletéreos de efecto leve (Boakes y Wang, 2005). No obstante, debe advertirse que el rango de valores de d_{eNL} se reduce al incrementar el nivel de significación considerado para cada estimación de v_t/v_0 . Por ejemplo, solo los valores de d_{eNL} que se encuentran dentro del intervalo (0,015, 0,037) generan predicciones de v_t/v_0 comprendidas dentro de un intervalo de confianza del 80 % para cada una de las cuatro estimaciones de v_t/v_0 .

En resumen, las estimas de mínimos cuadrados y los rangos de valores señalados en el párrafo anterior respaldan $d_e \approx 0,1$ y $d_{e_{NL}} \approx 0,02$ como las primeras estimas disponibles de estos parámetros.

Estas estimas del coeficiente efectivo de purga se pueden utilizar para predecir la evolución esperada de la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo reducido empleadas en este experimento. La Figura 1.5 presenta la predicción de las consecuencias conjuntas de la purga y de la consanguinidad sobre la evolución teórica de v_t/v_0 . Dichas predicciones están calculadas bien considerando los efectos globales de la purga sobre el lastre oculto ancestral (Ecuaciones 1.12 y 1.13), o bien considerando los efectos de la purga sobre el componente letal y no letal de dicho lastre por separado (Ecuaciones 1.14–1.16). Además, se incluyen predicciones neutras en las que la evolución esperada de v_t/v_0 depende exclusivamente del grado de consanguinidad alcanzado en las líneas correspondientes, obtenidas sustituyendo g_t por el correspondiente valor de f_t en la Ecuación 1.12. Se observa que ambos modelos teóricos predicen una reducción de v_t/v_0 con el transcurso de las generaciones, aunque el declive es considerablemente menor cuando se tienen en cuenta los efectos de la purga. En este último caso, la depresión de v_t/v_0 tiende a detenerse en pocas generaciones e incluso puede llegar a revertir de manera paulatina a medio y largo plazo. La depresión consanguínea observada en las líneas experimentales se ajusta razonablemente bien a las predicciones que incluyen las consecuencias de la consanguinidad y de la purga, en especial cuando se considera la purga de alelos letales y de alelos deletéreos no letales por separado.

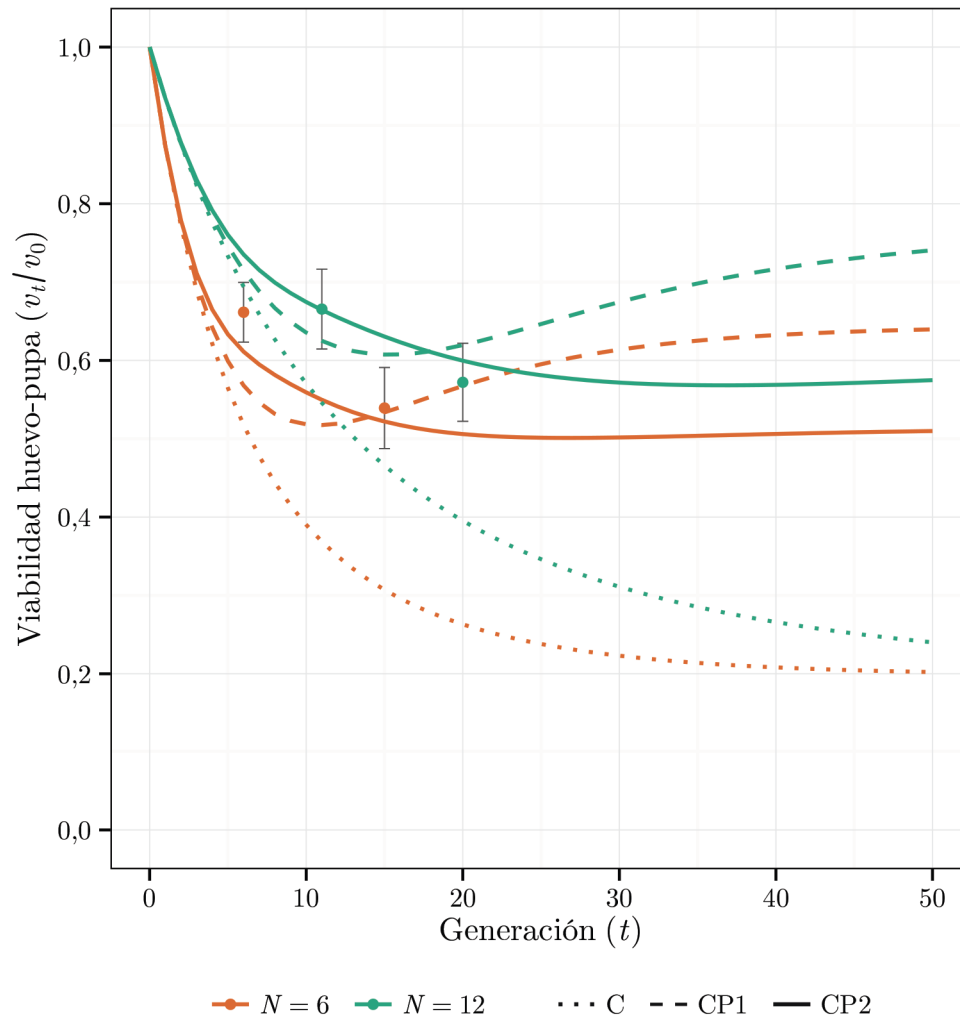


Figura 1.5 Evolución esperada de la media de la viabilidad huevo-pupa relativa al control (v_t/v_0) en las líneas de censo $N = 6$ y en las líneas de censo $N = 12$. Las predicciones se han calculado teniendo en cuenta los efectos de la consanguinidad (C) o los efectos conjuntos de la consanguinidad y de la purga de alelos deletéreos (CP1: predicciones calculadas con la estima de d_e ; CP2: predicciones calculadas con d_L y con la estima de d_{eNL} para explicar la purga de alelos letales y de alelos deletéreos no letales por separado). Se incluyen las estimas experimentales de v_t/v_0 con barras de un error típico de radio.

1.3 Discusión

En este estudio se presentan los resultados de un experimento realizado con una población recién capturada de *D. melanogaster*, que ha sido diseñado para evaluar empíricamente la intensidad de la purga utilizando el modelo teórico de García-Dorado (2012). Dichos resultados muestran evidencias de purga para el carácter viabilidad huevo-pupa en poblaciones panmícticas de censo $N = 6$ y

$N = 12$. La magnitud de la purga observada en estas poblaciones se ha caracterizado mediante un parámetro denominado coeficiente efectivo de purga, que es clave en las ecuaciones predictivas del modelo, y del cual no existían estimas previas hasta el presente experimento.

En primer lugar se discutirán los resultados relativos a la población base utilizada. La estima de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en esta población ($\delta = 1,619 \pm 0,147$) fue considerablemente superior a la obtenida para el mismo carácter en otras poblaciones de la misma especie (0,82, López-Fanjul y Villaverde, 1989; 0,54, García *et al.*, 1994). En cambio, este valor fue similar al obtenido para un carácter análogo (viabilidad huevo-adulto) en una población capturada cinco años antes en la misma localidad (1,93; Sánchez-Molano y García-Dorado, 2011). Estas diferencias, en unos casos, y similitudes, en otros, podrían atribuirse a los distintos censos efectivos históricos de las diferentes poblaciones ancestrales, en concordancia con lo sugerido por estudios analíticos previos en los que se ha demostrado que las poblaciones en equilibrio mutación-selección-deriva que poseen un mayor censo efectivo albergan un mayor lastre oculto en heterocigosis (García-Dorado, 2003, 2007).

Por otra parte, cabe señalar la importancia que puede tener el período de mantenimiento previo en la obtención de estas estimas. Cuando se establece una población a partir de una muestra obtenida en una población silvestre, ya sea en un experimento de laboratorio o en un programa de conservación, se espera que una parte del lastre oculto de la población de origen sea eliminado durante el período de mantenimiento subsiguiente como resultado de la purga y de la deriva genética (Boakes *et al.*, 2007; Gulisija y Crow, 2007). De hecho, la teoría predice que, si las condiciones de esta etapa de mantenimiento son lo suficientemente estables, dicha población se aproximará al equilibrio mutación-selección-deriva correspondiente al nuevo censo efectivo de la misma, que se caracterizará

por una tasa de depresión consanguínea inferior a la de la población ancestral de la que procede (García-Dorado, 2008, 2012). En cambio, las repercusiones de la purga y de la deriva deben ser mínimas en una población recién capturada, por lo que se espera que la correspondiente estima de la tasa de depresión consanguínea refleje de un modo más fiel la magnitud del lastre oculto de la población en condiciones naturales. Este razonamiento también podría explicar, en parte, el valor relativamente elevado de nuestra estima de δ frente a las citadas anteriormente, ya que nuestro diseño experimental minimiza el período de mantenimiento en el laboratorio previo al comienzo del experimento. Esto contrasta notablemente con los antecedentes de la población empleada por García *et al.* (1994), que se había mantenido durante 28 meses en el laboratorio antes de iniciar el experimento. La población de López-Fanjul y Villaverde (1989) se había mantenido durante cinco generaciones en el laboratorio antes de obtener la estima de δ .

La estima de la proporción de cromosomas II letales en la población base (Q_{II}) fue aproximadamente 0,32. A partir de este valor se obtuvo una estima de la tasa de depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa de origen letal $\delta_L = 0,631 \pm 0,080$, que representaba alrededor del 40 % de la tasa de depresión total. Tanto Q_{II} como la proporción δ_L/δ están en concordancia con los datos disponibles para viabilidad en otras poblaciones naturales de *Drosophila* (Simmons y Crow, 1977; Crow, 1993). El componente de la tasa de depresión consanguínea atribuible a alelos deletéreos no letales fue $\delta_{NL} = 0,988 \pm 0,167$, que también se encuentra dentro del rango de estimas disponibles para dicho parámetro obtenidas para viabilidad en otras poblaciones naturales de esta especie (véase Temin *et al.*, 1969; Mukai y Yamaguchi, 1974; Mukai y Nagano, 1983; Kusakabe y Mukai, 1984; Kusakabe *et al.*, 2000; Rosa *et al.*, 2005; donde se registran estimas obtenidas mediante análisis cromosómico comprendidas entre 0,27 y 1,08, con un promedio de alrededor de 0,7).

En definitiva, se puede considerar que la población base que se ha empleado en este estudio era representativa de las poblaciones naturales de *D. melanogaster* en lo referente a su lastre oculto para viabilidad. La estima obtenida de la tasa de depresión consanguínea implica que, en ausencia de selección, la media de la viabilidad huevo-pupa en cualquier población derivada de la población base se reduciría por un factor que tendería a $\exp(-1,619) \approx 0,2$ a medida que el coeficiente de consanguinidad f se aproximara asintóticamente a 1. Es decir, el modelo neutro predice que la media de la viabilidad huevo-pupa se deprimiría progresivamente como resultado de la consanguinidad hasta alcanzar un valor de alrededor de una quinta parte de su valor ancestral. Sin embargo, los declives medios observados en las líneas de censo reducido fueron considerablemente menores que los esperados bajo esta predicción neutra (Figura 1.5). Estos valores empíricos sugieren que se produjo purga durante el período de mantenimiento con censo reducido y, de acuerdo con el modelo de García-Dorado (2012), son compatibles con un coeficiente efectivo de purga $d_e \approx 0,1$.

Esta estima de d_e puede utilizarse para obtener predicciones de la evolución esperada de la media de la viabilidad huevo-pupa tras una reducción del censo poblacional, teniendo en cuenta la depresión consanguínea y la purga que actúa sobre los alelos letales y no letales que segregaban en la población base. En cualquier caso, el uso del coeficiente efectivo de purga es solo una aproximación para predecir la purga en contra de diferentes alelos deletéreos con distintos coeficientes de purga d . Además, como se ha mencionado anteriormente, la clase de los alelos letales o cuasiletalales representa una moda en la distribución global de los efectos deletéreos (García-Dorado *et al.*, 2004; Eyre-Walker y Keightley, 2007). Dicha clase es cualitativamente distinta al resto e incrementa notablemente la varianza de la distribución de efectos deletéreos, por lo que se espera que agrupar

efectos letales y no letales en un único coeficiente efectivo de purga reduzca la calidad de las predicciones del modelo.

Así pues, la precisión de las predicciones de la depresión de la viabilidad huevo-pupa debería ser mayor si se considera la purga de alelos letales y de alelos deletéreos no letales por separado. En efecto, la Figura 1.5 muestra que las predicciones teóricas obtenidas utilizando un coeficiente de purga de alelos letales $d_L = 0,5$ y la estima del coeficiente efectivo de purga de alelos deletéreos no letales obtenida por mínimos cuadrados $d_{e_{NL}} = 0,018$ son más consistentes con la depresión consanguínea observada en las líneas de censo reducido que las predicciones obtenidas con un valor único $d_e = 0,09$. Además, se observa que la estima global de d_e produce predicciones que pueden infraestimar la media de la viabilidad huevo-pupa a corto plazo y sobreestimarla a largo plazo. Por tanto, las estimas de d_e obtenidas en experimentos a corto plazo podrían sobreestimar las consecuencias de la purga a largo plazo, y viceversa.

No obstante, es necesario señalar que estas estimas de d_e y de $d_{e_{NL}}$ están sometidas a diferentes fuentes potenciales de sesgo. Este sesgo puede proceder de simplificaciones del modelo teórico considerado o puede estar relacionado con diferentes aspectos del diseño experimental empleado. A continuación se detallan las fuentes de sesgo que consideramos que podrían haber sido relevantes, así como su posible repercusión en los resultados obtenidos.

La primera de las fuentes de sesgo que habría que tener en cuenta procede de los eventos de extinción, en la medida en que estos fuesen resultado de la selección entre líneas y no de la pérdida estocástica. En estudios previos de simulación se ha observado que la selección entre líneas puede conducir a una considerable reducción del lastre oculto global de una población a expensas de un incremento de la probabilidad de extinción de aquellas líneas que muestren un mayor grado de depresión consanguínea (Wang *et al.*, 1999; Wang, 2000). Por esta razón,

no sería descartable que la extinción de nueve líneas $N = 6$ a lo largo del experimento pudiera haberse debido, en parte, a selección entre líneas. Esto provocaría una sobreestimación de la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas evaluadas en comparación con la media esperada si no se hubiesen producido extinciones, causando una sobreestimación de d_e y de $d_{e_{NL}}$. No obstante, los análisis realizados a partir de la evolución del número medio de pupas en estas líneas muestran que estas extinciones se pueden atribuir, en buena medida, a factores estocásticos, relacionados con el pequeño número de familias disponibles por línea y generación y con la reducción del valor esperado de la eficacia biológica media de las mismas. Estos cálculos aproximados sugieren que la selección entre líneas solo habría provocado una sobreestimación de la media de la viabilidad huevo-pupa del orden del 3 %, que únicamente habría afectado a una de las cuatro evaluaciones realizadas ($N = 6, t = 15$). De hecho, la Figura 1.5 permite apreciar que la estima de la media de la viabilidad huevo-pupa en dicha evaluación continuaría siendo consistente con las predicciones basadas en la estima obtenida de $d_{e_{NL}}$ aun si se corrigiese dicha sobreestimación. En todo caso, creemos que dicha corrección no es aconsejable, no solo por estar basada en la extrapolación de un análisis aproximado del carácter número de pupas producidas, sino porque es posible que, de no haber ocurrido extinciones, la purga dentro de estas líneas hubiese conducido a un incremento de su viabilidad. Debido a estas razones, consideramos que nuestras inferencias acerca del proceso de purga basadas en la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas supervivientes, así como las correspondientes estimas de d_e y de $d_{e_{NL}}$, son esencialmente fiables en lo referente a esta fuente potencial de sesgo.

Por otro lado, cabe mencionar que estas estimas de d_e y de $d_{e_{NL}}$ se han obtenido utilizando una versión simplificada del modelo teórico que solo tiene en

cuenta la acción de la consanguinidad y de la purga sobre la evolución de la media de la viabilidad huevo-pupa, en lugar de la versión más realista del mismo que también considera la acción continua de la mutación deletérea y de la selección purificadora estándar durante el período de censo reducido (García-Dorado, 2012). Esta aproximación simplificada tiene la ventaja de que permite obtener estimas del coeficiente efectivo de purga sin necesidad de suponer un modelo de distribución de efectos mutacionales concreto, aunque, a cambio, introduce dos tipos de sesgo.

El primero de estos sesgos se debe a que el modelo empleado predecirá, a corto y medio plazo, valores demasiado bajos de la media de la viabilidad huevo-pupa. La razón es que este modelo ignora la selección purificadora estándar que compensa una parte de la depresión consanguínea durante todo el proceso. Esta parte “compensada” se corresponde con la cantidad de depresión que sería atribuible al lastre oculto esperado en el nuevo equilibrio mutación-selección-deriva al que gradualmente se aproxima la población de censo N . Sin embargo, este tipo de sesgo debería ser irrelevante porque el lastre oculto esperado en el nuevo equilibrio mutación-selección-deriva para los censos empleados en este experimento es muy pequeño (García-Dorado, 2012).

En segundo lugar, esta aproximación tiende a predecir valores demasiado elevados de la media de la viabilidad huevo-pupa a largo plazo, puesto que ignora el deterioro de la misma atribuible a la fijación de mutaciones deletéreas en el nuevo equilibrio mutación-selección-deriva. Este sesgo podría enmascarar parte de las consecuencias de la purga y, en consecuencia, causar una ligera infraestimación del coeficiente efectivo de purga. No obstante, en estudios previos de simulación se ha mostrado que esta fuente de declive solo cobra importancia en fases relativamente avanzadas del proceso (cuando $t > 2N_e$; Pérez-Figueroa *et al.*, 2009), por lo que no debería afectar sensiblemente a estas estimas.

Una fuente potencial de sesgo relacionada con el diseño experimental es la naturaleza de la población control. Los experimentos diseñados para valorar la acción de la purga deben contar con un control que únicamente se diferencie de las poblaciones experimentales en la expresión y en la purga del lastre oculto. Aparentemente, esto podría conseguirse manteniendo una población control de censo elevado de forma paralela al mantenimiento de las líneas de censo reducido. No obstante, cualquier adaptación que se produjese a las condiciones experimentales sería más eficiente en dicha población control que en las líneas, ya que en estas últimas la acción de la deriva sería mayor. Además, en este experimento hemos empleado una población recién capturada porque estábamos interesados en caracterizar la eficiencia y la magnitud de la purga sobre la variabilidad genética presente en poblaciones naturales, por lo que los procesos adaptativos a las condiciones del laboratorio en una población control de censo elevado podrían haber sido particularmente importantes. Por este motivo, se optó por evaluar el declive de la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas experimentales utilizando como control la descendencia de cruzamientos entre las propias líneas de censo reducido. En un modelo neutro, dichos controles presentarían las mismas frecuencias genotípicas esperadas que la población base panmíctica. Sin embargo, debido a la purga ocurrida en las líneas, la viabilidad media de los cruces utilizados como control podría haber sido mayor que la de la población original. Es decir, la segregación de deletéreos podría haber causado un menor lastre en las líneas control que en la población de la cual se derivaron las líneas de censo reducido, lo que resultaría en una cierta infraestimación de los coeficientes efectivos de purga. No obstante, se espera que este efecto fuese de por sí muy pequeño, ya que en el equilibrio mutación-selección-deriva la mayor parte del lastre mutacional tiende a estar oculto en heterocigosis, particularmente cuando se debe a genes susceptibles a purga (García-Dorado, 2003; Amador *et al.*, 2010;

Ávila *et al.*, 2010). Por tanto, esta fuente de sesgo no debe haber afectado sustancialmente a las estimas obtenidas.

Otra posible fuente de sesgo experimental procede del protocolo empleado para estimar la tasa de depresión consanguínea en la población base. A pesar del importante esfuerzo experimental dedicado a evitar procesos de purga previos a la estimación de la tasa de depresión consanguínea, esta pudo haber operado sobre el componente materno de la viabilidad en las hembras consanguíneas en cuya puesta se evaluó el carácter. Esto induciría una ligera infraestimación de la tasa de depresión consanguínea y, por tanto, de la tasa de depresión consanguínea de origen no letal. Cualquier infraestimación de la tasa de depresión consanguínea conduciría a una infraestimación de los coeficientes efectivos de purga.

Por último, una fuente de sesgo que podría haber tenido una mayor repercusión en el contexto de este experimento estaría relacionada con la importancia relativa de la deriva genética y de la purga durante el período de censo reducido. En simulaciones previas se ha observado que la precisión de las predicciones de García-Dorado (2012) disminuye cuando $N_e d < 1$, en cuyo caso la deriva se convierte en la principal fuerza directora del proceso evolutivo y la purga se hace muy ineficiente. Por tanto, para los valores de N_e utilizados en nuestro experimento se espera una escasa eficiencia de la purga en contra de los alelos deletéreos con valores de d del orden de la estima obtenida de $d_{e_{NL}}$ (esto es, para $d \approx 0,02$). Esto implica que, para explicar la relativa eficiencia observada del proceso de purga en las líneas de censo reducido, el valor real de $d_{e_{NL}}$ debe haber sido mayor que el estimado. Siguiendo el mismo razonamiento, si la depresión se hubiese atribuido a alelos deletéreos con $d > 0,08$ (y, por tanto, $N_e d > 1$), la deriva habría sido poco relevante y se debería haber obtenido una estima de $d_{e_{NL}}$ mayor que la calculada. En definitiva, teniendo en cuenta las consecuencias de la deriva,

los resultados obtenidos son consistentes con valores de $d_{e_{NL}}$ mayores que 0,02, pero menores que 0,08.

En lo referente a la fiabilidad de las inferencias basadas en la extrapolación de estos resultados a poblaciones que se mantienen bajo condiciones diferentes, debe recordarse que, para controlar el censo efectivo de la población y a la vez permitir la acción de la selección natural, se ha empleado un protocolo de mantenimiento que confinaba a esta última a operar fundamentalmente sobre la fecundidad y sobre la viabilidad entre los estadios de huevo y de pupa. No obstante, en condiciones menos controladas, la frecuencia de los alelos deletéreos con efecto sobre viabilidad huevo-pupa también podría verse reducida debido a la purga en contra de efectos deletéreos pleiotrópicos sobre otros componentes de eficacia biológica, como la viabilidad pupa-adulto o cualquier otro carácter que determine la adaptación a condiciones competitivas. Por tanto, las estimas obtenidas de d_e y de $d_{e_{NL}}$ para viabilidad huevo-pupa podrían ser menores en este experimento que en poblaciones donde el número de reproductores que aportara cada individuo a la generación siguiente no estuviese bajo control experimental.

Existen, por tanto, varias causas potenciales de sesgo y, aunque la mayoría de ellas no deberían haber tenido un efecto individual apreciable, en conjunto podrían haber generado una infraestimación considerable de d_e y de $d_{e_{NL}}$. Probablemente, la causa más importante de sesgo de todas las enumeradas sea la atribuible a deriva genética. Debido a este factor, las estimas obtenidas indican que, en lo referente a los alelos de efectos deletéreos no letales expresados en nuestras condiciones experimentales, el coeficiente efectivo de purga debe de ser mayor que 0,02, pero no superior a 0,08.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, este valor de $d_{e_{NL}}$ expresa que la depresión consanguínea de origen no letal se purgaba como si se debiese

a alelos con $d > 0,02$. Dicha d es consistente con diferentes distribuciones conjuntas de s y h , y podría atribuirse, por ejemplo, a alelos deletéreos con $s > 0,05$ y $h = 0,1$, o con $s > 0,1$ y $h = 0,3$. Es decir, estos valores implican que el lastre oculto no letal de la población base se debía, en buena medida, a alelos con un efecto deletéreo individual apreciable y un considerable grado de recesividad. No obstante, debe recordarse que la magnitud de la purga depende directamente de d y que, para un valor de d dado, no depende ni de s ni de h .

El modelo teórico empleado en este estudio permite predecir la depresión esperada de la eficacia biológica media o de alguno de sus componentes en poblaciones panmícticas de censo reducido. Como ya se expuso en el Apartado 1.1.1, estas predicciones muestran que el coeficiente de consanguinidad purgado g de una población no tiende a 1, a diferencia del coeficiente de consanguinidad estándar f , sino a un valor asintótico cuya magnitud será menor cuanto mayor sea la eficiencia de la purga. La expresión que describe el valor de dicha asíntota es (García-Dorado, 2012)

$$\hat{g} = \frac{1 - 2d}{1 + 2d(2N_e - 1)}. \quad (1.17)$$

La Ecuación 1.17 muestra que la depresión consanguínea se limita de un modo más eficiente a medida que N_e y d son más grandes, es decir, cuando disminuye la relación entre la tasa de incremento de consanguinidad y la intensidad de la purga. El significado de este valor de equilibrio \hat{g} se puede deducir de un modo intuitivo a partir de la Ecuación 1.1. Esta expresión muestra que la depresión consanguínea esperada para el logaritmo de la eficacia biológica es δg_t o δf_t , dependiendo de si la predicción tiene en cuenta o no la acción de la purga, respectivamente. Por tanto, el cociente $\delta g_t / \delta f_t$ representa el valor esperado de la depresión consanguínea para el logaritmo de la eficacia biológica relativo a su valor esperado en ausencia de purga. Este cociente tiende a \hat{g} a medida que f se acerca

a 1. Así pues, \hat{g} representa el valor asintótico de la relación entre la depresión consanguínea del logaritmo de la eficacia biológica esperada teniendo en cuenta la consanguinidad y la purga y su valor esperado considerando únicamente la consanguinidad.

De este modo, la expresión 1.17 implica que, cuando la purga consigue minimizar las consecuencias de la deriva ($N_e d > 1$), la depresión consanguínea esperada a largo plazo en escala logarítmica es, como máximo, una quinta parte de su esperanza neutra. Por ejemplo, si $d = 0,1$ y $N_e = 10$, entonces $\hat{g} = 0,17$, lo que significa que la purga es tan eficiente que la depresión esperada a largo plazo para el logaritmo de la eficacia biológica media es solo el 17 % de la esperada en ausencia de purga. De forma análoga, considerando $N_e = 50$ y $d = 0,02$, es decir, un valor del orden de nuestra estima de $d_{e_{NL}}$, la depresión final del logaritmo de la eficacia biológica media es solo el 19 % de su expectativa neutra. La Ecuación 1.17 también predice una purga considerable para valores de $N_e d$ más pequeños, pero las predicciones son menos fiables a medida que la deriva toma fuerza en el proceso.

Por tanto, nuestra estima empírica de $d_{e_{NL}}$ implica que la relevancia de la purga debería incrementarse de forma notable en poblaciones con censos efectivos del orden de unas pocas decenas. Así, no es sorprendente que, a pesar de que se han encontrado indicios de purga en algunos experimentos en los que se han empleado tasas de aumento de consanguinidad relativamente pequeñas (Ehiobu *et al.*, 1989; Latter *et al.*, 1995; Day *et al.*, 2003; Reed *et al.*, 2003; Pedersen *et al.*; 2005; Swindell y Bouzat, 2006b; Demontis *et al.*, 2009; Pekkala *et al.*, 2012; Pekkala *et al.*, 2014), no se haya detectado purga en la mayoría de estudios en los que se han utilizado líneas o poblaciones de censo muy reducido y/o esquemas de apareamientos entre parientes cercanos, exceptuando la debida a alelos letales o a alelos deletéreos de gran efecto (Hedrick, 1994; Fu *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 1999).

En resumen, la metodología empleada en este estudio proporciona un marco de trabajo sencillo que permite cuantificar la magnitud de la purga en poblaciones de censo reducido mediante el uso de coeficientes efectivos de purga. Los resultados obtenidos representan una primera aproximación a la aplicación práctica de este modelo teórico y sugieren que la purga puede jugar un papel importante en la evolución de procesos biológicos que dependan de los efectos de la consanguinidad. Por otra parte, la obtención de estimas fiables del coeficiente efectivo de purga también sería de utilidad para evaluar el riesgo de extinción de las poblaciones, o para diseñar estrategias de conservación que puedan incluir un cierto grado de consanguinidad sin que ello comprometa la viabilidad poblacional. No obstante, es necesario obtener estimas más precisas, haciendo un especial esfuerzo experimental para reducir los distintos tipos de sesgo que puedan afectarlas. Además, su generalidad debe ser comprobada bajo diferentes condiciones ambientales, así como en distintas poblaciones y especies.

Capítulo 2

Estudio de las consecuencias de la purga sobre la pérdida de diversidad genética neutra en poblaciones de censo reducido

2.1 Modelo de simulación estocástica

En este capítulo se aborda el estudio de las repercusiones de la purga sobre la evolución de la variabilidad genética neutra en poblaciones de censo reducido utilizando simulación estocástica por ordenador. Los programas empleados para realizar dichas simulaciones se escribieron en lenguaje C (estándar ANSI C90). Las simulaciones se llevaron a cabo en un servidor local GNU/Linux de 64 bits (Arch Linux x86-64, kernel 3.10.18).

Estas simulaciones seguían un esquema metodológico que comprendía dos etapas bien diferenciadas. En primer lugar se obtenía una población base de censo elevado que se encontraba en equilibrio mutación-selección-deriva con respecto a eficacia biológica y en equilibrio mutación-deriva respecto de la diversidad genética neutra. A continuación se originaba un conjunto de líneas de censo reducido a partir de esta población para evaluar el impacto de la consanguinidad y de la purga sobre la evolución de la eficacia biológica media y de distintos parámetros relacionados con la variabilidad genética neutra en las mismas.

2.1.1 Poblaciones base

2.1.1.1 Características generales

Cada población simulada constaba de $N_0 = 1000$ individuos diploides y monoicos con capacidad de autofecundación. El genoma de dichos individuos se componía de un total de 21000 loci bialélicos, de los cuales 20000 poseían efectos sobre eficacia biológica y 1000 eran loci neutros. Estos loci estaban repartidos de forma equidistante a lo largo de un único cromosoma, organizados en unidades repetidas de un locus neutro seguido de 20 loci con efecto sobre eficacia biológica.

La eficacia biológica de los individuos estaba controlada por $n_s = 20000$ loci, en cada uno de los cuales podían segregarse un alelo silvestre $+$ y un alelo deletéreo m . De este modo, el valor esperado de la eficacia biológica relativa del individuo i condicionada a su constitución genética en el locus j (w_{ij}) era 1 , $1 - h_j s_j$ o $1 - s_j$ para los genotipos $++$, $+m$ o mm , respectivamente. Según esta notación, s representa el coeficiente de selección en contra de los homocigotos mm y h es el coeficiente de dominancia, es decir, la proporción de la desventaja selectiva del homocigoto mm expresada en los correspondientes heterocigotos $+m$. La eficacia biológica w_i de cada individuo i se obtenía suponiendo un modelo de efectos multiplicativos entre los n_s loci considerados, de forma que $w_i = \prod_{j=1}^{j=n_s} w_{ij}$.

El lastre de la población oculto en heterocigosis se cuantificaba mediante la tasa de depresión consanguínea δ , que se define como la tasa a la que se espera que se reduzca la eficacia biológica media w , en ausencia de selección, con valores crecientes del coeficiente de consanguinidad f . Este parámetro se calculaba como $\delta = \sum_{j=1}^{j=n_s} 2d_j q_j (1 - q_j)$, siendo q_j la frecuencia del alelo m en el locus j y d_j la desviación dominante correspondiente en dicho locus, es decir, $d_j = s_j(0,5 - h_j)$ (Falconer y Mackay, 1996).

El genoma también incluía $n_n = 1000$ loci neutros distribuidos en intervalos regulares a lo largo del mismo. En cada locus neutro podían segregarse un alelo silvestre $+$ y un alelo mutante m , aunque ninguna de estas dos alternativas alélicas tenía efecto sobre la eficacia biológica de los individuos. Estos loci marcadores se empleaban para evaluar la diversidad genética neutra de la población, medida como la heterocigosis esperada en el equilibrio de Hardy-Weinberg. Así, la diversidad genética en el locus neutro j era $H_j = 2q_j(1 - q_j)$ (Falconer y Mackay, 1996). La diversidad genética neutra global H se obtenía como el promedio del conjunto de valores H_j .

