

¿CUÁL ES EL ENFOQUE DE LA ECOLOGÍA MOLECULAR?

EJEMPLOS CON UN RATÓN ESPINOSO

“I saw the double helix as the culmination of almost a century of genetics, but for Francis it was to be the splendid beginning of a new life not only for him but for biology itself”. Watson, 2000.

Ella Vázquez-Domínguez

Instituto de Ecología, UNAM, Apdo. Postal 70-275, 04510 México, D. F., México. evazquez@ecologia.unam.mx

Resumen

La ecología molecular se define, de manera general, como el conocimiento y aplicación de marcadores genéticos moleculares para explorar preguntas y problemas en ecología y evolución. La naturaleza y la escala de los estudios de ecología molecular están definidas por el hecho de que se estudian las relaciones genéticas entre individuos, poblaciones y especies, el empleo de marcadores genéticos moleculares y la necesidad de contar con información cualitativa y cuantitativa de cambios en la estructura o composición genética. En este capítulo describo los principales marcadores y técnicas moleculares que se utilizan en ecología molecular, como la electroforesis de aloenzimas y aquellas relacionadas con el análisis directo del ADN. Se explican también los niveles descriptivo y mecanístico en que se ha dividido, que involucran, respectivamente, la descripción de los patrones de diversidad a nivel fenotípico y genotípico y la evaluación del efecto de los factores históricos y contemporáneos en la conformación de los patrones de biodiversidad observados. Así, estos dos niveles hacen posible desarrollar hipótesis acerca de las relaciones evolutivas y estudiar aspectos particulares de los organismos, como la adaptación de las poblaciones a cambios ambientales, la selección de pareja, el efecto de la fluctuación del tamaño poblacional sobre caracteres adaptativos, la hibridización, la identificación de probables mecanismos de especiación o la relación entre la heterocigosidad y adecuación. Finalmente, muestro cómo se puede explorar una pregunta ecológica y evolutiva—la relación entre variación genética y componentes de adecuación— bajo el enfoque de la ecología molecular. Ello, describiendo dos estudios en las selvas secas de Chamela,

Jalisco, en los que se encontró que los individuos del roedor espinoso, *Liomys pictus*, que son genéticamente más variables tienen mayor peso corporal, conservan (metabolizan) mejor el agua y son los adultos, en promedio, los más heterocigos. Asimismo, que durante la fluctuación estacional de densidad de las poblaciones de *L. pictus*, el promedio de individuos heterocigos es mayor en la fase de disminución de la densidad. De manera que se cumple la premisa de que en ambientes con condiciones ambientales impredecibles los individuos heterocigos tienen ventaja sobre los menos heterocigos. Existen muchas áreas en las que la ecología molecular tiene aplicación directa; entre éstas tenemos a la biología y genética de la conservación, la biología de la conducta, la macroecología y la filogeografía.

Palabras clave: ecología molecular, genética de poblaciones, marcadores moleculares, heterocigosidad, adecuación, *Liomys pictus*.

Abstract

Molecular ecology is broadly defined as the application of molecular genetic markers to problems in ecology and evolution. The objective and the scale of molecular ecology are defined by the fact that it involves studies of the genetic relationships among individuals, populations and species, that molecular genetic markers are employed, and that it requires qualitative and quantitative information about changes in genetic structure and composition. In the present chapter, I describe the main molecular markers and techniques used by molecular ecology, like allozyme electrophoresis and those related to the direct analysis of DNA. I also

explain the descriptive and mechanistic levels in which molecular ecology is subdivided. The first approach describes the patterns of biodiversity at molecular and phenotypic levels; the second, explores the relative contributions of historical and extant forces in shaping the patterns of biodiversity observed. Thus, these two approaches allow to develop hypotheses concerning evolutionary relationships and to study particular aspects of organisms, such as population adaptation to environmental changes, mate selection, the effect of fluctuating density on adaptative characters, hybridization, identification of plausible mechanisms of speciation, or the relationship between heterozygosity and fitness components. Finally, I show how one can explore an ecological and evolutionary question—the relationship between genetic variability and fitness components—under the approach of molecular ecology. The latter, by describing two studies conducted in the dry forest in Chamela, Jalisco, in which individuals of the spiny pocket mice, *Liomys pictus*, that are more genetically variable weigh more, conserve (metabolize) water better, and, on average, the adults are the more heterozygous individuals. Similarly, that during the seasonal density fluctuation of populations of *L. pictus*, the average number of heterozygous individuals is higher at the declining density phase. Hence, the premise that in habitats that have unpredictable environmental conditions, the more heterozygous individuals have an advantage over the less heterozygous, is satisfied. There are many different areas in which molecular ecology can be applied, among which are conservation biology and conservation genetics, behavioral biology, macroecology and phylogeography.

Keywords: Molecular ecology, genetics of populations, molecular markers, heterozygosity, fitness, *Liomys pictus*.

Introducción

En el año 2003 se cumplieron 50 años del descubrimiento, por James Watson y Francis Crick, de la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN). En 1953, Watson y Crick dedujeron su composición molecular—dos cadenas “torcidas” en una doble hélice— y con ello pudieron explicar cómo se copiaban los genes y cómo se transmitían de una generación a otra. Lo más extraordinario es que el conocer dicha estructura permi-

tió el descubrimiento del código genético que compartimos todos los seres vivos. Sorprendentemente, 50 años después ya tenemos el mapa completo del ¡genoma humano!

Para explicar lo que se entiende por ecología molecular, primero haré un breve recuento sobre lo que estudia la ecología, lo que describe la genética de poblaciones y cómo ambos aspectos están relacionados con la evolución. Ya con estos antecedentes, describiré las bases y conceptos principales de la ecología molecular, así como los marcadores y las técnicas moleculares que más utiliza. Finalmente, como un ejemplo del tipo de preguntas y estudios que se pueden desarrollar bajo el enfoque de la ecología molecular, expondré la forma en que revisamos algunas ideas sobre la relación entre variación genética y componentes de adecuación; para esto último detallaré las bases teóricas de dicha relación y explicaré un par de estudios con poblaciones del ratón espinoso, *Liomys pictus*.

La ecología, en su definición más general, estudia la distribución y abundancia de los organismos, tradicionalmente en tres niveles de organización. El nivel del individuo, en donde interesa conocer cómo los organismos son afectados por su ambiente biótico y abiótico y cómo afectan los mecanismos a través de los cuales sobreviven y obtienen sus recursos, así como su fisiología y comportamiento. Un siguiente nivel, la ecología de poblaciones (grupos de individuos de una misma especie), la cual implica el estudio de la presencia o ausencia de especies particulares, su abundancia, densidad, estructura de edades, tasas de natalidad, mortalidad, inmigración y emigración, patrones de crecimiento, así como las interacciones con otras poblaciones, tales como competencia y depredación. Finalmente, la ecología de comunidades hace referencia a ensamblajes de diferentes poblaciones que ocurren al mismo tiempo en el mismo espacio, de las que se estudia su composición, estructura y funcionamiento (para información extensa del tema, ver Begon *et al.*, 1996).

