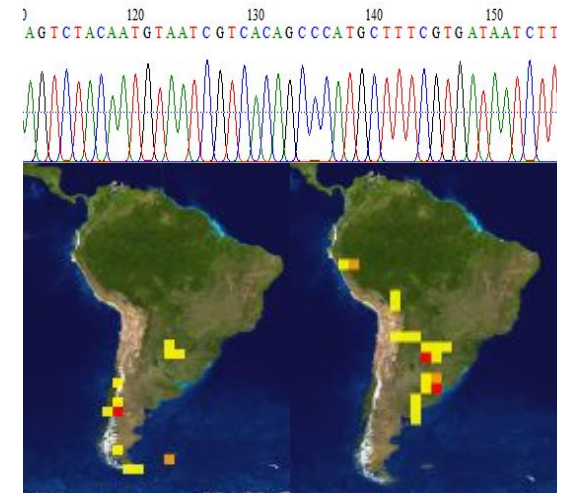
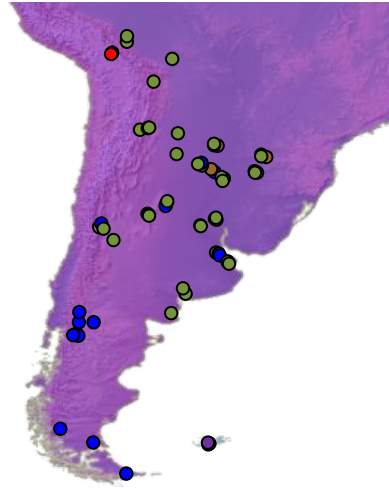


Ausencia de aislamiento reproductivo en dos linajes de Ratona que confluyen en contacto secundario

Pablo A. Fracas, Ramiro S. Arrieta, Belén Bukowski, Leonardo Campagna, Pablo D. Lavinia, Paulo E. Llambías, Pablo L. Tubaro, Darío A. Lijtmaer

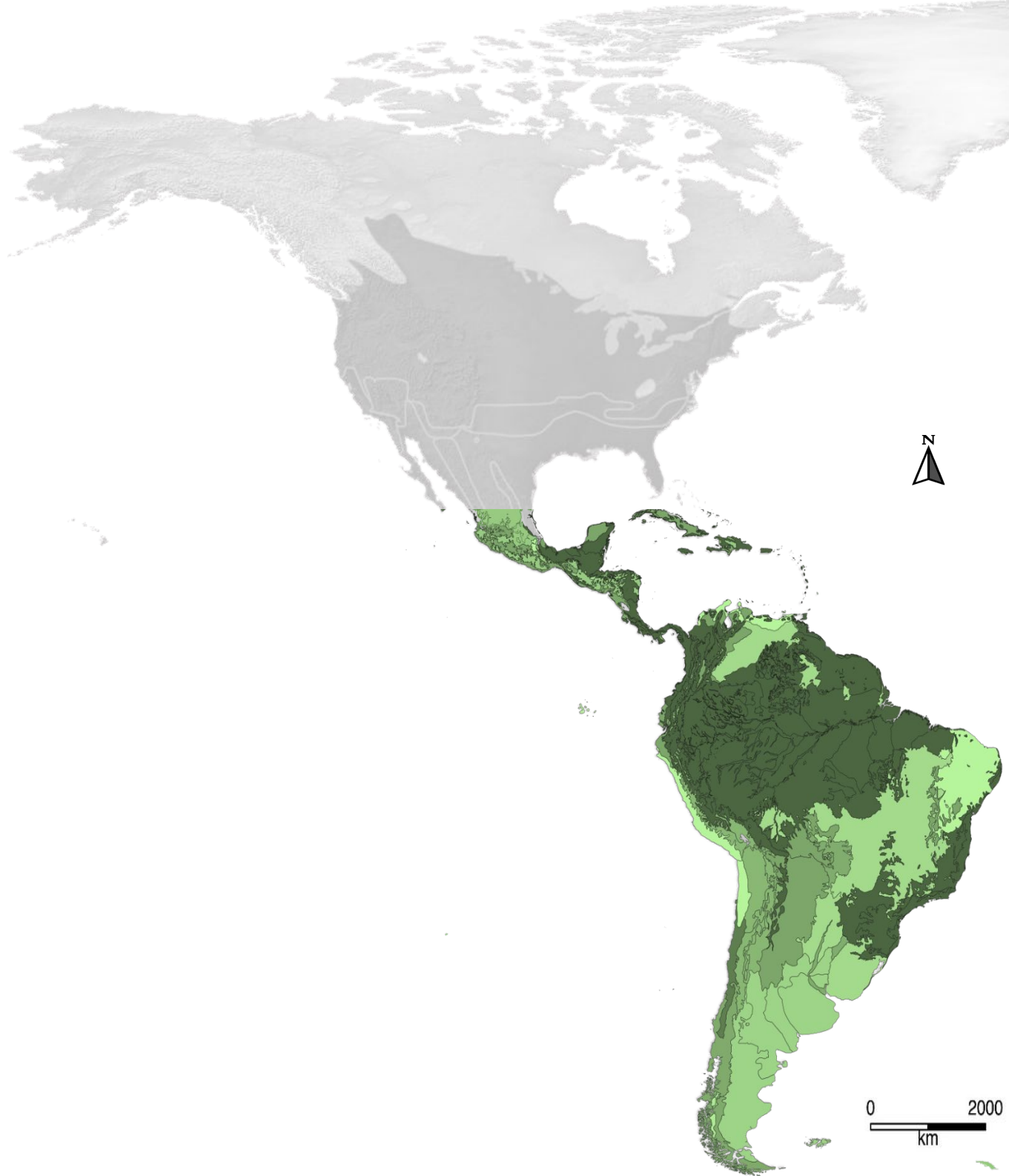


M A C N
CONICET
MUSEO
ARGENTINO
DE CIENCIAS
NATURALES

X REUNIÓN ARGENTINA
X DE ORNITOLOGÍA

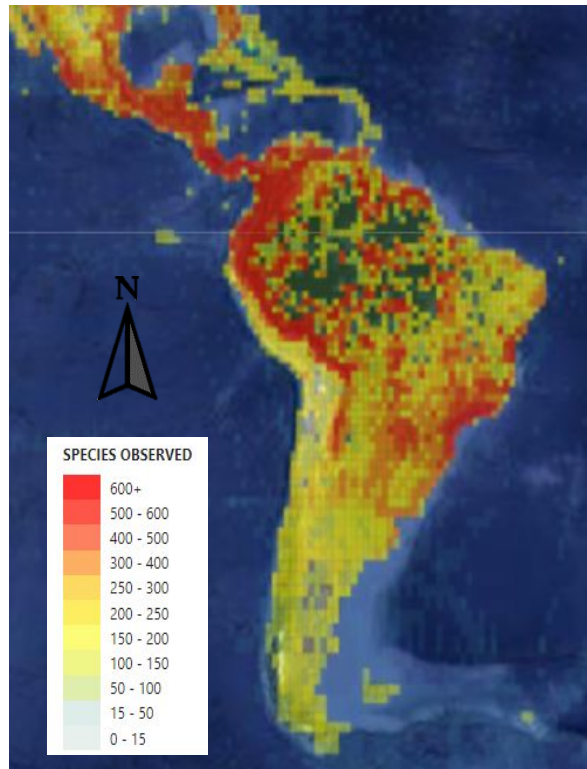
El neotrópico

- Es la región **más biodiversa**.



El neotrópico

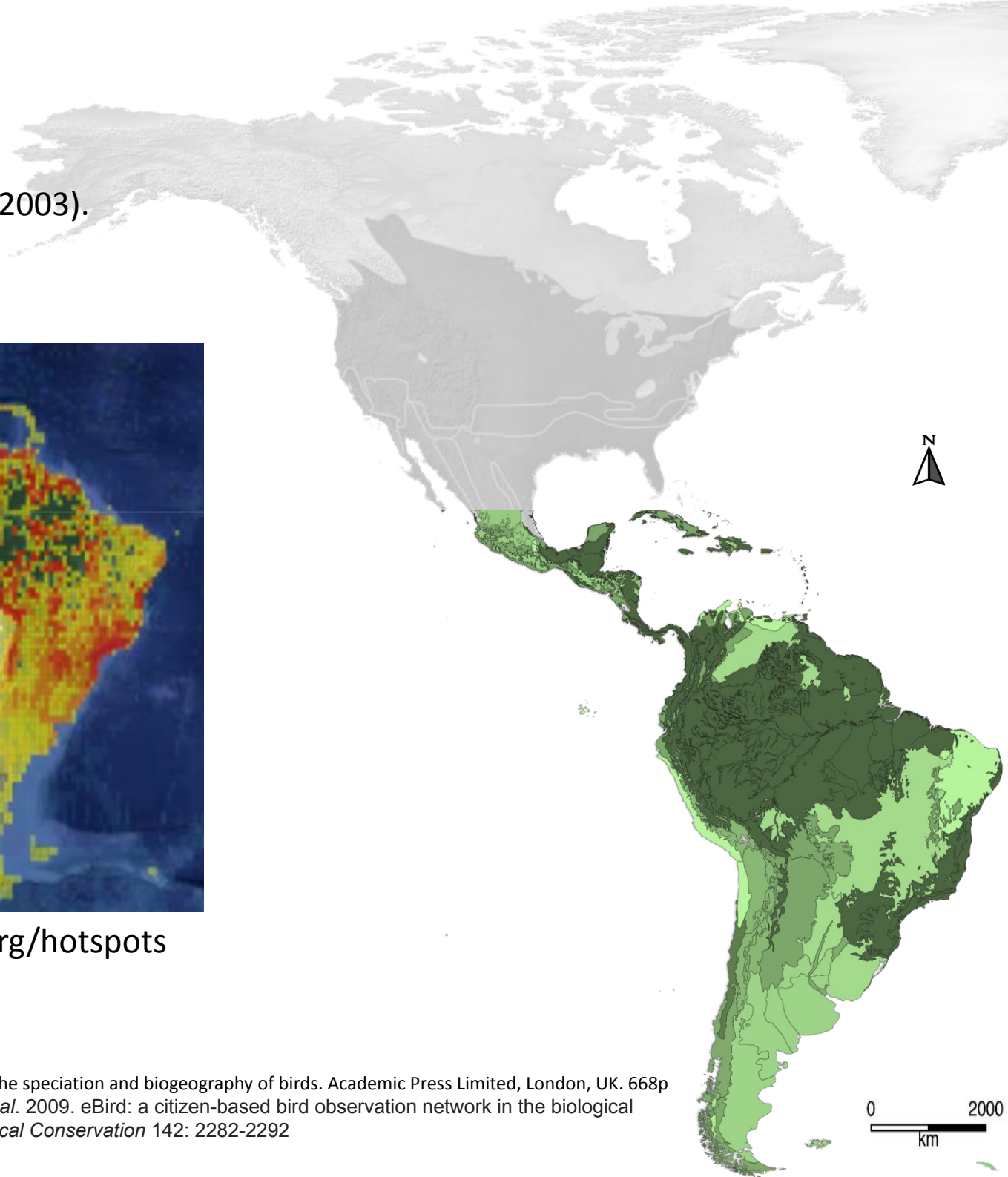
- Es la región **más biodiversa**.
- **>3000 especies de aves** (Newton 2003).



<https://ebird.org/hotspots>

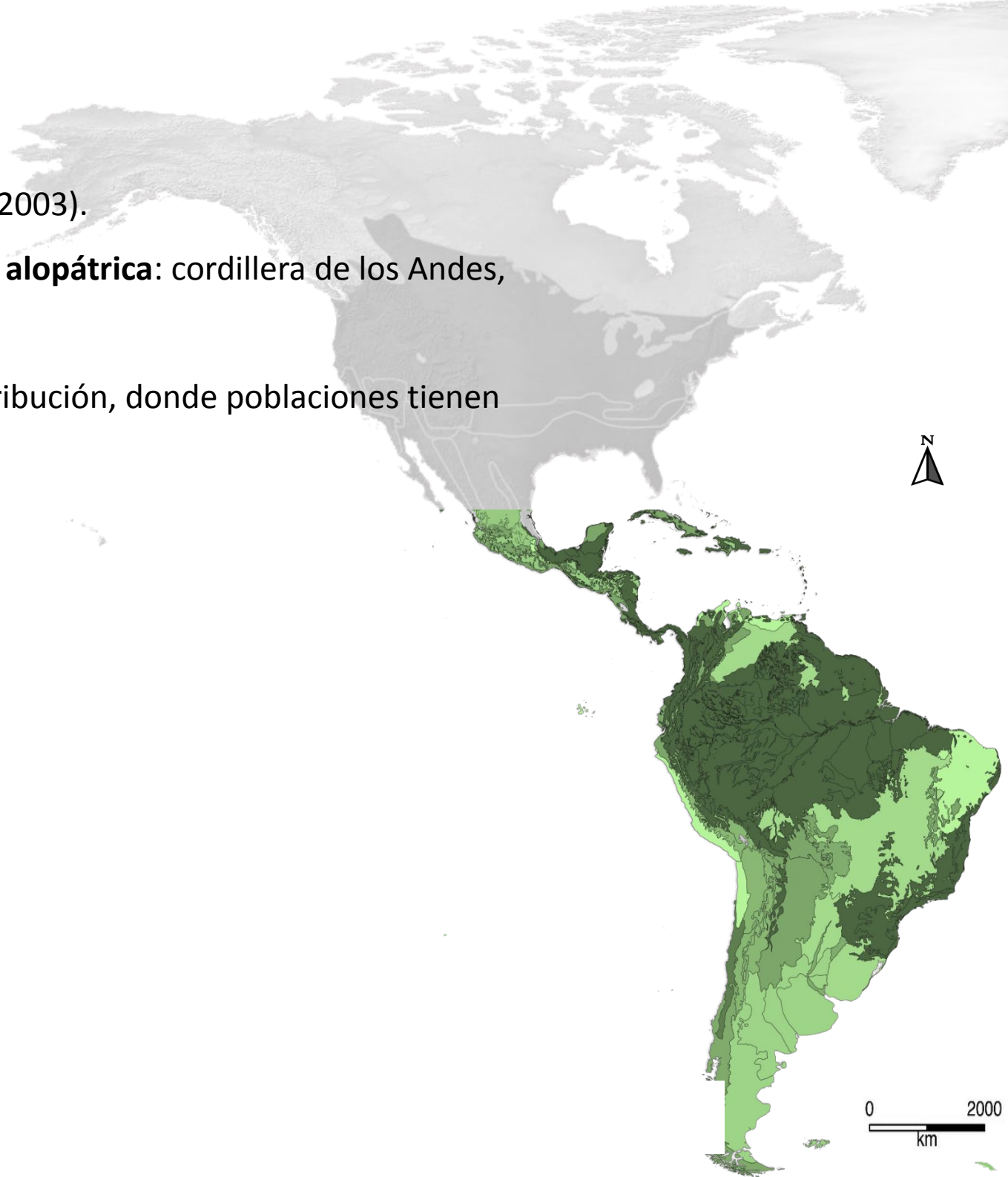


Newton, I. 2003. The speciation and biogeography of birds. Academic Press Limited, London, UK. 668p
Sullivan, B.L., *et al.* 2009. eBird: a citizen-based bird observation network in the biological sciences. *Biological Conservation* 142: 2282-2292