2.1.1.2 Mantenimiento de las poblaciones base

Inicialmente, los $N_0 = 1000$ individuos que conformaban cada población base eran homocigotos $++$ en todos sus loci, por lo que $w = 1$, $\delta = 0$ y $H = 0$. Con el fin de obtener poblaciones cuya variabilidad genética esperada fuese la de equilibrio, se llevó a cabo la simulación de un período de mantenimiento con censo constante en el que se aplicaba un esquema de mutación, selección y reproducción de los individuos, por este orden, en cada generación.

En el caso de los loci con efecto sobre eficacia biológica, los alelos $+$ eran susceptibles de mutar al alelo m con una tasa de mutación por genoma haploide y generación λ_s . El número total de mutaciones deletéreas que surgían en la población en cada generación se muestreaba de una distribución de Poisson de parámetro $2N_0\lambda_s$. Cada una de estas mutaciones se asignaba al azar a uno de los N_0 individuos, en un locus con efecto sobre eficacia biológica elegido aleatoriamente de entre aquellos que no estuviesen segregando. Es decir, la mutación era exclusivamente de tipo no recurrente. La mutación de los loci neutros se producía de manera idéntica, pero considerando una tasa de mutación por genoma haploide

y generación λ_n . La retromutación desde el alelo m hacia el alelo $+$ no estaba permitida en ninguno de los dos casos.

Los efectos de los loci que controlaban la eficacia biológica se manifestaban exclusivamente a través de diferencias en la fecundidad de los individuos. La selección de reproductores se realizaba de modo que el número de descendientes que contribuía cada individuo i a la generación siguiente fuese aleatorio, pero proporcional a su fecundidad relativa w_i . Estos reproductores se muestreaban con reemplazamiento de entre los N_0 individuos de la población, de forma que la probabilidad p_i de elegir al individuo i como padre era $p_i = w_i/S$, siendo $S = \sum_{i=1}^{i=N_0} w_i$. Así, para llevar a cabo este esquema de selección y de apareamiento aleatorio, primero era necesario construir un vector \mathbf{P} con las probabilidades acumuladas de elección de todos los individuos. Los elementos de este vector eran $P_i = \sum_{n=0}^{n \leq i} p_n$, de manera que $\mathbf{P} = [P_0 = 0, P_1 = p_1, P_2 = P_1 + p_2, \dots, P_i = P_{i-1} + p_i, \dots, 1]$. A continuación se muestreaba un número aleatorio x de una distribución uniforme en el intervalo $[0, 1)$ por cada uno de los dos padres necesarios para crear un descendiente. La identidad de cada reproductor se obtenía a partir de la posición de x en \mathbf{P} , eligiendo como padre al individuo i si $P_{i-1} \leq x < P_i$. Este método garantizaba que la asignación del primer parental de cada descendiente fuese independiente de la asignación del segundo. En el caso de que la identidad de ambos padres fuese la misma, el hijo correspondiente se producía por autofecundación. Este proceso se repetía hasta designar a todos los padres de los N_0 nuevos individuos de la generación siguiente.

Una vez se conocía la identidad de los padres de cada individuo, se generaban los dos gametos necesarios para constituir el nuevo genoma diploide. El número de sobrecruzamientos por gameto se obtenía a partir de una distribución de Poisson de parámetro L , donde L representa la longitud del genoma expresado en Morgans (abreviado como M de ahora en adelante). De este modo, L imponía

la magnitud del ligamiento en el conjunto de loci del genoma. Los sobrecruzamientos podían aparecer con la misma probabilidad en cualquier posición del genoma, independientemente de la existencia de otros sobrecruzamientos en regiones próximas (esto es, se producían sin interferencia). Por tanto, la fracción de recombinación c entre dos loci consecutivos era $c = 0,5 \left[1 - \exp\left(\frac{-2L}{n_s + n_n - 1}\right) \right]$ (Haldane, 1919). En los casos con recombinación libre, la fracción de recombinación entre dos loci consecutivos era $c = 0,5$, es decir, se comportaban como si fuesen independientes.

Este esquema iterativo de mutación, selección y reproducción de los individuos se mantuvo durante 10000 generaciones. A lo largo de este período se registraron continuamente los valores de w y de δ con el fin de comprobar si la población había alcanzado el equilibrio mutación-selección-deriva con respecto a eficacia biológica. Además, se calcularon los correspondientes valores de H para controlar la evolución de la diversidad genética neutra de la población. Estas evaluaciones se realizaron siempre antes de la selección de reproductores en cada generación.

La acción conjunta de la mutación, de la selección y de la deriva durante el período de mantenimiento pudo haber generado desequilibrio de ligamiento en la población base. La magnitud de dicho desequilibrio entre parejas de loci segregantes se evaluó como $D_{AB} = g(++)g(mm) - g(+m)g(m+)$ (Lewontin y Kojima, 1960), donde g representa la frecuencia gamética en una pareja de loci segregantes A, B . El desequilibrio de ligamiento también se midió utilizando el coeficiente de correlación entre parejas de loci segregantes (Hill y Robertson, 1968), calculado como $r_{AB} = \frac{D_{AB}}{\sqrt{q_A(1-q_A)q_B(1-q_B)}}$. D_{AB} y r_{AB} se obtuvieron para todas las parejas adyacentes de entre el conjunto de loci segregantes con efecto sobre eficacia biológica tras finalizar el período de mantenimiento de la población. Los

promedios de estos valores, denominados D y r , se emplearon como medidas del desequilibrio de ligamiento global de la misma. Este procedimiento se repitió con aquellas parejas de loci adyacentes formadas por un locus neutro segregante y el siguiente locus segregante con efecto sobre eficacia biológica. Los promedios resultantes se denominaron D' y r' para distinguirlos de los promedios anteriores.

2.1.2 Líneas de censo reducido

2.1.2.1 Origen de las líneas

Las líneas de censo reducido se generaron mediante muestreo sin reemplazamiento de N individuos tomados al azar de entre los N_0 individuos de la población base, siendo $N \ll N_0$. Dado que cada línea se fundó de manera independiente del resto de líneas, estas podían considerarse réplicas de un mismo proceso de disminución del censo.

La reducción del tamaño poblacional se produjo inmediatamente después de la evaluación de parámetros en la generación final de mantenimiento de la población base. De este modo, la evaluación inicial de referencia del período de censo reducido ($t = 0$) se correspondía con la última evaluación realizada sobre el conjunto de N_0 individuos de la población base.

2.1.2.2 Mantenimiento de las líneas en distintos escenarios

Con el fin de evaluar las repercusiones conjuntas de la consanguinidad y de la purga durante el período de censo reducido, se simularon dos escenarios que diferían en el protocolo de mantenimiento de las líneas. En el primero de estos escenarios se permitía la acción de la mutación, de la selección y de la deriva en cada generación, por lo que nos referiremos a él de ahora en adelante como escenario MSD. En el escenario alternativo solo actuaba la mutación y la deriva en

cada generación, quedando excluida cualquier forma de selección, incluida la purga. Este escenario se denominará MD.

El mantenimiento de las líneas comenzaba justo después de la reducción del censo con la elección de los reproductores de la generación $t = 0$. El esquema de mantenimiento de cada línea de censo N en el escenario MSD seguía un procedimiento análogo al descrito en el Apartado 2.1.1.2 para la población base. Por tanto, el número de gametos k_i que contribuía cada individuo i al grupo reproductor de la generación siguiente era aleatorio, aunque su valor esperado era proporcional a la fecundidad de i . Los padres seleccionados se apareaban al azar, incluyéndose la posibilidad de autofecundación, y generaban un total de 100 hijos, sobre los que se asignaban las nuevas mutaciones y se realizaba la evaluación de parámetros correspondientes a dicha generación. A continuación se muestreaban al azar N individuos de entre los 100 disponibles y se procedía a repetir el ciclo descrito de forma sucesiva.

En el escenario MD la metodología de mantenimiento de cada línea era casi idéntica a la referida en el párrafo anterior para el escenario MSD. La única diferencia residía en que la contribución de cada individuo a la generación siguiente era completamente aleatoria e independiente de su fecundidad. De este modo, la probabilidad p_i de elegir al individuo i como reproductor era $p_i = 1/N$.

Las líneas se mantuvieron con un censo de N reproductores durante 100 generaciones en ambos escenarios. Durante este período se evaluaron la eficacia biológica media w y la diversidad genética neutra H dentro de cada línea en todas las generaciones. Así mismo, en cada línea se calculó la varianza V_k del número de gametos que contribuía cada uno de los N reproductores de la generación t al grupo de N reproductores de la generación $t + 1$.

Durante el período de mantenimiento también se registró la genealogía completa en cada línea. La información genealógica se empleó para calcular el

coeficiente de consanguinidad de todos los individuos de la línea utilizando el método tabular de Emik y Terrill (1949). El coeficiente de consanguinidad genealógico f_g correspondiente a la generación t se obtuvo como el promedio de los coeficientes de consanguinidad de todos los individuos pertenecientes a dicha generación. Además, se calculó el coeficiente de consanguinidad esperado a partir de la varianza de la contribución de gametos observada en la generación t como $f_{V_k} = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)^t$, donde $N_e = \frac{4N-2}{2+V_k}$ (Crow y Kimura, 1970). Cabe destacar que esta última expresión debe sobreestimar el censo efectivo N_e de las líneas simuladas, pues ignora que las consecuencias del incremento de V_k sobre el aumento de la consanguinidad se acumulan a lo de varias generaciones si la variación de k tiene un componente heredable. Existen expresiones para estimar N_e que tienen en cuenta este efecto, pero solo están descritas para poblaciones de censo constante en equilibrio mutación-selección-deriva (Santiago y Caballero, 1995, 1998), no para poblaciones sometidas a cuellos de botella consecutivos, en las que la varianza aditiva de la eficacia biológica cambia de forma sustancial a lo largo de las generaciones (Pérez-Figueroa *et al.*, 2009). Por tanto, la expresión empleada en este trabajo producirá valores de f_{V_k} conservativamente pequeños. A modo de referencia, se calculó el coeficiente de consanguinidad esperado en función del censo real de reproductores mediante la ecuación $f_N = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N}\right)^t$.

2.1.3 Parámetros empleados

Se estudiaron seis combinaciones de parámetros mutacionales ($s = 0,1$ o $0,5$ y $h = 0, 0,2$ o $0,5$) con el fin de explorar distintas situaciones dentro del rango de variación posible de los mismos. Dichos valores eran constantes en cada caso considerado, produciendo un coeficiente de purga $d = s(0,5 - h)$ (García-Dorado,

2012). Los alelos deletéreos aparecían con una tasa de mutación por genoma haploide y generación $\lambda_s = 0,1$. La tasa de mutación correspondiente en los loci neutros ($\lambda_n = 0,005$) se eligió de manera que la tasa de mutación por locus y generación fuese idéntica en ambos tipos de loci ($\lambda_s/n_s = \lambda_n/n_n = 5 \times 10^{-6}$). Cada combinación de parámetros mutacionales se estudió suponiendo recombinación libre o una longitud de genoma $L = 1, 5$ o 10 M.

Se generaron 50 réplicas de la población base para cada una de las combinaciones de s , h y L mencionadas. Las consecuencias de la reducción del censo poblacional se evaluaron durante 100 generaciones en 1000 líneas de tamaño $N = 2, 10$ o 50 obtenidas a partir de cada una de las 50 poblaciones base. Este proceso se llevó a cabo tanto en el escenario que incluía la acción de la selección durante el período de mantenimiento con censo reducido (escenario MSD) como en aquel en el que la selección había sido excluida durante dicho período (escenario MD). Por lo demás, el protocolo de simulación de las líneas fue idéntico al de las poblaciones base, excepto por el tamaño de las mismas.

2.2 Resultados y discusión

2.2.1 Poblaciones base

La Tabla 2.1 recoge los promedios de la eficacia biológica media (w), de la tasa de depresión consanguínea (δ) y de la diversidad genética neutra (H) en las 50 poblaciones de censo $N_0 = 1000$ correspondientes a cada uno de los casos estudiados tras finalizar la simulación del período de mantenimiento de las mismas.

Los resultados obtenidos en los casos con recombinación libre muestran que, para cada valor considerado de s , la magnitud de δ se incrementa con el valor de d , ya que $\delta = \sum_{j=1}^{j=n_s} 2d_j q_j (1 - q_j)$. Al considerar todos los casos en conjunto,

esta relación queda enmascarada porque la magnitud de δ aumenta al reducirse el producto hs . Ello se debe a que la selección purificadora estándar es más ineficiente cuanto más pequeño es hs , lo que implica que la frecuencia de alelos deletéreos segregantes en estos casos debía ser más elevada. Es decir, con valores reducidos de hs , δ se incrementaría como resultado de un aumento en la magnitud del término $\sum_{j=1}^{j=n_s} q_j(1 - q_j)$, que depende de la frecuencia total de dichos deletéreos segregantes.

La Tabla 2.1 también muestra que estos valores de δ son similares a los predichos por la aproximación de García-Dorado (2007) para poblaciones en el equilibrio mutación-selección-deriva (véanse las Ecuaciones 10 y 13 en García-Dorado, 2007). Además, se observa que la eficacia biológica media w está, en los seis casos, cerca del correspondiente valor esperado en una población infinita en el equilibrio mutación-selección ($\exp(-\lambda_s) = 0,9048$ para $h = 0$ o $\exp(-2\lambda_s) = 0,8187$ para $h > 0$; Crow y Kimura, 1970). Esto indica que, para el censo considerado ($N_0 = 1000$), la selección es la principal fuerza responsable de moldear la variabilidad genética atribuible a los loci que controlan la eficacia biológica en estas poblaciones. De esta forma, cuando el efecto de los alelos deletéreos solo se manifiesta en homocigosis ($h = 0$), las poblaciones mantienen una mayor eficacia biológica media que en los casos con $h > 0$, aunque esto se produce a costa de albergar un lastre oculto en heterocigosis más elevado.

Por otra parte, se observa que los valores de H obtenidos en estos seis casos son muy similares al esperado en el equilibrio mutación-deriva ($\frac{4N_0\lambda_n/n_n}{1 + 4N_0\lambda_n/n_n} = 0,0196$; Crow y Kimura, 1970), aunque disminuyen ligeramente con $s = 0,5$ y $h > 0$, esto es, con valores elevados de hs . Esto puede atribuirse al impacto de la selección purificadora estándar durante el período de mantenimiento de estas poblaciones.

Tabla 2.1 Promedios de la eficacia biológica media (w), de la tasa de depresión consanguínea (δ) y de la diversidad genética neutra (H) en las 50 poblaciones base simuladas para cada combinación de parámetros mutacionales (s , h) y de longitud de genoma (recombinación libre, RL, o genomas de longitud L Morgans) estudiada. Se incluye el valor de d correspondiente a cada caso ($d = s(0,5 - h)$), así como los errores típicos de cada una de las tres estimas obtenidas.

s	h	d	L	w	δ	H
0,1	0,5	0,00		0,8187 [†]	0,0000 [‡]	0,0196 [§]
			RL	0,8189 ± 0,0014	0,0000 ± 0,0000	0,0195 ± 0,0004
			10	0,8175 ± 0,0012	0,0000 ± 0,0000	0,0185 ± 0,0004
			5	0,8171 ± 0,0011	0,0000 ± 0,0000	0,0190 ± 0,0004
0,1	0,2	0,03		0,8187 [†]	0,2849 [‡]	0,0196 [§]
			RL	0,8221 ± 0,0011	0,2852 ± 0,0019	0,0195 ± 0,0003
			10	0,8199 ± 0,0015	0,2893 ± 0,0025	0,0193 ± 0,0004
			5	0,8193 ± 0,0011	0,2900 ± 0,0019	0,0180 ± 0,0003
0,1	0,0	0,05		0,9048 [†]	2,3840 [‡]	0,0196 [§]
			RL	0,8972 ± 0,0011	2,5318 ± 0,0133	0,0194 ± 0,0003
			10	0,8967 ± 0,0009	2,5484 ± 0,0147	0,0195 ± 0,0004
			5	0,8951 ± 0,0012	2,5888 ± 0,0144	0,0191 ± 0,0003
0,5	0,5	0,00		0,8187 [†]	0,0000 [‡]	0,0196 [§]
			RL	0,8200 ± 0,0017	0,0000 ± 0,0000	0,0176 ± 0,0003
			10	0,8189 ± 0,0015	0,0000 ± 0,0000	0,0169 ± 0,0003
			5	0,8168 ± 0,0013	0,0000 ± 0,0000	0,0166 ± 0,0003
0,5	0,2	0,15		0,8187 [†]	0,2966 [‡]	0,0196 [§]
			RL	0,8205 ± 0,0014	0,2950 ± 0,0025	0,0184 ± 0,0003
			10	0,8174 ± 0,0013	0,3009 ± 0,0023	0,0187 ± 0,0003
			5	0,8199 ± 0,0010	0,2960 ± 0,0018	0,0179 ± 0,0004
0,5	0,0	0,25		0,9048 [†]	5,4865 [‡]	0,0196 [§]
			RL	0,8997 ± 0,0014	5,6341 ± 0,0277	0,0193 ± 0,0004
			10	0,8990 ± 0,0013	5,7332 ± 0,0360	0,0189 ± 0,0003
			5	0,9006 ± 0,0012	5,8096 ± 0,0339	0,0182 ± 0,0004
			1	0,8870 ± 0,0016	6,5508 ± 0,0426	0,0161 ± 0,0004

[†] Valor teórico esperado en el equilibrio mutación-selección (Crow y Kimura, 1970).

[‡] Valor teórico esperado en el equilibrio mutación-selección-deriva (aproximación de García-Dorado, 2007).

[§] Valor teórico esperado en el equilibrio mutación-deriva (Crow y Kimura, 1970).

Al introducir ligamiento en las simulaciones se producen dos cambios cuantitativos apreciables con respecto a los resultados anteriores. Primero, con $h = 0$, δ se incrementa a medida que L disminuye, aunque solo ocurre de manera notable con $L = 1$ M. Como d permanece constante de locus a locus, esto solo puede justificarse por un aumento de $\sum_{j=1}^{j=n_s} q_j(1 - q_j)$, es decir, por un aumento de la frecuencia total de alelos deletéreos. En segundo lugar, H muestra valores consistentemente menores en genomas en los que el ligamiento es más estrecho (menor L), sobre todo cuando la selección es más intensa. Esta reducción de H está en concordancia con los resultados obtenidos por Pálsson y Pamilo (1999) para poblaciones de censo elevado en equilibrio mutación-selección-deriva y valores de L correspondientes a fracciones de recombinación en el rango $10^{-5} < c < 10^{-3}$, y se puede atribuir a la reducción del censo efectivo inducido por la selección en contra de alelos deletéreos en los loci próximos (Nordborg *et al.*, 1996; Santiago y Caballero, 1995, 1998; Charlesworth, 2012). En consecuencia, la transmisión de la ventaja selectiva de los reproductores de generación en generación repercute en una mayor erosión de la diversidad genética neutra de la población cuando el ligamiento es más estrecho.

En resumen, estos resultados indican que, en poblaciones de censo elevado en equilibrio mutación-selección-deriva, el ligamiento induce una reducción de la diversidad genética neutra y un incremento del lastre oculto en heterocigosis, aunque este último solo resulta relevante cuando se debe a alelos deletéreos severos completamente recesivos.

Para estudiar las consecuencias conjuntas de la mutación, de la selección y de la deriva sobre el desequilibrio de ligamiento de las poblaciones base, se estimó el desequilibrio promedio en cada población utilizando todas las parejas de loci adyacentes de entre el total de loci segregantes con efecto sobre eficacia biológica (mediante D y r) o todas las parejas de loci adyacentes formadas por un

locus neutro segregante y el siguiente locus segregante con efecto sobre eficacia biológica (mediante D' y r'). Las Tablas 2.2 y 2.3 recogen los promedios M de los 50 valores de D , r , D' y r' disponibles para cada caso considerado, así como el cociente M/ET entre dicho promedio y su correspondiente error típico. Cabe señalar que, según el teorema central del límite, la distribución de las 50 medias de cada una de estas variables en cada caso estudiado debe ser aproximadamente normal. Así pues, bajo la hipótesis nula de equilibrio de ligamiento, el cociente M/ET tendría distribución normal con media cero y desviación típica uno. Las Tablas 2.2 y 2.3 también indican cuáles de estos desequilibrios promedios eran significativamente diferentes de cero tras utilizar una prueba secuencial de Bonferroni para controlar el error de tipo I teniendo en cuenta la realización de contrastes múltiples (Holm, 1979).

Tabla 2.2 Media (M) y cociente media/error típico (M/ET) del desequilibrio de ligamiento observado entre todas las parejas de loci adyacentes segregantes con efecto sobre eficacia biológica (expresado como D o r). Estos promedios están calculados sobre las 50 poblaciones base simuladas para cada combinación de parámetros mutacionales (s , h) y de longitud de genoma (recombinación libre, RL, o genomas de longitud L Morgans) estudiada.

s	h	L	Núm. parejas	$M(D) \times 10^6$	$\frac{M(D)}{ET(D)}$	$M(r) \times 10^6$	$\frac{M(r)}{ET(r)}$
0,1	0,5	RL	871,24 ± 5,15	-0,081	-0,358	95,827	0,768
		10	878,62 ± 4,42	0,057	0,125	257,282	1,769
		5	877,48 ± 5,08	0,605	1,288	541,500 *	3,072
		1	880,58 ± 4,21	0,435	0,729	547,530	2,399
0,1	0,2	RL	1189,04 ± 5,60	-0,311	-0,825	-103,603	-1,081
		10	1204,28 ± 5,20	-0,711	-0,819	573,507	2,701
		5	1201,00 ± 5,65	0,134	0,114	579,715 *	3,026
		1	1197,48 ± 5,51	0,750	0,633	874,049 ***	4,779
0,1	0,0	RL	1990,76 ± 5,93	-1,505	-1,572	-207,465 *	-3,162
		10	1999,00 ± 9,17	18,269 **	3,714	1882,959 ***	9,209
		5	2017,08 ± 5,48	14,031	2,107	1810,580 ***	7,432
		1	2044,74 ± 7,62	22,770 *	3,289	2377,375 ***	8,197
0,5	0,5	RL	387,44 ± 3,45	-0,092	-0,613	-189,060	-1,158
		10	393,78 ± 3,79	-0,222	-1,995	-126,381	-0,727
		5	397,78 ± 3,53	-0,102	-0,893	51,587	0,294
		1	401,60 ± 3,25	0,201	1,206	201,330	1,226
0,5	0,2	RL	645,24 ± 4,75	0,085	0,323	120,794	0,624
		10	643,08 ± 5,16	0,369	1,103	375,802	1,885
		5	649,64 ± 3,76	-0,259	-1,194	-18,883	-0,108
		1	660,82 ± 3,90	-0,076	-0,358	393,593	2,264
0,5	0,0	RL	1608,44 ± 5,00	-0,609	-0,966	-41,555	-0,423
		10	1636,52 ± 7,34	5,213	1,855	877,006 ***	4,135
		5	1622,38 ± 6,89	11,830 ***	4,844	1610,193 ***	7,163
		1	1680,34 ± 5,84	18,021 ***	5,289	1724,250 ***	7,318

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ en un contraste secuencial de Bonferroni (véase el texto principal).

Tabla 2.3 Media (M) y cociente media/error típico (M/ET) del desequilibrio de ligamiento observado entre todas las parejas de loci adyacentes segregantes formadas por un locus neutro y un locus con efecto sobre eficacia biológica (expresado como D' o r'). Estos promedios están calculados sobre las 50 poblaciones base simuladas para cada combinación de parámetros mutacionales (s , h) y de longitud de genoma (recombinación libre, RL, o genomas de longitud L Morgans) estudiada.

s	h	L	Núm. parejas	$M(D') \times 10^6$	$\frac{M(D')}{ET(D')}$	$M(r') \times 10^6$	$\frac{M(r')}{ET(r')}$
0,1	0,5	RL	295,46 ± 2,97	-0,380	-0,147	219,085	1,026
		10	286,80 ± 3,15	2,359	0,405	261,401	0,768
		5	292,78 ± 2,78	13,294	2,203	821,926	2,797
		1	266,70 ± 2,86	11,313	1,370	1280,268	2,918
0,1	0,2	RL	308,32 ± 3,55	-1,841	-0,601	-370,181	-1,679
		10	304,34 ± 3,77	-0,766	-0,072	1210,553	2,926
		5	299,90 ± 3,24	2,695	0,196	849,156	1,869
		1	276,06 ± 3,07	-10,474	-0,759	40,826	0,084
0,1	0,0	RL	317,78 ± 2,79	6,841	1,128	339,368	1,574
		10	315,30 ± 3,56	-22,632	-0,662	910,383	1,414
		5	316,76 ± 4,07	26,097	0,672	2769,548 **	3,775
		1	315,24 ± 3,80	-41,749	-0,867	1799,063	1,936
0,5	0,5	RL	246,52 ± 2,28	-0,741	-0,571	244,269	1,154
		10	238,08 ± 2,08	-0,512	-0,265	70,306	0,277
		5	238,16 ± 2,03	-0,696	-0,308	58,430	0,203
		1	224,02 ± 2,54	0,507	0,233	198,375	0,731
0,5	0,2	RL	272,94 ± 2,55	4,015	2,021	151,674	0,726
		10	278,92 ± 3,29	0,074	0,016	437,774	1,079
		5	268,00 ± 2,77	-2,018	-0,488	197,228	0,594
		1	252,44 ± 2,47	-7,312	-1,869	-136,986	-0,453
0,5	0,0	RL	305,48 ± 3,52	-7,388	-1,461	-183,254	-0,716
		10	306,04 ± 2,45	-32,225	-1,685	422,245	0,838
		5	303,40 ± 3,27	-6,358	-0,316	831,396	1,607
		1	286,40 ± 3,17	32,545	1,424	1835,654	2,939

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ en un contraste secuencial de Bonferroni (véase el texto principal).

La Tabla 2.2 muestra que $M(D)$ y $M(r)$ no son significativamente distintos de cero en los casos con recombinación libre y/o acción génica aditiva ($h = 0,5$), con un par de excepciones que desaparecen cuando se emplea un nivel de significación del 1 %. Por el contrario, en los casos con recesividad y ligamiento ($h < 0,5$ y $L = 1, 5$ o $10 M$) se observa una tendencia a que el desequilibrio global sea positivo, incrementándose su magnitud a medida que h y L disminuyen. La significación estadística de dicha tendencia resulta más evidente cuando se considera $M(r)$ en lugar de $M(D)$, probablemente porque r proporciona una medida del desequilibrio en términos relativos a la diversidad media de los loci involucrados, de modo que no se ve afectada por el hecho de que las parejas adyacentes de deletéreos segregantes que estén más próximas (y que, por tanto, tiendan a presentar mayor desequilibrio) presenten frecuencias alélicas más extremas.

Por tanto, los resultados de la Tabla 2.2 sugieren que la acción simultánea de la mutación, de la selección y de la deriva induce un exceso de grupos de alelos deletéreos recesivos ligados en fase de acoplamiento en estas poblaciones. Estos deletéreos tenderían a presentarse en homocigosis en los mismos individuos, por lo que la expresión de cada uno de estos alelos se vería parcialmente enmascarada por el efecto deletéreo del resto del grupo. De este modo, el desequilibrio promedio esperado en el equilibrio mutación-selección-deriva tiende a ser positivo a medida que h y L disminuyen debido a una pérdida de eficiencia de la selección. Este fenómeno también explicaría por qué se produce un incremento apreciable del lastre oculto a medida que disminuye la longitud del genoma en los casos con $h = 0$ (Tabla 2.1).

Por el contrario, los resultados de la Tabla 2.3 muestran que el desequilibrio de ligamiento entre loci sometidos a selección y loci neutros es más inconsistente que el observado entre parejas de loci sometidos a selección. De hecho, $M(r')$ es significativamente mayor que cero en un contraste secuencial de Bonferroni en

un solo caso ($s = 0,1$, $h = 0$ y $L = 5 M$). Además, cuando se emplea $M(D')$ como medida global del desequilibrio, se observa que su signo varía de forma más errática que el de $M(r')$. No se aprecian valores significativamente distintos de cero para $M(D')$ en ninguno de los casos estudiados.

2.2.2 Líneas de censo reducido

2.2.2.1 Cambios en la eficacia biológica media

Las Figuras 2.1–2.3 muestran la evolución de la eficacia biológica media (w) en las líneas de censo N para los casos obtenidos con acción génica aditiva ($h = 0,5$), acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) o acción génica completamente recesiva ($h = 0$), respectivamente. Ni en estas gráficas ni en gráficas sucesivas se han representado los resultados obtenidos con $L = 10 M$, ya que eran cualitativa y cuantitativamente muy similares a los obtenidos con recombinación libre o con $L = 5 M$. Dichos resultados pueden consultarse en el Apéndice 2.

En los casos con recombinación libre y $h = 0,5$ (Figura 2.1), el declive de la eficacia biológica media solo puede atribuirse a la acumulación de mutación deletérea nueva durante el período de mantenimiento con censo reducido. Por tanto, las diferencias que se observan entre el escenario MD y el escenario MSD únicamente pueden ser consecuencia de la selección purificadora estándar. La Figura 2.1 muestra que la eficiencia de este tipo de selección se incrementa con el producto Ns , de modo que la selección estándar impide casi todo el declive mutacional cuando $Ns > 1$ (para $N = 50$, tanto con $s = 0,5$ como con $s = 0,1$, y también para $N = 10$ cuando $s = 0,5$). Sin embargo, su eficiencia es solo parcial con $Ns = 1$ ($N = 10$ con $s = 0,1$ o $N = 2$ con $s = 0,5$) y es muy limitada con $Ns < 1$ ($N = 2$ con $s = 0,1$). Así pues, estos resultados ilustran cómo la eficiencia de la selección estándar depende de la importancia relativa de la deriva genética durante el período con censo reducido, en concordancia con los resultados teóricos

clásicos (Crow y Kimura, 1970). De todos modos, es necesario señalar que la tasa de mutación y los efectos deletéreos empleados en estas simulaciones han sido elegidos con el fin de poner de manifiesto fenómenos genéricos, pero no son particularmente realistas (García-Dorado *et al.*, 2004; Eyre-Walker y Keightley, 2007). Por tanto, los declives de la eficacia biológica media observados en la Figura 2.1 no se pueden considerar como ejemplos ilustrativos del declive mutacional esperado en poblaciones naturales.

Las consecuencias conjuntas de la consanguinidad y de la purga sobre la evolución de la eficacia biológica media se pueden observar en las Figuras 2.2 y 2.3. Dichos efectos difieren notablemente en función de la tasa de depresión consanguínea ancestral, del censo de reproductores, de la longitud del genoma y de los parámetros mutacionales empleados. En los paneles superiores de ambas figuras (casos con recombinación libre) se ha añadido la evolución esperada de la eficacia biológica media atribuible exclusivamente a depresión consanguínea, es decir, en ausencia de cualquier forma de selección y de nueva mutación. Esta predicción teórica neutra se ha obtenido como $w_t = w_0 \exp(-\delta f_t)$, donde f_t es el coeficiente de consanguinidad calculado en función del censo real de reproductores (f_N) en la generación t (Morton *et al.*, 1956). De este modo, la comparación con esta predicción permite distinguir el impacto relativo de la depresión consanguínea y de la fijación de mutación deletérea nueva en la reducción de la eficacia biológica media observada en el escenario MD.

