2018

Informe de genètica de poblacions

Biologia fonamental II

ANNA TURON BAS I Laura Vilà Valls

**INDEX**

**QÜESTIONARI**

**1. Genotipat d’individus.**

**En base als electroferogrames observats en el Pick Scanner, responeu a les preguntes següents:**

a. Observes algun locus que presenti ‘Stuttering peaks’?. Comenta quins i si en algun cas l’existència d’aquests pics ha dificultat molt la lectura.

En el locus 193 s’observen locus amb Stuttering peaks. En concret en l’individu va14 de la població de Vallcanera, els al·lels 166,67; 162,87; 160,85 presenten Stuttering peaks.

Els Stuttering Peaks són petits pics que s’observen abans o després d’un pic real. Habitualment es donen per errors de la polimerasa durant l’amplificació per PCR. Per error, la polimerasa produiex un petit nombre de còpies que són una repetició més llargues o curtes que el fragment real que s’està amplificant. Aquests pics poden dificultar la lectura ja que es poden confondre fàcilment amb els pics reals [***F***](http://www.bioforensics.com/dna-testing-issues/)***orensics Bioinformatics*** .



b. Observes algun locus que presenti decaiguda dels al·lels grans?. En cas afirmatiu digues per quin locus i per quins al·lels.

L’individu va5 presenta una caiguda d’al·lels grans en el locus 193 (al·lels: 159 i 165). només hi ha 6 bases de diferència, no és una caiguda molt gran. La caiguda d’al·lels també es dona per errors de la polimerasa durantt la PCR, només es dona l’amplificació d’un dels dos al·lels d’un individu heterozigot, donant així falsos homozigots [***H***](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15487987?dopt=Abstract)***ow to track...***

c. Sospites de la presència d’al·lels nuls en algun locus/població? En cas afirmatiu digues quin i justifica la teva sospita.

Sí, en l’individu bu15 pot haver un al·lel nuls ja que no apareix cap pic entre 144-164 pel locus 193. Els al·lels nuls són aquells que reiteradament no amlifiquen a nivells detectables mitjançant la tècnica de PCR. En conjunts de dades de microsatèlits poden donar lloc a patrons genotipics inusuals o no esperats. ***Microsatellites null alleles...***

**2. Diversitat gènica.**

**Indiqueu quants loci són polimòrfics en totes les poblacions**

Taules de les freqüències al·lèliques per locus:

 Locus: G72150
------------------
   Pop           Alleles                                           Genes
                      ----------------------------------- -----
               249   251 253    255 257 259
ORT51     0.000 0.656 0.000 0.188 0.094 0.062       32
RPED31     0.000 0.438 0.062 0.156 0.344 0.000       32
RE31     0.000 0.000 1.000 0.000 0.000 0.000       32
va50     0.000 0.000 0.688 0.312 0.000 0.000       32
bu25     0.000 0.062 0.938 0.000 0.000 0.000       32
da24     0.031 0.344 0.094 0.000 0.531 0.000       32
cal39     0.000 0.000 0.031 0.000 0.969 0.000       32
2ull37     0.000 0.000 1.000 0.000 0.000 0.000       32

 Locus: G72310
------------------
   Pop           Alleles                                              Genes
                    ----------------------------------------------- -----
                117    119 123    125 127 129    133 135
ORT51     0.250 0.188 0.375 0.000 0.188 0.000 0.000 0.000         32
RPED31     0.031 0.312 0.344 0.062 0.250 0.000 0.000 0.000         32
RE31     0.000 0.000 0.156 0.656 0.000 0.000 0.000 0.188         32
va50     0.000 0.000 0.000 0.500 0.281 0.000 0.219 0.000         32
bu25     0.000 0.000 0.062 0.562 0.156 0.000 0.219 0.000         32
da24     0.406 0.000 0.000 0.469 0.000 0.125 0.000 0.000         32
cal39     0.438 0.000 0.000 0.500 0.000 0.062 0.000 0.000         32
2ull37     0.500 0.500 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000         32

Les poblacions Reclà i Ullals de Baltasar no tenen polimorfisme pel locus G72150, l’al·lel 253 és monomòrfic en els dos casos. La resta de poblacions són polimòrfiques per aquest locus. El locus G72310 és polimòrfic per totes les poblacions.