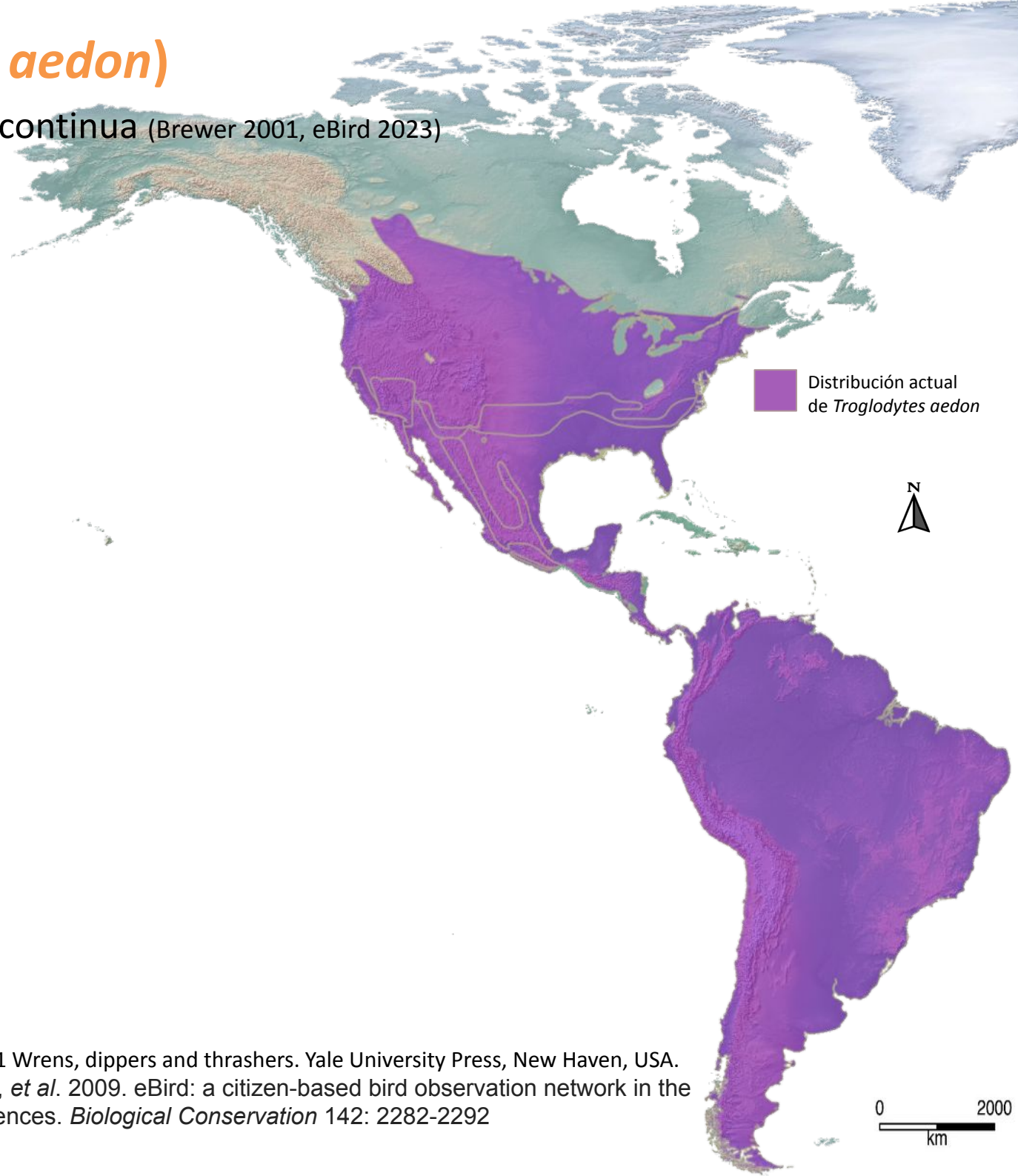
El neotrópico

- Es la región **más biodiversa**.
- **>3000 especies de aves** (Newton 2003).
- Múltiples factores de **especiación alopátrica**: cordillera de los Andes, ríos amazónicos, etc.
- Múltiples especies de amplia distribución, donde poblaciones tienen **distintas historias evolutivas**.



La Ratona (*Troglodytes aedon*)

- Distribución transcontinental continua (Brewer 2001, eBird 2023)



Brewer D. 2001 Wrens, dippers and thrashers. Yale University Press, New Haven, USA.
Sullivan, B.L., *et al.* 2009. eBird: a citizen-based bird observation network in the biological sciences. *Biological Conservation* 142: 2282-2292

La Ratona (*Troglodytes aedon*)

- Distribución transcontinental continua (Brewer 2001, eBird 2023)
- >30 subespecies (Johnson 2020)
- Variación morfológica y comportamental:

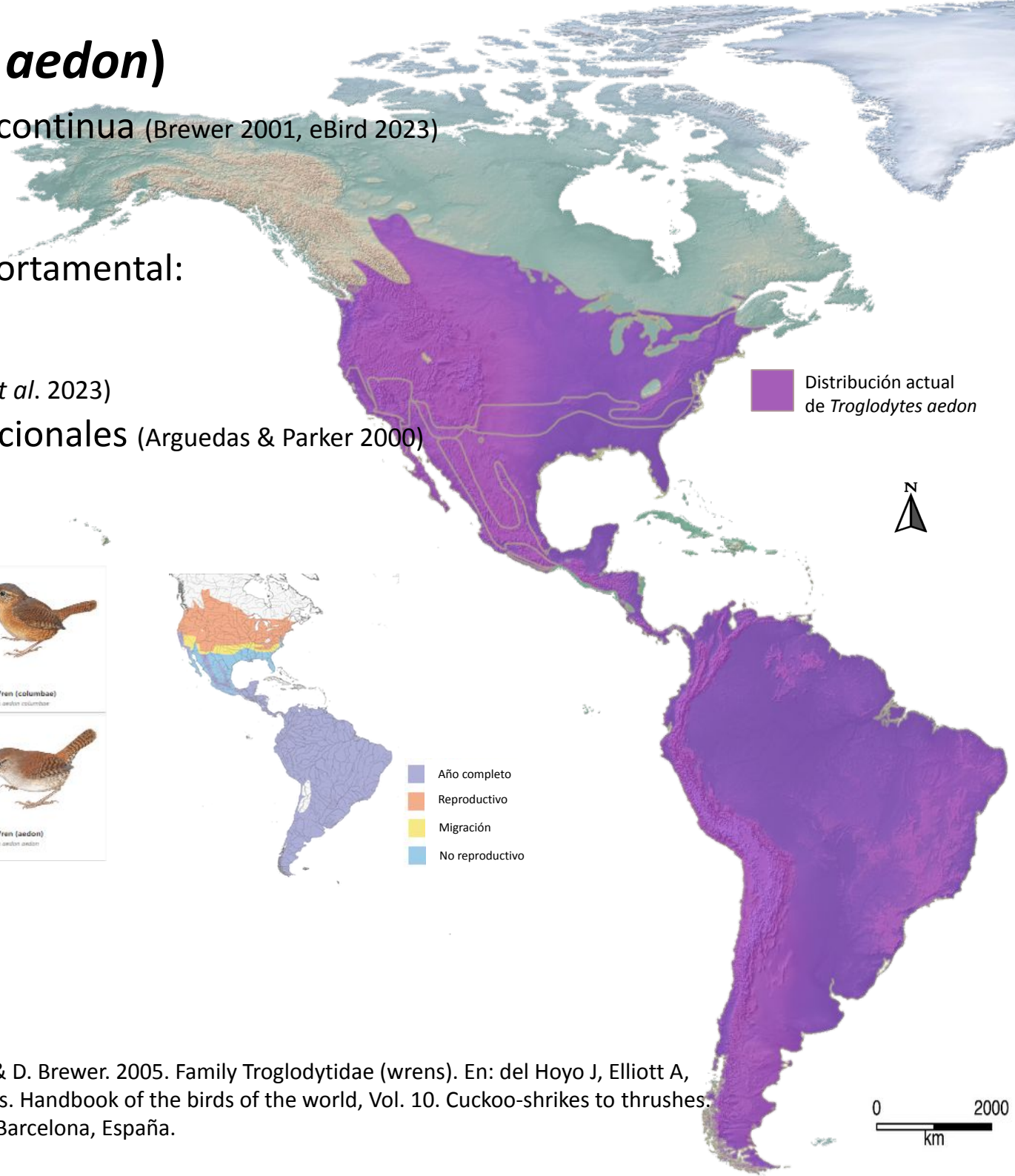
Coloración (Johnson 2020)

Cantos (Kaluthota *et al.* 2016, Ghani *et al.* 2023)

Diferentes movimientos estacionales (Arguedas & Parker 2000)



Kroodsma DE & D. Brewer. 2005. Family Troglodytidae (wrens). En: del Hoyo J, Elliott A, Christie DA, eds. Handbook of the birds of the world, Vol. 10. Cuckoo-shrikes to thrushes. Lynx Edicions, Barcelona, España.



La Ratona (*Troglodytes aedon*)

- Distribución transcontinental continua (Brewer 2001, eBird 2023)
- >30 subespecies (Johnson 2020)
- Variación morfológica y comportamental:

Coloración (Johnson 2020)

Cantos (Kaluthota *et al.* 2016, Ghani *et al.* 2023)

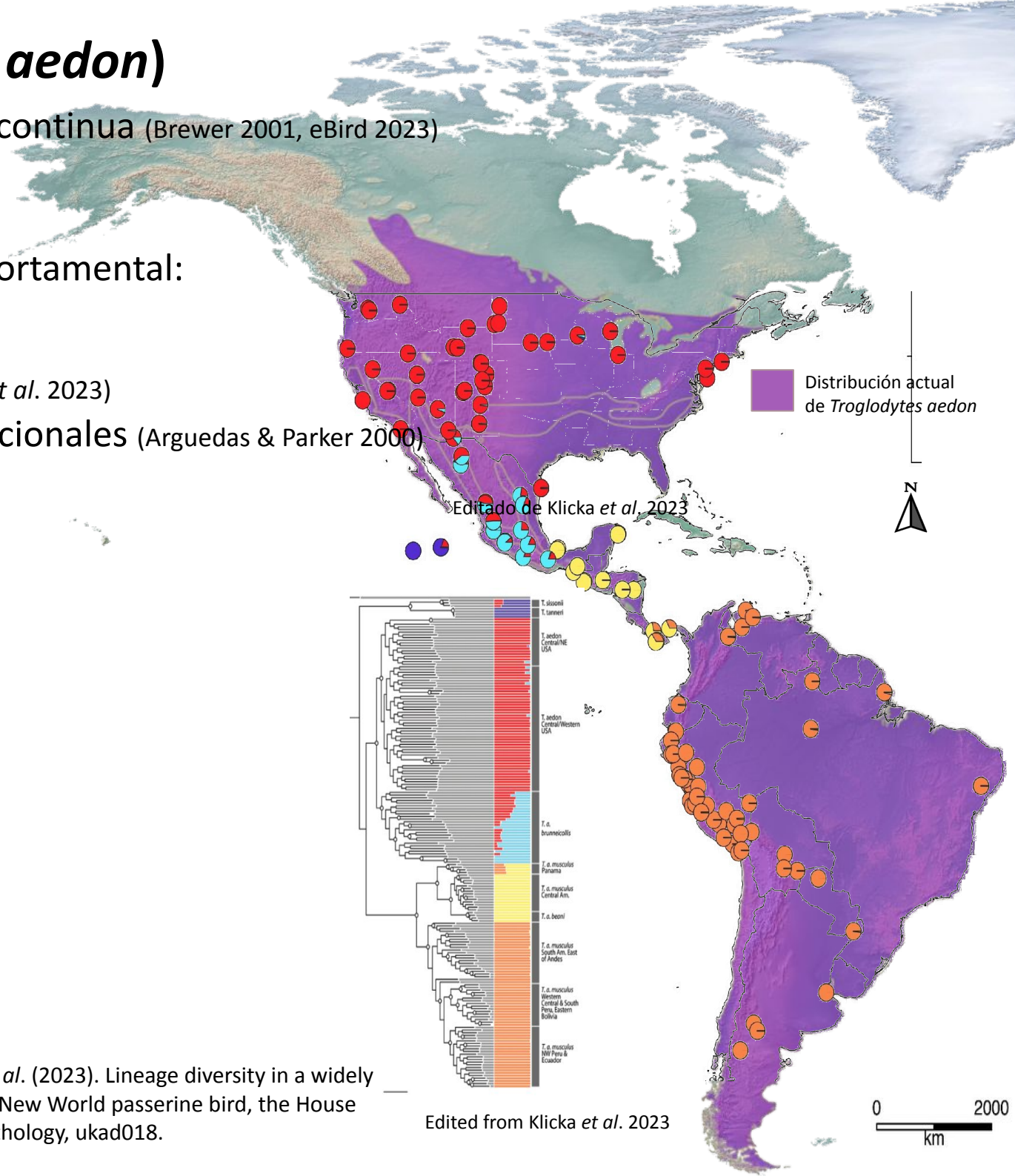
Diferentes movimientos estacionales (Arguedas & Parker 2000)

- Múltiples linajes genéticos:

e.g.: Klicka *et al.* 2023.



Klicka, J., *et al.* (2023). Lineage diversity in a widely distributed New World passerine bird, the House Wren. *Ornithology*, ukad018.



Edited from Klicka *et al.* 2023

La Ratona (*Troglodytes aedon*)

- Distribución transcontinental continua (Brewer 2001, eBird 2023)

- >30 subespecies (Johnson 2020)

- Variación morfológica y comportamental:

Coloración (Johnson 2020)

Cantos (Kaluthota *et al.* 2016, Ghani *et al.* 2023)

Diferentes movimientos estacionales (Arguedas & Parker 2000)

- Múltiples linajes genéticos:

e.g.: Klicka *et al.* 2023.