Por otro lado, la genética de poblaciones y la evolución están relacionadas principalmente con las propiedades genéticas y fenotípicas de los individuos (Recuadro 1). En las poblaciones naturales los individuos tienen una estructura genética particular, por lo que nunca son genéticamente idénticos (con excepciones en algunos organismos clo-

Recuadro 1 Definición de términos de uso común en genética y evolución

La evolución de los organismos en sistemas naturales es resultado de los procesos de especiación y adaptación. Mediante la especiación se originan nuevas entidades evolutivas, nuevas especies, dando lugar a la gran diversidad que observamos en la naturaleza. La adaptación es el mecanismo de cambio genético de una población, por el cual un carácter estructural o funcional “mejora” en relación con una función específica, o donde una población está mejor adaptada a alguna característica de su ambiente. Es también un estado de un carácter que se ha fijado en una población porque provee una ventaja selectiva (Futuyma lo llama “un concepto complejo y pobremente definido”; Futuyma 1986).

La adaptación no es lo mismo que la adecuación, la cual se refiere a la contribución promedio de un alelo, genotipo o carácter a la siguiente (o subsiguientes) generación(es), comparada con la de otros alelos, genotipos, caracteres.

La genética de poblaciones estudia el proceso de adaptación y trata de explicarlo en términos cuantitativos y predictivos. Un gen es la unidad funcional de la herencia y un alelo es una de diferentes formas de un mismo gen (polimorfismos). Un locus es equivalente a gen, y su plural es loci. El genotipo es el grupo de genes que posee un individuo, mientras que el fenotipo son las propiedades o características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, conductuales, entre otras, que se desarrollan como resultado de la acción entre el genotipo y el ambiente. El ácido desoxirribonucleico (ADN) es una molécula orgánica portadora del material genético en las células.

La variación o variabilidad genética, que puede evaluarse dentro de un individuo, entre individuos en una población, y entre poblaciones, se describe por el número y frecuencia de los alelos polimórficos. Una de las formas de medirla es por la heterocigosidad, que es el porcentaje de genotipos en los que el individuo promedio es heterocigoto.

Lecturas recomendadas: Mayr (1976), Futuyma (1986), Gillespie (1998), Nuñez-Farfán y Eguiarte (1999).

nales). Dicha estructura genética tiene un patrón temporal (cambia a lo largo del tiempo), ya que las proporciones de los individuos con un genotipo u otro cambian tanto en tiempos cortos (ecológicos) como largos (evolutivos).

Existe además un patrón espacial de la estructura genética, que se refleja en las diferencias genotípicas o fenotípicas entre individuos de la misma especie que se encuentran en sitios distintos. Así, hay diferencias tanto en la estructura genética de las poblaciones como en la forma en que se expresan los genotipos como respuesta a la influencia del ambiente. El común denominador de estos patrones temporales y espaciales es la variación o variabilidad genética de los individuos, variación que es precisamente un prerrequisito para la evolución. A finales de los años setenta, J. Roughgarden publicó su libro sobre ecología

de poblaciones y ecología evolutiva; en éste, señalaba la reciente fusión de la ecología con la teoría evolutiva, ya bien desarrollada para entonces, y a la que se le daba el nombre de ecología evolutiva (Roughgarden, 1979). Este autor resaltaba que, dado que la selección natural y la evolución son procesos que ocurren a nivel de las poblaciones, el punto de unión principal entre la teoría evolutiva y la ecología son los estudios de poblaciones. Y es a partir, sobre todo, de la teoría y los modelos (matemáticos) desarrollados en la ecología de poblaciones, donde se lleva a cabo la fusión con la teoría evolutiva (Roughgarden, 1979).

Con estos antecedentes en mente, a continuación explicaré qué se entiende por ecología molecular, cuáles son sus bases teóricas y metodológicas, sus niveles de estudio, y revisaré algunos ejemplos.

¿Qué es la ecología molecular?

La ecología molecular se define, de manera general, como el uso de marcadores genéticos moleculares para explorar preguntas y problemas en ecología y evolución, abarcando estudios sobre las relaciones genéticas entre individuos, poblaciones y especies. Este término se popularizó sobre todo a partir de la publicación de la revista *Molecular Ecology*. En la editorial del primer número de la revista, en mayo de 1992, los editores fundadores mencionan que “se publicarán resultados que utilicen el marco conceptual de la biología molecular y que provean conocimiento innovador sobre cualquier aspecto en ecología o biología poblacional”. Sin embargo, sus orígenes realmente se remontan a la fundación en Inglaterra de la School of Ecological Genetics (1950-1970) por E. B. Ford, donde se enfatizaban los estudios sobre “los ajustes y adaptaciones de poblaciones silvestres a su ambiente, a través del trabajo combinado de campo y de laboratorio”. La formación de esta escuela de genética ecológica representó uno de los primeros intentos por estudiar e interpretar las variaciones en adecuación de caracteres ecológicamente significativos de los organismos, dentro de un marco evolutivo (Ford, 1964). Con el uso de marcadores moleculares es posible describir variantes genéticas en los organismos, es decir, se pueden conocer las diferencias y similitudes genéticas entre individuos. Particularmente, a través del conocimiento y aplicación de

los marcadores moleculares se puede estudiar la estructura y diversidad de los genes y su transmisión, así como las interacciones entre genotipo y ambiente (Recuadro 1). Es así que en el concepto de ecología molecular va implícita la evolución, ya que involucra el estudio de los cambios en la estructura genética de los organismos y los procesos que llevan a dichos cambios. Asimismo, incluye a la ecología por el papel que juegan sobre esta variación genética la heterogeneidad ambiental, las características demográficas, la estructura de edades, etcétera (los diferentes aspectos de la ecología descritos en la introducción) (Carvalho, 1998).

Sin embargo, la definición anterior puede parecer tremendamente amplia y, a su vez, podría pensarse que se sobrepone con lo establecido como campo de estudio de la ecología evolutiva. Para hacer más precisa la descripción de la ecología molecular, debemos mencionar tres aspectos que son particulares de este enfoque (Carvalho, 1998):

1. Sólo aplica al empleo de marcadores genéticos moleculares, por lo que hace referencia únicamente a estudios que utilizan la diversidad basada en ADN, ya sea en forma de proteínas, secuencias de ADN o de ARN. Ello implica que se consideran a su vez los principios de la teoría genética y de la herencia, por lo que estudios que evalúan temas como la composición o actividad biológica de compuestos orgánicos, como una proteína, no caen dentro de lo que se define como ecología molecular.