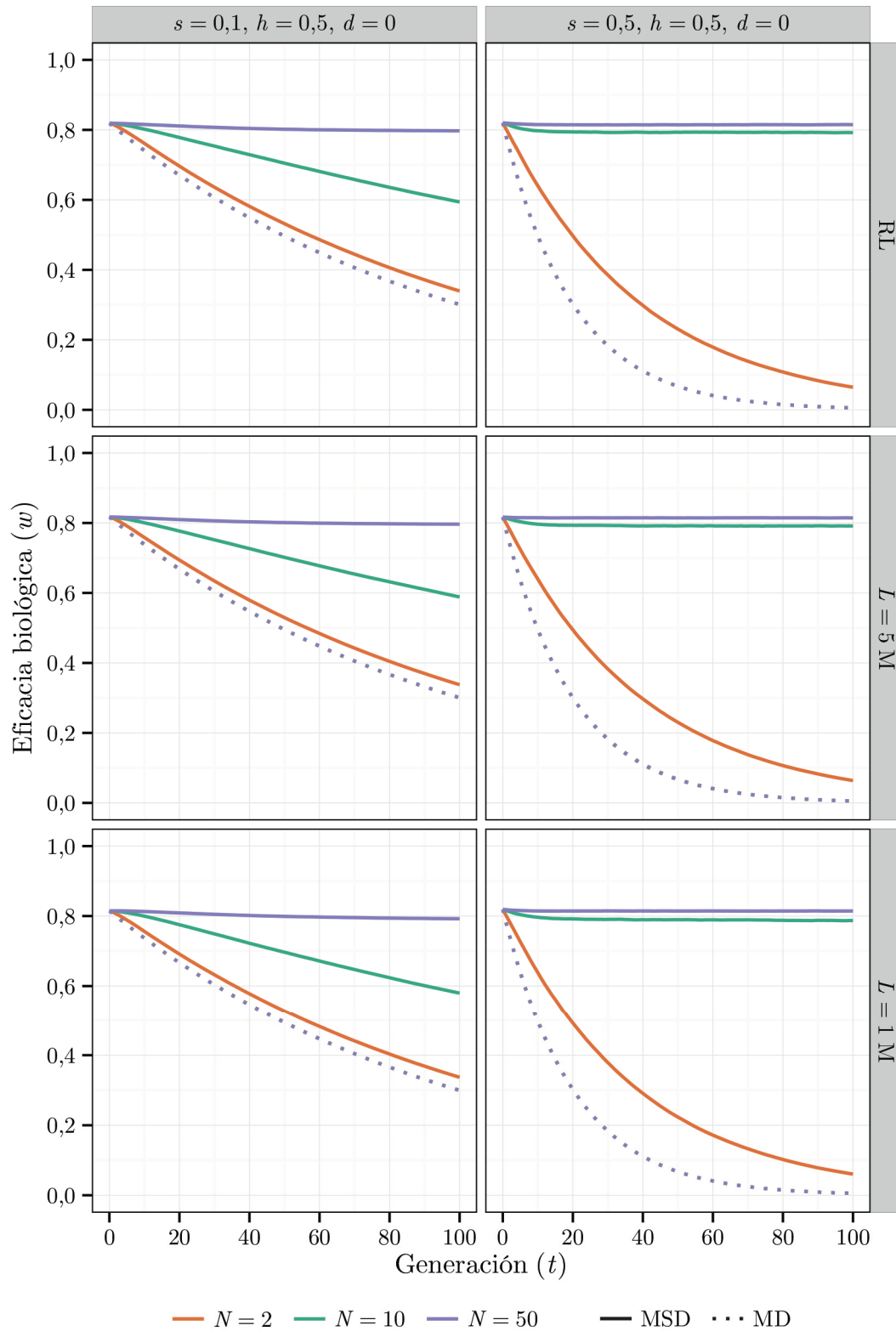


Figura 2.1 Evolución de la eficacia biológica media (w) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

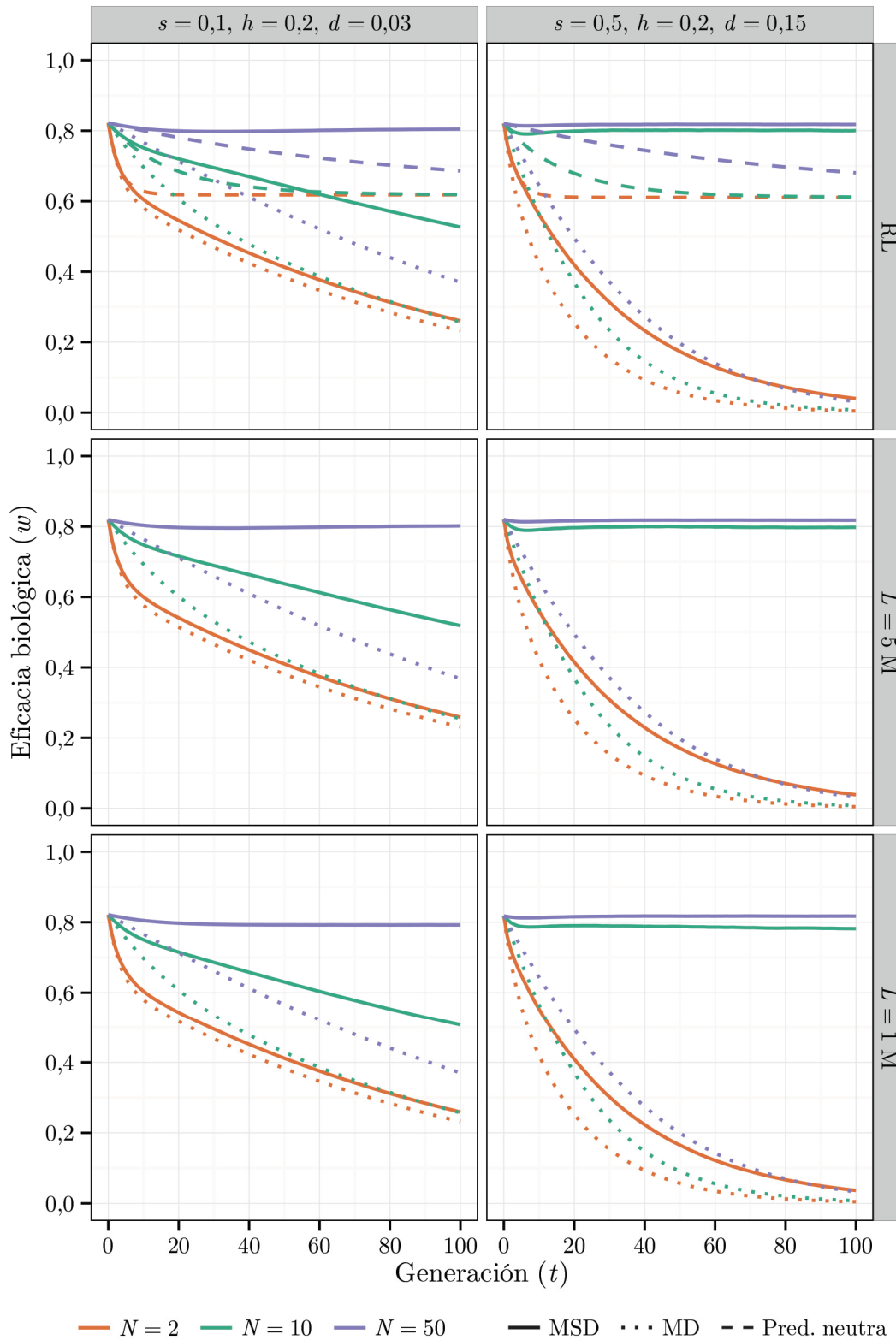


Figura 2.2 Evolución de la eficacia biológica media (w) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección; Pred. neutra: predicción teórica neutra.

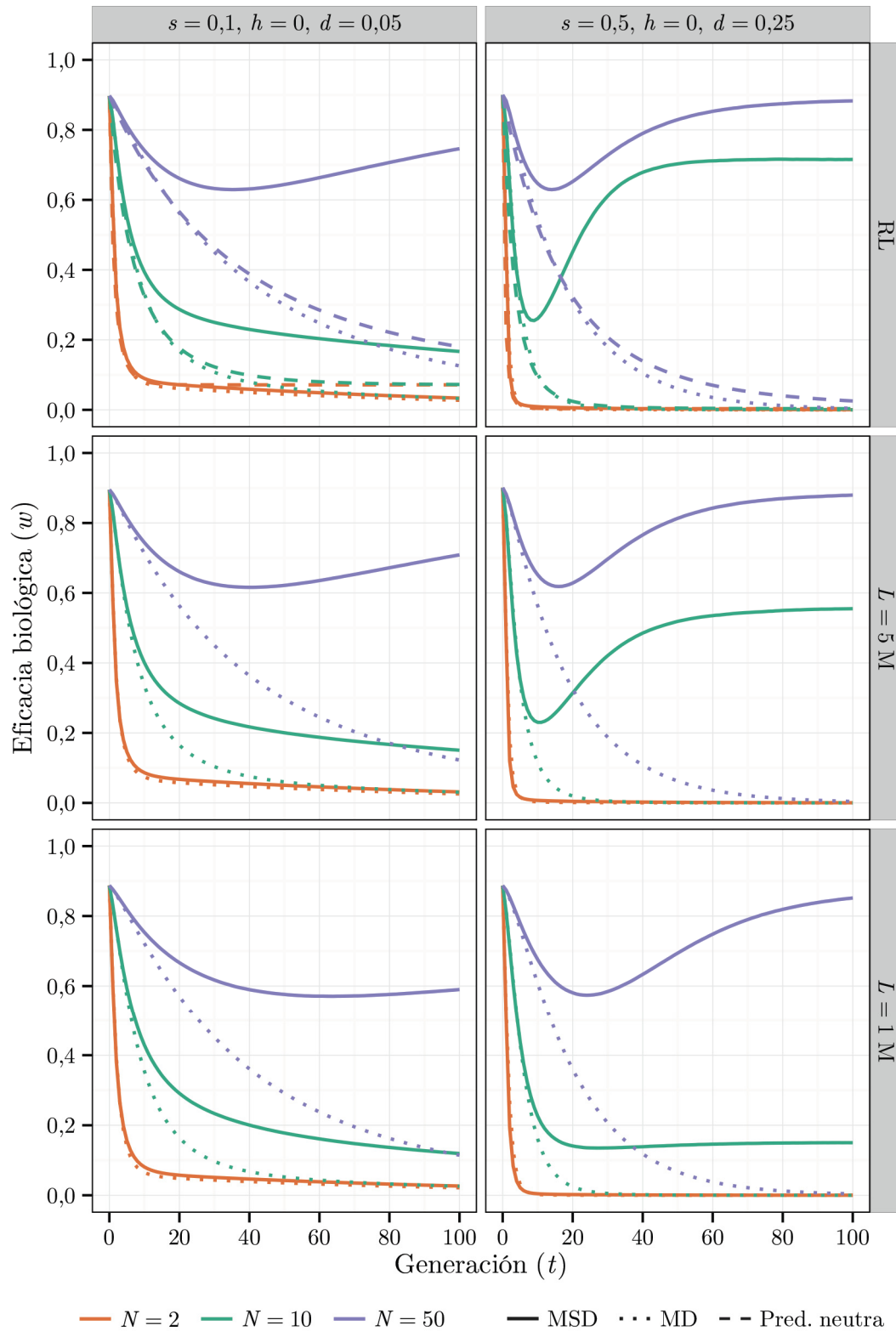


Figura 2.3 Evolución de la eficacia biológica media (w) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección; Pred. neutra: predicción teórica neutra.

Consideremos en primer lugar los casos obtenidos con recombinación libre y $h = 0$. Las poblaciones base a partir de las que se derivaron las líneas de censo reducido presentaban un importante lastre oculto en heterocigosis (Tabla 2.1), por lo que el impacto de la depresión consanguínea debería ser sustancial en el escenario MD. La Figura 2.3 confirma esta expectativa y muestra que la mayor parte del declive de la eficacia biológica media observado a corto y medio plazo en el escenario MD debe atribuirse a depresión consanguínea, ya que la evolución de la media en este escenario y en la predicción neutra durante dicho período es prácticamente idéntica. Por tanto, esto implica que las diferencias existentes en eficacia biológica media entre el escenario MD y el escenario MSD a corto y medio plazo se deben fundamentalmente a la acción de la purga.

Además, la Figura 2.3 muestra que la eficiencia de la purga aumenta con el producto Nd , en concordancia con los resultados teóricos de García-Dorado (2012). Por ejemplo, con $d = 0,05$ y $N = 50$, la eficacia biológica media inicial ($w_0 = 0,8972$) se reduce hasta alcanzar un valor mínimo de $w_{36} = 0,6294$ en la generación 36, y a continuación se recupera hasta $w_{100} = 0,7461$, un valor muy superior al obtenido en el escenario MD o en la predicción neutra. Con $d = 0,25$ y $N = 50$, la recuperación es mayor y el punto de inflexión se alcanza de forma más temprana ($w_0 = 0,8997$, mínimo en $w_{15} = 0,6294$, $w_{100} = 0,8829$). De modo análogo, en las líneas $N = 10$ la purga es capaz de inducir una recuperación notable de la eficacia biológica media con $d = 0,25$, pero no con $d = 0,05$. En cambio, la purga no es eficiente en las líneas $N = 2$ para ninguno de estos dos valores de d .

En los casos obtenidos con recombinación libre y $h = 0,2$, la tasa de depresión consanguínea en las poblaciones base era considerablemente menor que en los casos obtenidos con $h = 0$ (Tabla 2.1). De nuevo, solo se aprecia un patrón claro de recuperación de la eficacia debida a purga en los casos con $Nd > 1$, esto es, $N = 50$ con $d = 0,15$ o $d = 0,03$ y $N = 10$ con $d = 0,15$ (Figura 2.2).

Las Figuras 2.1–2.3 también incluyen las repercusiones de la longitud del genoma sobre el declive de la eficacia biológica media en las líneas de censo N . En general, se observa que las consecuencias del ligamiento son inapreciables en los casos obtenidos con $h = 0,2$ o con $h = 0,5$, tanto en el escenario MD como en el escenario MSD. No obstante, en los casos con $h = 0$ la evolución de la eficacia biológica media se modifica notablemente. La Figura 2.4 permite una valoración más directa de las consecuencias del ligamiento estrecho en ausencia (MD) o presencia (MSD) de selección, utilizando un caso en el que la magnitud de la purga es muy elevada ($s = 0,5$ y $h = 0$).

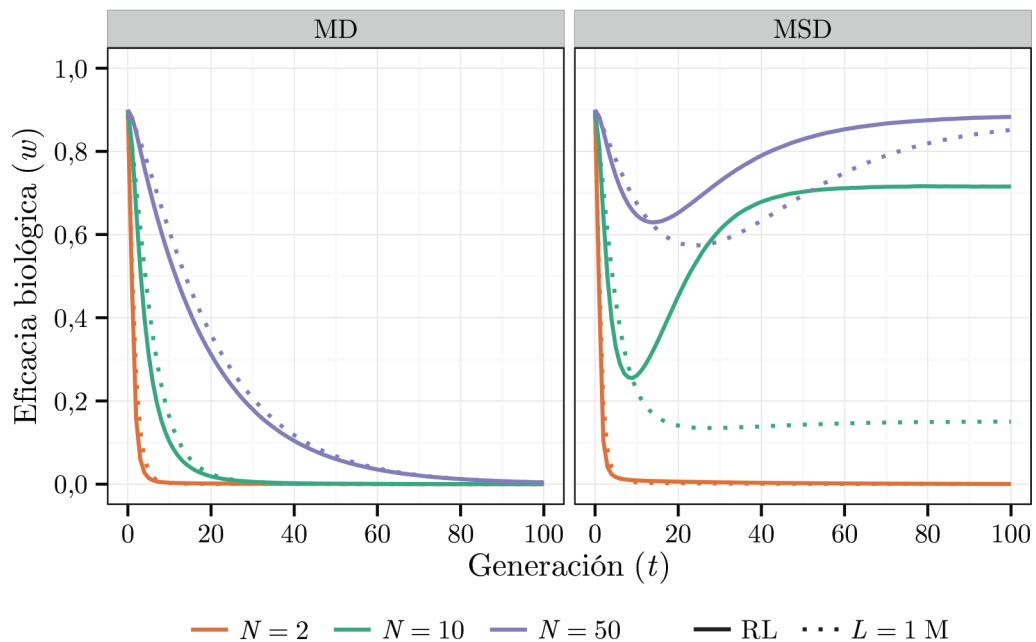


Figura 2.4 Evolución de la eficacia biológica media (w) en las líneas de censo N para el caso con $s = 0,5$ y $h = 0$. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección; RL: recombinación libre; L : longitud del genoma en Morgans.

Por una parte, se observa que el ligamiento induce, tras la reducción del censo, una cierta disminución de la pendiente de depresión inicial con respecto a los casos con recombinación libre en los escenarios MD y MSD (Figura 2.4), a pesar de que δ era mayor en las poblaciones base con menor L (Tabla 2.1). Este fenómeno puede atribuirse a la existencia de grupos de alelos deletéreos ligados

en fase de acoplamiento en las correspondientes poblaciones base, tal y como se ha discutido en el Apartado 2.2.1. Recuérdese que en estos casos la selección en la población base actuaba de un modo más ineficiente sobre los alelos deletéreos ligados en fase de acoplamiento, generando un cierto desequilibrio de ligamiento positivo, así como el mencionado incremento del lastre oculto (Tablas 2.1 y 2.2). La existencia de desequilibrio de ligamiento positivo implica que, cuando se reduce el censo, el lastre oculto se manifiesta de forma ralentizada, ya que su expresión completa requiere la destrucción del desequilibrio por recombinación. Esto explicaría el retardo en la manifestación de la depresión consanguínea y, por tanto, de la purga para valores reducidos de L (Figuras 2.3 y 2.4). No obstante, cabe mencionar que este retraso no se interpone en la expresión del lastre oculto a largo plazo en el escenario MD, de modo que la eficacia biológica media final en los casos con L pequeño es similar a la obtenida con recombinación libre. En cualquier caso, esta demora de la depresión consanguínea, acompañada de un retraso de la purga en el escenario MSD, solo es importante en los casos con $L = 1$ M. Este fenómeno también sucede en menor medida con $h = 0,2$, aunque en la escala empleada es prácticamente imperceptible.

Por otra parte, se observa que la purga se vuelve más ineficiente cuando existe ligamiento, produciéndose una caída final de la eficacia biológica media en el escenario MSD mucho mayor que en los casos con recombinación libre (Figuras 2.3 y 2.4). Por ejemplo, cuando $d = 0,25$, la purga es prácticamente ineficiente para genomas con $L = 1$ M en poblaciones de censo $N = 10$. Este fenómeno se podría explicar por una reducción del censo efectivo de deriva (N_e). Hasta el momento hemos hecho énfasis en que la purga resulta ineficiente frente a la deriva genética cuando $Nd < 1$, pero, en realidad, el valor de N apropiado para este argumento es el censo efectivo de deriva de las líneas (García-Dorado, 2012). Es decir, la condición anterior debería reformularse como $N_e d < 1$. La teoría predice que el censo

efectivo que determina la deriva en loci neutros se reduce cuando la selección natural actúa sobre loci con efecto sobre eficacia biológica ligados a los primeros, dando lugar a la reducción de diversidad genética y de eficiencia de la selección que caracteriza a los fenómenos conocidos como *background selection* y trinquete de Muller (Nordborg *et al.*, 1996; Santiago y Caballero, 1998; Charlesworth, 2012).

2.2.2.2 Cambios en la variabilidad genética neutra

Una vez discutidas las consecuencias de la consanguinidad y de la purga sobre la evolución de la eficacia biológica media en las líneas de censo reducido, pasemos a considerar las repercusiones de estos fenómenos sobre la pérdida de variabilidad genética neutra en las mismas.

En las Figuras 2.5–2.7 se representa el coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente al coeficiente de consanguinidad calculado en función del censo de reproductores N (f_N) para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$), acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) o acción génica completamente recesiva ($h = 0$), respectivamente. Estas figuras muestran que la selección origina un incremento de la consanguinidad genealógica con respecto al valor teórico esperado en un modelo neutro. Dicho incremento es más grande para $s = 0,5$ que para $s = 0,1$, pero en ambos casos solo es importante con $h = 0$ (Figura 2.7).

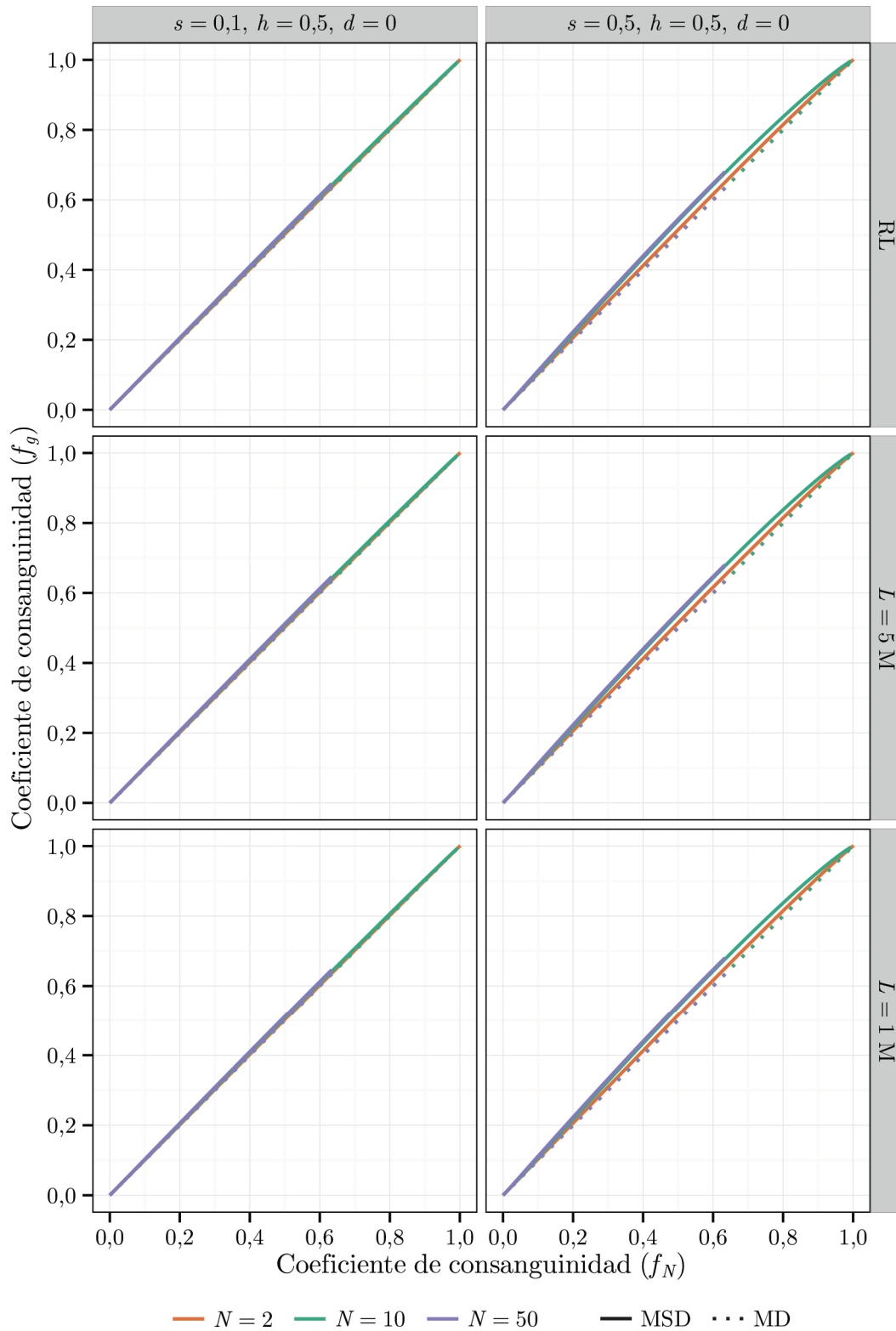


Figura 2.5 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

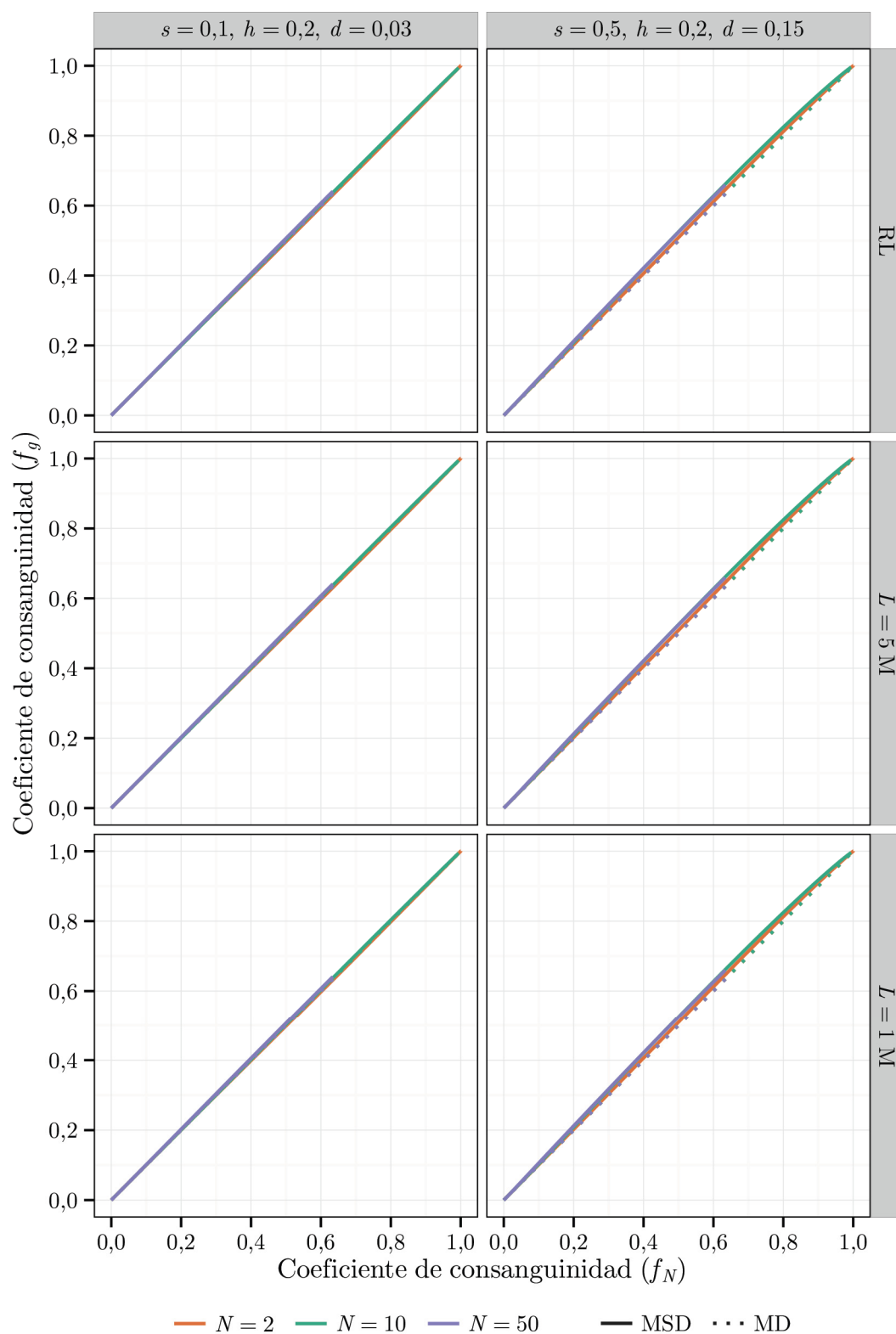


Figura 2.6 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

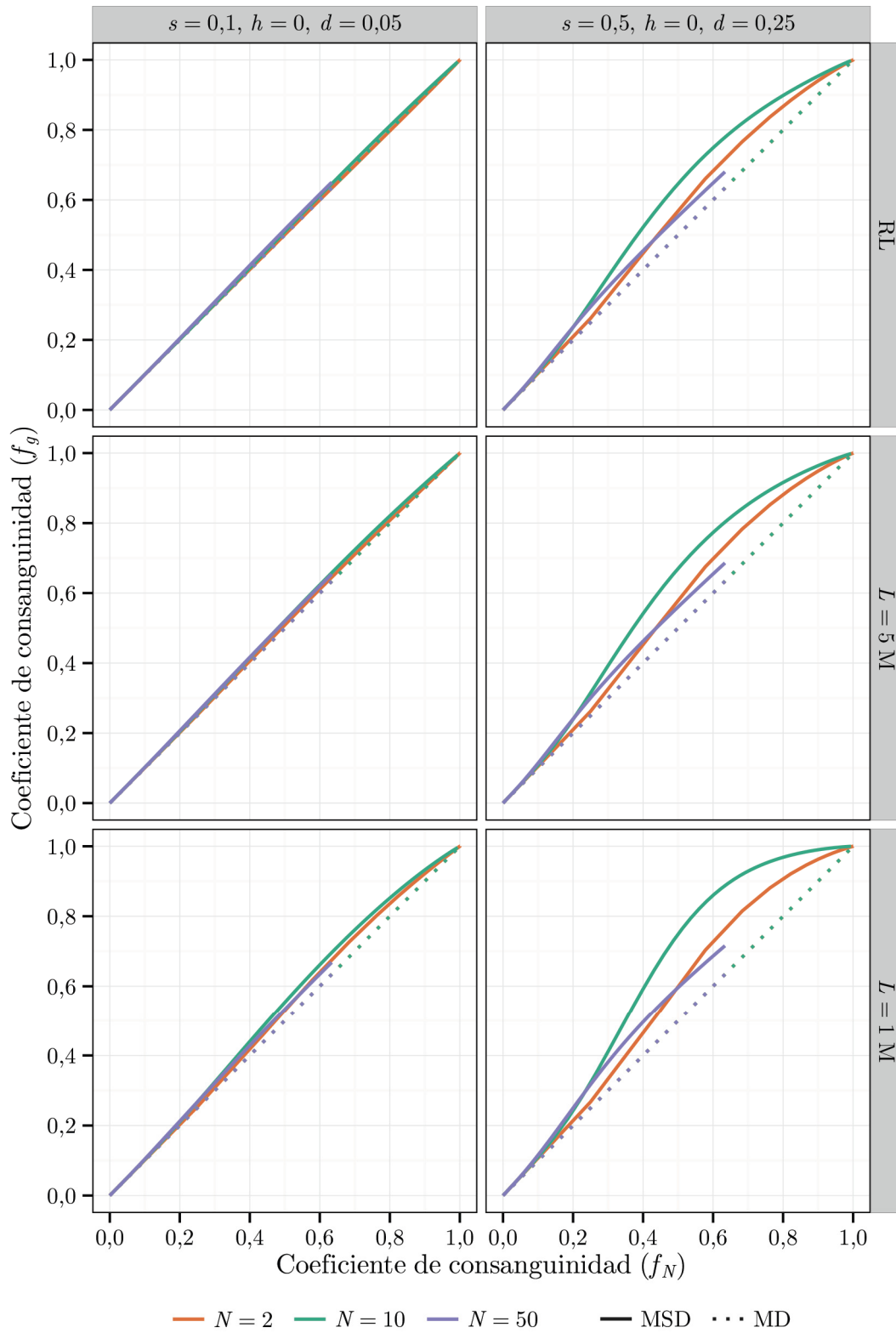


Figura 2.7 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

Los resultados obtenidos con $h = 0$ pueden atribuirse a que, durante el período de mantenimiento con censo reducido, se espera que se produzca un exceso transitorio de los componentes de la varianza genética de la eficacia biológica como consecuencia de la recesividad de los alelos deletéreos que segregaban en las poblaciones base (López-Fanjul *et al.*, 2002; García-Dorado, 2007; Pérez-Figueroa *et al.*, 2009) (la evolución de la varianza aditiva y de la varianza dominante en estas líneas puede consultarse en las Figuras A2.1–A2.6 del Apéndice 2). Este incremento temporal de variabilidad genética implica un aumento de la intensidad de la selección natural, lo que conduce a valores de la consanguinidad genealógica mayores que los esperados en función del censo de reproductores (Falconer y Mackay, 1996). El componente aditivo de este incremento transitorio de la varianza genética es precisamente el empleado por la purga para limitar la depresión consanguínea, aunque este proceso solo es eficiente cuando $N_e d > 1$ (Figura 2.3 y Figura A2.3 del Apéndice 2), en concordancia con lo observado en el estudio de simulación de Pérez-Figueroa *et al.* (2009).