Per tal de veure quins són els al·lels més i menys abundants pels loci, hem marcat de color vermell les freqüències al·lèliques de 0, que ens indiquen que aquell al·lel no està present en la població que s’està mirant.

A simple vista ja podem veure que pel locus G72150, l’al·lel més abundant és el 253, perquè està present a 7 de les 8 poblacions de l’estudi, i els menys abundants serien el 249 i el 259, que només estan presents a una població, i amb unes freqüències molt baixes, de 0.031 i 0.062 respectivament.

Pel locus G72310 el més abundant seria l’al·lel 125, que està present a 6 poblacions, i el menys abundant seria l’al·lel 135 que només està present a la població Reclà.

a. Realitzeu per a cada població i locus una taula de freqüències al·lèliques.

**Orlina Pedret i Marzà**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **Al·lels** | **Freq al·lèliques** |
| G72310 | 117 | 0.0312 |
| 119 | 0.3125 |
| 123 | 0.3438 |
| 125 | 0.0625 |
| 127 | 0.25 |
| G72150 | 251 | 0.4375 |
| 253 | 0.0625 |
| 255 | 0.1562 |
| 257 | 0.3438 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **Al·lels** | **Freq al·lèliques** |
| G72310 | 117 | 0.25 |
| 119 | 0.1875 |
| 123 | 0.375 |
| 127 | 0.1875 |
| G72150 | 251 | 0.6562 |
| 255 | 0.1875 |
| 257 | 0.0938 |
| 259 | 0.0625 |

**Reclà Vallcanera**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **Al·lels** | **Freq al·lèliques** |
| G72310 | 125 | 0.5 |
| 127 | 0.2812 |
| 133 | 0.2188 |
| G72150 | 253 | 0.6875 |
| 255 | 0.3125 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **Al·lels** | **Freq al·lèliques** |
| G72310 | 123 | 0.1562 |
| 125 | 0.6562 |
| 135 | 0.1875 |
| G72150 | 253 | 1 |

**Bugantó Daró**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Al·lels** | **Freq al·lèliques** |
| G72310 | 117 | 0.4062 |
| 125 | 0.4688 |
| 129 | 0.125 |
| G72150 | 249 | 0.0312 |
| 251 | 0.3438 |
| 253 | 0.0938 |
| 257 | 0.5312 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **Al·lels** | **Freq al·lèliques** |
| G72310 | 123 | 0.0625 |
| 125 | 0.5625 |
| 127 | 0.1562 |
| 133 | 0.2188 |
| G72150 | 251 | 0.0625 |
| 253 | 0.9375 |

**Riera de Calonge Ullals de Baltasar**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | Al·lels | Freq al·lèliques |
| G72310 | 117 | 0.5 |
| 119 | 0.5 |
| G72150 | 253 | 1 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **Al·lels** | **Freq al·lèliques** |
| G72310 | 117 | 0.4375 |
| 125 | 0.5 |
| 129 | 0.0625 |
| G72150 | 253 | 0.0312 |
| 257 | 0.9688 |

b. Indiqueu per cada població i locus el número d’al·lels i el paràmetre de diversitat gènica. Per què les mostres tenen diferents valors de diversitat?