2. Considera problemas en ecología y evolución, que pueden incluir preguntas relacionadas con la forma en que las hembras seleccionan a sus parejas, los efectos de las fluctuaciones del tamaño efectivo de las poblaciones sobre caracteres de adecuación, o la evaluación de probables mecanismos de adaptación, por mencionar algunos. Tan general como pueda esto parecer, la clave que permite definir el enfoque de la ecología molecular es que para estudiar estas preguntas no sólo se requiere del uso de marcadores moleculares, sino que es necesario contar con información cualitativa y cuantitativa de cambios en la estructura o composición genética, ya sea en el tiempo (entre diferentes generaciones) o en el espacio (entre individuos, poblaciones o especies).

3. Las relaciones genéticas entre individuos, poblaciones y especies es la faceta que mejor define la naturaleza y

la escala de los estudios de ecología molecular, ya que permite hacer comparaciones, por ejemplo, entre padres y su posible progenie, o entre individuos de la misma especie pero separados geográficamente. La disponibilidad de marcadores moleculares para estudiar todos los niveles biológicos, así como los procesos que operan a los diferentes niveles, ha permitido la integración de lo que antes eran dominios separados, la micro y la macroevolución.

La ecología molecular describe así un enfoque más que una disciplina, y representa una amalgama de conceptos de diversos campos como biología y genética de poblaciones, biología molecular, ecología, biogeografía y sistemática. En esta amalgama contribuyen de manera fundamental modelos teóricos, inferencias estadísticas, estudios experimentales y trabajo de campo.

Técnicas y marcadores moleculares

La primera técnica molecular que permitió hacer análisis genéticos en poblaciones silvestres de manera relativamente rápida, cuantitativa y de amplia aplicación taxonómica, fue la electroforesis horizontal de geles, a mediados de 1960. Inicialmente se trabajaba con proteínas en geles de almidón (aloenzimas) (Smithies, 1955); ésta fue una herramienta fundamental para el desarrollo de los estudios sobre genética de poblaciones, aplicando los principios moleculares (Harris, 1966) y, más tarde, para incorporarlos en estudios sobre ecología y evolución (Dobzhansky, 1961; Lewontin, 1974). El principio de separación electroforética de moléculas es, precisamente, la base de la mayoría de los protocolos actuales sobre técnicas de evaluación de variación molecular, ya sea que se trate de enzimas, fragmentos de ADN o secuencias de ácidos nucleicos. La siguiente revolución tecnológica fue la posibilidad de estudiar directamente el ADN, lo cual se hizo posible a través del desarrollo de técnicas para analizar la estructura y diversidad de los ácidos nucleicos. La descripción del ADN reveló una gran fuente de variación genética, en forma de polimorfismos, comparada con la menor variabilidad observada en las aloenzimas.

La era del ADN

Hay diversas etapas en el desarrollo de las técnicas mole-

culares para el estudio del ADN; aquí explicaré las que considero determinantes para llevar al cabo los trabajos en ecología molecular (para información extensa ver Hillis *et al.*, 1996, Smith & Wayne, 1996).

La etapa inicial se da con el descubrimiento de las endonucleasas o enzimas de restricción, que cortan la cadena de ADN en una secuencia específica de nucleótidos, los llamados sitios de reconocimiento o sitios de restricción. Las enzimas de restricción no sólo sentaron las bases para la manipulación y fragmentación de la molécula de ADN, sino que proveyeron de herramientas para evaluar la diversidad de nucleótidos a través de la generación de fragmentos de restricción polimórficos (RFLPs, por sus siglas en inglés); esto es, los fragmentos “cortados” de ADN difieren en tamaño (peso molecular) entre individuos, lo que permite evaluar diferencias y variación genética entre muestras. Actualmente existen más de 100 enzimas de restricción, producidas de manera comercial, que tienen entre 4 y 6 pares de bases (longitud o tamaño del fragmento).

El uso de enzimas de restricción permitió, más adelante, que se analizara el ADN mitocondrial en animales (y algunos años después en plantas, por medio de ADN de cloroplasto) (Palmer, 1987). En esta molécula se encontraron, comparativamente y por las características inherentes a la misma (Avise, 1995), muy altos niveles de variación genética. El ADN mitocondrial es uno de los marcadores más utilizados para estudios de estructura poblacional, sistemática y filogeografía (Parker *et al.*, 1998; Avise, 2000).

Posteriormente, hubo la posibilidad de replicar, “copiar”, secuencias aisladas de genes específicos, al incorporarlos a un huésped (bacteria o virus) a través de lo que se conoce como clonación. Esto, aunado al desarrollo de la secuenciación de las cadenas de ADN, abrió otra de las etapas más importantes en la exploración de la diversidad genética. Fue en 1992 cuando se obtuvo (secuenció) el primer genoma completo de un organismo, a partir del cromosoma III de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, con un tamaño de 315 pares de bases (Oliver *et al.*, 1992).

Tal vez el desarrollo tecnológico reciente más importante ha sido la introducción de la reacción de la polimerasa en cadena (PCR por sus siglas en inglés) (Mullis *et al.*, 1986), con la que es posible replicar miles de millones de

veces el fragmento de ADN deseado, en tiempos muy cortos y a partir de cantidades ínfimas de producto inicial, sea éste tejido animal o vegetal, sangre, cabello, hueso, o material fósil. Con ello se han podido analizar tamaños grandes de muestra (muchos individuos) en tiempos cortos, por medio de diversas técnicas y con diferentes marcadores moleculares, y lo que es más importante, sin necesidad de destruir el organismo de estudio.

Finalmente, a pesar de estos adelantos metodológicos y de tecnología, todavía se requería de un procedimiento más fino para discriminar entre poblaciones y especies cercanamente relacionadas, así como para caracterizar genéticamente en detalle a los individuos, para explorar cuestiones de parentesco, hibridación, migración, etcétera. Esto fue posible al descubrir que muchos genomas eucariontes contienen fragmentos de secuencias altamente repetitivos (Tautz, 1993); con estos fragmentos se diseñaron marcadores extraordinariamente polimórficos, como los mini y microsatélites, entre otros. Actualmente el uso y aplicación de marcadores y técnicas moleculares abarca temas tan diversos como la medicina forense, análisis de paternidad, estimación de relación genética dentro y entre individuos, patentes genéticas y, por supuesto, genética y estructura de poblaciones y conservación de la biodiversidad (Smith & Wayne, 1996; Vázquez-Domínguez *et al.*, 2001). Estos avances moleculares han hecho posible el estudio de la diversidad de, por ejemplo, ¡comunidades de microbios! Trabajos de este tipo son de gran relevancia, ya que si se conoce la estructura de las comunidades es posible entender mejor cómo funcionan los sistemas biológicos (Dahllöf, 2002).