Específicamente en Sudamérica:

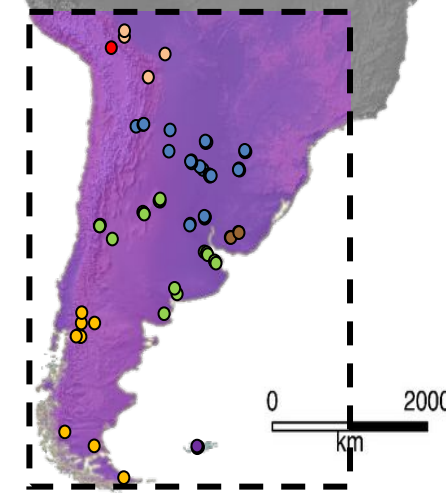
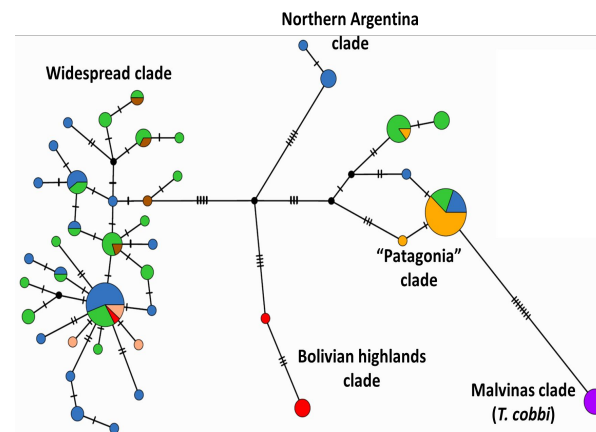
Kerr *et al.* 2009, Campagna *et al.* 2012,

Galen *et al.* 2015, Lijtmaer *et al.* in prep.



Kerr, K. C. R., et al. (2009). Probing evolutionary patterns in neotropical birds through DNA barcodes. PLoS ONE, 4(2).

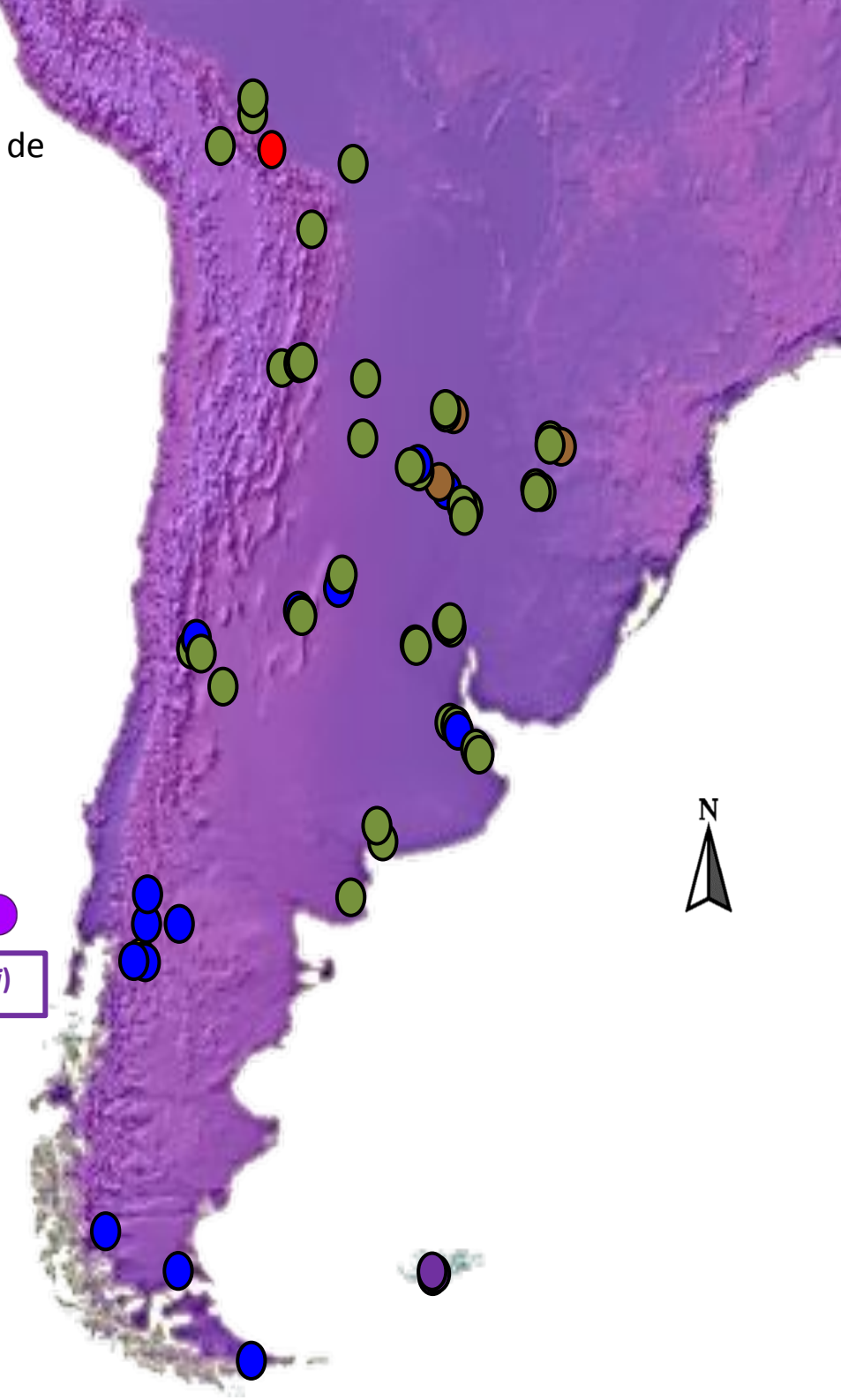
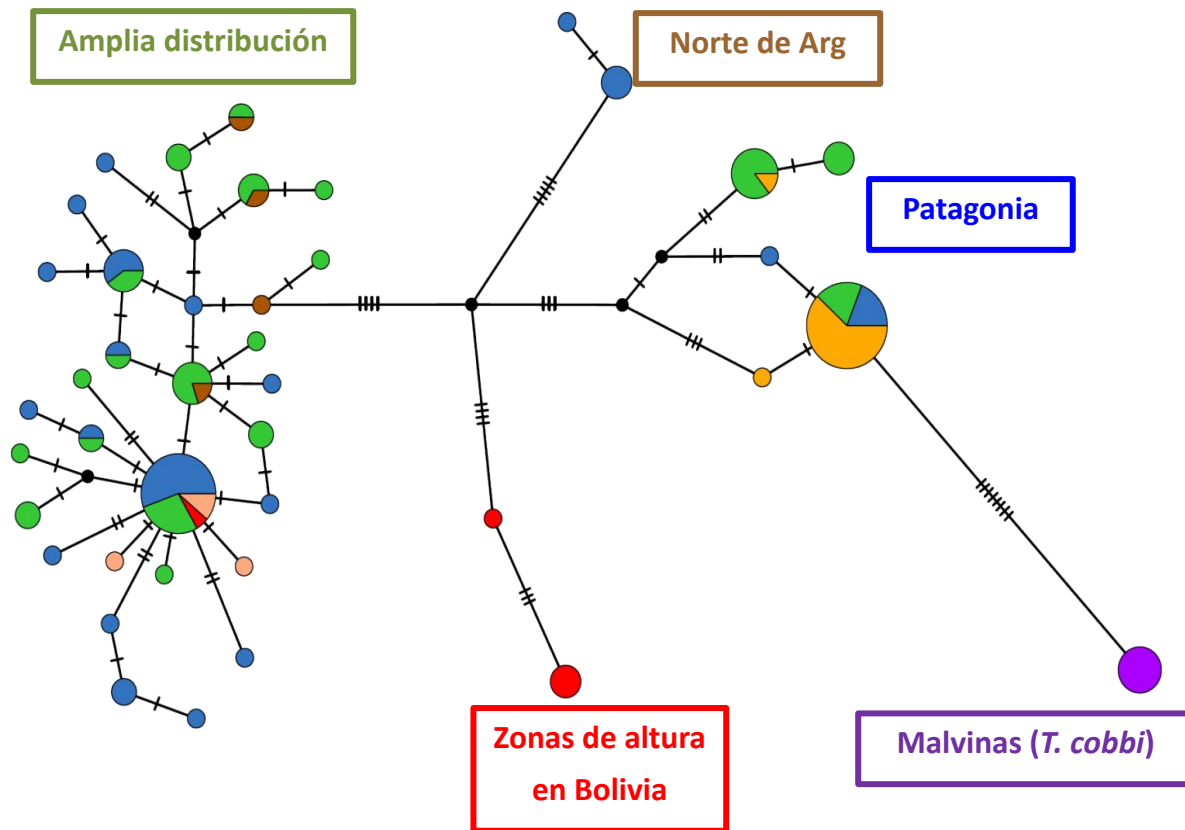
Campagna et al. (2012). Divergence between passerine populations from the Malvinas – Falkland Islands and their continental counterparts: a comparative phylogeographical study. Biological Journal of the Linnean Society 865–879.



La zona de contacto

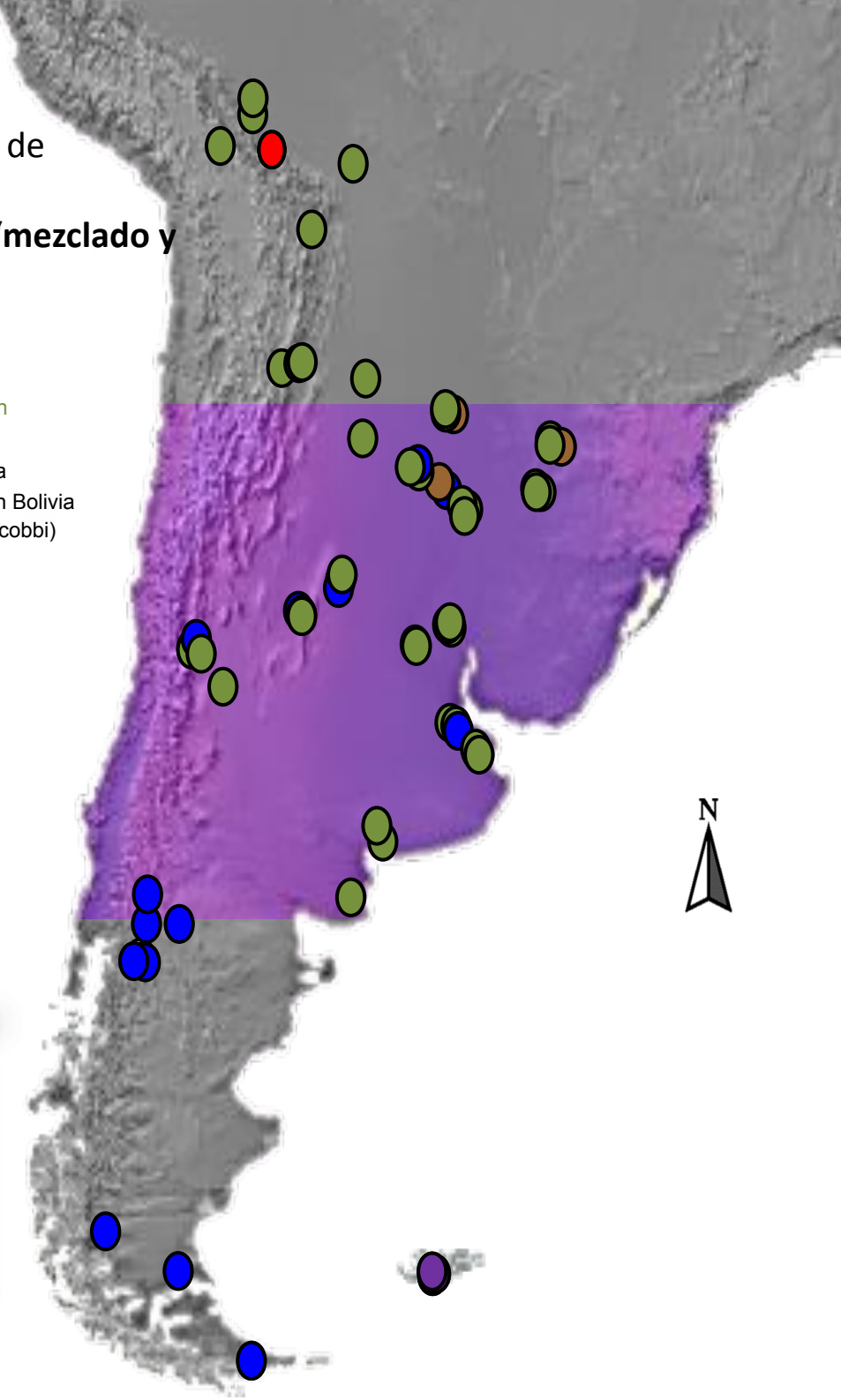
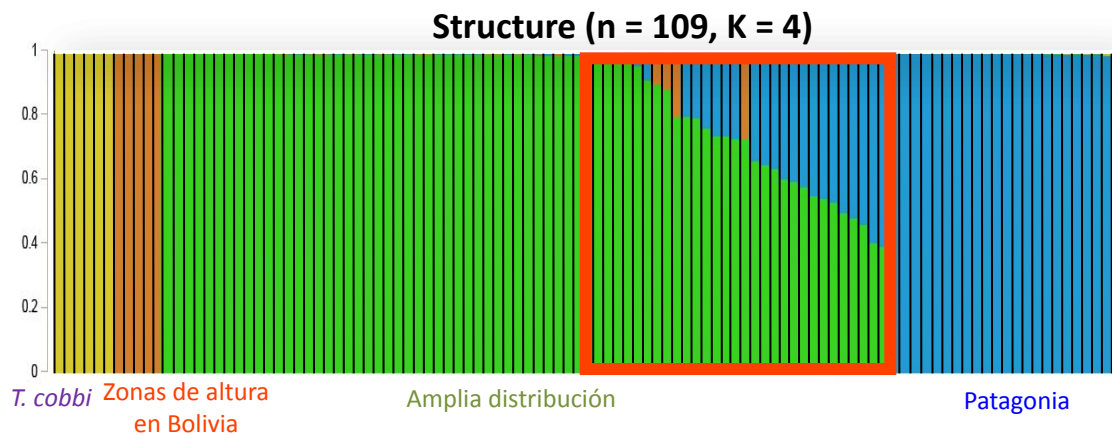
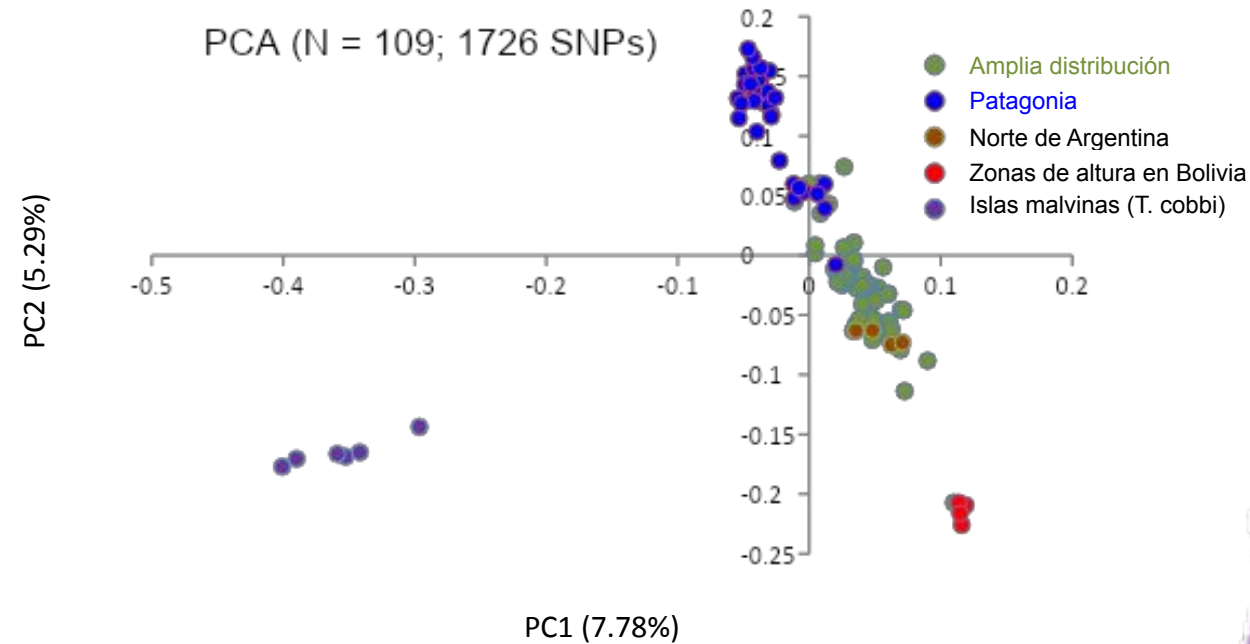
- **5 linajes mitocondriales** en el sur de Sudamérica (hasta un 5% de divergencia – **separación hace 2 millones de años**).