Así pues, los efectos de la selección sobre la consanguinidad genealógica en estas simulaciones solo son importantes cuando la purga es intensa, lo cual requiere valores elevados de d , pero también de δ , como ocurre cuando el lastre oculto ancestral se debe a mutaciones deletéreas completamente recesivas (Tabla 2.1). Sin embargo, es importante señalar que purga intensa no equivale a purga eficiente: obsérvese que el cociente f_g/f_N también aumenta en las líneas $N = 2$, en las cuales la purga no es capaz de frenar la depresión consanguínea, ya que la deriva actúa como fuerza dominante del proceso evolutivo ($N_e d < 1$; Figura 2.3). En cambio, la selección purificadora estándar, que es la única que opera en los casos con $h = 0,5$, no produce diferencias notables entre f_g y f_N porque la varianza aditiva de la eficacia biológica en las correspondientes poblaciones base en equilibrio mutación-selección-deriva debe de ser pequeña (García-Dorado, 2007). Es

decir, en esta situación la intensidad de selección es pequeña en las poblaciones base y se reduce en las líneas al aumentar la consanguinidad (Falconer y Mackay, 1996; García-Dorado, 2007). Este efecto es inapreciable en la escala empleada en la Figura A2.1 del Apéndice 2.

Así mismo, la Figura 2.7 muestra que las diferencias entre f_g y f_N se acentúan cuando la purga ocurre sobre genomas de longitud pequeña, lo cual se debería a un incremento de la intensidad de la misma durante el período de censo reducido atribuible a la existencia de grupos de deletéreos en fase de acoplamiento en las poblaciones base (mayor δ ; Tabla 2.1). Sin embargo, esto tampoco implica que la purga en estos casos sea más eficiente. De hecho, debe recordarse que la eficiencia de la purga bajo ligamiento estrecho se ve parcialmente comprometida por la reducción del censo efectivo de deriva de las líneas (Figura 2.3).

Por otra parte, en los casos con $h = 0$ se observa un incremento más modesto de f_g con respecto a f_N en las líneas $N = 50$ que en las líneas $N = 10$, a pesar de que la purga es más eficiente en las primeras (Figura 2.3). Esto podría deberse a que la purga comienza a ser eficiente para valores más pequeños de f y de la depresión consanguínea a medida que se consideran valores de N más grandes, de modo que nunca llega a ser tan intensa.

En las Figuras 2.8–2.10 se representa el coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente al coeficiente de consanguinidad calculado en función de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$), acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) o acción génica completamente recesiva ($h = 0$), respectivamente. En el Apéndice 2 se pueden consultar las gráficas análogas correspondientes a f_{V_k} frente a f_N (Figuras A2.7–A2.9). En los casos obtenidos con $h = 0,5$ (Figura 2.8) o con $h = 0,2$ (Figura 2.9) nunca se aprecian diferencias importantes entre los valores de f_g y de f_{V_k} . Sin embargo, este

comportamiento es muy distinto en los casos con $h = 0$ (Figura 2.10), en los que se observa que, por lo general, f_g alcanza valores claramente menores que f_{V_k} en el escenario MSD.

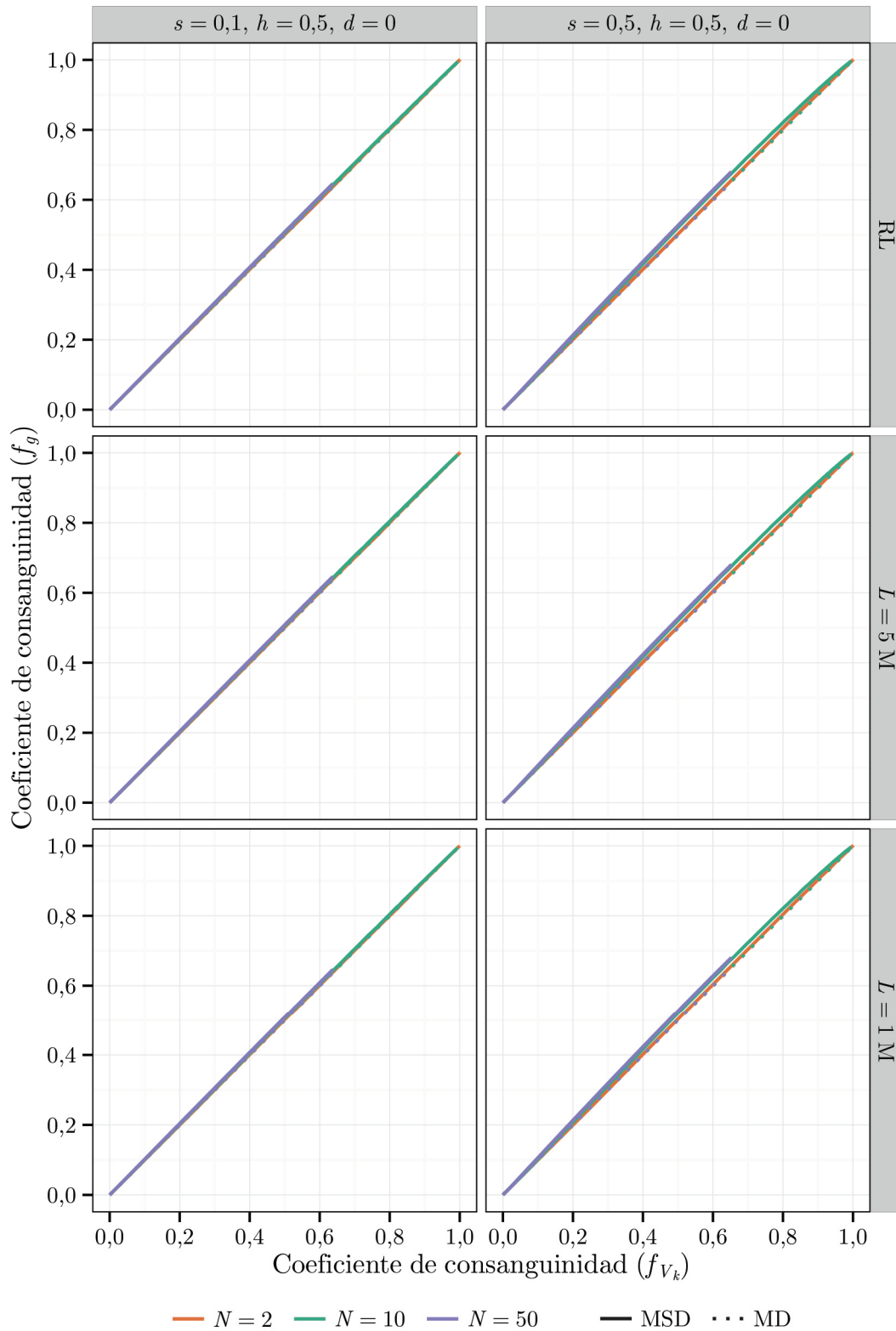


Figura 2.8 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

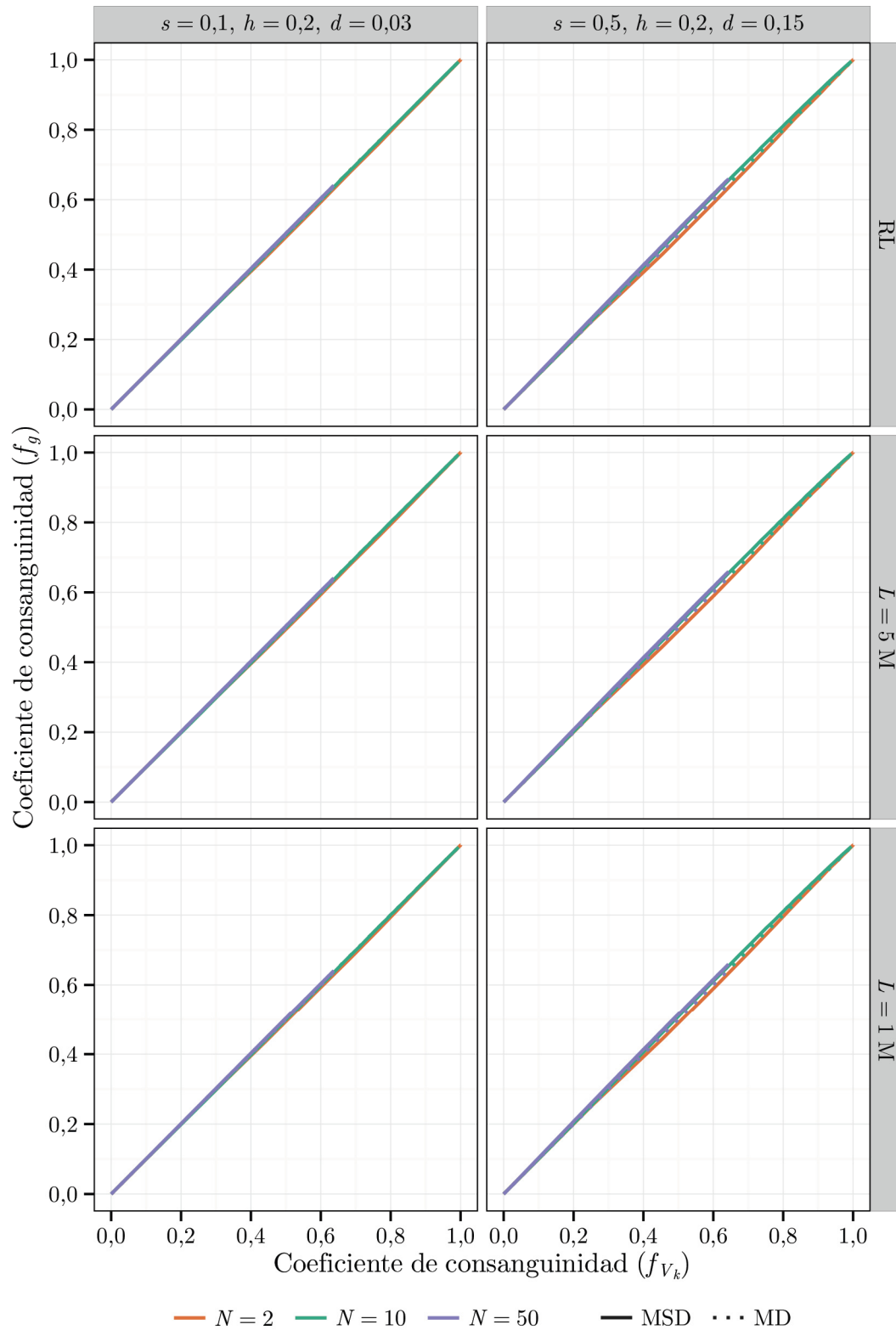


Figura 2.9 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

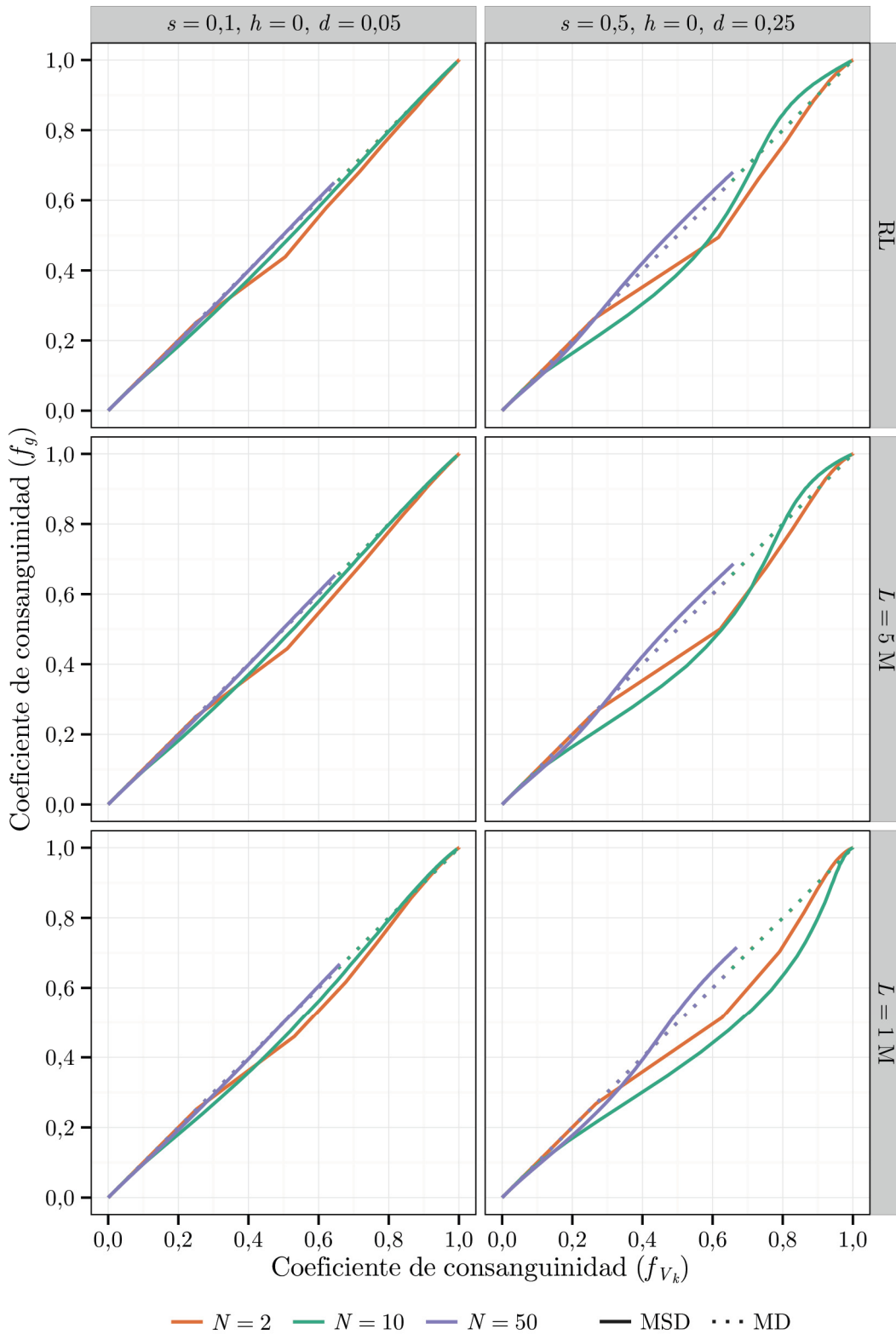


Figura 2.10 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

La Figura 2.10 muestra, por tanto, que las consecuencias de la purga sobre la genealogía de los individuos son tales que la consanguinidad genealógica tiende a ser menor que la esperada en función de la varianza de la contribución de gametos. Al igual que sucedía al comparar f_g y f_N , estas diferencias son más acusadas cuando la purga es intensa, es decir, cuando δ es elevada y se debe a alelos deletéreos con valores grandes de d (Tabla 2.1). Estos resultados se pueden atribuir a que la purga, al penalizar a los homocigotos por descendencia para deletéreos recesivos, reduce las contribuciones de los apareamientos entre individuos más emparentados, tendiendo así a igualar las contribuciones de los diferentes ancestros. Sin embargo, este fenómeno solo se observa con tasas de consanguinidad relativamente rápidas ($N = 2$ y $N = 10$), siendo prácticamente inapreciable en las líneas $N = 50$. La Figura 2.10 también muestra que este efecto se amplifica cuando el ligamiento es estrecho, probablemente porque en estos casos la herencia de grupos de alelos deletéreos en fase de acoplamiento induce una purga más intensa.

Por otra parte, en la Figura 2.10 también se observa que el valor de f para el cual f_g comienza a ser apreciablemente menor que f_{V_k} es menor en las líneas $N = 10$ que en las líneas $N = 2$. El motivo es que en las líneas $N = 2$ la purga actúa por primera vez cuando $f = 0,25$, y no produce sus primeras consecuencias hasta la generación siguiente. Además, se observa que en las líneas $N = 10$ y $N = 50$ la relación se invierte para valores elevados de f_{V_k} , obteniéndose valores de f_g mayores que los de f_{V_k} . Esta inversión podría deberse a que, una vez se ha producido la mayor parte de la purga sobre el lastre oculto de la población base, la selección restante (selección purificadora estándar) actúa fundamentalmente en contra de los alelos deletéreos producidos por nueva mutación durante el período de mantenimiento con censo reducido.

Las Figuras 2.11–2.13 muestran la reducción de diversidad genética neutra dentro de líneas (H_t/H_0) frente al coeficiente de consanguinidad calculado en función de la varianza de contribución de gametos (f_{V_k}) para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$), acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) o acción génica completamente recesiva ($h = 0$), respectivamente.

En los casos con $h = 0,5$ (Figura 2.11) o con $h = 0,2$ (Figura 2.12), la pérdida de diversidad genética neutra con recombinación libre en el escenario MSD es muy similar a la esperada en función de f_{V_k} . Dicha caída es más rápida cuando el ligamiento es más estrecho. Este comportamiento puede atribuirse a la acción de la selección estándar, de acuerdo con lo predicho por la teoría (Nordborg *et al.*, 1996; Santiago y Caballero, 1995, 1998, Charlesworth, 2012) y con los resultados obtenidos en otros estudios de simulación (Wang y Hill, 1999; Wang *et al.*, 1999).

No obstante, en los casos con $h = 0$ (Figura 2.13), la diversidad genética neutra en presencia de selección cae más despacio de lo esperado en función de f_{V_k} , sobre todo con $s = 0,5$. De nuevo, este resultado sugiere que la purga tiende a uniformizar las contribuciones de las dotaciones genéticas ancestrales a las generaciones futuras, compensando, en parte, los efectos del incremento de V_k sobre la pérdida de diversidad genética neutra. Por otra parte, se observa que este patrón puede llegar a invertirse al aumentar f_{V_k} , de modo que la diversidad genética neutra puede llegar a ser menor que la esperada en función de f_{V_k} a medida que transcurren más generaciones después de que se haya producido la mayor parte de la purga. Este fenómeno debe adscribirse al predominio, durante las fases tardías del proceso, de la selección estándar sobre la variabilidad genética surgida por mutación. Esta situación se alcanza a partir de un determinado valor de f_{V_k} , que es mayor cuanto menor es el censo, y se puede atribuir a que, para censos pequeños, se requiere producir mucha consanguinidad antes de que se produzca

la mayoría de la purga esperada, si bien este proceso puede llevar pocas generaciones. Este efecto se exagera al aumentar el ligamiento, pues, como ilustra la Figura 2.3, disminuye la eficiencia de la purga.

Cualitativamente, esta relación entre H_t/H_0 y f_{V_k} guarda un considerable paralelismo con la descrita anteriormente para la relación entre f_g y f_{V_k} . Sin embargo, como veremos a continuación, no se puede explicar la evolución de la diversidad genética neutra exclusivamente en función de la consanguinidad genealógica.

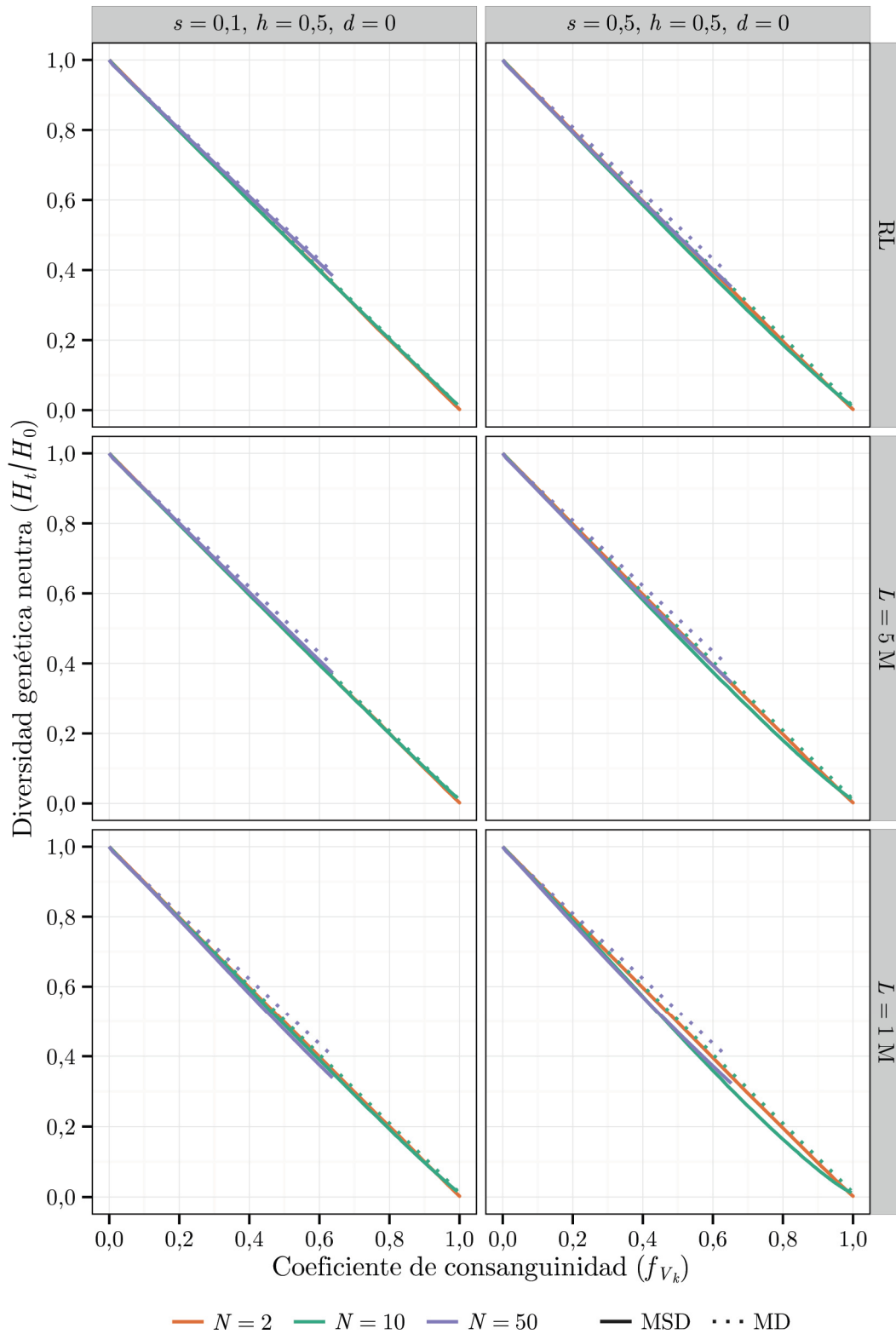


Figura 2.11 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

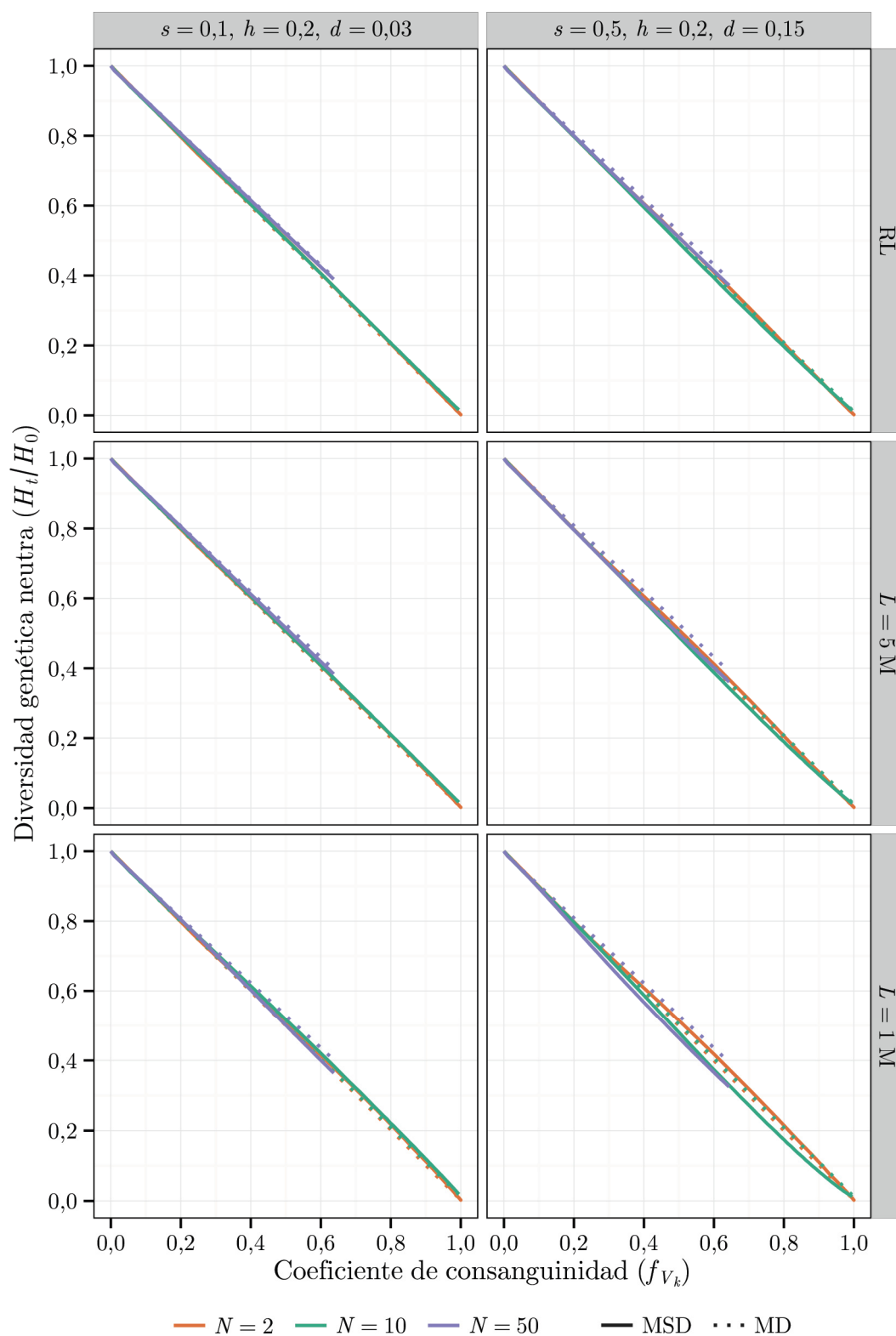


Figura 2.12 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

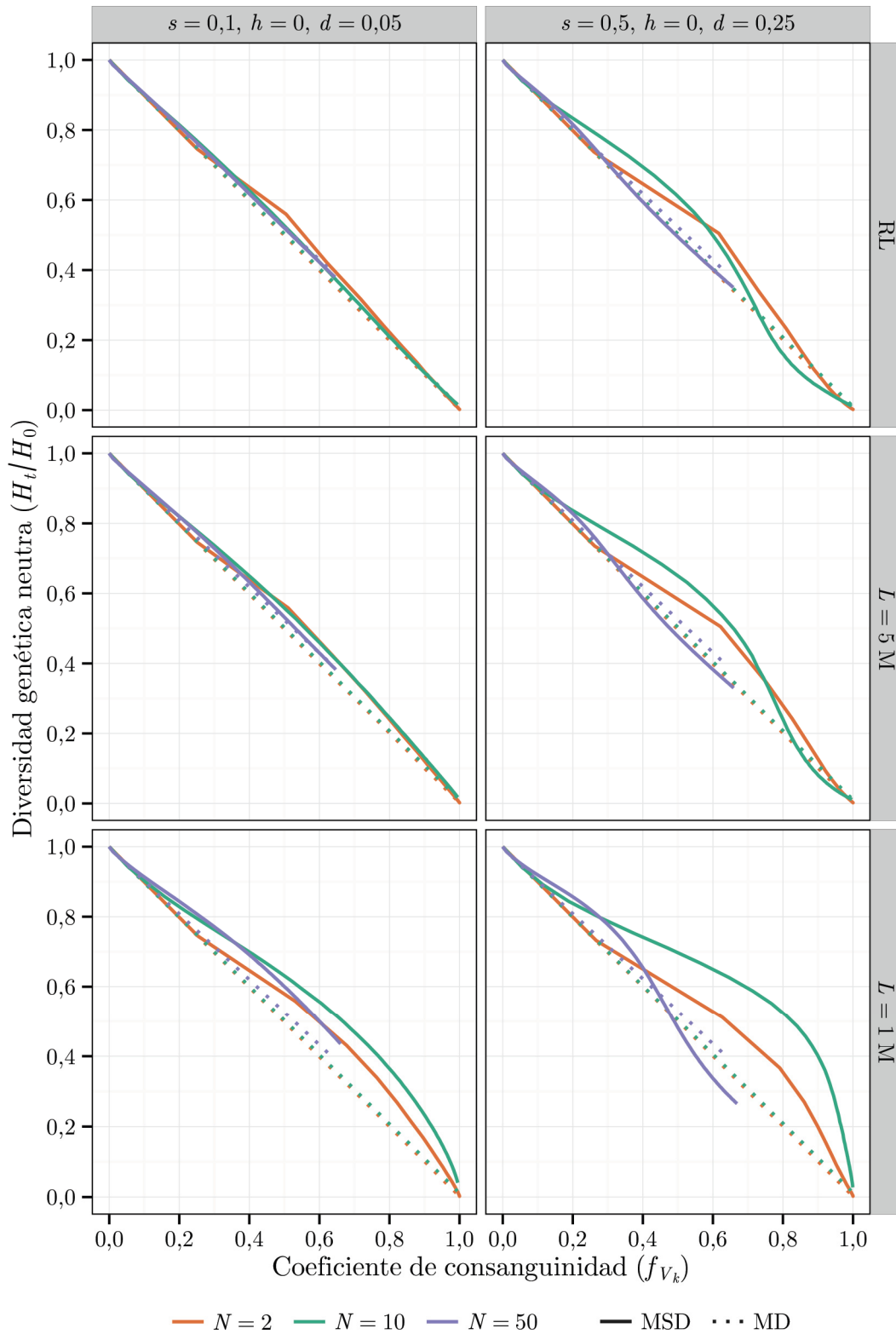


Figura 2.13 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

En las Figuras 2.14–2.16 se representa la reducción de diversidad genética neutra dentro de líneas (H_t/H_0) frente al coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$), acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) o acción génica completamente recesiva ($h = 0$), respectivamente.

En los casos con recombinación libre se observa que, para cualquiera de los valores de h considerados, la evolución de H_t/H_0 en presencia de selección es prácticamente idéntica a la predicción que se obtendría a partir de las genealogías según un modelo completamente neutro ($1 - f_g$). No obstante, se observa un leve exceso de diversidad genética neutra en las líneas $N = 50$ respecto a esta predicción, que sería atribuible a nueva mutación. En los casos con ligamiento y $h = 0,5$ (Figura 2.14) o $h = 0,2$ (Figura 2.15), la selección purificadora estándar acelera levemente la pérdida de diversidad genética neutra. Por el contrario, en los casos con ligamiento y $h = 0$ (Figura 2.16), la diversidad genética neutra se reduce más despacio de lo esperado en función de la información genealógica. De este modo, cuando el ligamiento es más estrecho ($L = 1 M$), H_t/H_0 puede ser considerablemente superior al valor esperado en función de la consanguinidad genealógica, sobre todo en las líneas $N = 10$. En las líneas $N = 50$ este efecto disminuye a partir de un valor concreto de f_g , debido, probablemente, a que para dichos valores ya ha ocurrido casi toda la purga, y solo actúa la selección estándar sobre la variabilidad genética surgida por nueva mutación.