Después de este breve recuento de algunas de las técnicas moleculares que existen, no debe sorprender que una de las decisiones más difíciles en estudios de ecología molecular sea elegir qué marcador, o combinación de marcadores, es el más adecuado. En términos generales, es importante considerar el nivel de variabilidad genética que puede revelar el marcador. Asimismo, deben tomarse en cuenta las características genéticas y evolutivas del marcador, como son la forma parental de herencia (biparental o materna), la forma de herencia y expresión (dominante o codominante), tasa de mutación, respuesta a fuerzas microevolutivas y tasa de divergencia. Tal es el caso que,

por ejemplo, aunque la electroforesis de aloenzimas pareciera que ha sido desplazada por el ADN, es una técnica todavía ampliamente utilizada y que, dada la especificidad de las proteínas, puede aplicarse para analizar aspectos fisiológicos específicos. La ventaja es que actualmente la mayoría de los libros sobre técnicas moleculares describen dichas características en detalle, así como los usos y aplicaciones más apropiados (Avice, 1994; Hillis *et al.*, 1996, Smith & Wayne, 1996, entre muchos otros).

Niveles de la ecología molecular

Carvalho (1998) propone que existen dos niveles o divisiones de la ecología molecular que, aunque diferentes, están interrelacionados: el descriptivo y el mecanístico.

El descriptivo, que es el que se ha utilizado más ampliamente, se refiere al estudio y descripción de los niveles y la distribución de la variabilidad genética dentro y entre las poblaciones, es decir, los patrones de diversidad genética y fenotípica en espacio y tiempo. Con estos datos es posible estudiar qué factores pudieran estar moldeando la distribución de la estructura y diversidad genética, conocimiento que es fundamental para la formulación de hipótesis sobre las causas de los patrones observados. Por ejemplo, se puede inferir cuál es la contribución de diferentes fuerzas (*e.g.*, selección, colonización) en los diferentes patrones. Sin embargo, este nivel descriptivo no necesariamente involucra el análisis directo de los mecanismos; es decir, podemos inferir qué está pasando, pero no podemos medirlo ni saber cómo ni por qué está sucediendo.

El siguiente nivel, el mecanístico, se refiere a la evaluación de las consecuencias —los mecanismos de la variación genética sobre caracteres ecológicamente significativos. Además, evalúa directamente cómo han contribuido los factores históricos (*e.g.*, eventos geológicos) y los contemporáneos (*e.g.*, procesos demográficos, reproductivos o relacionados con el ambiente) en la conformación de los patrones de biodiversidad observados. Esto ha sido posible en gran medida gracias a la actual disponibilidad de los diversos marcadores moleculares altamente polimórficos. Esta variabilidad, cuantitativa, permite identificar genéticamente a cada individuo de una población y, por ejemplo, comparar su éxito reproductivo, evaluar la viabilidad de fenotipos que

difieren en morfología, fisiología o conducta, o conocer la migración y establecimiento de diferentes genotipos (Givnish & Sytsma, 1997).

Así, a través de la comparación de los genotipos se pueden conocer los niveles y distribución de la variabilidad genética en relación con factores como selección sexual, selección natural, patrones de reproducción, historia de vida, tamaño poblacional, migración y dispersión. Al estimar similitudes y diferencias genéticas entre muestras, a lo largo del tiempo o en diferentes espacios, ya sea de individuos de una misma especie o de taxones diferentes, es posible desarrollar hipótesis acerca de sus relaciones evolutivas y estudiar entonces problemas en ecología y evolución. Entre éstos podemos mencionar la adaptación de las poblaciones a cambios ambientales, la selección de pareja, el efecto de la fluctuación del tamaño poblacional sobre caracteres adaptativos, la hibridización, la identificación de probables mecanismos de especiación o la relación entre la heterocigosidad y adecuación.

Voy a extenderme ahora un poco sobre esta última, heterocigosidad y adecuación, ya que los ejemplos que expondré sobre aplicaciones de la ecología molecular, con estudios que he llevado al cabo junto con otros investigadores, versan sobre este tópico. Dado que es complicado estimar directamente la adecuación de los organismos y, por tanto, también lo es medir diferencias en adecuación entre diferentes genotipos en poblaciones naturales (se ha podido estudiar con menos dificultad con organismos domesticados), se ha hecho de manera indirecta utilizando características que pueden afectar la adecuación. Esto es, se ha establecido que ciertos caracteres morfológicos, fisiológicos, conductuales y demográficos están relacionados con la variación genética, de tal manera que características como tasa de crecimiento, tamaño corporal, eficiencia metabólica, fecundidad o resistencia a enfermedades, que afectan directa o indirectamente la sobrevivencia de los organismos, son considerados como “componentes de adecuación”. Otra forma de medir adecuación es ubicando dentro del genoma a los genes que se sabe afectan caracteres relacionados con la adecuación (Allendorf & Leary, 1986; Mitton, 1993; Storer, 1996).

Diversos estudios, tanto en animales como en plantas,

han encontrado una correlación positiva entre componentes de adecuación y la variación genética, medida principalmente como heterocigosidad individual (Recuadro 1). Estos hallazgos han generado el consenso de que, en muchos casos, una disminución en la variación genética estará acompañada de un decremento en la adecuación de los individuos, la adecuación medida de manera indirecta a través de componentes de adecuación (Allendorf & Leary, 1986; Mitton, 1993; 1994; 1998). Entre las características más frecuentemente relacionadas con heterocigosidad en animales están el tamaño corporal, la tasa de crecimiento, el consumo de oxígeno y la estabilidad del desarrollo. En mamíferos en particular, aunque se ha estudiado menos que en invertebrados y plantas, se ha encontrado una relación positiva entre heterocigosidad y masa corporal, metabolismo y variables fisiológicas, lo que a su vez se ha asociado a ventajas en otras características relacionadas con la adecuación, tales como crecimiento, fecundidad, tamaño de las crías, conducta y reproducción (Wooten & Smith, 1984; Allendorf & Leary, 1986; Kaufman & Kaufman, 1987; Teska *et al.*, 1990, Vázquez-Domínguez *et al.*, 1998; 1999; 2002). Cabe mencionar que hay estudios donde no se ha encontrado esta relación entre heterocigosidad y adecuación lo que, entre otras razones, puede deberse a que no se evaluó si los individuos heterocigos realmente tenían ventaja sobre los menos heterocigos (Booy *et al.*, 2000).