Red de haplotipos de parsimonia estadística (COI; n = 112)



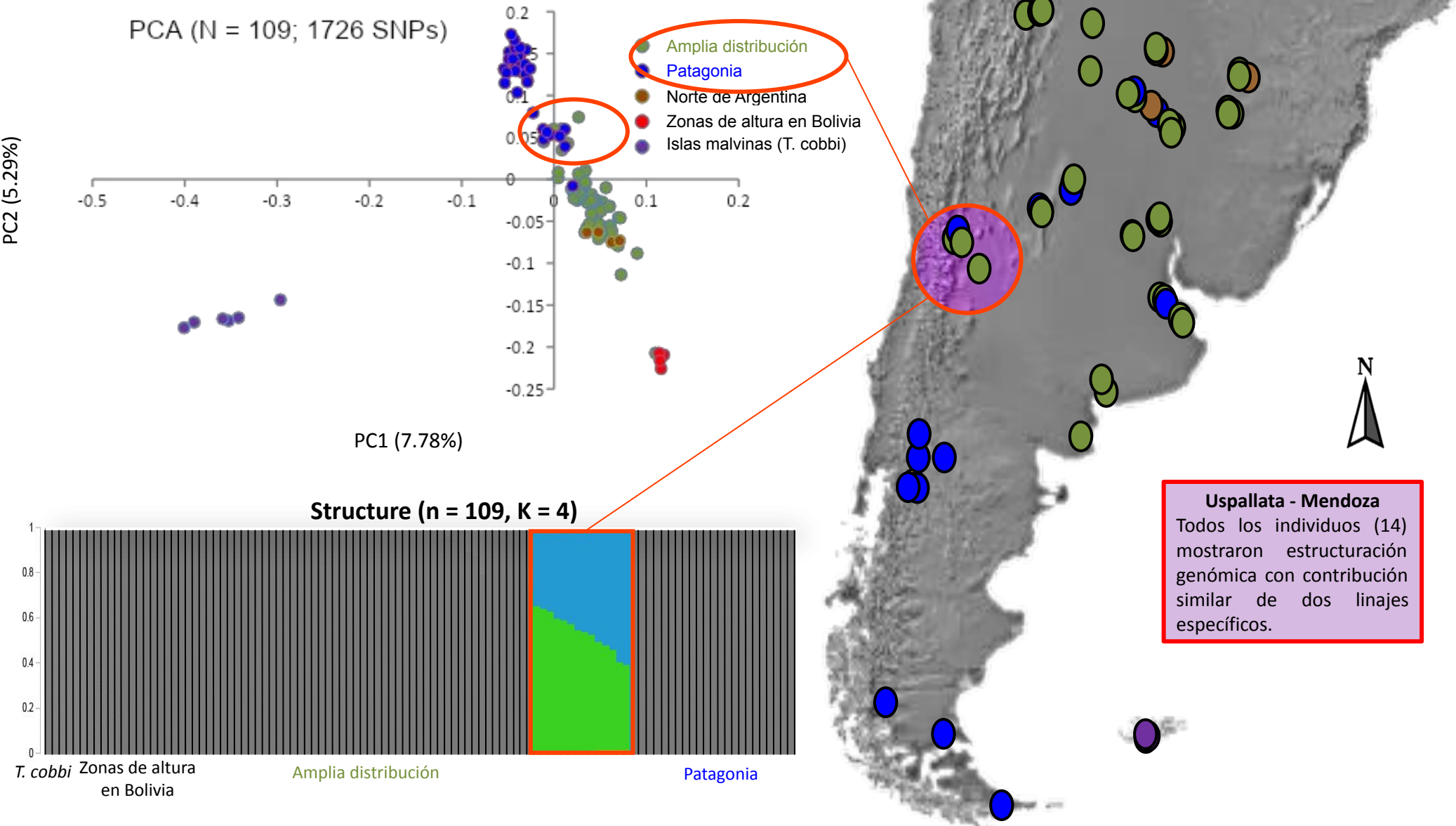
La zona de contacto

- **5 linajes mitocondriales** en el sur de Sudamérica (hasta un 5% de divergencia – **separación hace 2 millones de años**).
- Presencia de flujo génico entre linajes y **contenido genómico “mezclado y estructurado”** en el centro de Argentina.



La zona de contacto

- **5 linajes mitocondriales** en el sur de Sudamérica (hasta un 5% de divergencia – **separación hace 2 millones de años**).
- Presencia de flujo génico entre linajes y **contenido genómico “mezclado y estructurado”** en el centro de Argentina.



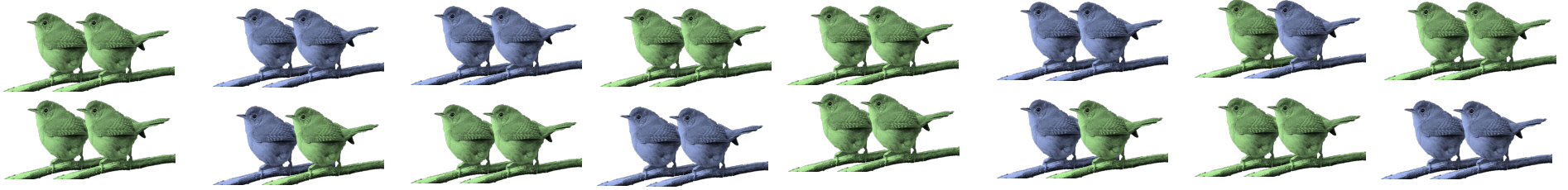
Objetivos

1. Estudiar si existe apareamiento selectivo entre los linajes de ratón de contacto de Uspallata.

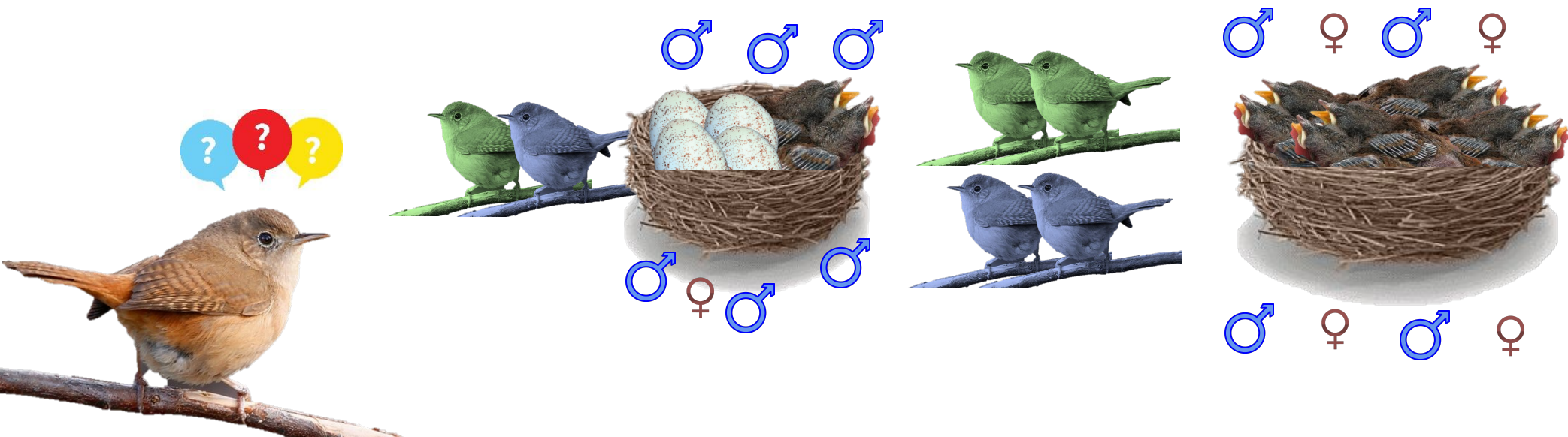


Objetivos

1. Estudiar si existe apareamiento selectivo entre los linajes de ratón de contacto de Uspallata.



2. Estudiar si la divergencia genética entre los integrantes de la población afecta la viabilidad de la progenie y su proporción de sexos.



Área de estudio:

- **Uspallata**, Mendoza, Argentina ($32^{\circ}34'00''\text{S}$ $69^{\circ}19'00''\text{O}$, alt: 2039).
- Forestación (400 x 400 m) de *Populus* con ≈ 50 cajas nido.



Foto: Paulo Llambías

Muestreo

- 2 temporadas reproductivas (2015 - 2016).
- Anillado y muestreo de sangre de parejas y pichones.
- Vars. de nidificación: Número de huevos, pichones y volantones.
- Viabilidad de los pichones:
 - Éxito de eclosión (pichones eclosionados / huevos);
 - Éxito de volantoneo (volantones / pichones eclosionados);
 - Éxito general (volantones / huevos).



Ubicación de las Cajas nido.



Fotos: Paulo Llambías



Ratona anillada ocupando caja.

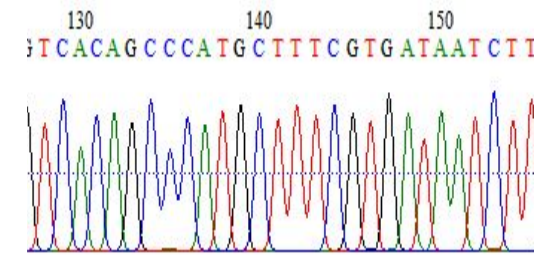


Nido y huevos de Ratona.



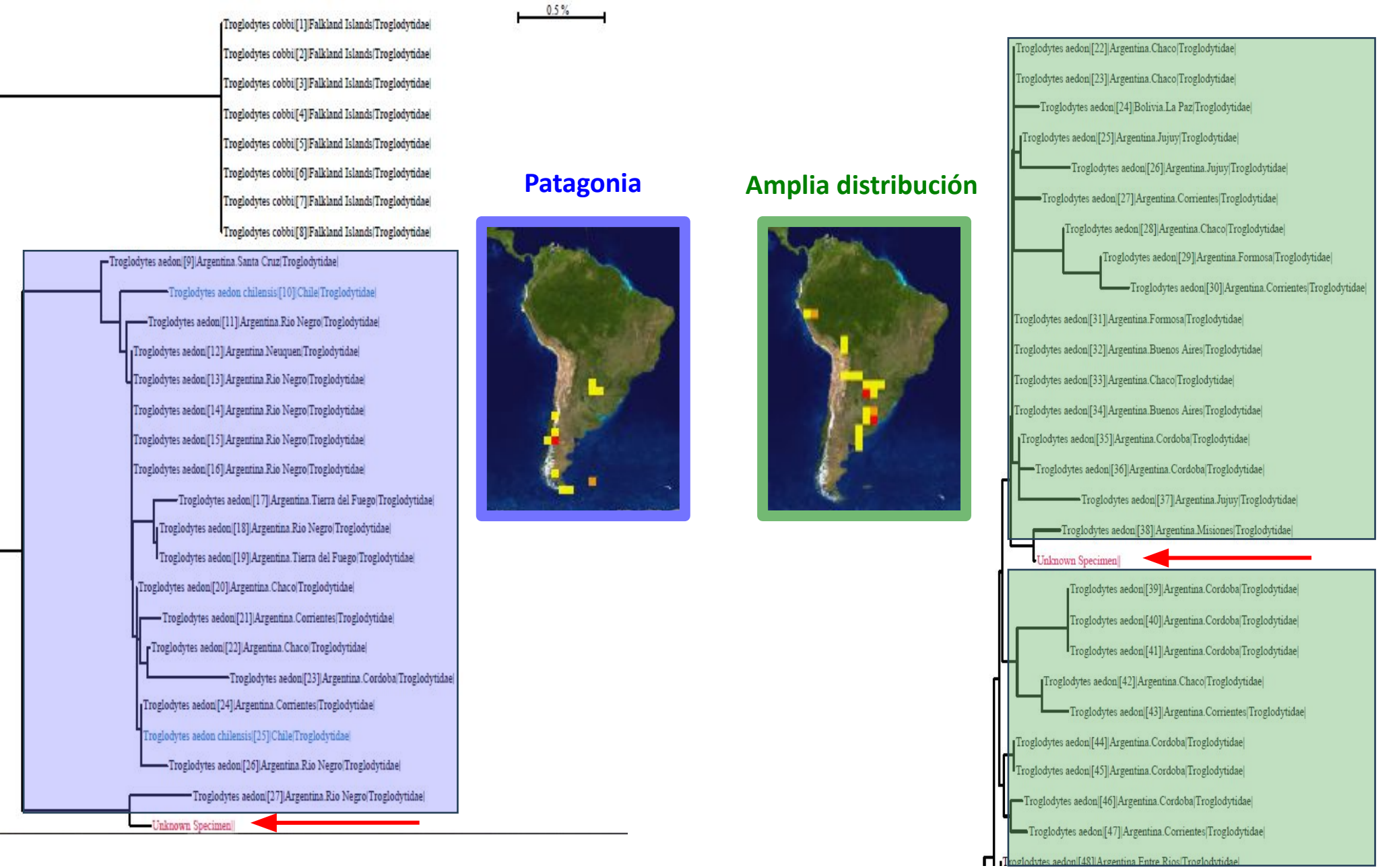
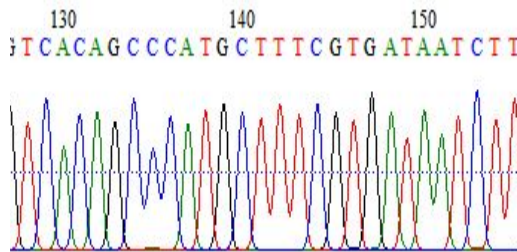
Asignación de padres al linaje mitocondrial:

- Amplificación (PCR) y secuenciación Sanger de fragmento de COI.