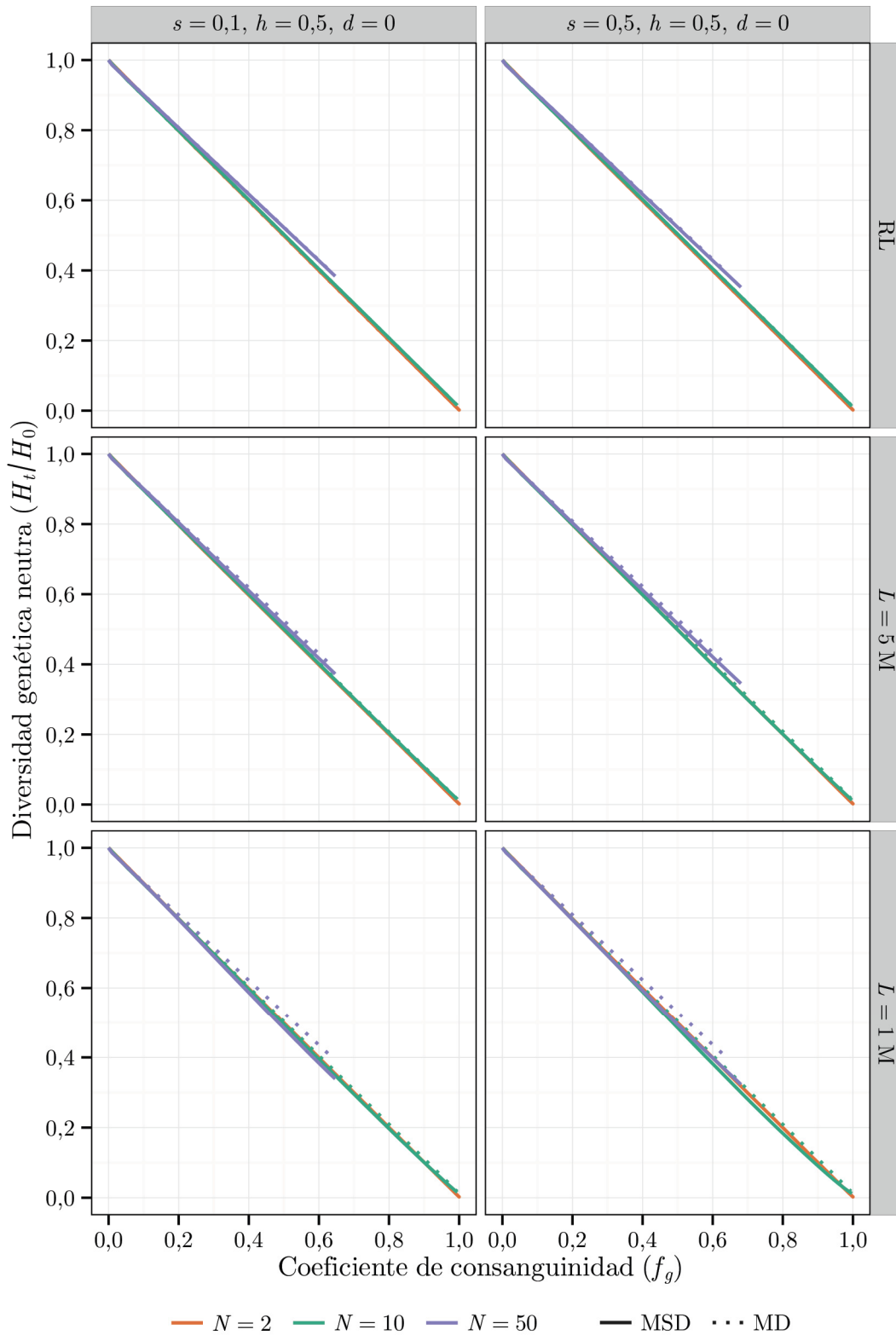


Figura 2.14 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

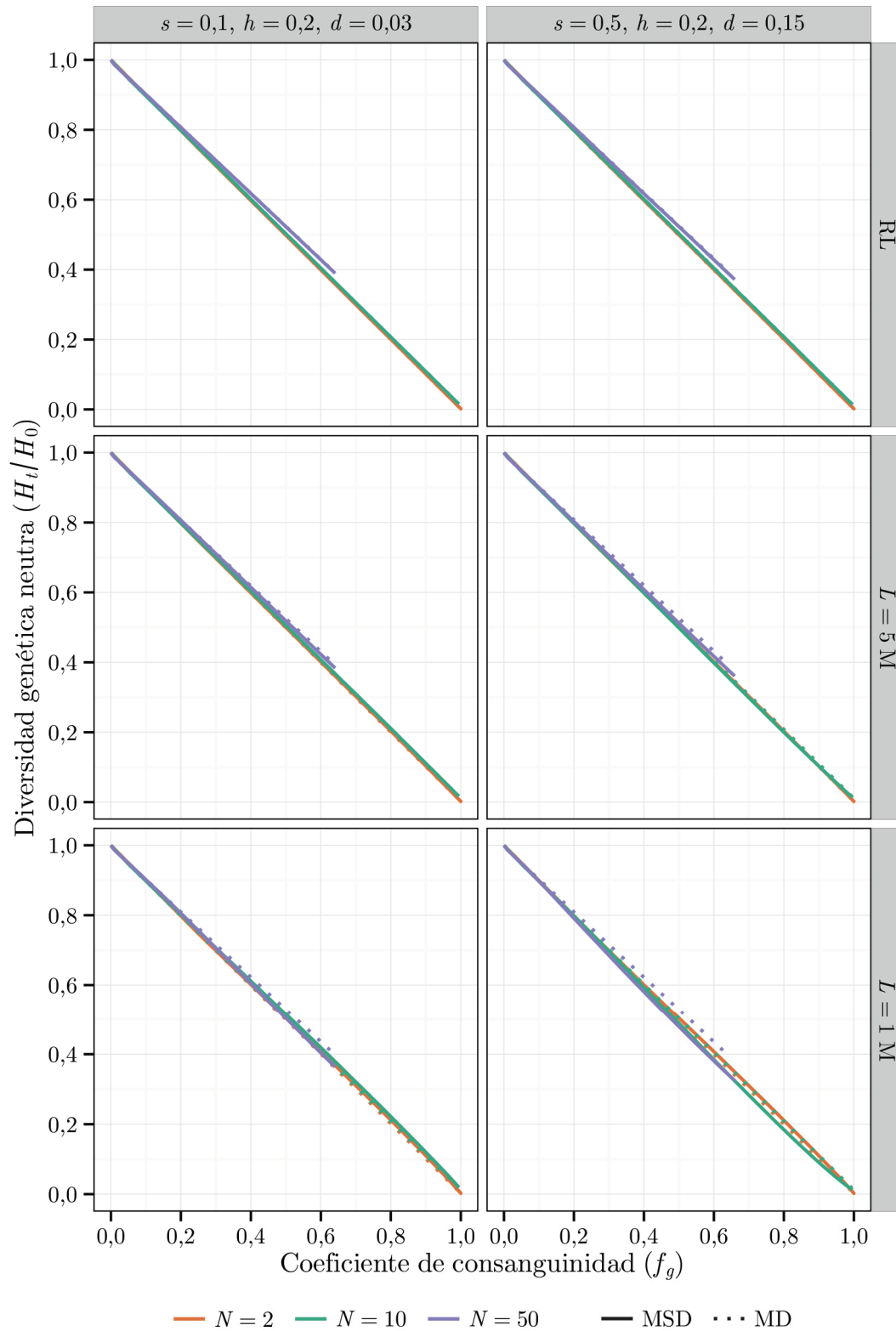


Figura 2.15 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

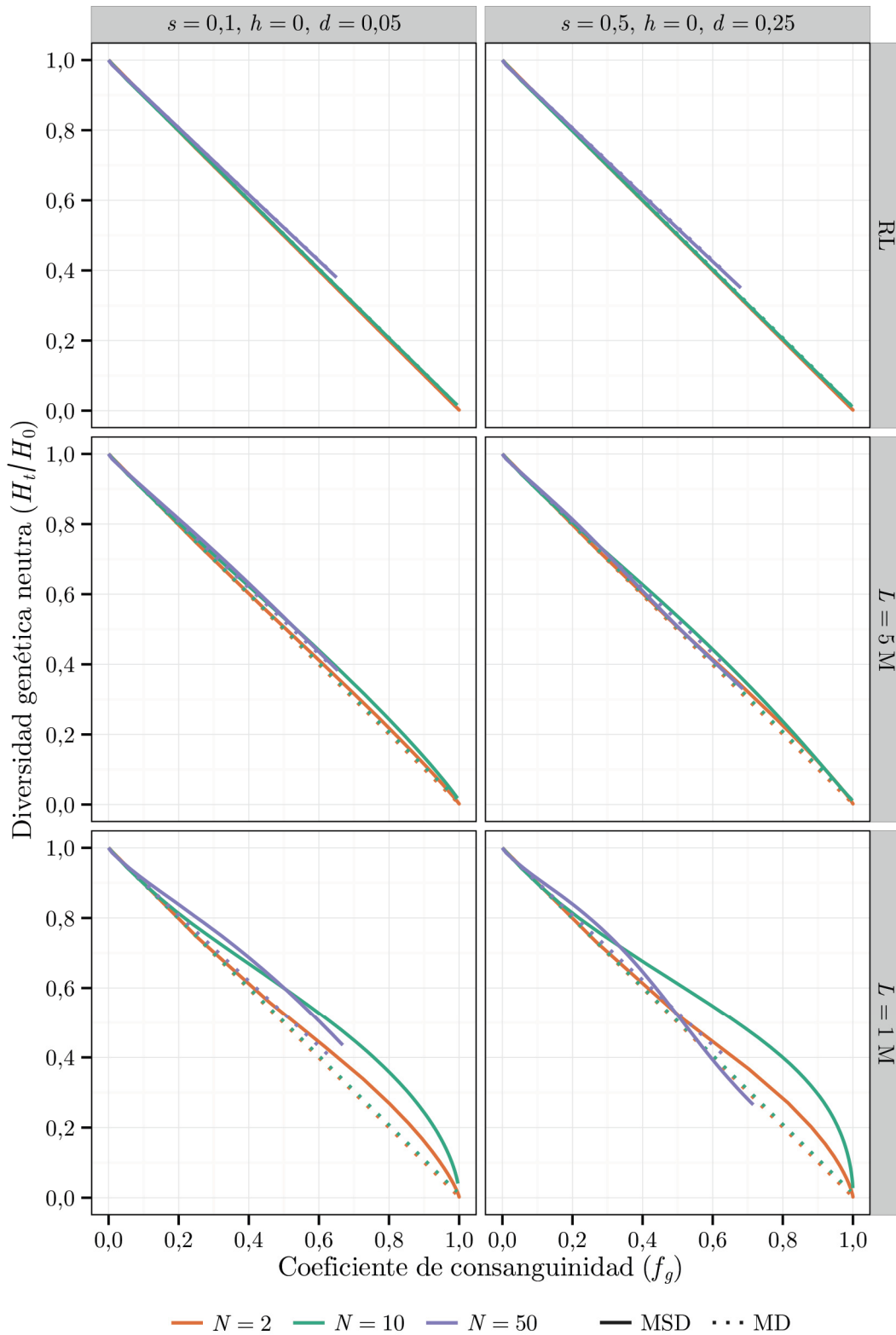


Figura 2.16 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

Este exceso de diversidad genética neutra respecto al valor esperado en función de f_g es menor que el obtenido sobre el valor esperado en función de f_{V_k} (Figura 2.13). No obstante, pone de manifiesto que, además de las restricciones impuestas por la purga sobre las genealogías, existe un mecanismo adicional responsable de la protección de dicha diversidad. Este mecanismo podría consistir en dos procesos diferentes:

1) Que la selección proteja la diversidad genética neutra por arrastre de los alelos neutros que se encontraban en desequilibrio de ligamiento en la población base con alelos deletéreos (parcialmente) recesivos. Este desequilibrio habría sido inducido en la población base por la selección en contra de dichos alelos deletéreos, de modo que los heterocigotos para loci neutros fuesen, en promedio, más eficaces que los correspondientes homocigotos (Pálsson y Pamilo, 1999). Esta ventaja media en eficacia biológica para los heterocigotos en loci neutros debida a desequilibrio de ligamiento con otros sometidos a selección direccional recibe el nombre de sobredominancia asociativa (Ohta, 1971). No obstante, los casos en los que se produce el fenómeno aquí considerado ($h = 0, L = 1 M$ o $L = 5 M$) corresponden a poblaciones base en las que la diversidad genética neutra era siempre menor que la esperada en el modelo neutro (Tabla 2.1), lo cual indica que la sobredominancia asociativa no debe haber sido importante.

2) Que la purga, además de potenciar la contribución equitativa de los ancestros en términos del número de copias de sus genes a las generaciones futuras, también favorezca la representación equitativa de las dos dotaciones genéticas de cada individuo. Este fenómeno implicaría una reducción de la varianza intraindividual del número de copias de cada una de las dos dotaciones gaméticas transmitidas a las generaciones futuras, y se vería favorecido si la mayoría de los juegos cromosómicos fuesen portadores de diferentes alelos deletéreos recesivos a frecuencia baja, de modo que la purga prevendría la aportación excesiva de uno de

los dos cromosomas al acervo genético de las generaciones siguientes. Esta situación se traduciría en una cierta protección de la diversidad genética de los loci neutros ligados a loci bajo selección, incluso en ausencia de desequilibrio de ligamiento entre los mismos en la población base. Es interesante notar que la única situación en la que la diversidad genética neutra es superior al valor esperado en un modelo completamente neutro corresponde a purga importante, pero con selección no demasiado intensa (Figura 2.17, que representa H_t/H_0 frente a f_N ; caso con $s = 0,1$, $h = 0$ y $L = 1 M$), lo cual puede permitir la segregación de más alelos deletéreos en la población base, en concordancia con los resultados de Pálsson y Pamilo (1999). Este mecanismo de protección de la diversidad genética también es coherente con los resultados de simulación de Wang y Hill (1999), quienes observaron, en presencia de purga, una reducción en la pérdida de la diversidad genética neutra en líneas de censo reducido obtenidas mediante simulación a partir de poblaciones ancestrales en equilibrio mutación-selección y sin desequilibrio de ligamiento. Estos autores interpretaron dicha reducción en la pérdida de diversidad genética neutra como un subproducto de la aparición de sobredominancia asociativa causada por la construcción de desequilibrio de ligamiento durante la purga.

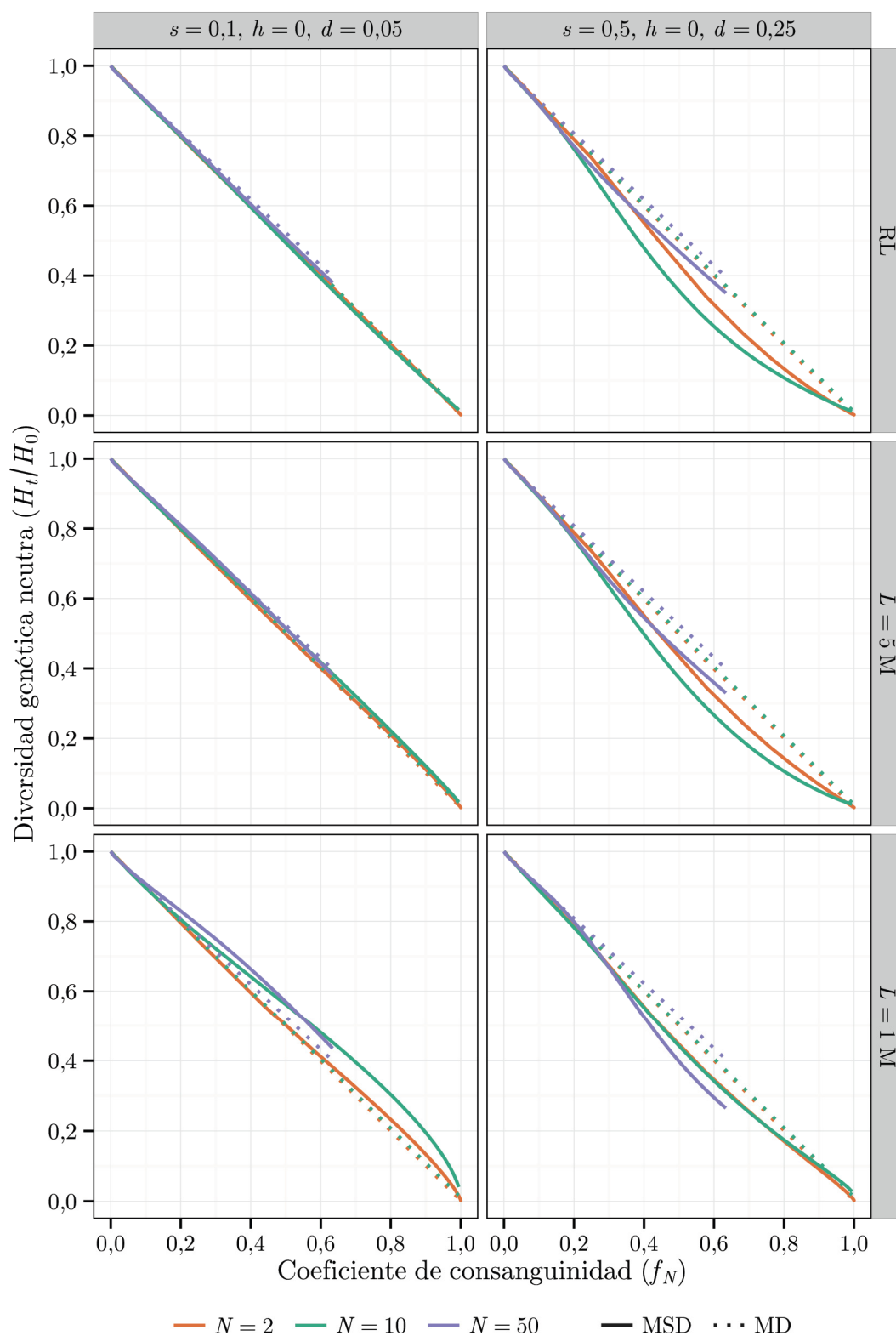


Figura 2.17 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos en algunos estudios experimentales realizados con *D. melanogaster* en los que se ha observado una pérdida de variabilidad genética en loci codificantes de alozimas (Rumball *et al.*, 1994; Latter *et al.*; 1995; Gilligan *et al.*, 2005) y en SNPs localizados en regiones codificantes del genoma (Demontis *et al.*, 2009) más lenta de lo que se esperaría según el modelo neutro. Aunque los autores de estos estudios han considerado la posibilidad de que uno o varios de los marcadores estudiados estuviesen sometidos de forma directa a selección balanceadora, en general han utilizado el argumento de la sobredominancia asociativa para explicar estos resultados. En cualquier caso, estos resultados experimentales ilustran que la demora en la caída de diversidad genética neutra es posible en organismos como *D. melanogaster*, cuya longitud del genoma es relativamente pequeña ($L \approx 2,5$ M en las hembras y $L = 0$ M en los machos; St. Pierre *et al.*, 2014) y cuyo lastre oculto en heterocigosis suele atribuirse a un elevado número de mutaciones recesivas con valores importantes del coeficiente de purga segregando a frecuencias bajas (Crow, 1993; García-Dorado *et al.*, 2004; Amador *et al.*, 2010).

De todos modos, es necesario señalar que resulta muy difícil establecer comparaciones directas entre nuestros resultados y otros resultados empíricos. Por una parte, los casos estudiados en este trabajo tienen el propósito de poner de manifiesto procesos genéricos relacionados con las consecuencias de la purga sobre la pérdida de diversidad genética en poblaciones de censo reducido, para lo cual se han empleado unos parámetros mutacionales que pueden resultar poco realistas. Por otra parte, los experimentos mencionados solo proporcionaban estimas de la diversidad genética para los marcadores estudiados en unas pocas generaciones. Además, salvo en los estudios de Rumball *et al.* (1994) y de Gilligan *et al.* (2005), que empleaban líneas mantenidas por cruzamientos entre hermanos,

en el resto no se registraban las contribuciones de los reproductores a las generaciones futuras, por lo que la pérdida de la diversidad genética solo podía analizarse en comparación con la predicción neutra en función del censo real de reproductores (f_N). Entre estos estudios cabe destacar el realizado por Demontis *et al.* (2009), en el que se observó una menor pérdida de diversidad genética neutra en los tratamientos de consanguinidad lenta ($N = 32$; 19 generaciones) que en aquellos mantenidos con tasas más rápidas ($N = 2$; 1 generación), en aparente contradicción con nuestros resultados de simulación para las líneas de censo más elevado. No obstante, la consanguinidad rápida correspondía a una única generación de apareamientos hermano por hermana, de modo que la purga solo pudo actuar durante la generación de expansión de las líneas que se realizaba antes de proceder a la evaluación de las mismas.

Por otra parte, las discrepancias observadas entre $1 - f_g$ y H_t/H_0 en genomas con $L = 1$ o $5 M$, especialmente cuando la purga es importante (Figura 2.16), ponen de manifiesto que la consanguinidad genealógica no es un buen estimador de la homocigosis esperada para loci neutros ligados a loci sometidos a selección en genomas con ligamiento estrecho. Este resultado está en concordancia con el estudio de simulación de Fernández *et al.* (2000), en el que el mantenimiento de la diversidad genética en regímenes de selección artificial de poblaciones con genomas de longitud corta era más ineficiente cuando se empleaban métodos de gestión basados en los parentescos genealógicos que cuando se utilizaba la información procedente de marcadores moleculares. Así pues, aunque el uso de marcadores moleculares en programas de conservación o de mejora genética tradicionalmente se ha limitado a corregir, completar o reconstruir la información genealógica de las poblaciones mantenidas en cautividad (Toro *et al.*, 2009), su utilidad puede ser más valiosa cuando se consideran genomas o regiones del ge-

noma con baja recombinación. En este sentido, se espera que las técnicas de genotipado masivo puedan aportar información más precisa sobre la diversidad genética en dichas regiones (Toro *et al.*, 2014), lo que podría ayudar a desarrollar estrategias de gestión de poblaciones más sensibles y que combinen el mantenimiento de niveles aceptables de eficacia biológica y de diversidad genética (de Cara *et al.* 2013a, b).

En definitiva, considerando todos estos resultados en conjunto, se pueden obtener algunas conclusiones acerca de las consecuencias de la purga y del ligamiento sobre la expresión del lastre oculto ancestral y sobre la evolución de la diversidad genética neutra en poblaciones de censo reducido.

En lo que refiere al lastre oculto en heterocigosis se puede decir que, si el ligamiento entre loci en los que segregan alelos con elevado coeficiente de purga es estrecho, existe una tendencia a la formación de grupos de deletéreos en fase de acoplamiento que puede inducir un incremento de dicho lastre en poblaciones de censo elevado en equilibrio mutación-selección-deriva. Por otra parte, cuando se produce una reducción del censo de dichas poblaciones, estos complejos de deletéreos en acoplamiento pueden causar un cierto retardo en la expresión del lastre oculto. Además, a pesar de que dichos complejos tienden a incrementar la intensidad de la purga, el ligamiento estrecho reduce el censo efectivo de deriva, mermando la eficiencia de la misma.

Por otra parte, los resultados muestran que, en las condiciones exploradas, el ligamiento entre loci neutros y otros loci en los que segregan alelos deletéreos recesivos no induce ningún incremento de la diversidad genética neutra en poblaciones en equilibrio mutación-selección-deriva de tamaño relativamente elevado, lo cual está de acuerdo con otros resultados teóricos (Nordborg *et al.*, 1996; Santiago y Caballero, 1998; Charlesworth, 2012) y de simulación (Pálsson y Pamilo, 1999).

Ya en trabajos previos se ha descrito la posibilidad de que la selección en contra de alelos deletéreos parcial o totalmente recesivos retrase la pérdida de diversidad genética neutra tras la reducción del censo poblacional. Este fenómeno se ha adjudicado genéricamente a sobredominancia asociativa (Wang y Hill 1999, Wang *et al.*, 1999), pero los mecanismos subyacentes todavía no se conocen bien. Nuestros resultados muestran que, durante el período de mantenimiento con censo reducido, la consanguinidad y la diversidad genética neutra se ven afectadas por la selección natural, que incrementa la varianza de la contribución de gametos de los reproductores. Sin embargo, a diferencia de la selección purificadora estándar, la purga produce menos aumento de la consanguinidad genealógica que lo esperado en función de la varianza de contribución de gametos y, en presencia de ligamiento, produce menos pérdida de diversidad genética neutra que lo esperado en función de las genealogías. Así pues, la protección de la diversidad genética ejercida por la purga tiene lugar a dos niveles. Por una parte, la purga reduce la varianza de las contribuciones de los ancestros a las generaciones futuras, lo que se materializa en una distorsión de las genealogías que conduce a la reducción del correspondiente coeficiente de consanguinidad genealógico. Este fenómeno no es dependiente del ligamiento, excepto por el efecto que tenga sobre la magnitud del lastre oculto en las población base y de la correspondiente intensidad de la purga. Por otra parte, la purga reduce la varianza intraindividual de las contribuciones de las dos dotaciones gaméticas a las generaciones futuras respecto de los loci sometidos a purga. Por tanto, puede reducir la varianza de las contribuciones de las dos dotaciones gaméticas para loci neutros ligados a dichos loci sometidos a purga.

No obstante, los resultados indican que para que la variabilidad genética retenida durante el proceso de purga sea superior a la esperada en ausencia de selección se requieren genomas con ligamiento estrecho. Además, es necesario

cierto compromiso entre los valores de d y de s que permita la presencia de muchos alelos deletéreos recesivos segregando en la población base que sean sometidos posteriormente a purga intensa durante el período de mantenimiento con censo reducido, de modo que gran parte de los loci neutros segregantes estén ligados a loci sometidos a purga.

Queda por dilucidar la repercusión de los fenómenos que acabamos de describir en situaciones reales. En nuestro trabajo, su manifestación se limitaba a casos con un elevado lastre oculto ancestral, purga intensa y genomas con ligamiento estrecho, lo que sugiere que las consecuencias en poblaciones naturales serán modestas. Actualmente estamos iniciando una fase complementaria de este estudio de simulación en la que utilizaremos modelos mutacionales plausibles con el fin de evaluar la magnitud de los fenómenos descritos en condiciones realistas y de comprender mejor los mecanismos subyacentes.

Conclusiones

Las conclusiones que se derivan de los estudios recogidos en los dos capítulos anteriores son las siguientes:

1. Nuestros resultados experimentales, obtenidos a partir de una población recién capturada de *Drosophila melanogaster*, indican que la purga produjo una reducción sustancial de la depresión consanguínea de la viabilidad huevo-pupa en líneas de censo $N = 6$ y $N = 12$.
2. El tratamiento teórico de García-Dorado (2012) permite caracterizar el proceso de purga de forma adecuada. La primera estima experimental disponible del coeficiente efectivo de purga es $d_e \approx 0,1$. Teniendo en cuenta las posibles fuentes de sesgo presentes, las estimas de la intensidad de la purga sugieren valores del coeficiente efectivo de purga atribuible a alelos deletéreos no letales en el rango $0,02 \leq d_{eNL} \leq 0,08$. Estas estimas implican que la purga es una fuerza capaz de frenar o incluso revertir la depresión consanguínea en poblaciones cuyo censo efectivo sea del orden de las decenas.
3. Las simulaciones muestran, en concordancia con la teoría, que la eficiencia de la purga se incrementa cuando la tasa de consanguinidad es lenta y los

coeficientes de purga de los alelos deletéreos responsables del lastre oculto ancestral son considerables. Sin embargo, también revelan que cuando el ligamiento es estrecho, la purga puede resultar más intensa, pero menos eficiente. Por tanto, la purga podría ser más eficiente en organismos con genomas más largos.

4. Al igual que la selección purificadora estándar, la purga incrementa la varianza de la contribución de gametos de los individuos al grupo reproductor de la generación siguiente. Sin embargo, la purga produce una distorsión de las genealogías que tiende a uniformizar la representación de los genes de los ancestros en las generaciones futuras. Además, favorece la contribución equitativa de los dos juegos cromosómicos de cada individuo. Estos efectos pueden proteger, en cierta medida, la diversidad genética de los loci neutros que se encuentren ligados a loci con alelos sobre los que actúe la purga. Sin embargo, los requisitos necesarios para que se produzca este proceso son bastante restrictivos.

5. En las condiciones exploradas en nuestras simulaciones, la pérdida de diversidad genética neutra es mínima en genomas con ligamiento estrecho, con censos del orden de $N = 10$ y con un lastre oculto ancestral elevado atribuible a alelos con coeficientes de purga mayores que 0,05. Estos valores sugieren una posible reducción de la pérdida de diversidad genética neutra atribuible a purga en poblaciones de censo reducido de *D. melanogaster* similares a las empleadas en nuestro experimento, pero son insuficientes para hacer valoraciones más generalizadas.

Bibliografía

- Amador, C., García-Dorado, A., Bersabé, D. y López-Fanjul, C. 2010. Regeneration of the variance of metric traits by spontaneous mutation in a *Drosophila* population. *Genetics Research* 92: 91–102.
- Armbruster, P. y Reed, D.H. 2005. Inbreeding depression in benign and stressful environments. *Heredity* 95: 235–242.
- Ávila, V., Amador, C. y García-Dorado, A. 2010. The purge of genetic load through restricted panmixia in a *Drosophila* experiment. *Journal of Evolutionary Biology* 23: 1937–1946.
- Ballou, J.D. 1997. Ancestral inbreeding only minimally affects inbreeding depression in mammalian populations. *The Journal of Heredity* 88: 169–178.
- Bijlsma, R., Bundgaard, J. y Boerema, A.C. 2000. Does inbreeding affect the extinction risk of small populations?: predictions from *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 502–514.
- Bijlsma, R., Bundgaard, J. y van Putten, W.F. 1999. Environmental dependence of inbreeding depression and purging in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 1125–1137.
- Bittles, A.H. 2005. Genetic aspects of inbreeding and incest. En: *Inbreeding, Incest, and the Incest Taboo: The State of Knowledge at the Turn of the Century* (A.P. Wolf y W.H. Durham, eds.), pp. 38–60. Stanford University Press, Stanford, California.

- Bittles, A.H. y Neel, J. V. 1994. The costs of human inbreeding and their implications for variations at the DNA level. *Nature Genetics* 8: 117–121.
- Boakes, E. y Wang, J. 2005. A simulation study on detecting purging of inbreeding depression in captive populations. *Genetical Research* 86: 139–148.
- Boakes, E.H., Wang, J. y Amos, W. 2007. An investigation of inbreeding depression and purging in captive pedigreed populations. *Heredity* 98: 172–182.
- Bryant, E.H., Meffert, L.M. y McCommas, S.A. 1990. Fitness rebound in serially bottlenecked populations of the house fly. *The American Naturalist* 136: 542–549.
- Byers, D.L. y Waller, D.M. 1999. Do plant populations purge their genetic load? Effects of population size and mating history on inbreeding depression. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30: 479–513.
- Caballero, A. y García-Dorado, A. 2013. Allelic diversity and its implications for the rate of adaptation. *Genetics* 195: 1373–1384.
- Canty, A. y Ripley, B. 2014. *boot*: Bootstrap R (S-Plus) functions. Versión 1.3-11.
- de Cara, M.A.R., Villanueva, B., Toro, M.A. y Fernández, J. 2013a. Purging deleterious mutations in conservation programmes: combining optimal contributions with inbred matings. *Heredity* 110: 530–537.
- de Cara, M.A.R., Villanueva, B., Toro, M.A. y Fernández, J. 2013b. Using genomic tools to maintain diversity and fitness in conservation programmes. *Molecular Ecology* 22: 6091–6099.
- Cavalli-Sforza, L.L., Menozzi, P. y Piazza, A. 1994. *The History and Geography of Human Genes*. Princeton University Press, Princeton, Nueva Jersey.
- Ceballos, F.C. y Álvarez, G. 2013. Royal dynasties as human inbreeding laboratories: the Habsburgs. *Heredity* 111: 114–121.
- Charlesworth, B. 2012. The effects of deleterious mutations on evolution at linked sites. *Genetics* 190: 5–22.
- Charlesworth, D. y Charlesworth, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237–268.