La variabilidad genética también se ha vinculado con patrones demográficos. Los mamíferos frecuentemente presentan cambios genéticos tanto temporales como asociados con la edad; por ello, se ha sugerido que ciertos cambios en caracteres relacionados con el tamaño de las poblaciones (densidad), o con la estructura de edades de los individuos de la población, pueden a su vez estar relacionados con cambios temporales de los niveles de heterocigosidad. Así, diferentes estudios han mostrado una relación positiva entre la variabilidad genética y la densidad, en los que además se han evaluado diferentes componentes de adecuación para explicar dicha relación. Lo que se ha encontrado es que los individuos más heterocigos mostraron una ventaja significativa respecto a factores relacionados con sobrevivencia, reproducción, masa corporal y crecimiento (Smith *et al.*, 1975; Scribner *et al.*, 1991; Mitton,

1994; Vázquez-Domínguez *et al.*, 1999).

La información más completa sobre esta asociación entre variación genética y adecuación se ha adquirido a través de estudios que consideran varios aspectos a la vez: los ciclos de densidad poblacional, los cambios en la variabilidad genética de los individuos y la relación de estos cambios genéticos con parámetros demográficos y con componentes de adecuación. En mi trabajo he explorado algunas de estas preguntas con un roedor heterómido en las selvas de Chamela, en Jalisco, México, como explicaré a continuación.

***Liomys pictus* en Chamela ¿Qué tanto come y bebe?**

Los roedores de la familia Heteromyidae, que son exclusivos del nuevo mundo, presentan características morfológicas, fisiológicas y conductuales especializadas, tales como una dieta granívora, abazones para transportar semillas o la capacidad de metabolizar agua a partir de semillas. Estas son adaptaciones que les permiten sobrevivir en ambientes marcadamente estacionales, desérticos y semi-desérticos (Genoways & Brown, 1993).

El ratón espinoso, *Liomys pictus*, es abundante en las selvas tropicales secas a lo largo de la costa del Pacífico mexicano. Es la especie dominante de la comunidad de roedores en la selva caducifolia y subcaducifolia de Chamela (que llamaré selva baja y mediana, respectivamente), ambiente que está caracterizado por periodos largos de sequía (7-8 meses al año), con una marcada escasez de alimento y agua.

L. pictus es capaz de mantener poblaciones todo el año y enfrentar la marcada estacionalidad del hábitat gracias a sus adaptaciones particulares, durante la época seca su fuente principal de energía y de agua proviene de las semillas que consume (Genoways & Brown, 1993; Mendoza, 1997). Por ello, la eficiente utilización del alimento y la capacidad de conservar (metabolizar) el agua son factores primordiales para la sobrevivencia y reproducción de estos roedores y, consecuentemente, son importantes determinantes de adecuación (Figura 1).

Para examinar la relación entre niveles de heterocigosidad individual y componentes de adecuación de *L. pictus*,

se realizó un estudio en el que se evaluaron las características fisiológicas de eficiencia en la utilización del alimento y la conservación del agua, y se estimaron los niveles de variabilidad genética (heterocigosidad) de individuos de la selva baja y mediana, en Chamela, de la siguiente manera

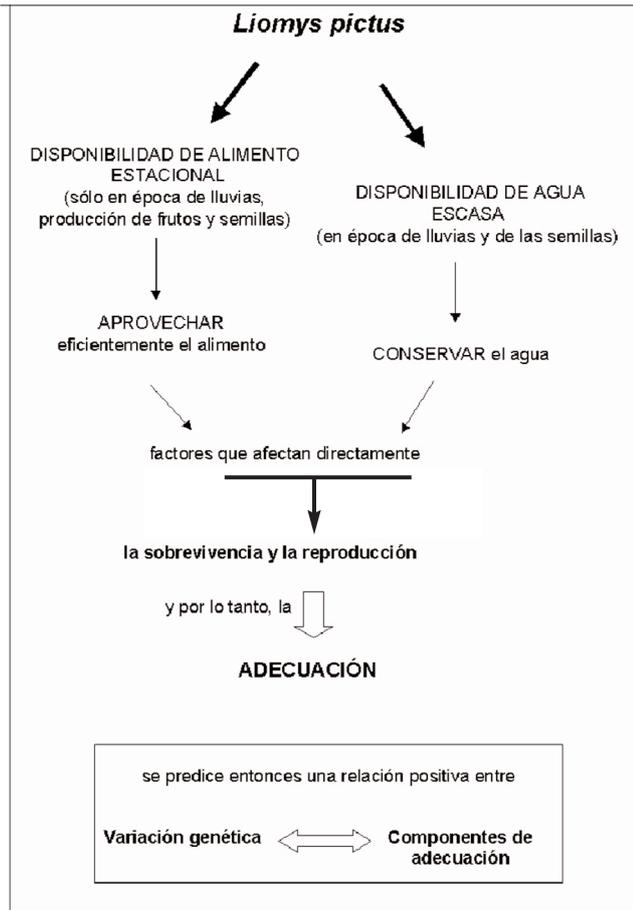


Figura 1. Diagrama donde se muestra que el roedor *Liomys pictus* posee características fisiológicas particulares que, dada la disponibilidad de recursos, determinan la eficiente utilización del alimento y la capacidad de conservar (metabolizar) el agua. Estos son factores primordiales para su sobrevivencia y reproducción y, consecuentemente, son importantes determinantes de adecuación. Por ello se esperaba que dichas características, consideradas componentes de adecuación, estén relacionadas con los niveles de variación genética de estos organismos.

(Vázquez-Domínguez *et al.*, 1998).

Se colectaron individuos adultos en ambas selvas, los cuales se sometieron a dos tratamientos experimentales:

a) Alimentación. A un grupo de animales se le suministró alimento de forma secuencial, disminuyéndolo en tres fases de cantidad: inicial de 100%, seguido de 50% y al

final de un 25%, en periodos de seis días cada fase. Se midió el cambio (pérdida) del peso individual a lo largo del experimento, variable que se consideró una medida de la utilización del alimento por los animales (*i.e.*, a menor pérdida de peso, mejor utilización –fisiológica– del alimento). Se estimó además el parámetro de “eficiencia alimenticia”, calculada como la diferencia entre la cantidad de alimento consumido del alimento realmente absorbido; se conoce lo absorbido al restar el peso del alimento que consumieron menos el peso de las heces producidas:

$$EA = AC - (PSAC - PSH)$$

Donde EA: eficiencia alimentaria AC: alimento consumido, PSAC: peso seco del alimento consumido, PSH: peso seco de las heces.

b) Agua. A otro grupo de animales se le suministró alimento sin ninguna restricción, pero sin disponibilidad de agua, durante doce días. Se midió nuevamente el cambio de peso, cada dos días, y el valor de qué tanto mantuvieron el peso (perdieron menos) a lo largo del experimento se consideró como la capacidad de conservación –metabolización– de agua.