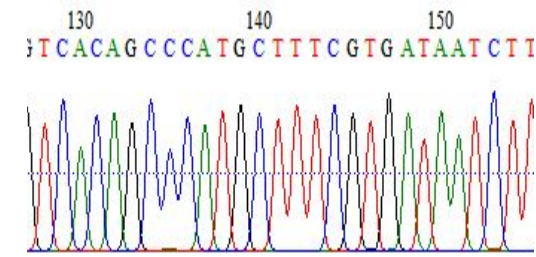
Asignación de padres al linaje mitocondrial:

- Amplificación (PCR) y secuenciación Sanger de fragmento de COI.
- Asignación por ID engine de BOLD (Barcode Of Life Project)



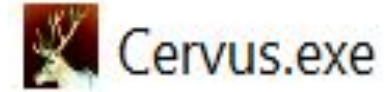
Asignación de padres al linaje mitocondrial:

- Amplificación (PCR) y secuenciación Sanger de fragmento de COI.
- Asignación por ID engine de BOLD (Barcode Of Life Project)



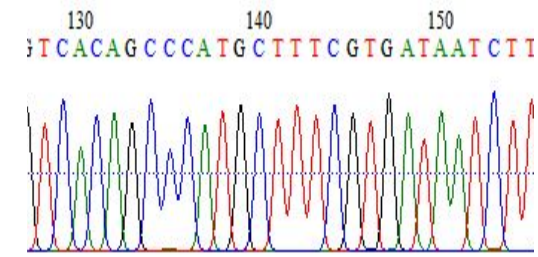
Asignación de pichones a padres genéticos:

- Secuenciación *ddrad* $\approx$ 1400 *loci* para ambos años (n = 206 pichones)
- Asignación con *Cervus* (Kalinowski *et al.* 2007).
- **73%** asignados con confianza a padre social o extrapareja (n = 150).
- 27% fue asignado a un padre extra pareja no muestreado (n = 56).



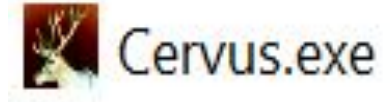
Asignación de padres al linaje mitocondrial:

- Amplificación (PCR) y secuenciación Sanger de fragmento de COI.
- Asignación por ID engine de BOLD (Barcode Of Life Project)



Asignación de pichones a padres genéticos:

- Secuenciación *ddrad* $\approx$ 1400 *loci* para ambos años (n = 206 pichones)
- Asignación con *Cervus* (Kalinowski *et al.* 2007).
- **73%** asignados con confianza a padre social o extrapareja (n = 150).
- 27% fue asignado a un padre extra pareja no muestreado (n = 56).



Asignación de pichones al sexo:

- 99% de los pichones se asignaron por amplificación de los cromosomas sexuales



Gel de PCR revelado con cromosomas sexuales amplificados.
Foto: Romina Gallenti



Foto: Agustín Casale



Análisis de datos

¿Apareamiento selectivo?

¿Aislamiento reproductivo postcigótico?

Test de independencia entre parejas del mismo o distinto linaje (social y genético).

`chisq.test()`
`fisher.test()`

Asociación entre la viabilidad de los pichones y la distancia genética entre padres sociales.

Asimetría de sexo en pichones (regla de Haldane).

`glmmTMB()` – package (glmmTMB)

`gamlss()` – package (gamlss)



v. 4.2.1

$p = 0,05$



R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.

Mollie E. Brooks, *et al.* (2017). glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. The R Journal, 9(2), 378-400. doi: 10.32614/RJ-2017-066.

Rigby R.A. and Stasinopoulos D.M. (2005). Generalized additive models for location, scale and shape,(with discussion), Appl. Statist., 54, part 3, pp 507-554.

Análisis de datos

¿Apareamiento selectivo?

¿Aislamiento reproductivo postcigótico?

Test de independencia entre parejas del mismo o distinto linaje (social y genético).

`chisq.test()`
`fisher.test()`

Asociación entre la viabilidad de los pichones y la distancia genética entre padres sociales.

Asimetría de sexo en pichones (regla de Haldane).

`glmmTMB()` – package (glmmTMB)

`gamlss()` – package (gamlss)



v. 4.2.1

$p = 0,05$



R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.

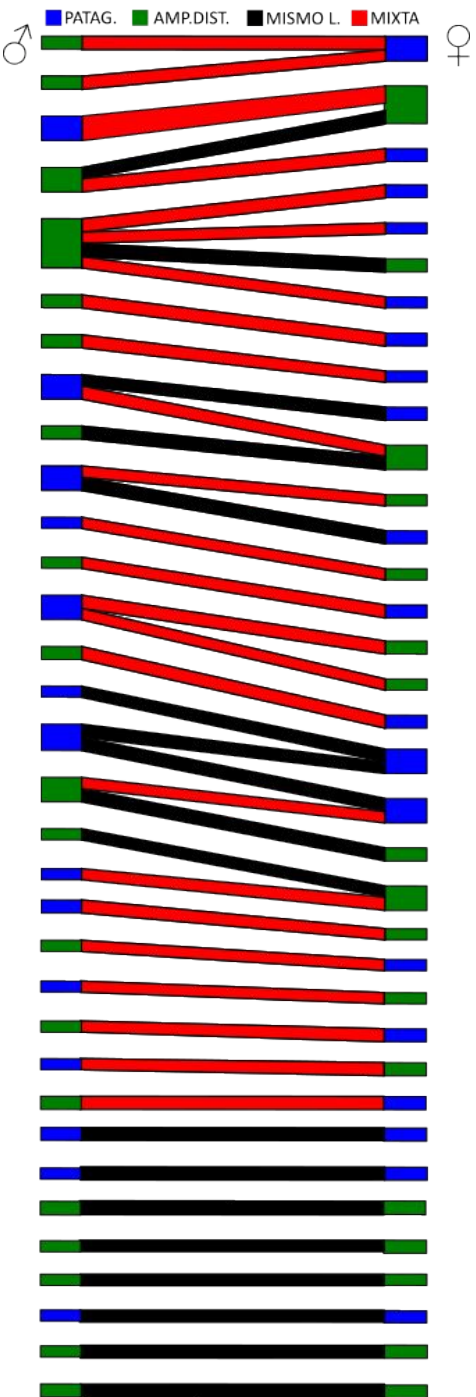
Mollie E. Brooks, *et al.* (2017). glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. The R Journal, 9(2), 378-400. doi: 10.32614/RJ-2017-066.

Rigby R.A. and Stasinopoulos D.M. (2005). Generalized additive models for location, scale and shape,(with discussion), Appl. Statist., 54, part 3, pp 507-554.

RESULTS



COMPOSICIÓN DE LA PAREJA

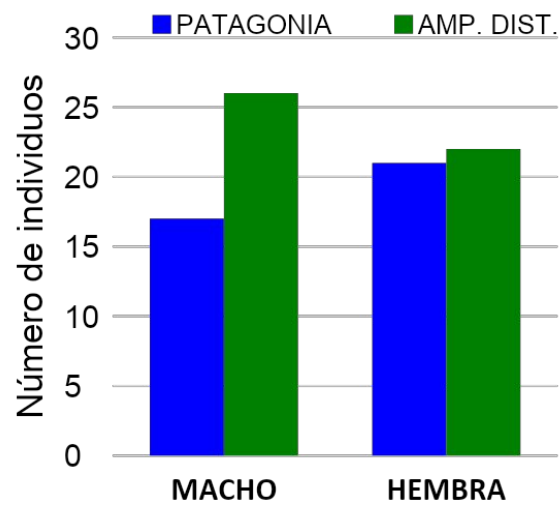
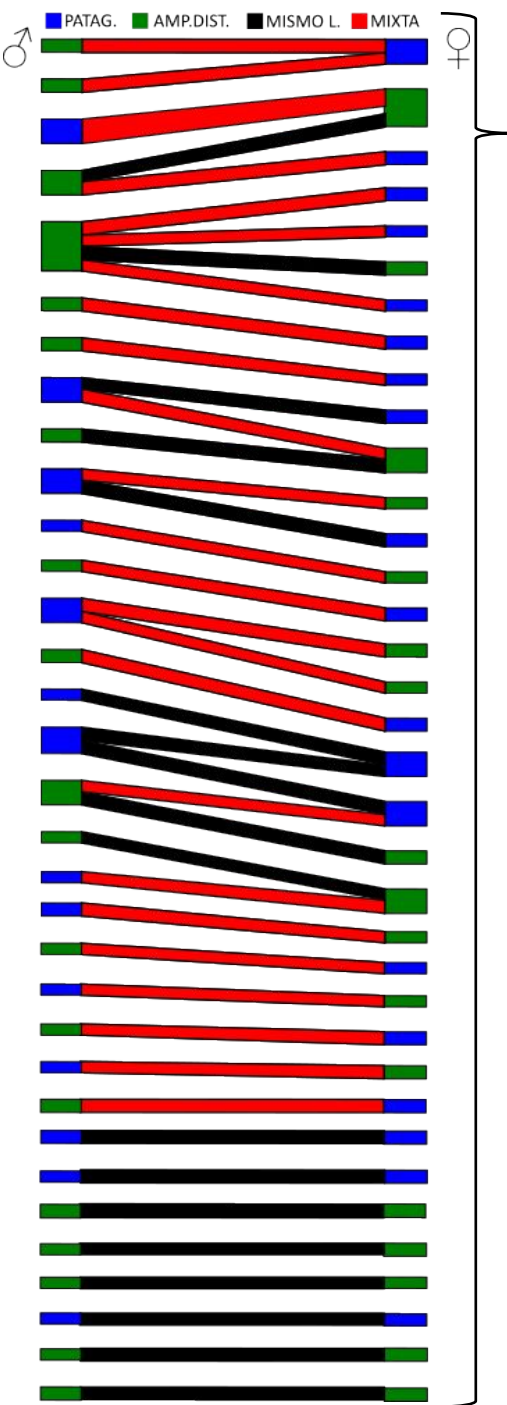


¿Apareamiento selectivo?

- $n = 43$ parejas



COMPOSICIÓN DE LA PAREJA

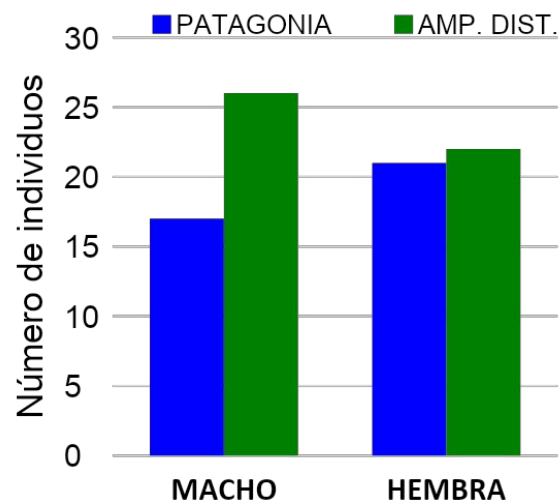
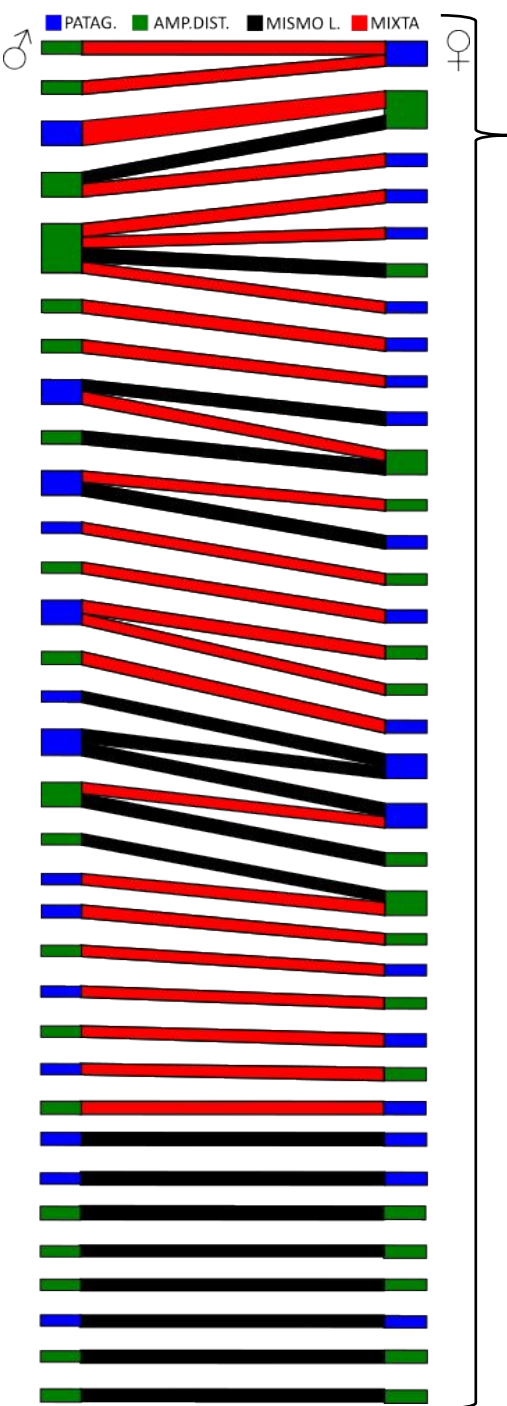


¿Apareamiento selectivo?

- n = 43 parejas
- **PExP**: 75% 2015 - 53% 2016 (37% de pichones).

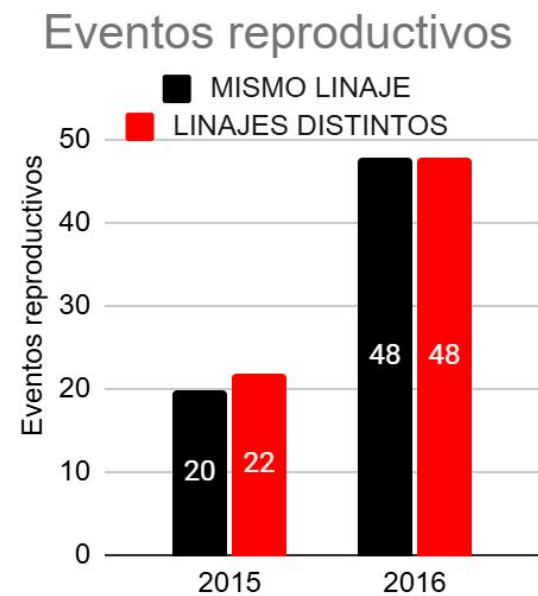
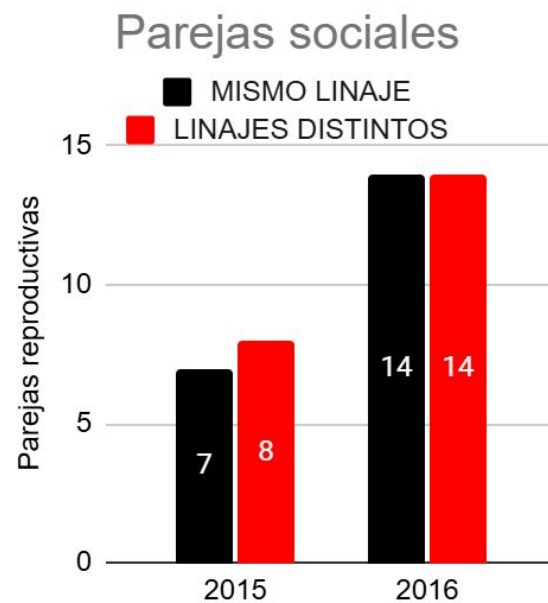


COMPOSICIÓN DE LA PAREJA



¿Apareamiento selectivo?