**ORLINA PEDRET I MARZÀ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 4 | 0.5375 |
| **G72310** | 4 | 0.75 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 4 | 0.6813 |
| **G72310** | 5 | 0.7396 |

**RECLÀ VALLCANERA**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 1 | 0 |
| **G72310** | 3 | 0.5333 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 2 | 0.4583 |
| **G72310** | 3 | 0.6479 |

**BUGANTÓ DARÓ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 2 | 0.1250 |
| **G72310** | 4 | 0.6292 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 4 | 0.6125 |
| **G72310** | 3 | 0.6208 |

**RIERA DE CALONGE ULLALS DE BALTASAR**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 1 | 0 |
| **G72310** | 2 | 0.5083 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loci** | **Número al·lels** | **Diversitat gènica** |
| **G72150** | 2 | 0.0625 |
| **G72310** | 3 | 0.5667 |

Cada població té diferents valors de diversitat gènica pels loci perquè dependrà del nombre d’al·lels de cada loci a cada població i la freqüència al·lèlica d’aquests. Les poblacions que per un locus tenen una diversitat gènica de 0, són les monomòrfiques per aquell locus, és a dir, només tenen un al·lel present a la població, i per tant un sol fenotip.

La diversitat gènica és la probabilitat d’agafar dos al·lels a l’atzar d’una població i que siguin diferents, per tant, els que tinguin diversitats gèniques més altes, voldrà dir que presenten més al·lels per aquell locus, i la freqüència al·lèlica estarà repartida entre els diferents al·lels.

Per tant, els loci que només tenen un al·lel, o en tenen dos però un es troba amb molta més freqüència que l’altre, seran els que tindran una diversitat gènica menor.

c. Indiqueu el número promig d’al.lels per locus (ho hem de mirar a la taula de freq al·lèliques/càlcul manual) i la diversitat gènica promig a cada població.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Orlina** | **Pedret i Marzà** | **Reclà** | **Vallcanera** | **Bugantó** | **Daró** | **Riera de Calonge** | **Ullals de Baltasar** |
| **Mitjana al·lels x locus** | 4 | 4.5 | 2 | 2.5 | 3 | 3.5 | 2.5 | 1.5 |
| **Mitjana diversitat gènica** | 0.6438 | 0.7104 | 0.2667 | 0.5531 | 0.3771 | 0.6167 | 0.3146 | 0.2542 |

A aquesta taula es pot observar que la diversitat gènica pren valors més baixos, quan la mitjana del nombre d’al·lels és baixa. En el cas de la població Ullals de Baltasar que presenta el valor de diversitat gènica més baix, és degut a que un dels locus només presentava un al·lel a la població. El mateix passa amb la segona població amb el valor de diversitat gènica més baix, Reclà, que també té un locus amb un únic al·lel present a la població.

Per la població Riera de Calonge es veu que també té un valor de diversitat gènica baix, i això es deu a que el locus G72150 presenta dos al·lels, un amb una freqüència de 0.9688 i l’altre amb una freqüència de 0.0312, i aquesta diferència tant gran amb les freqüències al·lèliques fa que disminueixi la diversitat gènica tot i tenir dos al·lels.

En el cas de les dues primeres poblacions de la taula, Orlina i Pedret i Marzà, s’han obtingut els valors més alts de diversitat gènica i això es deu a que tenen major nombre mig d’al·lels a la població, 4 i 4,5 respectivament.

**3. Indiqueu si les diferents poblacions es troben en equilibri de HW pel global dels loci i si hi ha equilibri de lligament. En cas de no complir-se l’equilibri de HW o lligament indiqueu quins loci estan implicats en el desequilibri, expliqueu si aquest es deu a un dèficit o excés d’heterozigots i/o si hi ha associacions preferencials i intenteu trobar una explicació als resultats.**

Per valorar si les diferents poblacions es troben en equilibri de lligament i de Hardy-Weinberg, s’hauran de mirar els p-valors obtinguts amb Genepop.

Si el p-valor és inferior a 0.05 hi ha desequilibri significatiu, si és < 0.01 el desequilibri és molt important. Si està en desequilibri s’ha de mirar les Fis estimates, si F és positiva hi ha excés d’heterozigots, i si F és negativa hi ha dèficit. Només caldrà mirar F si hi ha desequilibri.

Equilibri de lligament:

P-value for each locus pair across all populations
(Fisher's method)
-----------------------------------------------------
Locus pair                    Chi2   df P-Value
--------------------          -------- --- --------
G72150        & G72310  7.076633 12  0.852508

S’observa que no hi ha desequilibri de lligament pel total dels loci perquè el p-valor és igual a 0.852508, i és superior a 0.05. Es compleix l’equilibri de lligament pel global dels loci.