Para conocer los niveles de variación genética de *L. pictus* se analizaron 30 loci por medio de electroforesis en gel de almidón. Los animales presentaron hasta ocho loci heterocigos, y cada individuo se clasificó en dos categorías de heterocigosidad, baja y alta, de acuerdo con el número de loci heterocigos que tuvieron. El cambio (pérdida) de peso promedio de los organismos fue similar, para los dos tratamientos, tanto de la selva baja como de la mediana (Figura 2).

En particular en el tratamiento de alimento se observó que, para ambas selvas, los individuos dentro de la categoría de heterocigosidad alta perdieron un porcentaje menor de su peso inicial al ir disminuyendo la cantidad de alimento, en comparación con los de la categoría baja (Cuadro 1a). Sin embargo, al analizar estos resultados estadísticamente con un análisis de covarianza, encontramos que las diferencias no fueron significativas. Se encontró también que la eficiencia alimenticia fue marcadamente alta en ambas categorías de heterocigosidad (Cuadro 1b).

Por el contrario, en términos del uso del agua, los individuos de ambas selvas en la categoría alta perdieron un

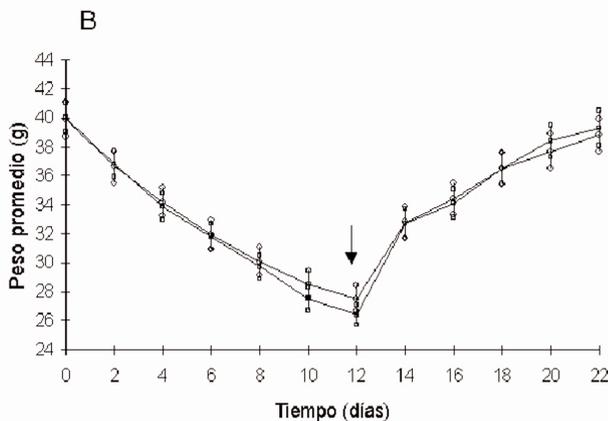
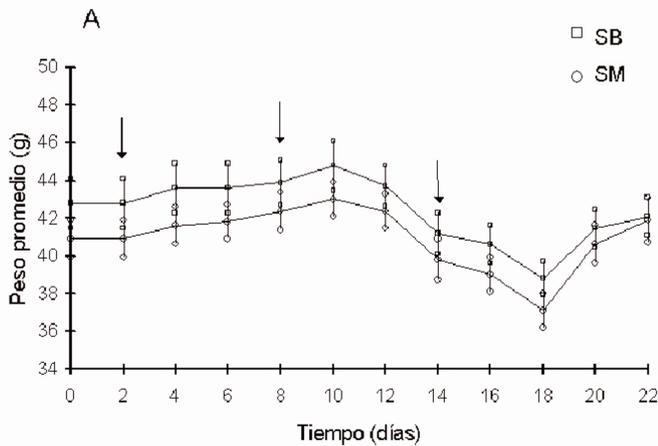


Figura 2. Cambio del peso promedio durante el tratamiento de A) alimento y B) agua, para las poblaciones experimentales de *Liomys pictus* en la selva baja (SB) y la selva mediana (SM) de Chamela. Las flechas indican A) el inicio de la disminución secuencial de la cantidad de alimento y B) cuando se les dio agua nuevamente a los animales.

porcentaje significativamente menor de peso que los de la categoría baja (Cuadro 1c). Así, los resultados apoyan la predicción de la relación entre heterocigosidad y componentes de adecuación, de manera que los individuos de *L. pictus* que son genéticamente más variables —heterócigos— conservan (metabolizan) el agua mejor que aquellos menos variables. Esto no se observa bajo las condiciones de disminución de cantidad de alimento, probablemente por la alta eficiencia alimenticia que presenta *L. pictus* en Chamela; esto es, absorben casi todo el alimento que consumen (Cuadro 1b).

Cuadro 1

Porcentaje de peso perdido promedio, para cada categoría de heterocigosidad, al término del tratamiento de alimento (a) y de agua (c), así como el porcentaje de eficiencia alimenticia (b). Puede verse que los individuos más heterócigos (categoría alta) perdieron en total menos proporción del peso inicial, y que su eficiencia fue más alta. SB: selva baja; SM: selva mediana.

	Categoría baja	Categoría alta
a) Alimento	6.10%	5.60%
b) Eficiencia	94.50%	96.90%
c) Agua	SB	36.00%
	SM	32.00%
		30.00%

¿Y cuántos individuos son?

Las poblaciones locales de *Liomys* en Chamela presentan marcadas fluctuaciones estacionales en cuanto a densidad, lo que está también íntimamente ligado a la variación en productividad, es decir, a la disponibilidad de recursos como alimento y agua. Típicamente, la densidad poblacional aumenta durante periodos favorables (al término de la época de lluvias) y disminuye durante la subsiguiente, y larga, época de secas (Mendoza, 1997; Vázquez-Domínguez *et al.*, 1999).

Conociendo esto, también se evaluó si existía una relación entre variación genética y cambios en densidad, analizando al mismo tiempo si ello estaba asociado a la interacción entre la variación genética y componentes de adecuación (en este caso el tamaño corporal de los individuos; Vázquez-Domínguez *et al.*, 1999). El estudio implicó seguir cuatro poblaciones, dos en selva baja y dos en selva mediana, bimestralmente, a lo largo de 14 meses, con lo que se cubrió toda la época de secas y de lluvias de un ciclo estacional. Se tomaron muestras de sangre de cada uno de los individuos trapeados y se analizaron 19 *loci* con electroforesis en gel de almidón.

Los individuos presentaron hasta 10 *loci* heterócigos y, además, hubo diferencias significativas respecto a las categorías de edad, de manera que los adultos presentaron un número significativamente mayor de *loci* heterócigos que los juveniles. Dado que el tamaño corporal (carácter morfológico) se consideró como componente de adecuación, se evaluó la relación entre peso y número de *loci* heterócigos. Los resultados mostraron una correlación positiva y signifi-

cativa, que indica que los individuos que pesaban más presentaron mayor número de *loci* heterócigos, un posible efecto fenotípico que podría relacionarse con adecuación.

Los cambios de densidad fueron similares en las cuatro poblaciones y siguieron el patrón conocido asociado con la estacionalidad, es decir, asociado con la época de lluvias y secas y con la productividad (Figura 3): se aprecia un pico de densidad en enero, disminuyendo hacia el final de la época seca siguiente (mayo-junio, cuando no hay disponibilidad de alimento ni agua), densidad baja que se mantiene durante el inicio de las lluvias y que aumenta (se recupera) para el final de lluvias (noviembre-enero), ya que es donde se han acumulado los recursos y los individuos se reproducen y almacenan grandes cantidades de semillas.