- n = 43 parejas
- PExP: 75% 2015 - 53% 2016 (37% de pichones).

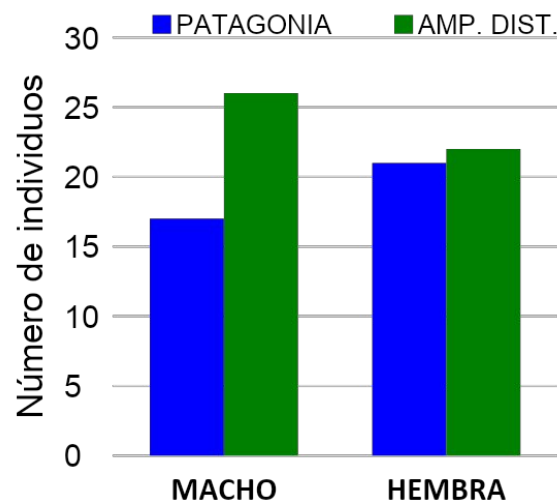
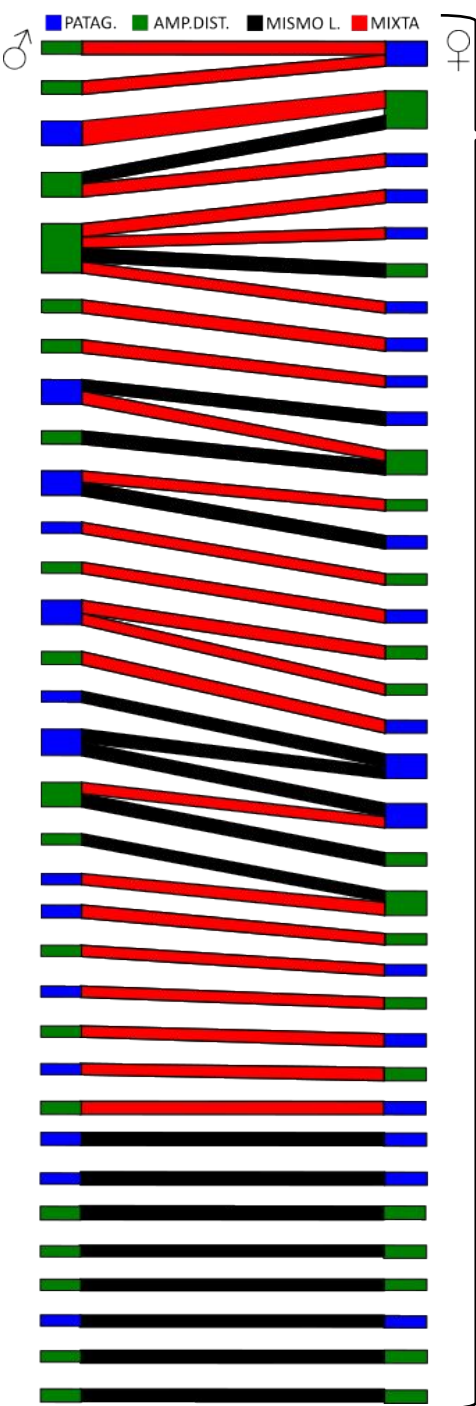


Prueba de Fisher y χ^2

NS



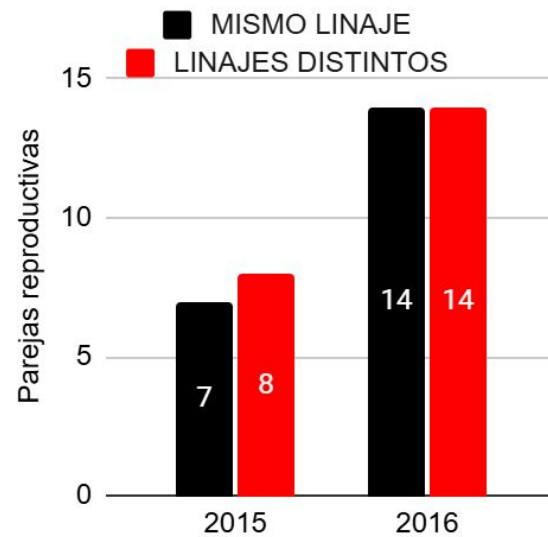
COMPOSICIÓN DE LA PAREJA



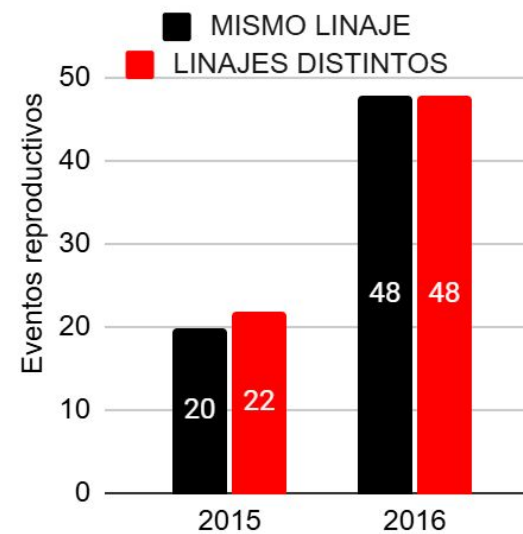
¿Apareamiento selectivo?

- $n = 43$ parejas
- **PEXP**: 75% 2015 - 53% 2016 (37% de pichones)
- Ningún patrón de preferencia aparente
- La probabilidad de que una pareja esté compuesta por individuos del mismo o distinto linaje no fue distinta de lo esperado por azar.

Parejas sociales

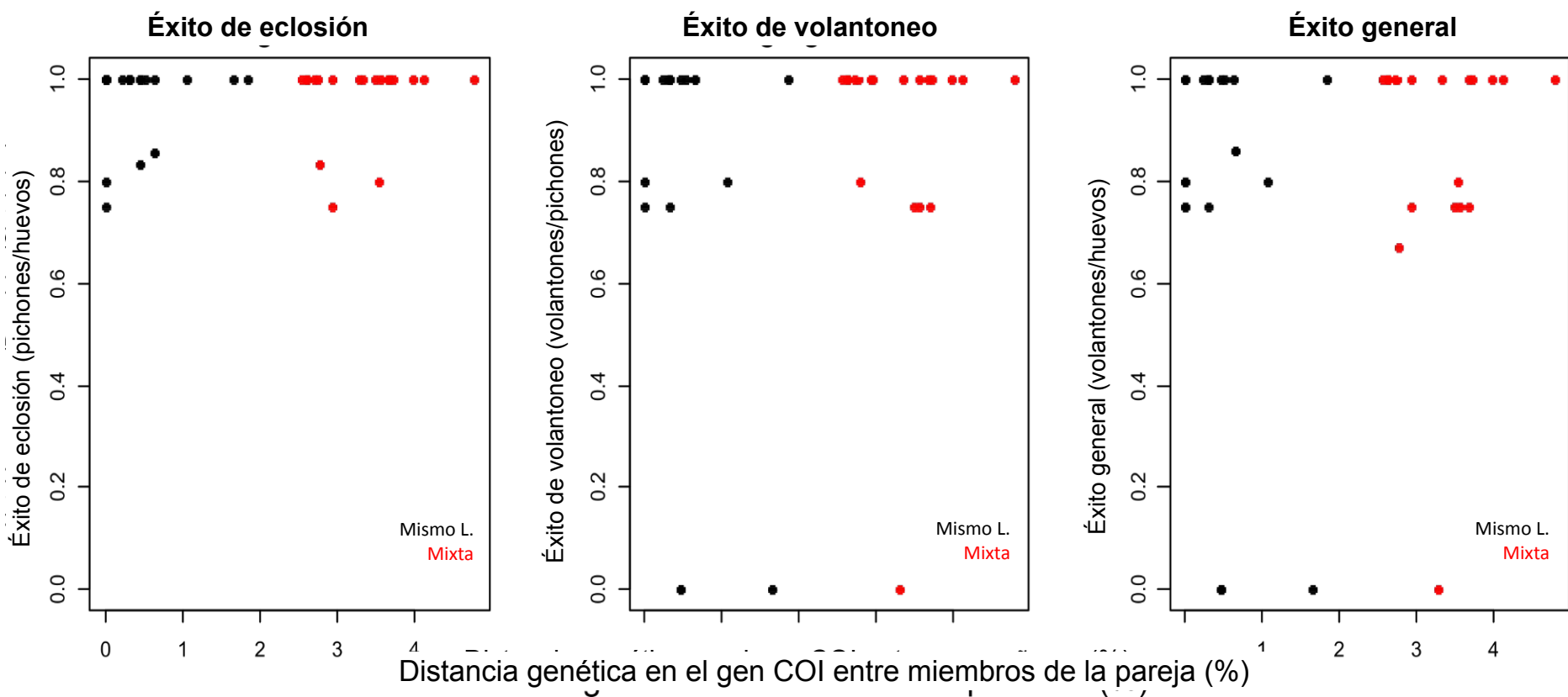


Eventos reproductivos



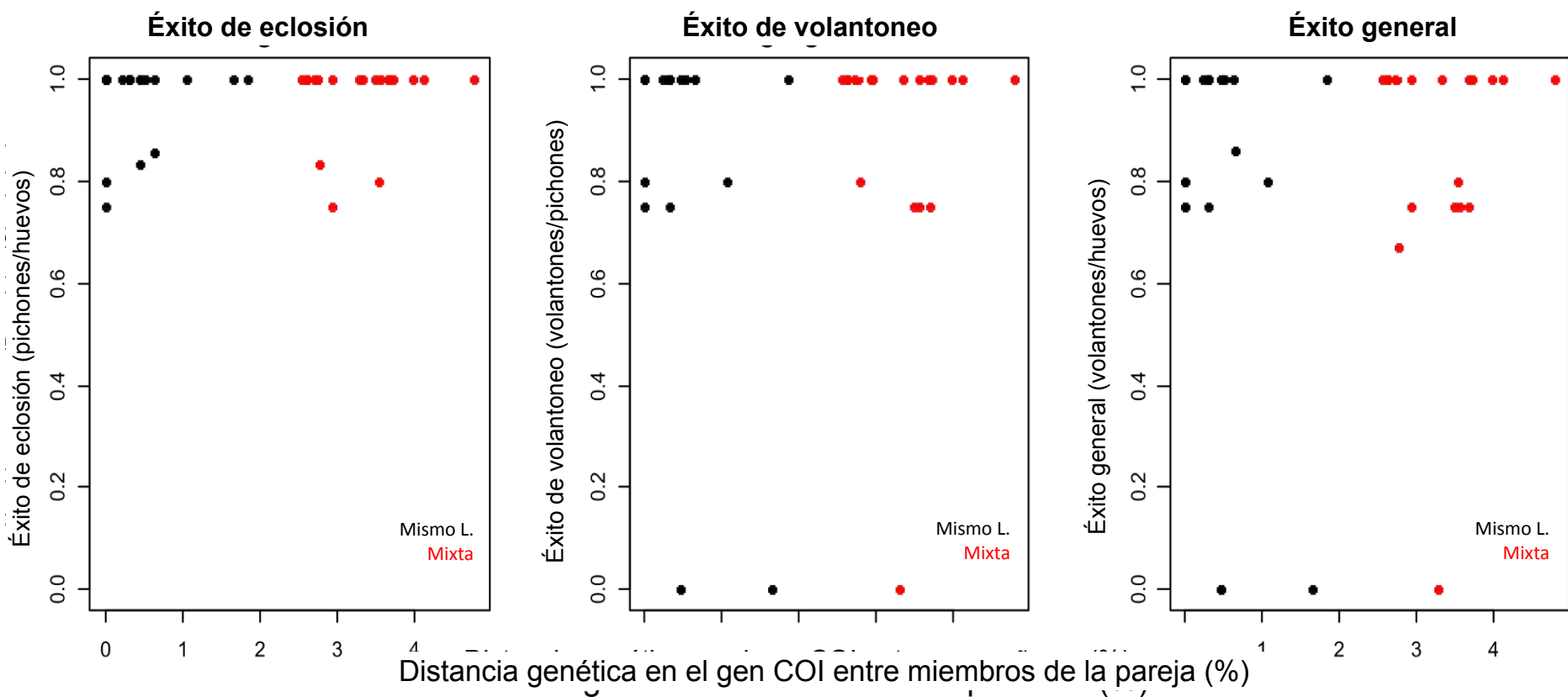
No hay
apareamiento
selectivo





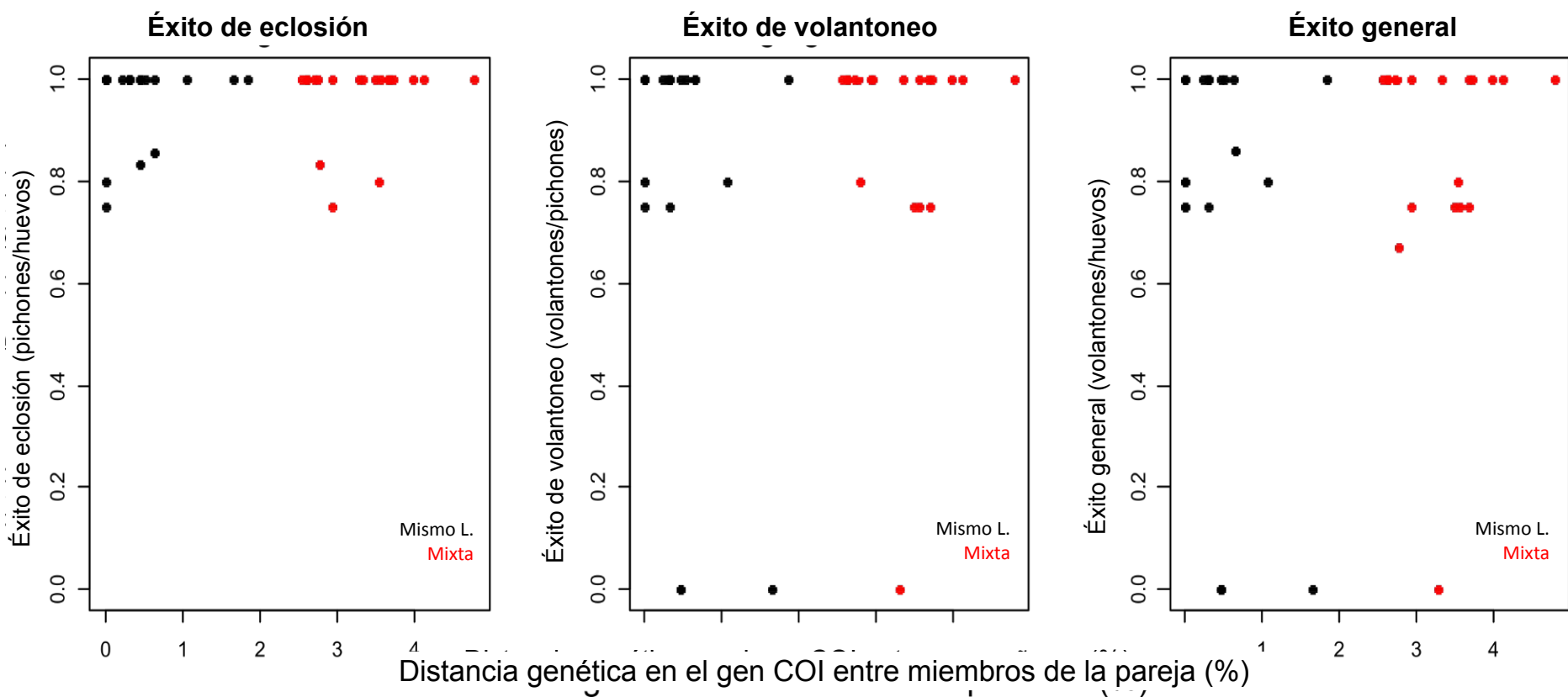
- En la mayoría de los nidos, la mayoría de los pichones alcanzan a abandonar el nido.