- Charlesworth, D. y Willis, J.H. 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics* 10: 783–796.
- Crnokrak, P. y Barrett, S.C.H. 2002. Purging the genetic load: a review of the experimental evidence. *Evolution* 56: 2347–2358.
- Crnokrak, P. y Roff, D.A. 1999. Inbreeding depression in the wild. *Heredity* 83: 260–270.
- Crow, J.F. 1993. Mutation, mean fitness, and genetic load. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* 9: 3–42.
- Crow, J.F. 2008. Mid-century controversies in population genetics. *Annual Review of Genetics* 42: 1–16.
- Crow, J.F. y Kimura, M. 1970. *An Introduction to Population Genetics Theory*. Harper and Row, Nueva York.
- Darwin, C. 1876. *The Effects of Cross and Self Fertilization in the Vegetable Kingdom*. John Murray, Londres.
- Davenport, C.B. 1908. Degeneration, albinism and inbreeding. *Science* 28: 454–455.
- Day, S.B., Bryant, E.H. y Meffert, L.M. 2003. The influence of variable rates of inbreeding on fitness, environmental responsiveness, and evolutionary potential. *Evolution* 57: 1314–1324.
- Deák, P., Omar, M.M., Saunders, R.D.C., Pál, M., Komonyi, O., Szidonya, J., *et al.* 1997. P-element insertion alleles of essential genes on the third chromosome of *Drosophila melanogaster*: correlation of physical and cytogenetic maps in chromosomal region 86E-87F. *Genetics* 147: 1697–1722.
- Demontis, D., Pertoldi, C., Loeschcke, V., Mikkelsen, K., Axelsson, T. y Kristensen, T.N. 2009. Efficiency of selection, as measured by single nucleotide polymorphism variation, is dependent on inbreeding rate in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Ecology* 18: 4551–4563.
- DeRose, M.A. y Roff, D.A. 1999. A comparison of inbreeding depression in life-history and morphological traits in animals. *Evolution* 53: 1288–1292.
- Eanes, W.F., Hey, J. y Houle, D. 1985. Homozygous and hemizygous viability variation on the X chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 111: 831–844.

- East, E.M. 1908. Inbreeding in corn. Reports of the Connecticut Agricultural Experiments Station for 1907: 419–428.
- Ehiobu, N.G., Goddard, M.E. y Taylor, J.F. 1989. Effect of rate of inbreeding on inbreeding depression in *Drosophila melanogaster*. Theoretical and Applied Genetics 77: 123–127.
- Emik, L.O. y Terrill, C.E. 1949. Systematic procedures for calculating inbreeding coefficients. The Journal of Heredity 40: 51–55.
- Eyre-Walker, A. y Keightley, P.D. 2007. The distribution of fitness effects of new mutations. Nature Reviews Genetics 8: 610–618.
- Falconer, D.S. y Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, 4^a edn. Longman, Harlow, Essex.
- Fernández, B., Santiago, E., Toro, M.A. y Caballero, A. 2000. Effect of linkage on the control of inbreeding in selection programmes. Genetics Selection Evolution 32: 249–264.
- Fernández, J. y Caballero, A. 2001. Accumulation of deleterious mutations and equalization of parental contributions in the conservation of genetic resources. Heredity 86: 480–488.
- Fox, C.W. y Reed, D.H. 2011. Inbreeding depression increases with environmental stress: an experimental study and meta-analysis. Evolution 65: 246–258.
- Fox, C.W., Scheibly, K.L. y Reed, D.H. 2008. Experimental evolution of the genetic load and its implications for the genetic basis of inbreeding depression. Evolution 62: 2236–2249.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. Biological Conservation 126: 131–140.
- Frankham, R., Ballou, J.D. y Briscoe, D.A. 2010. *Introduction to Conservation Genetics*, 2^a edn. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fu, Y.B. 1999. Patterns of the purging of deleterious genes with synergistic interactions in different breeding schemes. Theoretical and Applied Genetics 98: 337–346.
- Fu, Y.B., Namkoong, G. y Carlson, J.E. 1998. Comparison of breeding strategies for purging inbreeding depression via simulation. Conservation Biology 12: 856–864.

- García, N., López-Fanjul, C. y García-Dorado, A. 1994. The genetics of viability in *Drosophila melanogaster*: effects of inbreeding and artificial selection. *Evolution* 48: 1277–1285.
- García-Dorado, A. 2003. Tolerant versus sensitive genomes: the impact of deleterious mutation on fitness and conservation. *Conservation Genetics* 4: 311–324.
- García-Dorado, A. 2007. Shortcut predictions for fitness properties at the mutation-selection-drift balance and for its buildup after size reduction under different management strategies. *Genetics* 176: 983–997.
- García-Dorado, A. 2008. A simple method to account for natural selection when predicting inbreeding depression. *Genetics* 180: 1559–1966.
- García-Dorado, A. 2012. Understanding and predicting the fitness decline of shrunk populations: inbreeding, purging, mutation, and standard selection. *Genetics* 190: 1461–1476.
- García-Dorado, A., López-Fanjul, C. y Caballero, A. 2004. Rates and effects of deleterious mutations and their evolutionary consequences. En: *Evolution: From Molecules to Ecosystems* (A. Moya y E. Font, eds.), pp. 20–32. Oxford University Press, Oxford.
- Gilligan, D.M., Briscoe, D.A. y Frankham, R. 2005. Comparative losses of quantitative and molecular genetic variation in finite populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetical Research* 85: 47–55.
- Glémin, S. 2003. How are deleterious mutations purged? Drift versus nonrandom mating. *Evolution* 57: 2678–2687.
- Goodwillie, C., Kalisz, S. y Eckert, C.G. 2005. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 47–79.
- Gulisija, D. y Crow, J.F. 2007. Inferring purging from pedigree data. *Evolution* 61: 1043–1051.
- Gutiérrez, J.P. y Goyache, F. 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122: 172–176.

- Haldane, J.B.S. 1919. The combination of linkage values and the calculation of distances between the loci of linked factors. *Journal of Genetics* 8: 299–309.
- Hedrick, P.W. 1994. Purging inbreeding depression and the probability of extinction: full-sib mating. *Heredity* 73: 363–372.
- Hedrick, P.W. 2012. What is the evidence for heterozygote advantage selection? *Trends in Ecology and Evolution* 27: 698–704.
- Hedrick, P.W. y Kalinowski, S.T. 2000. Inbreeding depression in conservation biology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 139–162.
- Hill, W.G. y Robertson, A. 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. *Theoretical and Applied Genetics* 38: 226–231.
- Holm, S. 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* 6: 65–70.
- Husband, B.C. y Schemske, D.W. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution* 50: 54–70.
- Kalinowski, S.T., Hedrick, P.W. y Miller, P.S. 2000. Inbreeding depression in the Speke's gazelle captive breeding program. *Conservation Biology* 14: 1375–1384.
- Keller, L.F. y Waller, D.M. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 230–241.
- Kennedy, E.S., Grueber, C.E., Duncan, R.P. y Jamieson, I.G. 2014. Severe inbreeding depression and no evidence of purging in an extremely inbred wild species—the Chatham Island black robin. *Evolution* 68: 987–995.
- Kimura, M., Maruyama, T y Crow, J.F. 1963. The mutation load in small populations. *Genetics* 48: 1303–1312.
- Knight, T.A. 1799. An account of some experiments on the fecundation of vegetables. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 89: 195–204.
- Kristensen, T.N., Knudsen, M.R. y Loeschcke, V. 2011. Slow inbred lines of *Drosophila melanogaster* express as much inbreeding depression as fast inbred lines under semi-natural conditions. *Genetica* 139: 441–451.

- Kusakabe, S. y Mukai, T. 1984. The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. XVII. A population carrying genetic variability explicable by the classical hypothesis. *Genetics* 108: 393–408.
- Kusakabe, S., Yamaguchi, Y., Baba, H. y Mukai, T. 2000. The genetic structure of the Raleigh natural population of *Drosophila melanogaster* revisited. *Genetics* 154: 679–685.
- Larsen, L.-K., Pélabon, C., Bolstad, G.H., Viken, Å., Fleming, I.A. y Rosenqvist, G. 2011. Temporal change in inbreeding depression in life-history traits in captive populations of guppy (*Poecilia reticulata*): evidence for purging? *Journal of Evolutionary Biology* 24: 823–834.
- Latter, B.D.H., Mulley, J.C., Reid, D. y Pascoe, L. 1995. Reduced genetic load revealed by slow inbreeding in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 139: 287–297.
- Leberg, P.L. y Firmin, B.D. 2008. Role of inbreeding depression and purging in captive breeding and restoration programmes. *Molecular Ecology* 17: 334–343.
- Leroy, G. 2014. Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. *Animal Genetics* 45: 618–628.
- Lewontin, R.C. y Kojima, K. 1960. The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. *Evolution* 14: 458–472.
- López-Fanjul, C. y Villaverde, Á. 1989. Inbreeding increases genetic variance for viability in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 43: 1800–1804.
- López-Fanjul, C., Fernández, A y Toro, M. A. 2002. The effect of epistasis on the excess of the additive and non-additive variances after population bottlenecks. *Evolution* 56: 865–876.
- Lynch, M., Conery, J. y Bürger, R. 1995. Mutation accumulation and the extinction of small populations. *The American Naturalist* 146: 489–518.
- Lynch, M. y Walsh, B. 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

- Mallet, M.A. y Chippindale, A.K. 2011. Inbreeding reveals stronger net selection on *Drosophila melanogaster* males: implications for mutation load and the fitness of sexual females. *Heredity* 106: 994–1002.
- Mc Parland, S., Kearney, F. y Berry, D.P. 2009. Purging of inbreeding depression within the Irish Holstein-Friesian population. *Genetics Selection Evolution* 41: 16.
- Mikkelsen, K., Loeschcke, V. y Kristensen, T.N. 2010. Trait specific consequences of fast and slow inbreeding: lessons from captive populations of *Drosophila melanogaster*. *Conservation Genetics* 11: 479–488.
- Miller, P.S. y Hedrick, P.W. 2001. Purging of inbreeding depression and fitness decline in bottlenecked populations of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* 14: 595–601.
- Morton, N.E., Crow, J.F. y Muller, H.J. 1956. An estimate of the mutational damage in man from data on consanguineous marriages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 42: 855–863.
- Mukai, T. y Nagano, S. 1983. The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. XVI. Excess of additive genetic variance of viability. *Genetics* 105: 115–134.
- Mukai, T. y Yamaguchi, O. 1974. The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. XI. Genetic variability in a local population. *Genetics* 76: 339–366.
- Nei, M. y Murata, M. 1966. Effective population size when fertility is inherited. *Genetical Research* 8: 257–260.
- Nordborg, M., Charlesworth, B. y Charlesworth, D. 1996. The effect of recombination on background selection. *Genetical Research* 67: 159–174.
- Ohta, T. 1971. Associative overdominance caused by linked detrimental mutations. *Genetical Research* 18: 277–286.
- Pálsson, S. y Pamilo, P. 1999. The effects of deleterious mutations on linked, neutral variation in small populations. *Genetics* 153: 475–483.

- Pedersen, K.S., Kristensen, T.N. y Loeschcke, V. 2005. Effects of inbreeding and rate of inbreeding in *Drosophila melanogaster*—Hsp70 expression and fitness. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 756–762.
- Pekkala, N., Knott, K.E., Kotiaho, J.S. y Puurtinen, M. 2012. Inbreeding rate modifies the dynamics of genetic load in small populations. *Ecology and Evolution* 2: 1791–1804.
- Pekkala, N., Knott, K.E., Kotiaho, J.S., Nissinen, K. y Puurtinen, M. 2014. The effect of inbreeding rate on fitness, inbreeding depression and heterosis over a range of inbreeding coefficients. *Evolutionary Applications* 7: 1107–1119.
- Pérez-Figueroa, A., Caballero, A., García-Dorado, A. y López-Fanjul, C. 2009. The action of purifying selection, mutation and drift on fitness epistatic systems. *Genetics* 183: 299–313.
- Perrimon, N., Engstromt, L. y Mahowald, A.P. 1989. Zygotic lethals with specific maternal effect phenotypes in *Drosophila melanogaster*. I. Loci on the X chromosome. *Genetics* 121: 333–352.
- R Core Team. 2014. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria.
- Ralls, K., Ballou, J.D. y Templeton, A. 1988. Estimates of lethal equivalents and the cost of inbreeding in mammals. *Conservation Biology* 2: 185–193.
- Reed, D.H. y Bryant, E.H. 2001. Fitness, genetic load and purging in experimental populations of the housefly. *Conservation Genetics* 2: 57–62.
- Reed, D.H., Lowe, E.H., Briscoe, D.A. y Frankham, R. 2003. Inbreeding and extinction: effects of rate of inbreeding. *Conservation Genetics* 4: 405–410.
- Ripoll, P. 1977. Behavior of somatic cells homozygous for zygotic lethals in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 86: 357–376.
- Robertson, A. 1961. Inbreeding in artificial selection programmes. *Genetical Research* 89: 275–280.

- Rodrigáñez, J., Toro, M.A., Rodríguez, M.C. y Silió, L. 1998. Effect of founder allele survival and inbreeding depression on litter size in a closed line of Large White pigs. *Animal Science* 67: 573–582.
- Rodríguez-Ramilo, S.T., Morán, P. y Caballero, A. 2006. Relaxation of selection with equalization of parental contributions in conservation programs: an experimental test with *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 172: 1043–1054.
- Rosa, J.M., Camacho, S. y García-Dorado, A. 2005. A measure of the within-chromosome synergistic epistasis for *Drosophila* viability. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 1130–1137.
- Rumball, W., Franklin, I.R., Frankham, R. y Sheldon, B.L. 1994. Decline in heterozygosity under full-sib and double first-cousin inbreeding in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 136: 1039–1049.
- Saccheri, I.J., Brakefield, P.M. y Nichols, R.A. 1996. Severe inbreeding depression and rapid fitness rebound in the butterfly *Bicyclus anynana* (Satyridae). *Evolution* 50: 2000–2013.
- Sánchez-Molano, E. y García-Dorado, A. 2011. The consequences on fitness of equating family contributions: inferences from a *Drosophila* experiment. *Conservation Genetics* 12: 343–353.
- Santiago, E. y Caballero, A. 1995. Effective size of populations under selection. *Genetics* 139: 1013–1030.
- Santiago, E. y Caballero, A. 1998. Effective size and polymorphism of linked neutral loci in populations under directional selection. *Genetics* 149: 2105–2117.
- Shearn, A., Rice, T., Garen, A. y Gehring, W. 1971. Imaginal disc abnormalities in lethal mutants of *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 68: 2594–2598.
- Shull, G.H. 1908. The composition of a field of maize. *Reports of the American Breeders Association*: 296–301.

- Silió, L., Rodríguez, M.C., Fernández, A., Barragán, C., Benítez, R., Óvilo, C. y Fernández, A.I. 2013. Measuring inbreeding and inbreeding depression on pig growth from pedigree or SNP-derived metrics. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 130: 349–360.
- Simmons, M.J. y Crow, J.F. 1977. Mutations affecting fitness in *Drosophila* populations. *Annual Review of Genetics* 11: 49–78.
- St. Pierre, S.E., Ponting, L., Stefancsik, R. y McQuilton, P. 2014. FlyBase 102—advanced approaches to interrogating FlyBase. *Nucleic Acids Research* 42: D780–D788.
- Swindell, W.R. y Bouzat, J.L. 2006a. Ancestral inbreeding reduces the magnitude of inbreeding depression in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 60: 762–767.
- Swindell, W.R. y Bouzat, J.L. 2006b. Reduced inbreeding depression due to historical inbreeding in *Drosophila melanogaster*: evidence for purging. *Journal of Evolutionary Biology* 19: 1257–1264.
- Swindell, W.R. y Bouzat, J.L. 2006c. Selection and inbreeding depression: effects of inbreeding rate and inbreeding environment. *Evolution* 60: 1014–1022.
- Szulkin, M., Stopher, K. V, Pemberton, J.M. y Reid, J.M. 2013. Inbreeding avoidance, tolerance, or preference in animals? *Trends in Ecology and Evolution* 28: 205–211.
- Temin, R.G., Meyer, H.U., Dawson, P.S. y Crow, J.F. 1969. The influence of epistasis on homozygous viability depression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 61: 497–519.
- Templeton, A.R. y Read, B. 1984. Factors eliminating inbreeding depression in a captive herd of Speke's gazelle (*Gazella spekei*). *Zoo Biology* 3: 177–199.
- Toro, M.A., Fernández, J. y Caballero, A. 2009. Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science* 166: 48–53.
- Toro, M.A., Villanueva, B. y Fernández, J. 2014. Genomics applied to management strategies in conservation programmes. *Livestock Science* 120: 174–195.
- Török, T., Tick, G., Alvarado, M. y Kiss, I. 1993. *P-lacW* insertional mutagenesis on the second chromosome of *Drosophila melanogaster*: isolation of lethals with different overgrowth phenotypes. *Genetics* 135: 71–80.

- Wang, J. 2000. Effects of population structures and selection strategies on the purging of inbreeding depression due to deleterious mutations. *Genetical Research* 76: 75–86.
- Wang, J. y Hill, W.G. 1999. Effect of selection against deleterious mutations on the decline in heterozygosity at neutral loci in closely inbreeding populations. *Genetics* 153: 1475–1489.
- Wang, J., Hill, W.G., Charlesworth, D. y Charlesworth, B. 1999. Dynamics of inbreeding depression due to deleterious mutations in small populations: mutation parameters and inbreeding rate. *Genetical Research* 74: 165–178.
- Welch, B.L. 1947. The generalization of “Student’s” problem when several different population variances are involved. *Biometrika* 34: 28–35.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97–159.

Apéndice 1

En este apéndice se presentan resultados adicionales correspondientes al Capítulo 1: Estimación del coeficiente efectivo de purga en una población silvestre de *Drosophila melanogaster*.

Las Tablas A1.1 y A1.2 recogen las estimas del censo efectivo obtenidas a partir de las varianzas de las contribuciones familiares en cada una de las líneas empleadas a lo largo del experimento de reducción del censo. Estas estimas se calcularon aplicando la Ecuación 1.9 con los datos disponibles en cada generación de mantenimiento.

Las Tablas A1.3 y A1.4 recogen las estimas de la media de la viabilidad huevo-pupa en cada línea experimental y en cada línea control en las cuatro evaluaciones realizadas durante el experimento de reducción del censo.

Tabla A1.1 Estimaciones del censo efectivo en las líneas de censo $N = 6$ obtenidas a partir de las varianzas de las contribuciones familiares.

Generación	Línea														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0	8,25	11,00	5,50	8,25	8,25	8,25	8,25	5,50	11,00	8,57	11,00	4,71	8,25	5,50	8,25
1	8,25	11,00	11,00	11,00	8,25	8,25	4,71	5,50	5,50	8,25	5,50	8,25	8,25	3,30	11,00
2	4,71	8,25	3,30	8,25	8,25	5,50	8,25	5,50	5,50	8,25	5,50	8,25	8,25	8,25	8,25
3	4,71	8,25	EXT	4,71	8,25	8,25	4,71	4,71	3,30	11,00	4,71	5,50	5,50	11,00	8,25
4	5,50	8,25	EXT	5,50	8,25	11,00	8,25	4,71	4,71	8,25	4,71	3,30	8,25	8,25	4,71
5	4,71	4,71	EXT	4,71	5,50	3,30	8,25	5,50	2,20	8,25	8,25	2,20	8,25	4,71	8,25
6	5,50	4,71	EXT	8,25	8,25	4,71	4,71	11,00	8,25	11,00	5,50	8,25	4,71	8,25	3,30
7	4,71	8,25	EXT	8,25	4,71	11,00	8,25	2,20	8,25	8,25	11,00	4,71	8,25	8,25	11,00
8	11,00	2,20	EXT	2,20	5,50	4,71	8,25	EXT	EXT	11,00	11,00	5,50	8,25	4,71	3,30
9	11,00	4,71	EXT	5,50	5,50	5,50	5,50	EXT	EXT	5,50	5,50	2,20	11,00	5,50	8,25
10	8,25	4,71	EXT	4,71	8,25	8,25	3,30	EXT	EXT	8,25	8,25	8,25	5,50	3,30	4,71
11	4,71	8,25	EXT	8,25	8,25	5,50	4,71	EXT	EXT	5,50	8,25	2,20	8,25	8,25	8,25
12	5,50	8,25	EXT	3,30	8,25	8,25	5,50	EXT	EXT	EXT	8,25	5,50	8,25	4,71	8,25
13	3,30	2,20	EXT	11,00	8,25	8,25	8,25	EXT	EXT	EXT	4,71	3,30	5,50	8,25	8,25
14	8,25	5,50	EXT	EXT	8,25	8,25	3,30	EXT	EXT	EXT	4,71	2,20	8,25	4,71	3,30
Promedio	6,56	6,68	6,60	6,71	7,46	7,27	6,28	5,58	6,09	8,51	7,12	4,96	7,65	6,46	7,16

EXT: línea extinta.

Tabla A1.1 (cont.) Estimaciones del censo efectivo en las líneas de censo $N = 6$ obtenidas a partir de las varianzas de las contribuciones familiares.

Generación	Línea														
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
0	8,25	8,25	5,50	8,25	5,50	8,25	5,50	3,30	8,25	8,25	8,25	11,00	4,71	8,25	8,25
1	8,25	3,30	5,50	8,25	5,50	3,30	8,25	5,50	5,50	4,71	8,25	11,00	8,25	5,50	8,25
2	8,25	11,00	4,71	8,25	8,25	3,30	3,30	4,71	8,25	5,50	4,71	8,25	5,50	4,71	8,25
3	4,71	4,71	5,50	4,71	11,00	8,25	5,50	5,50	4,71	4,71	5,50	5,50	5,50	4,71	5,50
4	8,25	3,30	2,20	5,50	5,50	3,30	8,25	11,00	11,00	5,50	8,25	4,71	8,25	4,71	4,71
5	5,50	8,25	3,30	5,50	3,30	5,50	5,50	4,71	3,30	EXT	2,20	4,71	4,71	4,71	5,50
6	8,25	8,25	4,71	8,25	8,25	3,30	8,25	5,50	5,50	EXT	5,50	5,50	4,71	4,71	11,00
7	5,50	2,20	2,20	11,00	3,30	5,50	8,25	4,71	4,71	EXT	5,50	2,20	4,71	8,25	5,50
8	8,25	5,50	4,71	4,71	3,30	11,00	8,25	4,71	5,50	EXT	8,25	5,50	4,71	8,25	4,71
9	8,25	5,50	2,20	8,25	4,71	8,25	4,71	4,71	EXT	EXT	3,30	8,25	5,50	2,20	8,25
10	8,25	4,71	EXT	5,50	8,25	5,50	4,71	8,25	EXT	EXT	7,00	2,20	5,50	11,00	8,25
11	8,25	8,25	EXT	8,25	2,20	2,20	8,25	2,20	EXT	EXT	9,00	8,25	8,25	5,50	8,25
12	8,25	4,71	EXT	5,50	4,71	4,71	8,25	4,71	EXT	EXT	8,25	8,25	5,50	4,71	5,50
13	8,25	5,50	EXT	4,71	4,71	8,25	5,50	2,20	EXT	EXT	4,71	EXT	5,50	8,25	3,30
14	8,25	5,50	EXT	11,00	5,50	8,25	8,25	8,25	EXT	EXT	8,25	EXT	5,50	5,50	4,71
Promedio	7,65	5,93	4,05	7,18	5,60	5,92	6,72	5,33	6,30	5,74	6,46	6,56	5,79	6,07	6,66

EXT: línea extinta.

Promedio global en el conjunto de las 30 líneas: $6,44 \pm 0,16$.

Tabla A1.2 Estimaciones del censo efectivo en las líneas de censo $N = 12$ obtenidas a partir de las varianzas de las contribuciones familiares.

Generación	Línea														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0	19,71	9,86	12,55	13,80	13,80	17,25	19,71	12,55	11,50	17,25	17,25	12,55	11,50	17,25	17,25
1	9,86	13,80	13,80	15,33	15,33	9,86	9,86	12,55	12,55	15,33	17,25	7,26	13,80	12,55	13,80
2	12,55	17,25	8,12	12,55	11,50	12,55	17,25	15,33	12,55	10,62	13,80	12,55	13,80	12,55	15,33
3	7,67	10,62	7,67	10,62	15,33	15,33	9,86	15,33	13,80	19,71	19,71	9,86	12,55	19,71	12,55
4	10,62	15,33	19,71	11,50	9,86	10,62	12,55	13,80	8,12	17,25	19,71	12,55	19,71	7,26	9,86
5	13,80	13,80	13,80	13,80	12,55	8,63	17,25	10,62	13,80	23,00	7,26	13,80	10,62	12,55	13,80
6	11,50	9,20	19,71	11,50	10,62	8,12	12,55	15,33	9,86	11,50	9,86	15,33	17,25	8,12	7,67
7	19,71	13,80	12,55	4,76	11,50	4,76	13,80	15,33	10,62	11,50	9,86	12,55	9,86	9,86	6,00
8	13,80	6,90	13,80	10,62	9,86	19,71	19,71	10,62	12,55	11,50	9,20	5,75	11,50	8,12	9,20
9	7,26	9,86	9,86	17,25	11,50	8,63	10,62	13,80	6,57	9,86	17,25	13,80	15,33	12,55	15,33
10	12,55	9,86	5,52	11,50	10,62	10,62	10,62	11,50	11,50	12,00	13,80	9,20	8,12	10,62	15,33
11	15,33	8,12	6,27	8,12	17,25	7,26	7,26	12,55	9,20	17,25	6,57	8,12	7,26	17,25	9,86
12	12,55	12,55	12,55	8,12	13,80	8,12	9,20	9,20	7,26	9,86	11,50	10,62	9,20	12,55	13,80
13	12,55	9,86	10,62	8,12	15,33	7,26	13,80	12,55	9,86	10,62	9,20	9,20	12,55	4,06	5,11
14	7,26	6,27	13,80	3,73	15,33	10,62	8,12	12,55	19,71	12,55	10,62	17,25	12,55	11,50	2,51
15	11,50	10,62	7,67	6,00	12,55	11,50	11,50	10,62	13,80	9,86	9,86	12,55	9,86	8,12	5,11
16	9,86	19,71	9,86	8,12	13,80	13,80	13,80	8,63	19,71	8,12	15,33	10,62	12,55	8,12	15,33
17	11,50	19,71	11,50	15,33	9,86	8,12	13,80	15,33	12,55	7,26	13,80	19,71	5,11	15,33	17,25
18	8,63	11,50	9,86	17,25	9,86	8,12	9,20	6,00	13,80	15,33	17,25	13,80	4,60	6,57	13,80
19	19,71	8,63	9,20	12,55	8,63	13,80	13,80	13,80	11,50	10,62	8,63	15,33	13,80	6,27	11,50
Promedio	12,40	11,86	11,42	11,03	12,44	10,73	12,71	12,40	12,04	13,05	12,89	12,12	11,58	11,04	11,52

Promedio global en el conjunto de las 15 líneas: $11,95 \pm 0,18$.

Tabla A1.3 Estimaciones de la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo $N = 6$ y en las respectivas líneas control en las evaluaciones realizadas en la generación $t = 6$ y en la generación $t = 15$.

Línea	Medias en evaluación $t = 6$		Medias en evaluación $t = 15$	
	Consanguinidad	Control	Consanguinidad	Control
1	0,538	0,844	0,426	0,955
2	0,388	0,932	0,437	0,913
3	EXT	—	EXT	—
4	0,636	0,883	EXT	—
5	0,819	0,608	0,800	0,858
6	0,803	0,928	0,642	0,782
7	0,771	0,964	0,547	0,952
8	0,309	0,905	EXT	—
9	0,428	0,464	EXT	—
10	0,638	0,979	EXT	—
11	0,259	0,817	0,529	0,850
12	0,375	0,971	0,125	0,912
13	0,928	0,892	0,706	0,882
14	0,711	0,896	0,711	0,897
15	0,546	0,953	0,311	0,924
16	0,704	0,883	0,568	0,903
17	0,512	0,947	0,602	0,836
18	0,523	0,817	EXT	—
19	0,662	0,839	0,307	0,818
20	0,636	0,897	0,097	0,849
21	0,849	0,830	0,591	0,747
22	0,632	0,925	0,238	0,756
23	0,605	0,831	0,367	0,868
24	0,455	0,933	EXT	—
25	EXT	—	EXT	—
26	0,200	0,864	0,234	0,732
27	0,576	0,881	EXT	—
28	0,549	0,950	0,000	0,409
29	0,578	0,983	0,285	0,842
30	0,563	0,867	0,360	0,793
Promedio	0,574 ± 0,034	0,875 ± 0,021	0,445 ± 0,043	0,836 ± 0,026

EXT: línea extinta; —: línea control no disponible como consecuencia de la extinción de líneas.

Tabla A1.4 Estimaciones de la media de la viabilidad huevo-pupa en las líneas de censo $N = 12$ y en las respectivas líneas control en las evaluaciones realizadas en la generación $t = 11$ y en la generación $t = 20$.

Línea	Medias en evaluación $t = 11$		Medias en evaluación $t = 20$	
	Consanguinidad	Control	Consanguinidad	Control
1	0,734	0,898	0,685	0,846
2	0,455	0,915	0,613	0,837
3	0,694	0,911	0,476	0,871
4	0,652	0,724	0,540	0,870
5	0,534	0,848	0,530	0,908
6	0,450	0,737	0,576	0,756
7	0,377	0,801	0,495	0,820
8	0,560	0,763	0,550	0,644
9	0,105	0,870	0,598	0,822
10	0,533	0,849	0,184	0,782
11	0,686	0,841	0,407	0,828
12	0,667	0,780	0,478	0,743
13	0,695	0,854	0,164	0,844
14	0,498	0,759	0,240	0,824
15	0,603	0,838	0,432	0,789
Promedio	$0,552 \pm 0,036$	$0,823 \pm 0,018$	$0,464 \pm 0,039$	$0,812 \pm 0,016$

Apéndice 2

En este apéndice se presentan resultados adicionales correspondientes al Capítulo 2: Estudio de las consecuencias de la purga sobre la pérdida de diversidad genética neutra en poblaciones de censo reducido.

En las Figuras A2.1–A2.3 se representa la evolución de la varianza aditiva dentro de líneas (V_a) frente al coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$), acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) o acción génica completamente recesiva ($h = 0$), respectivamente. Las Figuras A2.4–A2.6 representan, de forma análoga, la varianza dominante dentro de líneas (V_d) frente a la consanguinidad genealógica (f_g). Dichas varianzas se calcularon utilizando las Ecuaciones 8.3 y 8.4 en Falconer y Mackay (1996).

En las Figuras A2.7–A2.9 se representa el coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) frente al coeficiente de consanguinidad calculado en función del censo de reproductores (f_N) para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$), acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) o acción génica totalmente recesiva ($h = 0$), respectivamente.

Las Figuras A2.10–A2.17 muestran los resultados obtenidos para los diferentes parámetros evaluados en las líneas de censo reducido en los casos simulados con una longitud de genoma $L = 10$ M.