Considerando las cuatro poblaciones juntas, se encontró que hubo diferencias significativas entre las tres fases distintas de densidad promedio (máxima densidad, meses de menor densidad e incremento). Lo más interesante es que también se observó un patrón particular al considerar el cambio del número promedio de *loci* heterócigos durante las mismas fases.

Por ello, posteriormente se agruparon las tres fases de densidad y se estimó cómo cambiaron el número promedio de individuos y el número promedio de *loci* heterócigos entre dichas fases (Figura 4). Los resultados mostraron un patrón consistente: el menor número de *loci* heterócigos fue durante la fase de incremento, el número mayor durante la

de decremento y con un valor intermedio durante la fase de máxima densidad. El número promedio de *loci* heterócigos fue significativamente diferente entre las fases de incremento y decremento.

Ahora, para entender estos cambios y relaciones entre densidad y variabilidad, lo que han mostrado diferentes estudios, incluido el nuestro, es que en general durante las etapas tempranas de la fase de incremento, cuando las densidades son bajas, los animales no se dispersan y la variabilidad genética (heterocigosidad) observada disminuye debido a endogamia. En la fase de mayor densidad, los individuos se dispersan y desaparece la endogamia y, durante la fase descendente, aumenta la heterocigosidad probablemente por presiones de selección en contra de los animales relativamente homócigos y por la superioridad de los más heterócigos (Briese & Smith, 1974; Scribner *et al.*, 1983; Vázquez-Domínguez *et al.*, 1999). Smith *et al.* (1975) señalan que “los cambios en niveles de heterocigosidad puede ser un mecanismo que relaciona la demografía y la genética en poblaciones de pequeños mamíferos”, lo que se aprecia claramente con las poblaciones de *L. pictus* en Chamela. Finalmente, vemos que se cumple la premisa de que en ambientes donde las condiciones ambientales son impredecibles o donde los recursos varían en tiempo, espacio y severidad —como en Chamela— precisamente en donde, por los rigores y el estrés ambiental que impo-

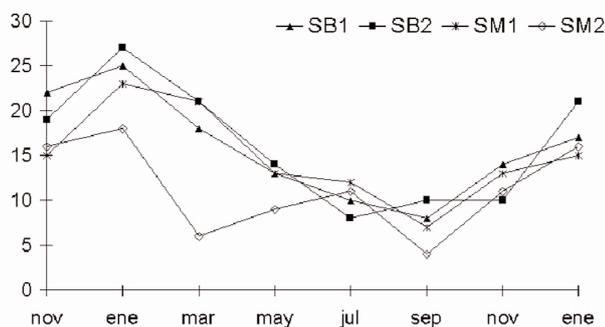


Figura 3. Cambios temporales de densidad de las cuatro poblaciones de *Liomys pictus* en la selva baja (SB) y la selva mediana (SM). Se aprecia que el patrón de cambio está asociado a la estacionalidad; de acuerdo con la época de lluvias y de secas y la productividad (ver el texto para la descripción del ciclo).

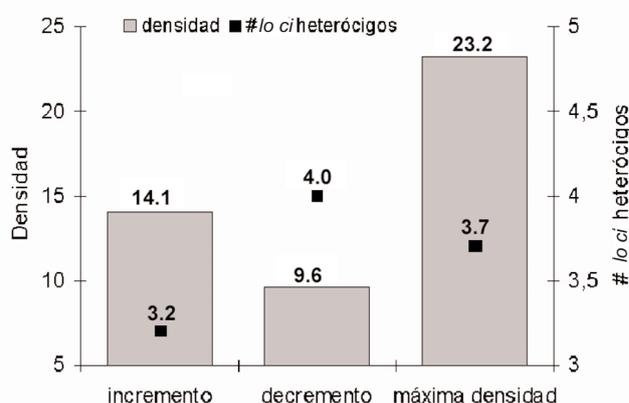


Figura 4. Cambios de densidad y variabilidad promedio de las cuatro poblaciones juntas, agrupados en tres fases: incremento, decremento y máxima densidad. Se muestra cómo cambiaron el número promedio de individuos (valor sobre la barra) y el número promedio de *loci* heterócigos (valor sobre el cuadrado) entre dichas fases.

nen estos hábitat, los individuos heterócigos tienen ventaja sobre los menos heterócigos (Müller-Starck, 1995), sobre todo en virtud de que presentan una mayor flexibilidad fisiológica (Samollow & Soulé, 1983).

Comentarios finales

Hemos visto que a través del enfoque de la ecología molecular, el cual amalgama a la teoría ecológica y evolutiva, y con el uso de las técnicas moleculares adecuadas, es posible estudiar un amplio espectro de interrogantes en los sistemas naturales. Es importante mencionar que, dado que la ecología molecular es un enfoque para diseñar cómo abordar dichas preguntas, y no una disciplina de estudio, hay quienes piensan que es redundante y que no tiene sentido distinguirla como tal. Espero, sin embargo, que la exposición de los principios y conceptos que he hecho, basados principalmente en la excelente descripción que hace G. R. Carvalho sobre el tema (Carvalho 1998), así como de los ejemplos de su aplicación en los estudios experimentales y de campo de *Liomys pictus*, provea a los lectores de un mayor bagaje de conceptos e ideas para sus estudios ecológicos y evolutivos. Y, sobre todo, que los entusiasme para trabajar en alguna de las muchas áreas en que la ecología molecular tiene aplicación directa, entre las que la biología y genética de la conservación, la biología de la conducta, la macroecología y la filogeografía, son de gran actualidad y tremendamente apasionantes.

Agradecimientos

Agradezco enormemente a Ana Batis y Gerardo Rodríguez Tapia la revisión que hicieron de las ideas y del texto, ya que con sus recomendaciones el resultado es mucho mejor e, indudablemente, la lectura más placentera.

Literatura citada

Allendorf, F.W. & Leary, R.F. 1986. Heterozygosity and fitness in natural populations of animals. 57-76 pp. *In* Conservation biology: the science of scarcity and diversity. Soulé, M. E. (Edit). Sinauer, Massachusetts.

Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, London.

Avise, J.C. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. Conservation Biology 9: 686-690.

Avise, J.C. 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Massachusetts.

Begon, M., Harper, J. & Townsend, C. (Eds.). 1996. Ecology: individuals, populations and communities. Third Ed. Blackwell, Oxford, UK.

Booy, G., Hendriks, R.J.J., Smulders, M.J.M., Van Groenendael, J.M. & Vosman, B. 2000. Genetic diversity and the survival of populations. Plant Biology 2: 379-395.