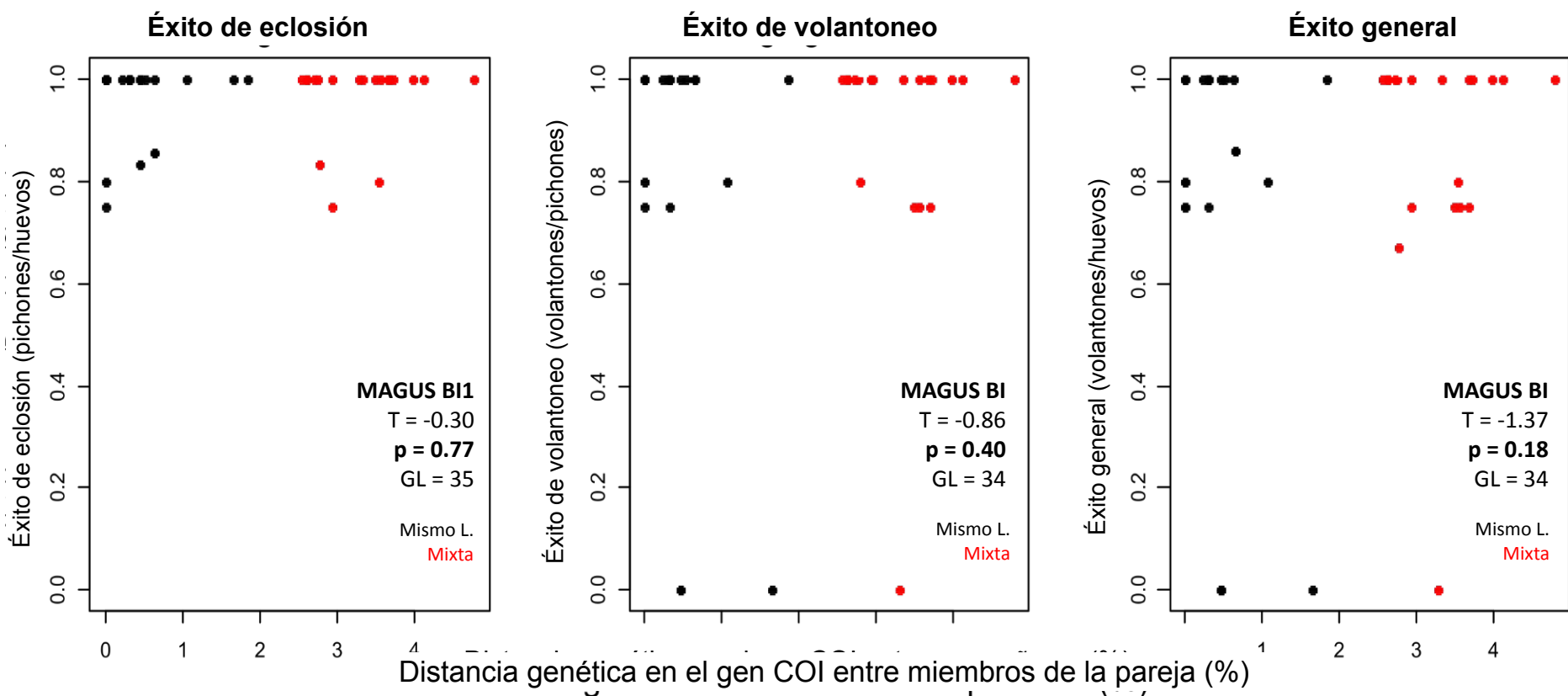
- En la mayoría de los nidos, la mayoría de los pichones alcanzan a abandonar el nido.
- Las fallas completas ocurrieron solo por predación.





- En la mayoría de los nidos, la mayoría de los pichones son exitosos.
- Las fallas completas ocurrieron solo por predación.
- El éxito máximo del nido se logró en 50% de las parejas del mismo linaje, y 63% para parejas de linajes diferentes.





- En la mayoría de los nidos, la mayoría de los pichones son exiosos.
- Las fallas completas ocurrieron solo por predación.
- El éxito máximo del nido se logró en 50% de las parejas del mismo linaje, y 63% para parejas de linajes diferentes.

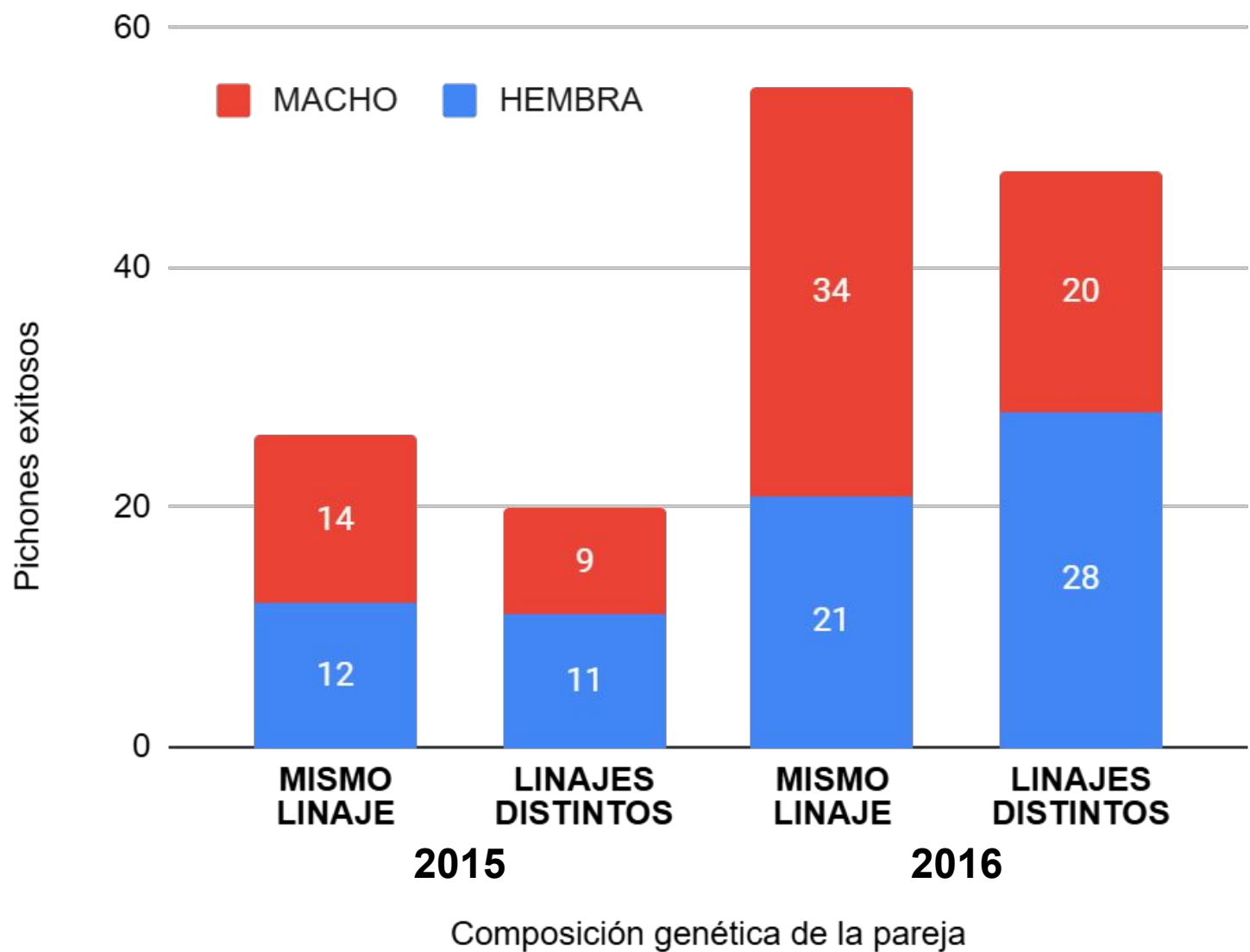
No hay asociación significativa entre variables de nidificación y distancia genética



¿Asimetría en el sexo de los pichones?

Regla de Haldane: “Cuando en la descendencia F1 de dos animales de razas o especies diferentes, un sexo está ausente, es raro o estéril, ese sexo es el heterogamético” (las hembras)

Proporción de sexo en pichones

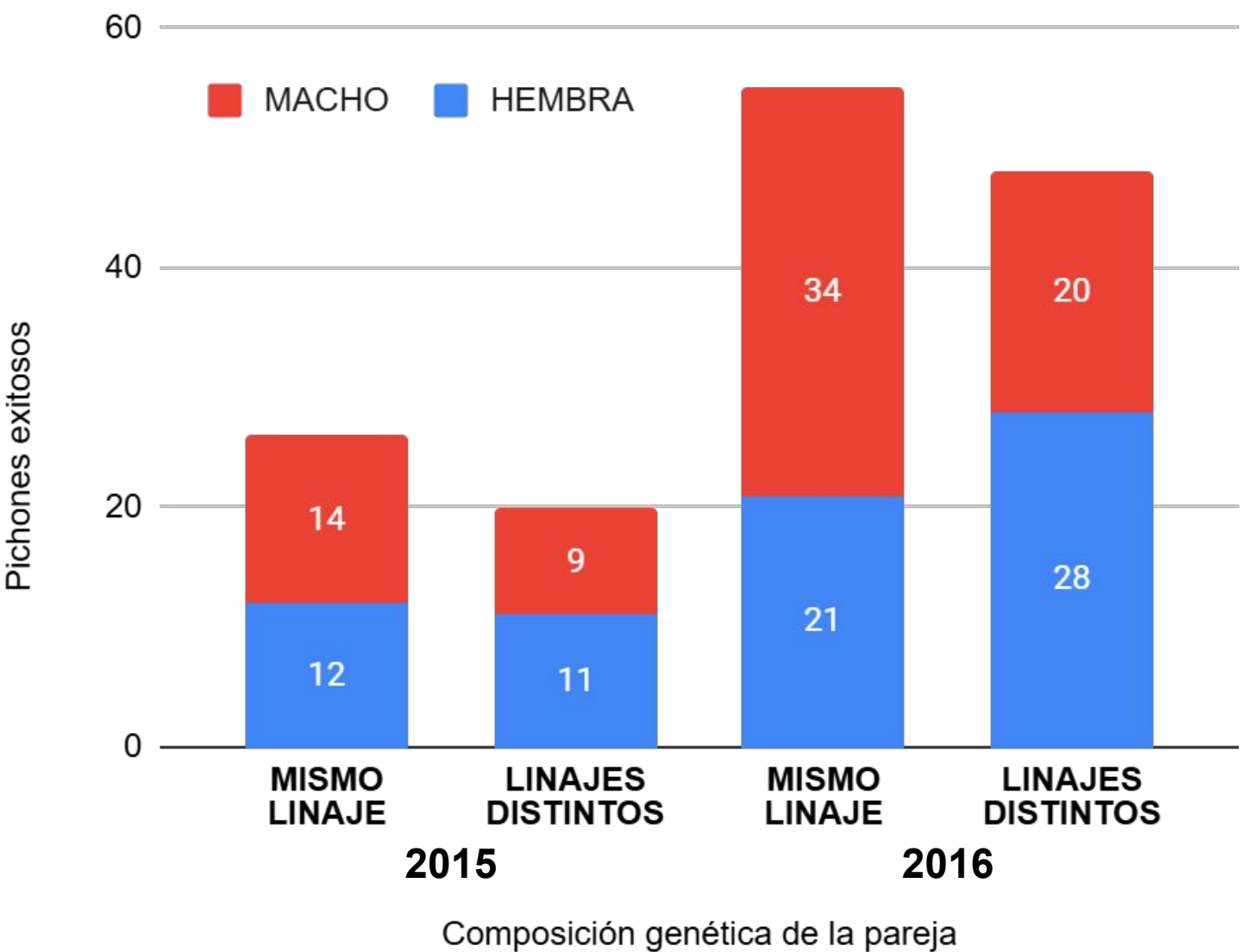


¿Asimetría en el sexo de los pichones?

Regla de Haldane: “Cuando en la descendencia F1 de dos animales de razas o especies diferentes, un sexo está ausente, es raro o estéril, ese sexo es el heterogamético” (las hembras)

- 149 eventos reproductivos.
- Test binomial a dos colas ($p = 0,5$).