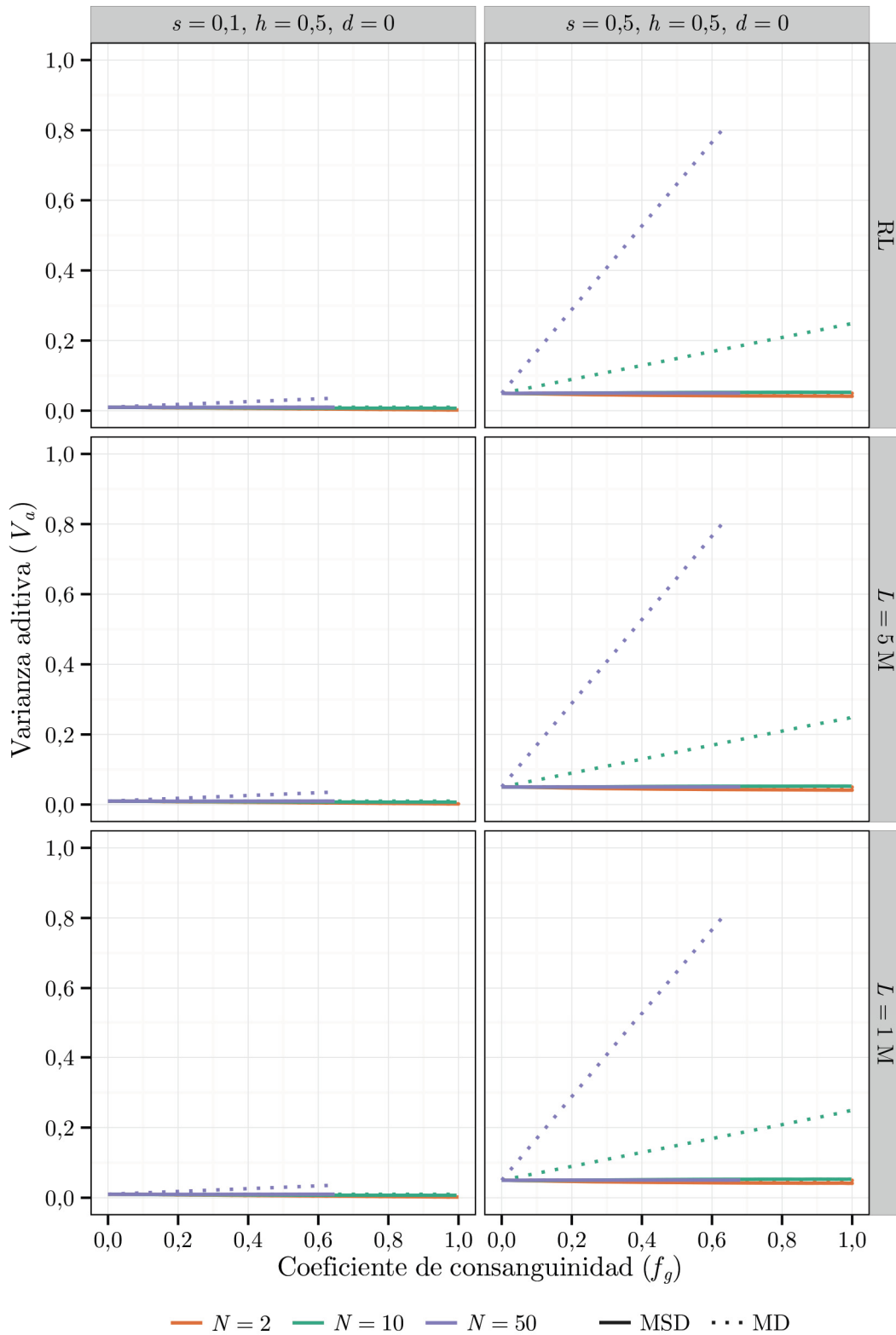


Figura A2.1 Representación de la media por generación de la varianza aditiva de la eficacia biológica (V_a) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

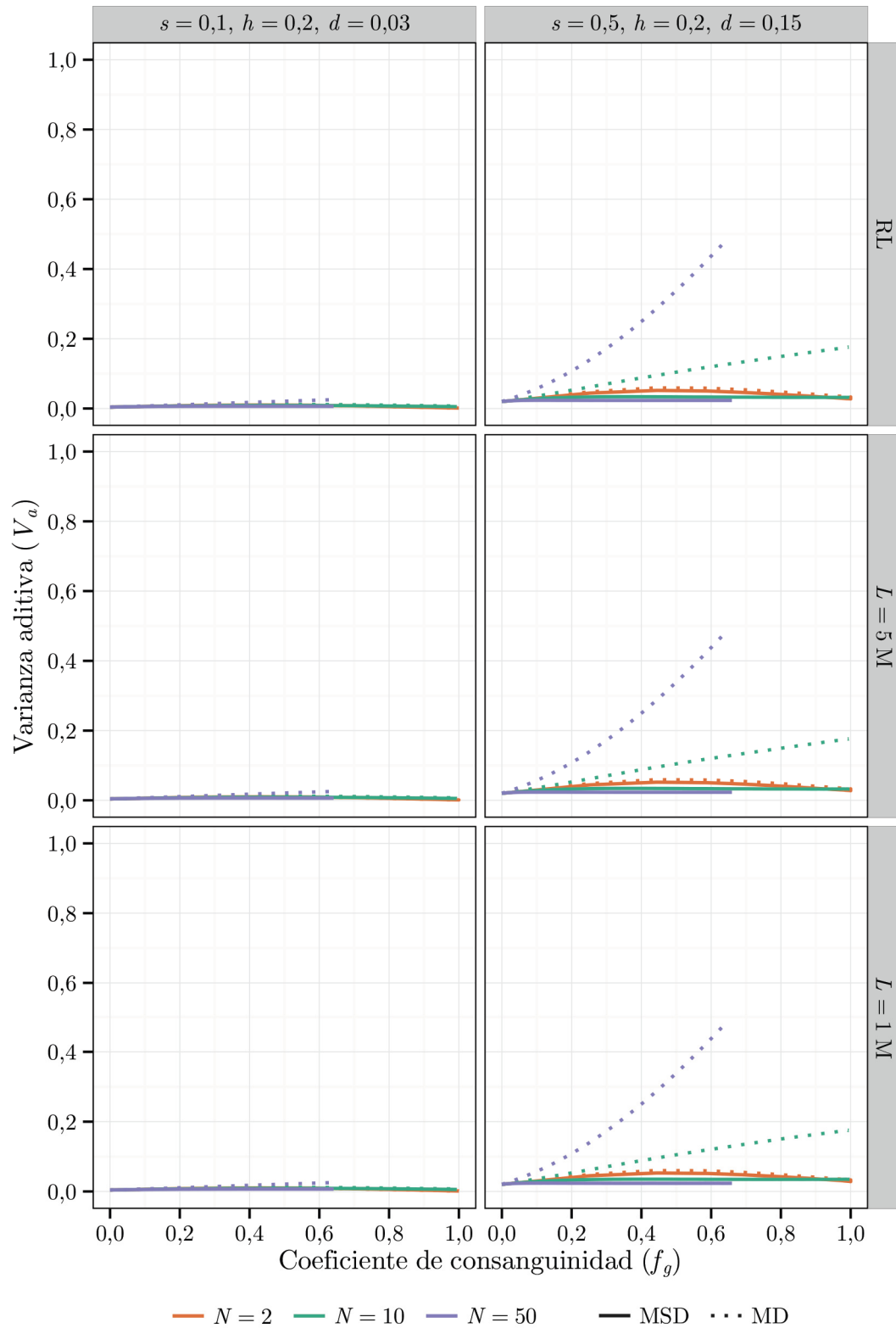


Figura A2.2 Representación de la media por generación de la varianza aditiva de la eficacia biológica (V_a) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

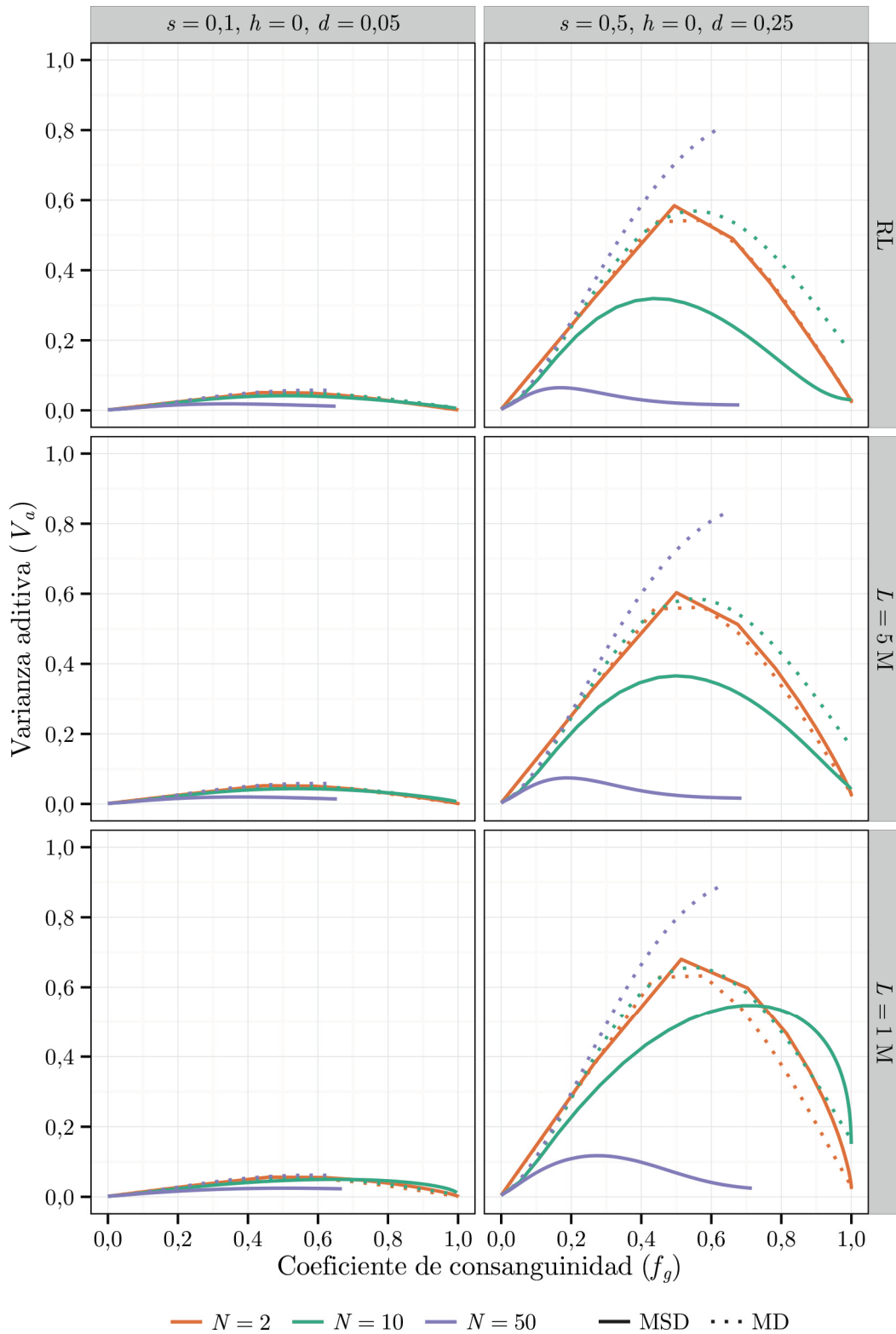


Figura A2.3 Representación de la media por generación de la varianza aditiva de la eficacia biológica (V_a) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

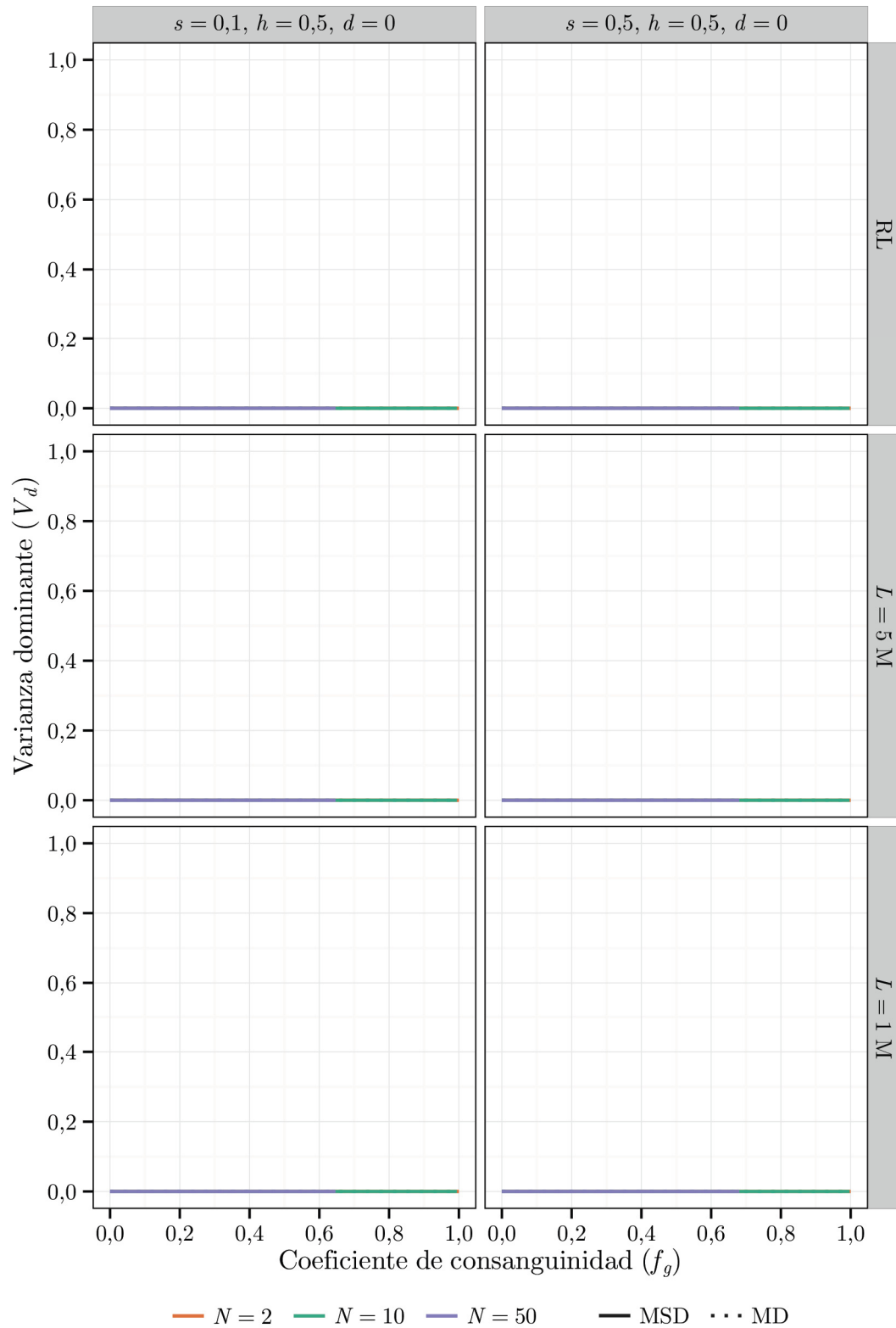


Figura A2.4 Representación de la media por generación de la varianza dominante de la eficacia biológica (V_d) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

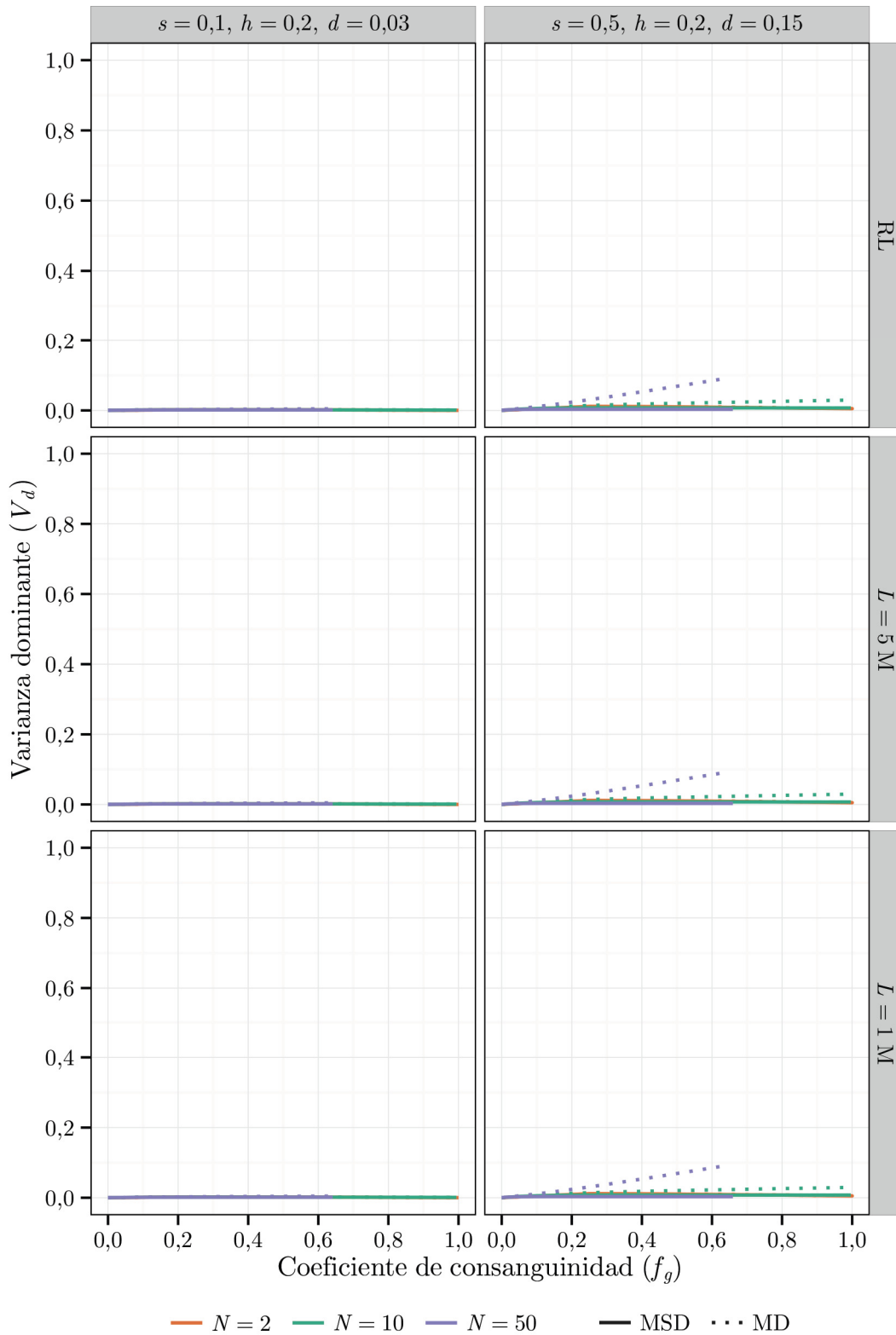


Figura A2.5 Representación de la media por generación de la varianza dominante de la eficacia biológica (V_d) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

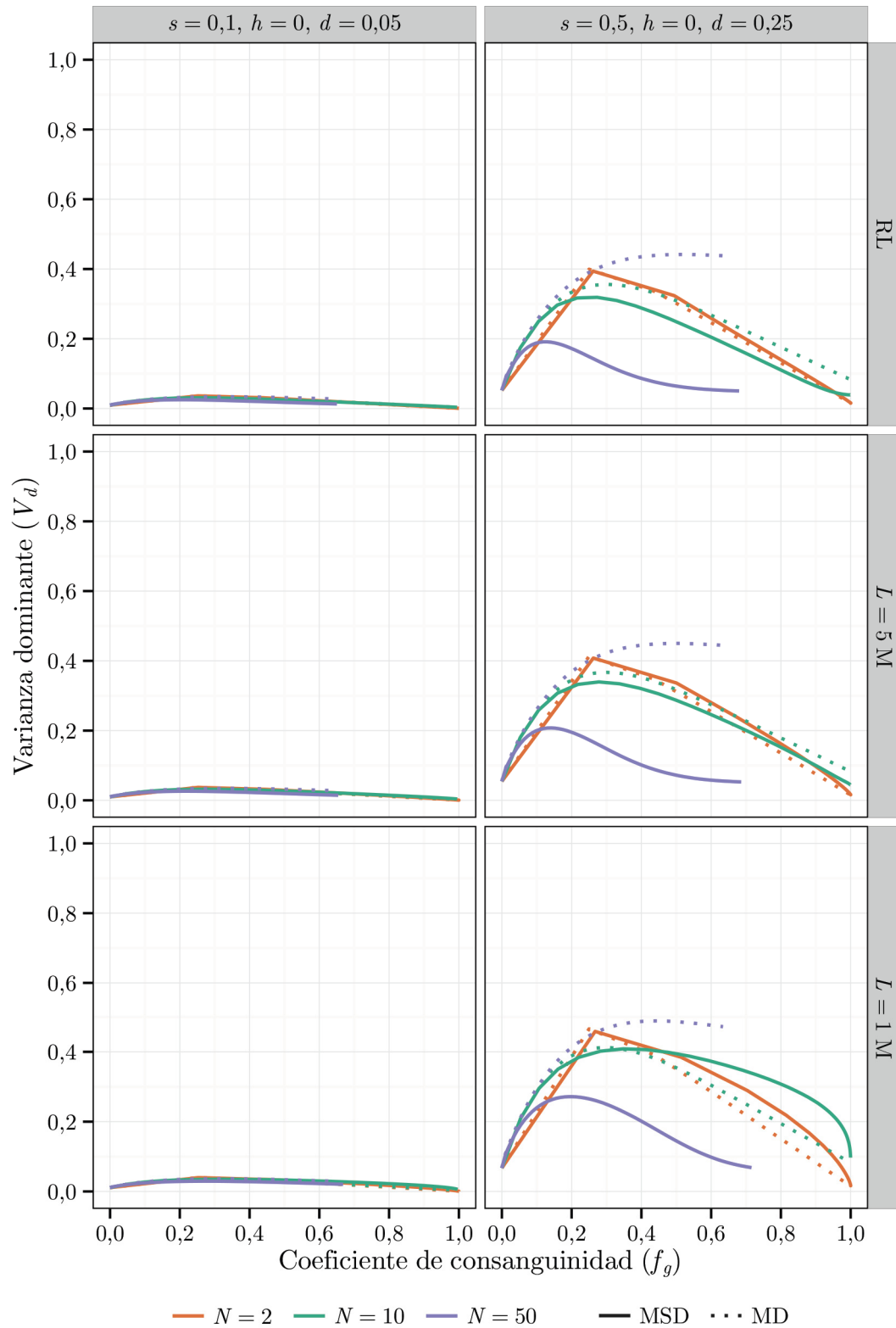


Figura A2.6 Representación de la media por generación de la varianza dominante de la eficacia biológica (V_d) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

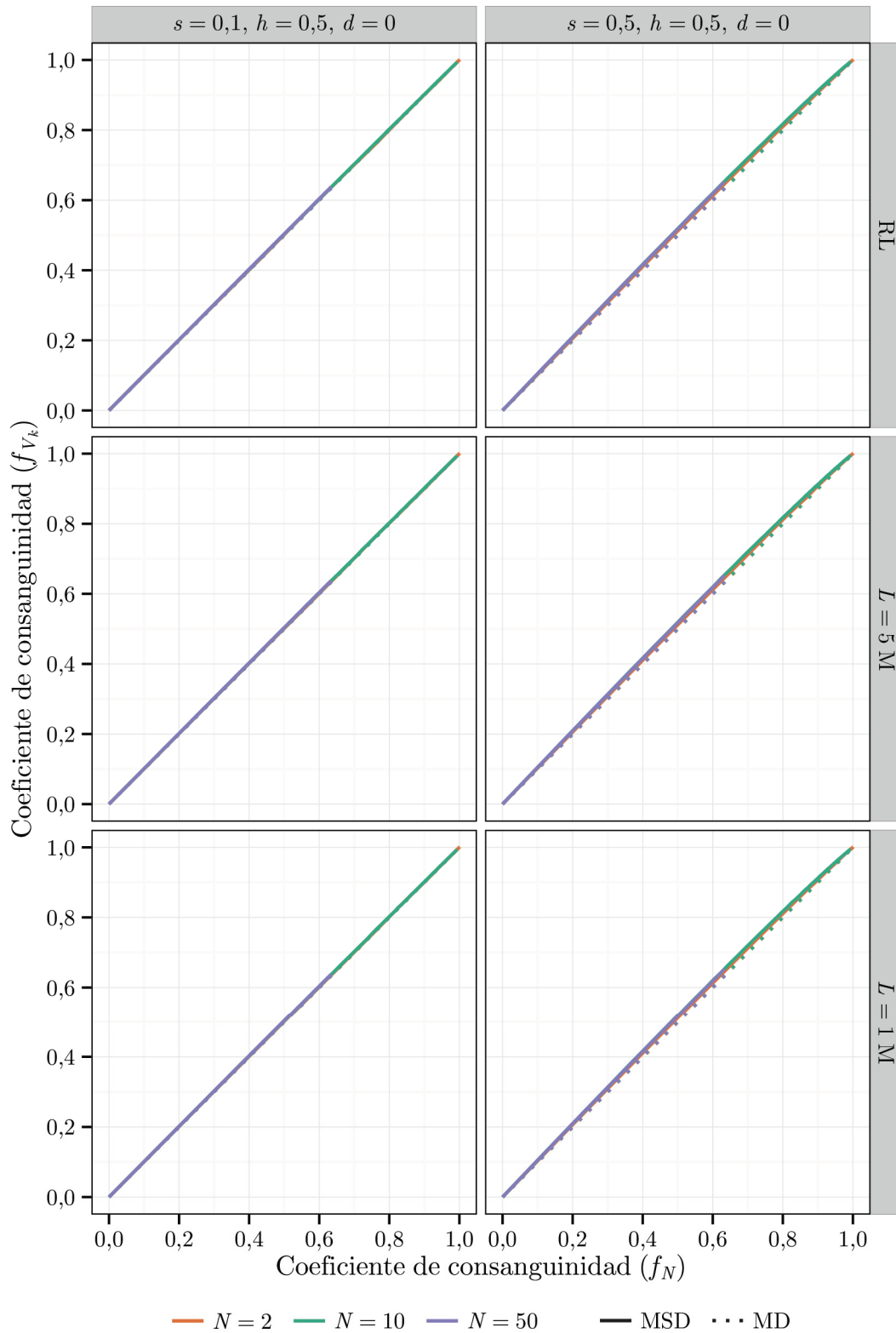


Figura A2.7 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos con acción génica aditiva ($h = 0,5$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

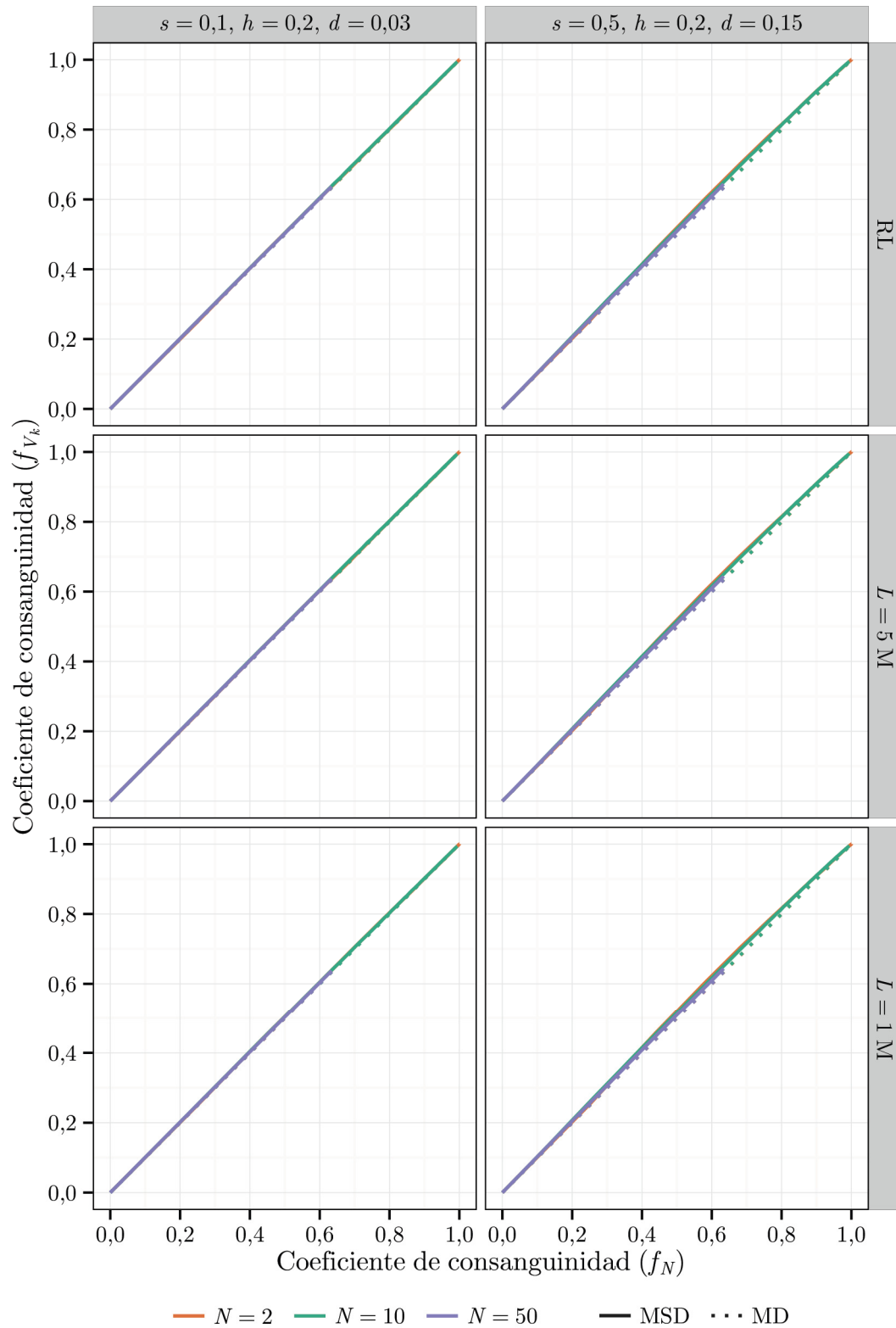


Figura A2.8 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos con acción génica parcialmente recesiva ($h = 0,2$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

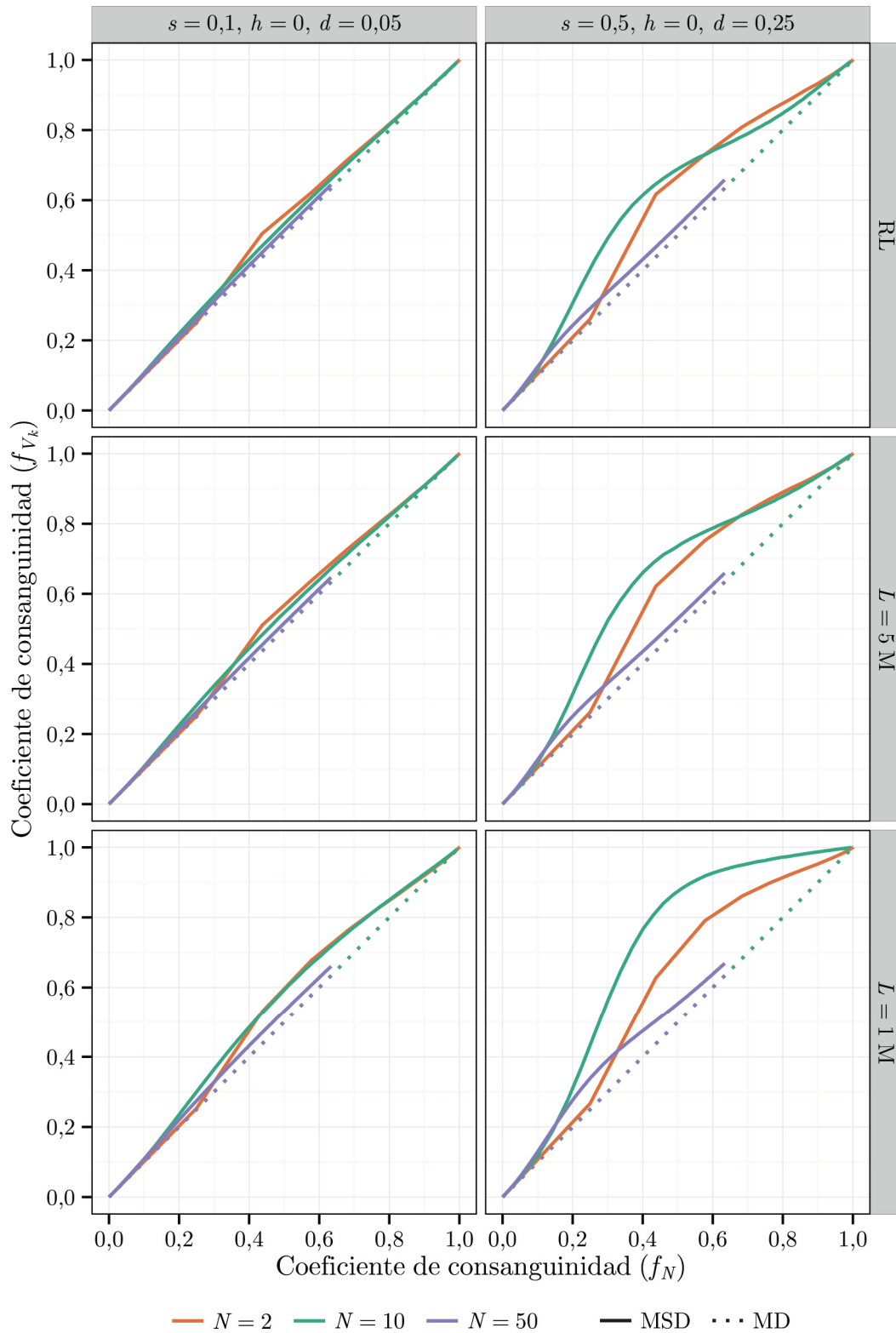


Figura A2.9 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos con acción génica completamente recesiva ($h = 0$) y recombinación libre (RL) o genomas de longitud L Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