Briese, L.A. & Smith, M.H. 1974. Seasonal abundance and movement of nine species of small mammals. Journal of Mammalogy 55: 615-629.

Carvalho, G.R. (Ed.), 1998. Advances in molecular ecology. IOS Press, USA.

Dahlöf, I. 2002. Molecular community analysis of microbial diversity. Current Opinion in Biotechnology 13: 213-217.

Dobzhansky, T. 1961. Genetics and the evolutionary process. Columbia University Press, New York.

Ford, E.B. 1964. Ecological genetics. Methuen, London.

Futuyma, D.J. 1986. Evolutionary biology. Sinauer, Massachusetts.

Genoways, H.H. & Brown, J.H. (Eds.). 1993. Biology of the Heteromyidae. Special Publication, The American Society of Mammalogists 10: 1-719.

Gillespie, J.H. 1998. Populations genetics: a concise guide. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Givnish, T.J. & Sytsma, K.J. 1997. Molecular evolution and adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge.

Harris, H. 1966. Enzyme polymorphism in man. Proceedings of the Royal Society of London B 164: 298-310.

Hillis, D.M., Moritz, C. & Mable, B.K. 1996. Molecular systematics. Second Ed. Sinauer, Massachusetts.

Kaufman, D.W. & Kaufman, G.A. 1987. Reproduction by *Peromyscus polionotus*: number, size, and survival of offspring. Journal of Mammalogy 68: 275--280.

Lewontin, R.C. 1974. The genetic basis of evolutionary change. Columbia University Press, New York.

Mayr, E. 1976. Evolution and the diversity of life. Harvard University Press, Massachusetts.

Mendoza, D.A. 1997. Efecto de la adición de alimento en la dinámica de poblaciones y estructura de comunidades de pequeños mamíferos en un bosque tropical caducifolio. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México.

Mitton, J.B. 1993. Theory and data pertinent to the relationship between heterozygosity and fitness. 17-41 pp. *In* The natural history of inbreeding and outbreeding. Theoretical and empirical perspectives. Thornhill W.M. (Edit). The University of Chicago Press, Chicago.

Mitton, J.B. 1994. Molecular approaches to population biology. Annual Review of Ecology and Systematics 25: 45-69.

Mitton, J.B. 1998. Molecular markers and natural selection. Ed. G.R. Carvalho. *In* Advances in molecular ecology. IOS Press, USA. Pp. 225-241.

- Müller-Starck, G. 1995. Genetic variation under extreme environmental conditions. 201-210 pp. *In* Population genetics and genetic conservation of forest trees. Baradat, Ph. W.T. Adams & G. Müller-Starck (Edit). SPB Academic Publishing, Amsterdam.
- Mullis, K., Faloona, F., Svarf, R., Saiki, R., Horn, G. & Erlich, H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbour Symposium on Quantitative Biology* 51: 263-273.
- Núñez-Farfán, J. & Eguiarte, L. (Compiladores). 1999. La evolución biológica. UNAM, México.
- Oliver, S.G., van der Aart, Q.J, Agostoni-Carbone, M.L., Aigle, M., Alberghina, L., Alexandraki, D., Antoine, G., Anwar, R., Ballesta, J.P., Benit, P., *et al.* 1992. The complete DNA sequence of yeast chromosome III. *Nature* 357: 38-46.
- Palmer, J.D. 1987. Chloroplast DNA evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation. *American Naturalist* 130: S6-S29.
- Parker P.G., Snow, A.A., Schug, M.D., Booton, G.C. & Fuerst, P.A. 1998. What molecules can tell us about populations: Choosing and using a molecular marker. *Ecology* 79: 361-382. *In* Roughgarden, J. 1979. *Theory of population genetics and evolutionary ecology: an introduction*. MacMillan Publishing, New York.
- Samollow P.B. & Soulé, M.E. 1983. A case of stress related heterozygosity superiority in nature. *Evolution* 37: 646-648.
- Scribner, K.M., Chesser, R.K. & Warren R.J. 1983. Spatial and temporal genetic variability of the eastern cottontail on West Texas playa basins. *Journal of Mammalogy* 64: 287-294.
- Scribner, K.M., Smith, M.H. Garrot, R.A. & Carpenter, L.H. 1991. Temporal, spatial, and age-specific changes in genotypic composition of mule deer. *Journal of Mammalogy* 72: 126-137.
- Smith, M.H., Garten, C.T. Jr. & Ramsey, P.R. 1975. Genic heterozygosity and populations dynamics in small mammals. Ed. C.L. Market *In* Isozymes: genetics and evolution. Academic Press, New York. Pp. 85-102.
- Smith, T.B. & Wayne, R.K. 1996. Molecular genetic approaches in conservation. Oxford University Press, Oxford.
- Smithies, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal adults. *Biochemical Journal* 61: 629-641.
- Storfer, A. 1996. Quantitative genetics: a promising approach for the assessment of genetic variation in endangered species. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 343-348.
- Tautz, D. 1993. Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences. 21-28. *In* DNA fingerprinting: state of the science. Pena, S.D.J., R. Chakraborty, J.T. Epplen & A.J. Jeffreys (Edits). Birkhäuser Verlag, Basel.
- Teska, W.R., Smith, M.H. & Novak, J.M. 1990. Food quality, heterozygosity, and fitness correlates in *Peromyscus polionotus*. *Evolution* 44: 1318-1325.
- Vázquez-Domínguez, E., Piñero, D. & Ceballos, G. 1998. Heterozygosity patterning and its relation to fitness components in experimental populations of *Liomys pictus* from tropical forests in western Mexico. *Biological Journal of the Linnean Society* 65: 501-514.
- Vázquez-Domínguez, E., Piñero, D. & Ceballos, G. 1999. Linking heterozygosity, demography, and fitness of tropical populations of *Liomys pictus*. *Journal of Mammalogy* 80: 810-822.
- Vázquez-Domínguez, E., Paetkau, D., Tucker, N.J., Hinten, G. & Moritz, C. 2001. Resolution of natural groups using iterative assignment tests: an example from two species of Australian native rats (*Rattus*). *Molecular Ecology* 10: 2069-2078.
- Vázquez-Domínguez, E., Ceballos, G. & Piñero, D. 2002. Exploring the relation between genetic structure and habitat heterogeneity in the rodent *Liomys pictus* from Chamela, Jalisco. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)* 86: 17-29.
- Watson, J.D. 2000. *A passion for DNA. Genes, genomes and society*. Cold Spring Harbor, New York.
- Wooten, M.C. & Smith, M.H. 1984. Large mammals are genetically less variable? *Evolution* 39: 210-212.