Proporción de sexo en pichones

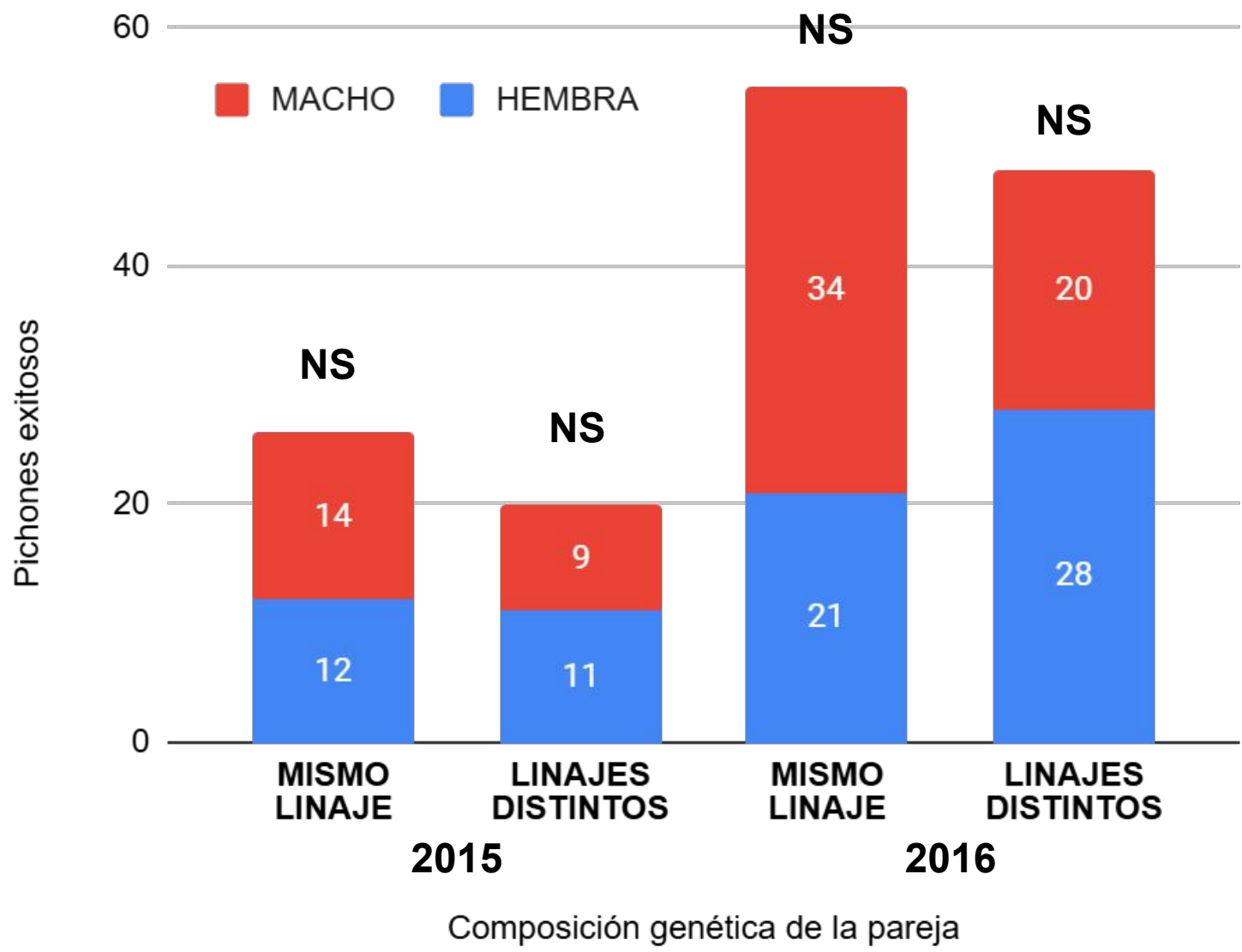


¿Asimetría en el sexo de los pichones?

- 149 eventos reproductivos.
- Test binomial a dos colas ($p = 0,5$).

Regla de Haldane: “~~Cuando en~~ la descendencia F1 de dos animales de razas o ~~especies~~ diferentes, un sexo está ausente, es raro o esteril, ese ~~sexo es el~~ heterogamético” (las hembras)

Proporción de sexo en pichones



No hay asimetría en los sexos.

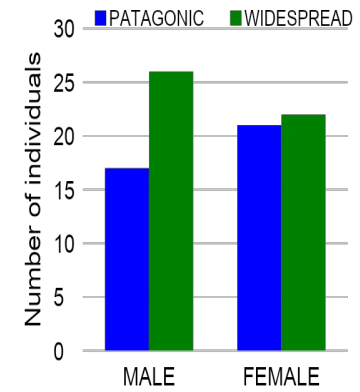


Discusión



Discusión

Buena representación de ambos linajes.
La falla en la nidificación dependió exclusivamente de la predación.



Discusión

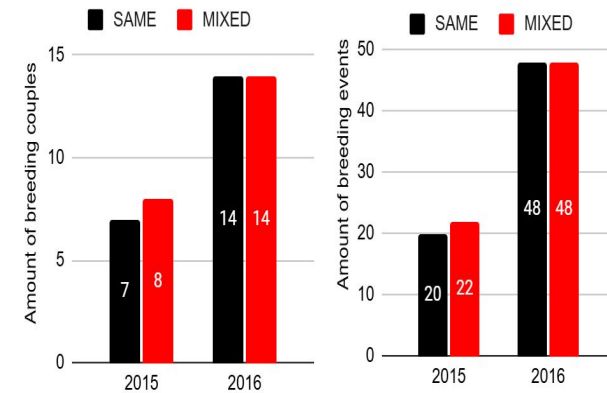
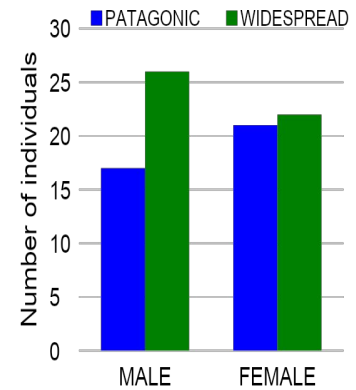
Buena representación de ambos linajes.

La falla en la nidificación dependió exclusivamente de la predación.

1. No se encontró apareamiento selectivo:

A pesar de la separación ~ 2 millones de años, no hay patrón de preferencia por aparearse con individuos del mismo o distinto linaje.

No habría barreras precigóticas al flujo génico actuando, tales como las diferencias en los cantos o en la coloración.



Discusión

Buena representación de ambos linajes.

La falla en la nidificación dependió exclusivamente de la predación.

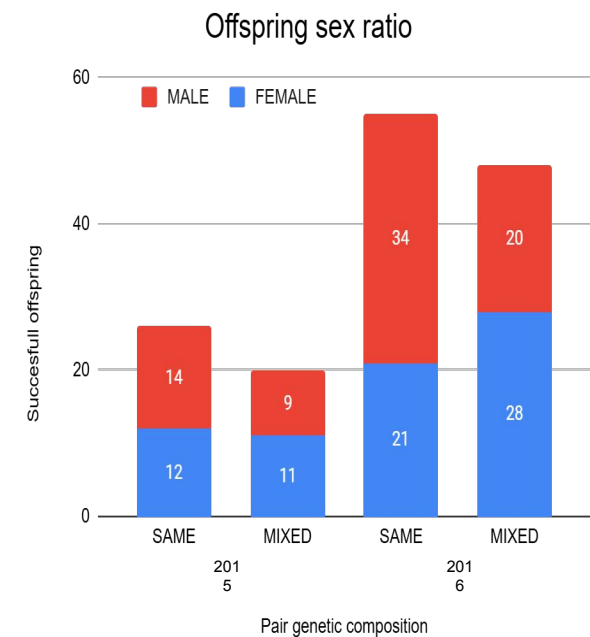
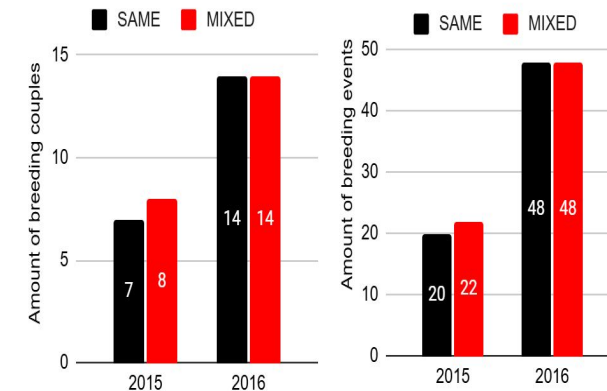
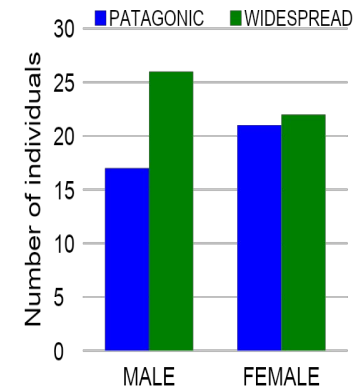
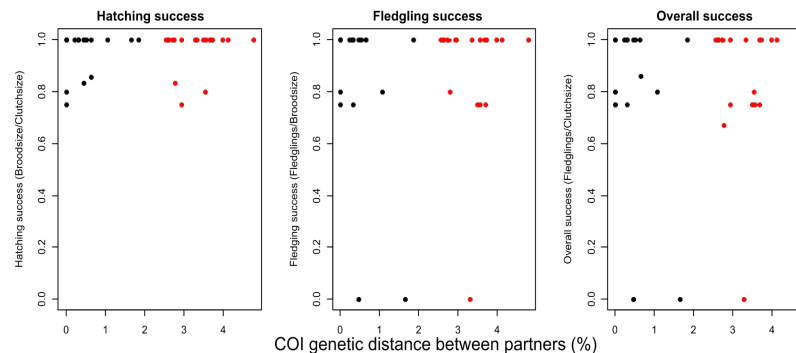
1. No se encontró apareamiento selectivo:

A pesar de la separación ~ 2 millones de años, no hay patrón de preferencia por aparearse con individuos del mismo o distinto linaje.

No habría barreras precigóticas al flujo génico actuando, tales como las diferencias en los cantos o en la coloración.

2. No hay asociación entre las variables de viabilidad de la progenie o la proporción de machos con la distancia genética mitocondrial:

A pesar del $\sim 5\%$ de divergencia entre linajes en el gen COI, no encontramos evidencia de un efecto en la viabilidad de los huevos o pichones (*i.e.*, no hay evidencia de aislamiento reproductivo postcigótico).



¿Cómo seguimos?

Estudiar cómo **los genes nucleares que interactúan con la mitocondria**, pueden hacerlo sin importar el linaje.



¿Cómo seguimos?

Estudiar cómo **los genes nucleares que interactúan con la mitocondria**, pueden hacerlo sin importar el linaje.

Análisis de cantos de la zona de contacto vs. áreas alopátricas de cada linaje para ver si ha ocurrido el desplazamiento de caracteres vocales (no divergieron, divergieron y se homogeneizaron en contacto secundario o son irrelevantes para la obtención de parejas).



100 AÑOS
JUNTO A VOS
Y LA NATURALEZA



Colaboradores



Darío Lijmaer



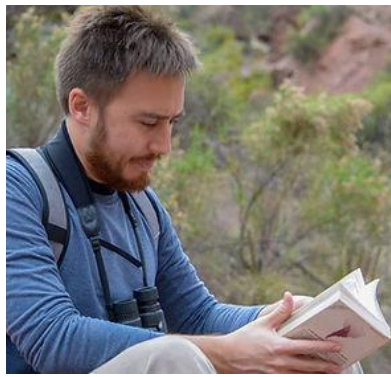
Pablo
Tubaro



Belén Bukowski



Paulo Llambías



Ramiro Arrieta



Leonardo Campagna



Pablo Lavinia



Financiamiento

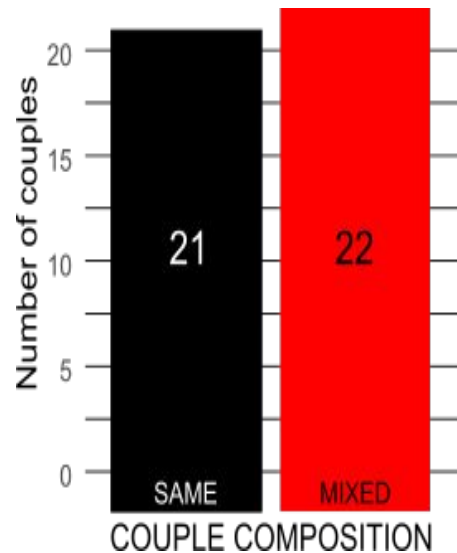
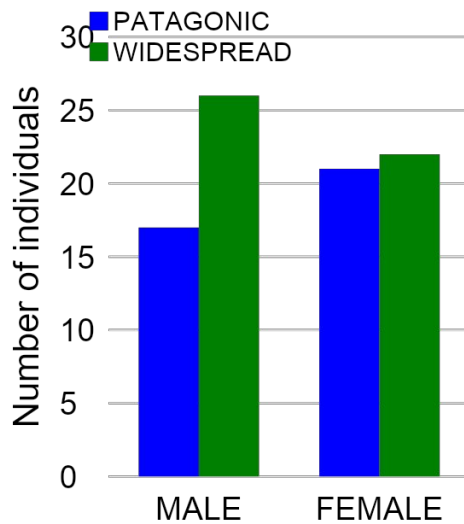
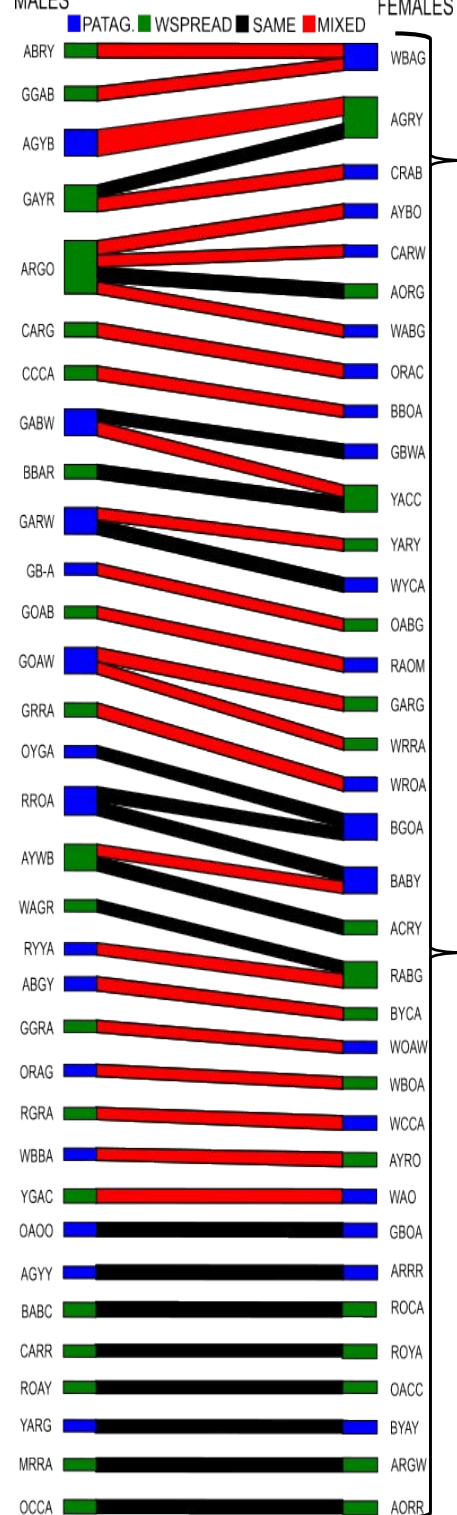


Permisos



COUPLE COMPOSITION

MALES FEMALES



Assortative mating?

- n = 43 couples
- Both years had good representation of males and females from both lineages.
- No pattern of preference of mates from their own vs. the other lineage.
- The chance for a couple of being composed by individuals of the same or different lineages did not differ from random expectations.

Breeding season	2015		2016	
Independence test	χ^2	Fisher test	χ^2	Fisher test
Estimate	0.04	0.93	0.04	0.81
P value	≈ 1	≈ 1	≈ 1	≈ 1
DF	1	-	1	-
Significance	NS	NS	NS	NS

NO ASSORTATIVE MATING