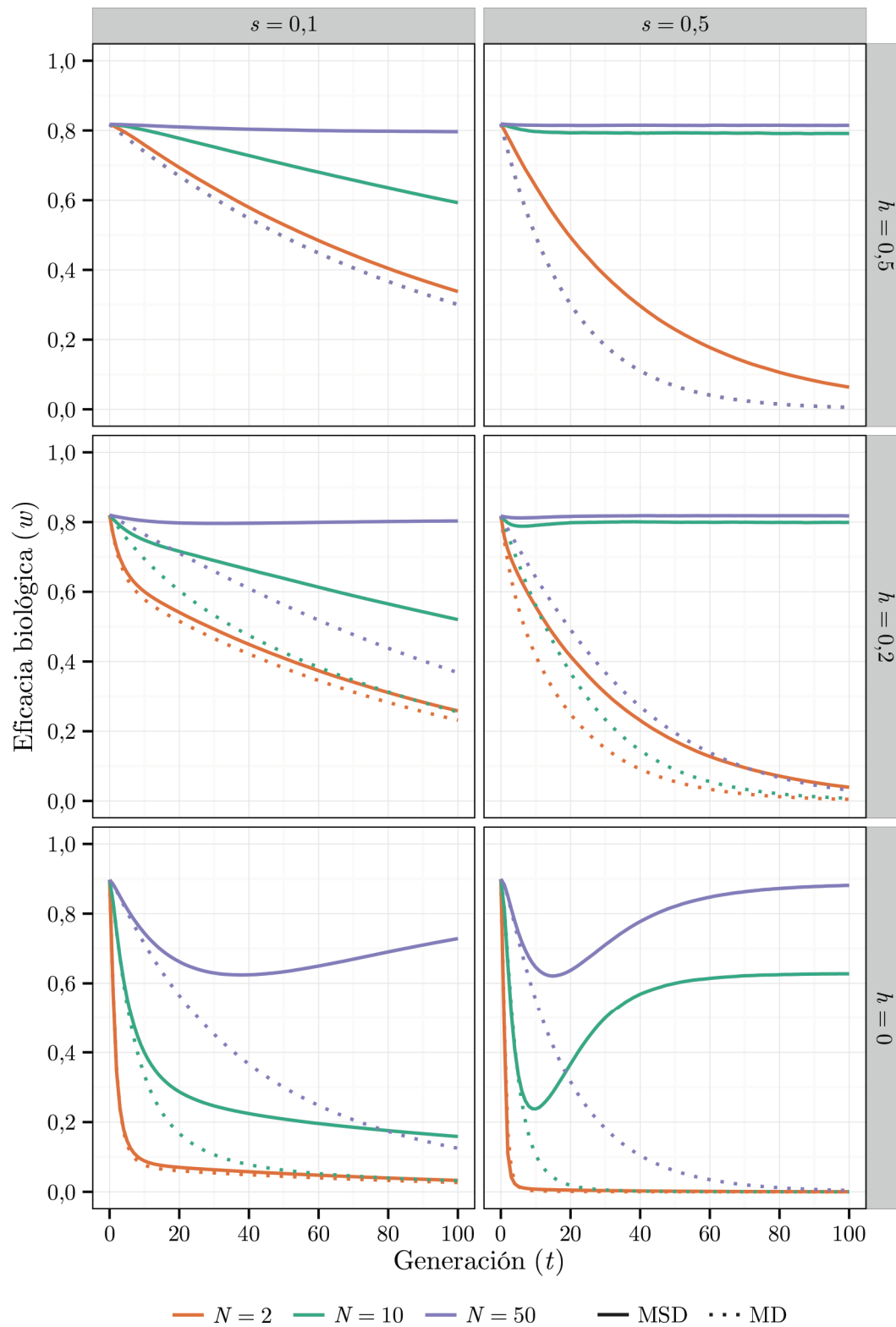


Figura A2.10 Evolución de la eficacia biológica media (w) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

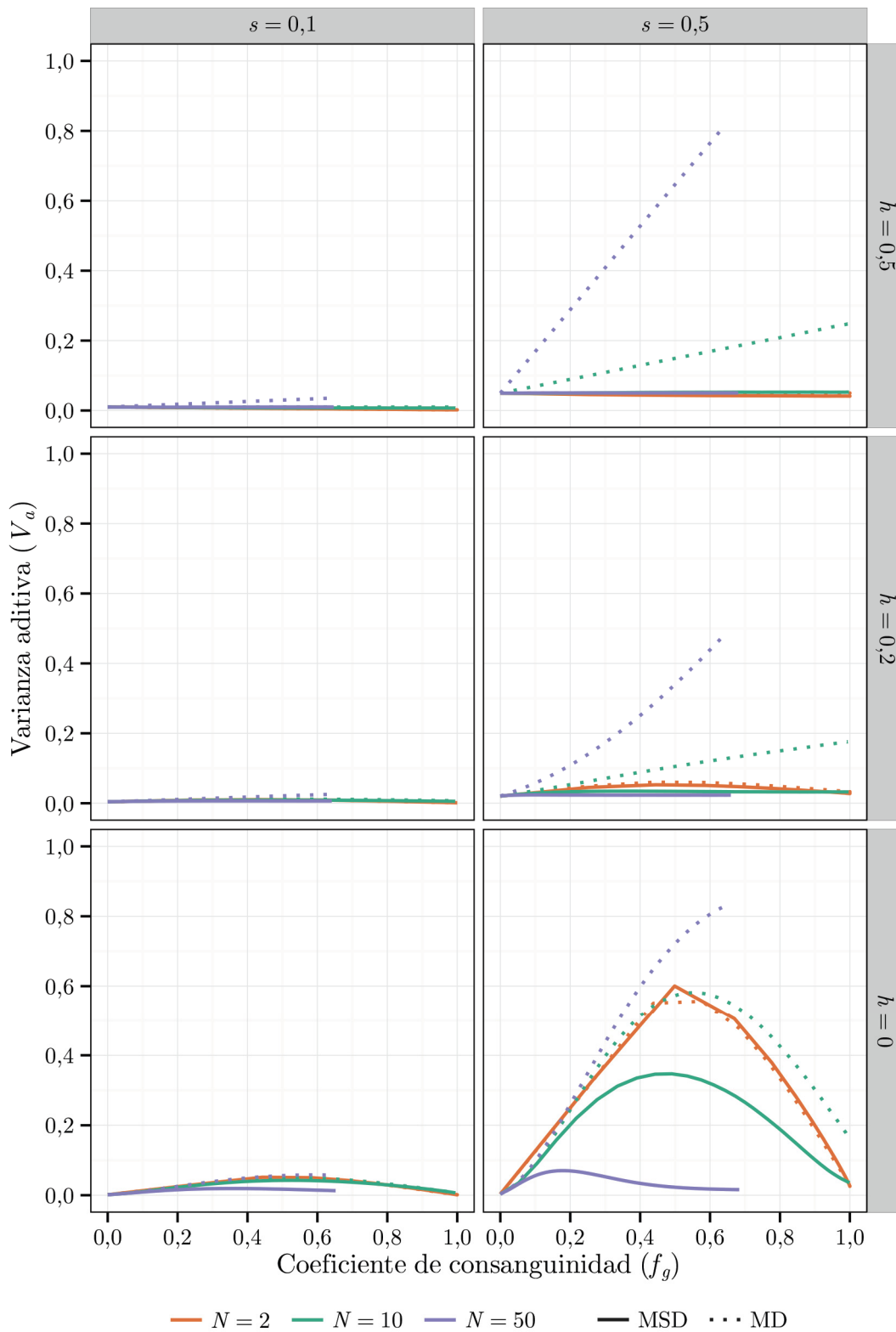


Figura A2.11 Representación de la media por generación de la varianza aditiva de la eficacia biológica (V_a) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

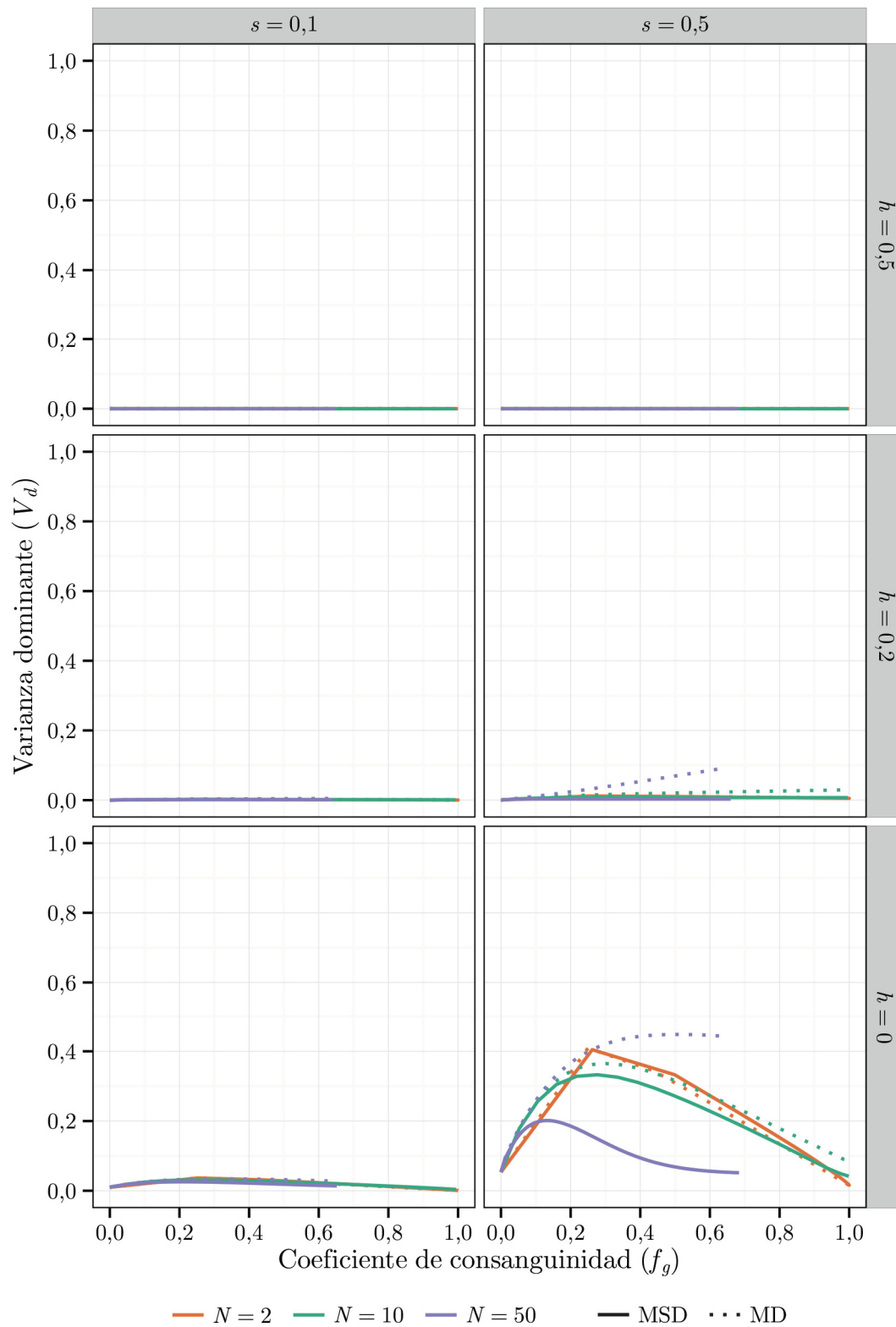


Figura A2.12 Representación de la media por generación de la varianza dominante de la eficacia biológica (V_d) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

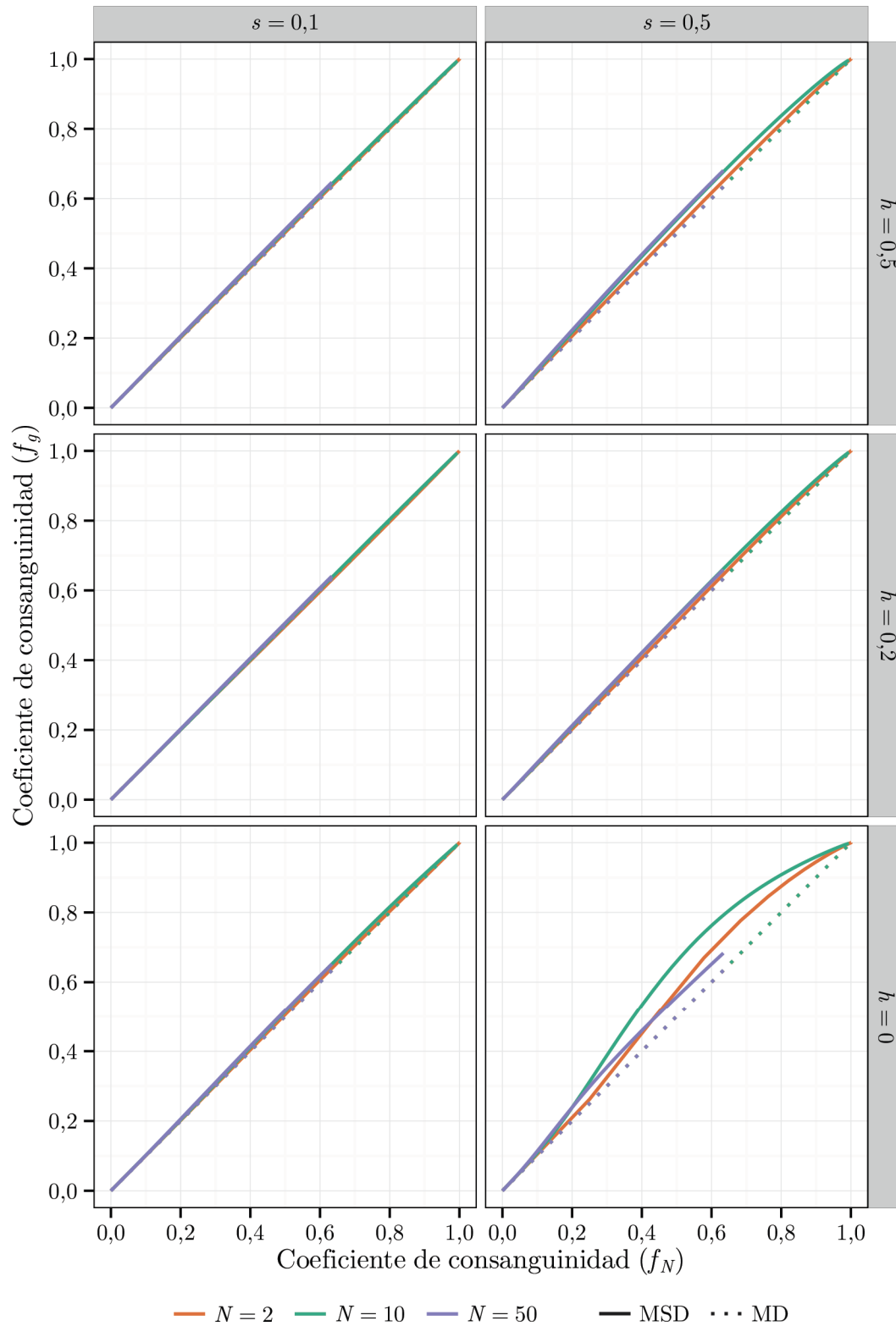


Figura A2.13 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

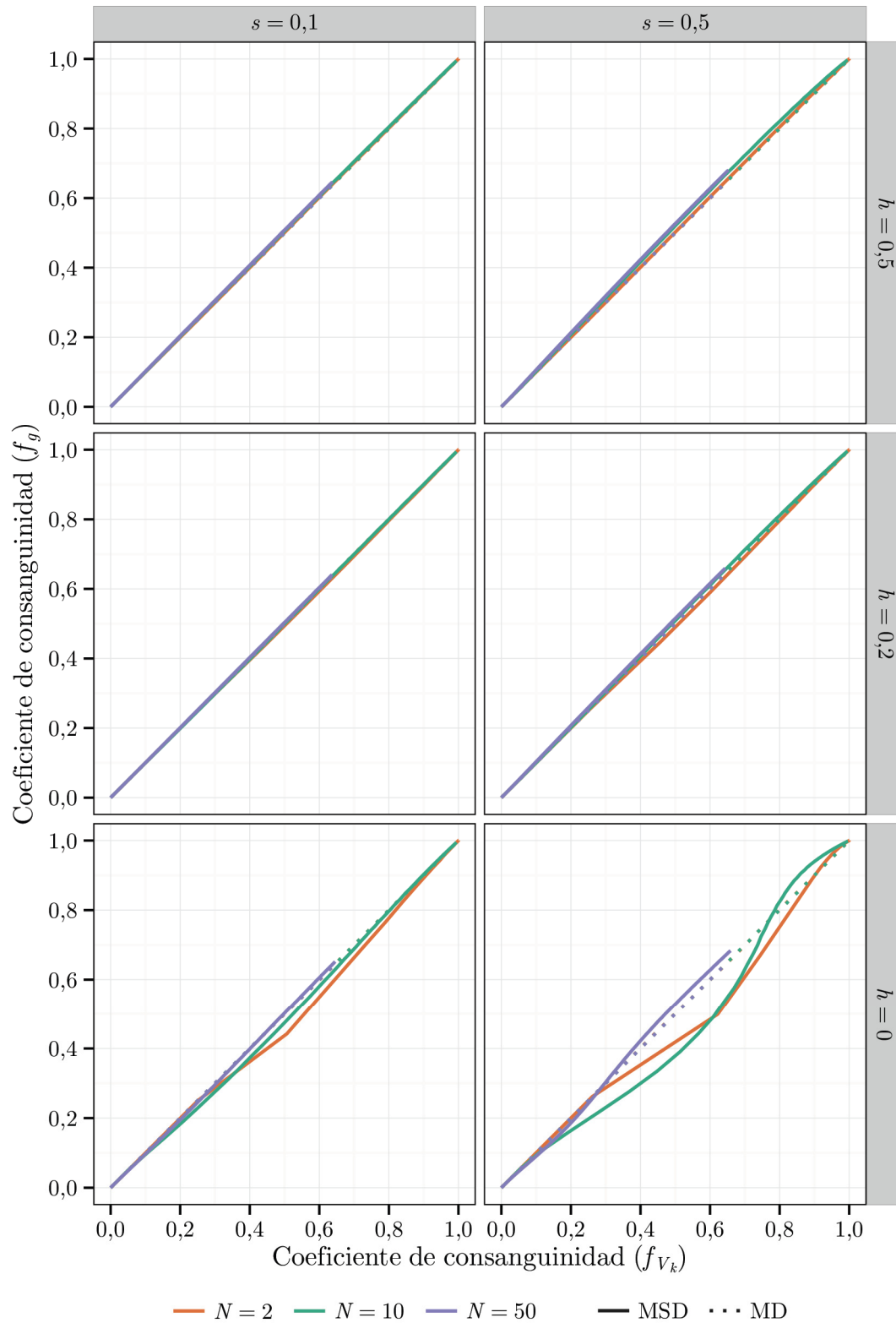


Figura A2.14 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

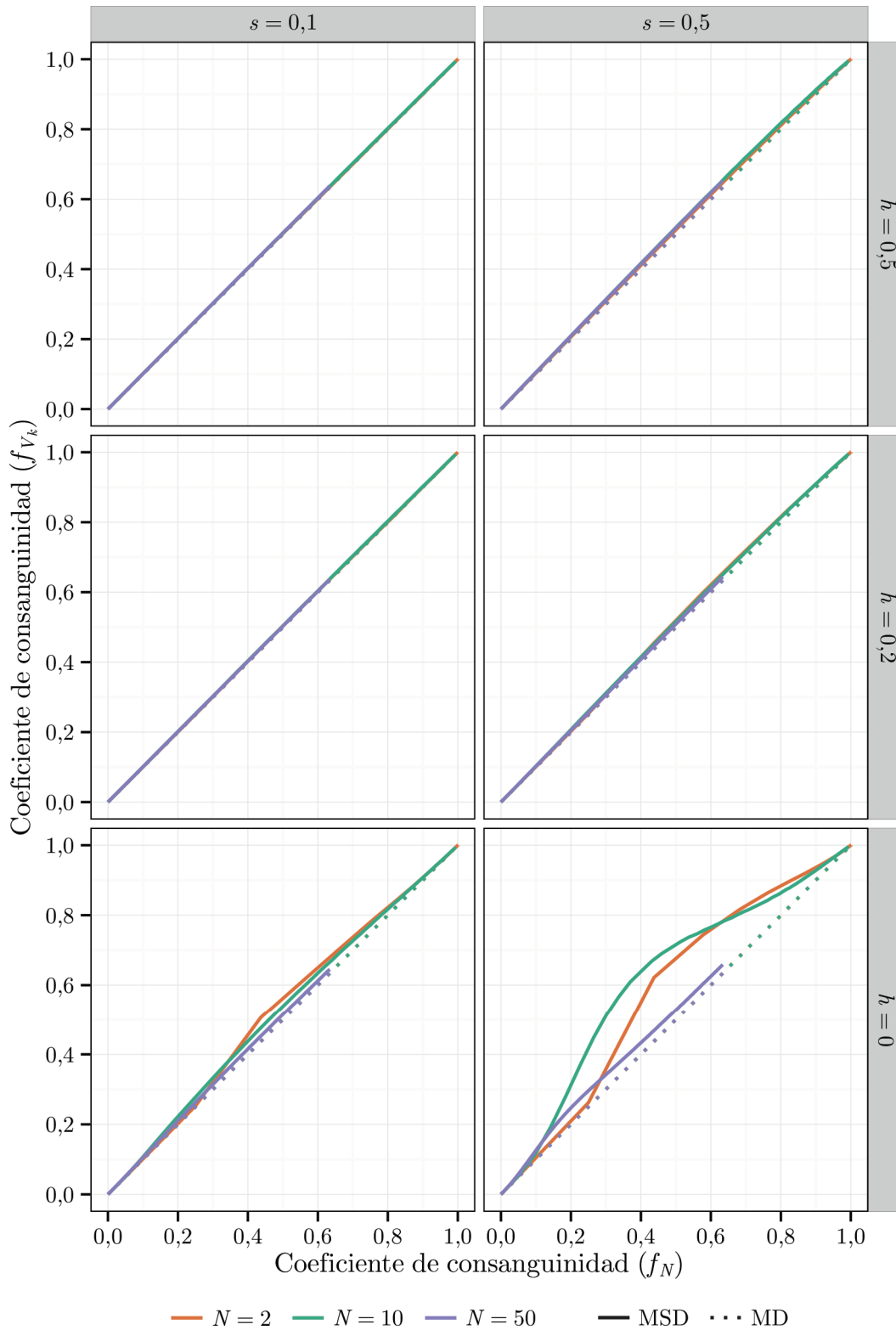


Figura A2.15 Representación de la media por generación del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado en función de N (f_N) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

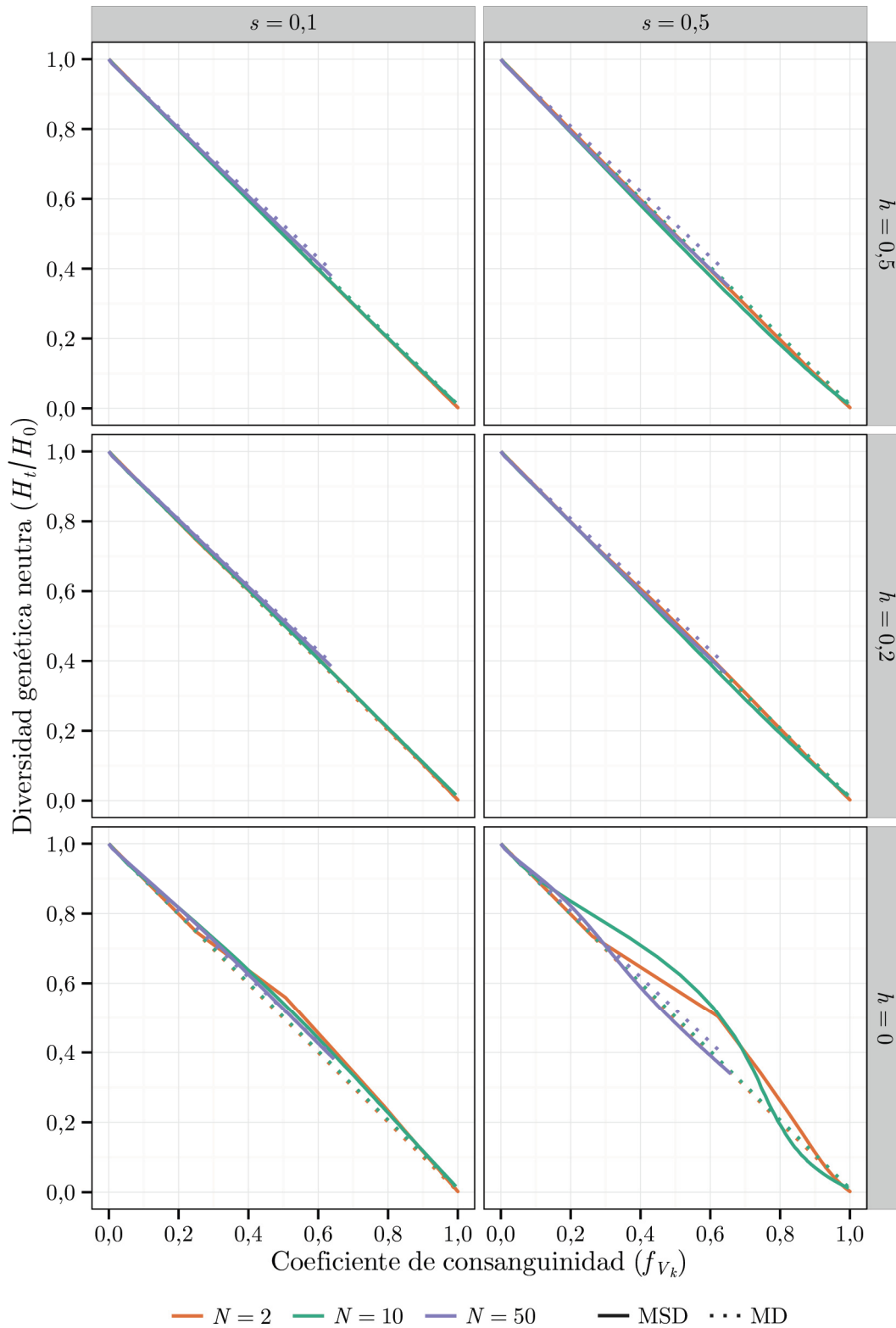


Figura A2.16 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad calculado a partir de la varianza de la contribución de gametos (f_{V_k}) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.

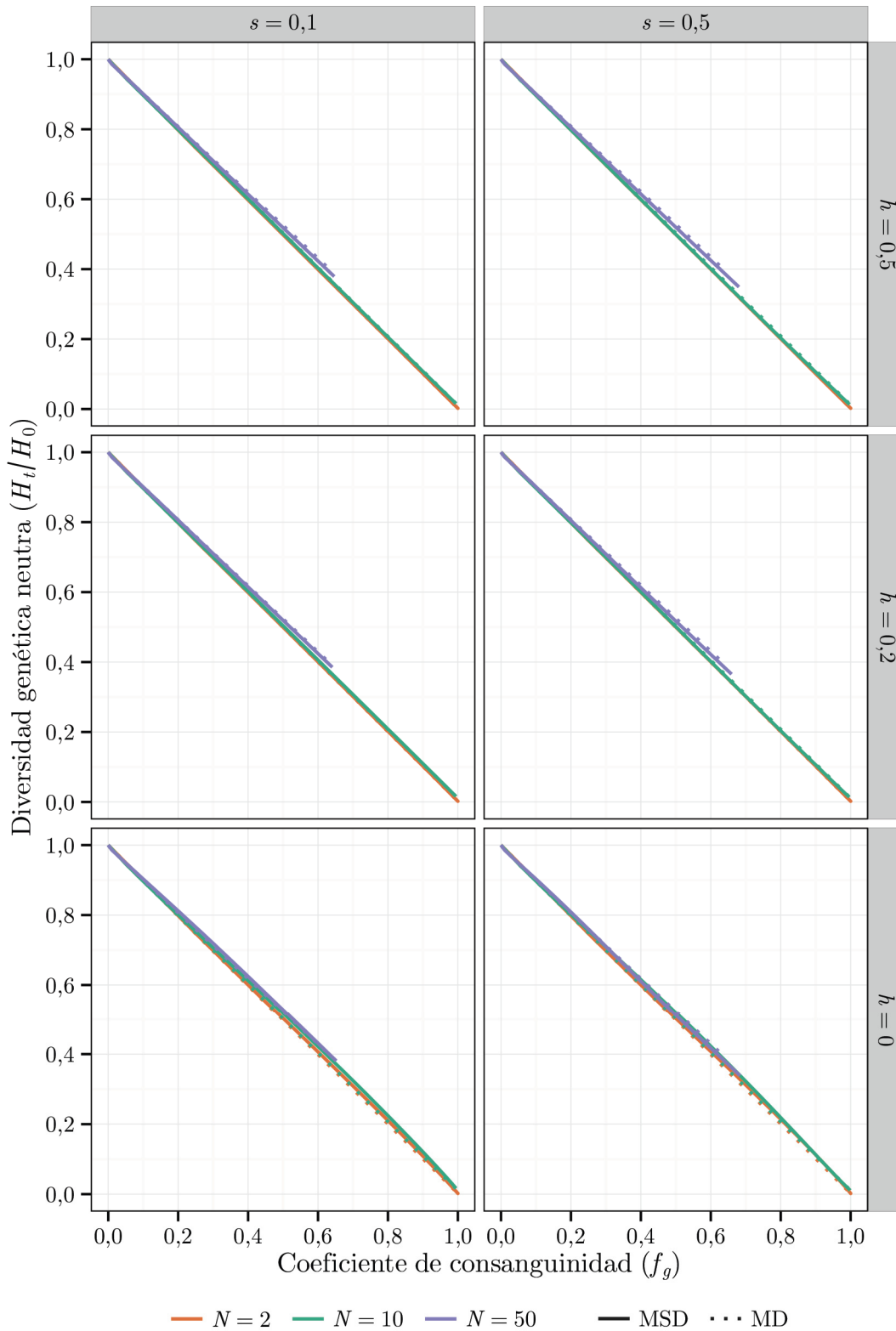


Figura A2.17 Representación de la media por generación de la diversidad genética neutra (H_t/H_0) frente a la del coeficiente de consanguinidad genealógico (f_g) en las líneas de censo N para los casos simulados con una longitud de genoma de 10 Morgans. MSD: escenario con selección; MD: escenario sin selección.