Equilibri de Hardy-Weinberg:

Respecte l’equilibri de HW pel global dels loci, s’ha obtingut un p-valor inferior a 0.05 per tant no hi ha equilibri de HW en el total de loci per totes les poblacions.

 All locus, all populations
==========================================
All (Fisher's method) :
 Chi2 :    49.8259
 Df   : 26.0000
 Prob :    0.0033

Donat que no s’observa desequilibri de lligament, el desequilibri que s’observa pel globals del loci és únicament de HW. Els al·lels implicat en aquest desequilibri seran aquells que no es troben en equilibri dins d’alguna de les poblacions estudiades. Per veure els loci implicats en aquest desequilibri, es comparen els test estadístics per a cada població tal i com es mostra a continuació:

**Orlina**
                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.      W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150      0.2363 0.0071  -0.0465 0.1153 15652 switches
G72310      0.6837 0.0041   0.0000 0.0046 37017 switches
All (Fisher's method):
 Chi2 :    3.6461
 Df   : 4.0000
 Prob :    0.4560

Per aquesta població, s’observa que Orlina té els dos loci en equilibri de HW ja que els p-valors d’aquests són majors de 0.05.

**Pedret i Marzà**
                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.    W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150      0.8902 0.0033  -0.1009 -0.0874 25322 switches
G72310      0.7629 0.0065  -0.0141 -0.0277 15796 switches
All (Fisher's method):
 Chi2 :    0.7738
 Df   : 4.0000
 Prob :    0.9419

A la població Perdret i Marzà els dos loci estan en equilibri perquè els dos p-valors són majors de 0.05, igual que en la població anterior.

**Reclà**
                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.    W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150       No information.
G72310      0.0279 0.0018   0.4141 0.4959 33609 switches

En la població Reclà el locus G72310 no està en equilibri de HW ja que el  p-valor que presenta (0.0279) és menor de 0.05. No hi ha informació del locus G72150 degut a que és monomòrfic.

El valor de F pel locus G72310 és positiu per el test de Weir and Cockerham (W&C) i de Robertson and Hill (R&H) amb valors de 0.4141 i 0.4959 respectivament. Això indica que hi ha un excés d’heterozigots per aquest locus.

**Vallcanera**
                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.    W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150      0.0000 0.0000   1.0000 1.0667 59245 switches
G72310      0.0961 0.0031   0.2283 0.1666 45655 switches

All (Fisher's method):
 Chi2 :    24.9374
 Df   : 4.0000
 Prob :    0.0001

La població de Vallcanera té el locus G7231 en equilibri de HW, amb un p-valor de 0.0961. En canvi el locus G72150  no es troba en equilibri perquè el seu p-valor és menor a 0.05, aquest desequilibri pot ser donat a l’excés d’heterozigots que hi ha per aquest locus, tal i com mostren els valors positius de F segons W&C (1) i R&H (1.0667).

 **Bugantó**
                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.    W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150      0.0329 0.0008   1.0000 1.0667 3282 switches
G72310      0.7358 0.0057   0.1060 0.1164 22502 switches

All (Fisher's method):
 Chi2 :    7.4398
 Df   : 4.0000
 Prob :    0.1144

A la població Bugantó, el locus G72310 es troba en equilibri de HW, en canvi el locus G72150 amb un p-valor de 0.03 no està en equilibri. Un cop més, el desequilibri és donat per l’excés d’heterozigots en aquest locus. Valor de F > 0, W&C amb valor de 1 i per R&H amb valor de 1.0667.

 **Daró**

                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.    W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150      0.1492 0.0067   0.1837 0.0573 15886 switches
G72310      0.0099 0.0015   0.1667 0.2983 21471 switches

All (Fisher's method):
 Chi2 :    13.0288
 Df   : 4.0000
 Prob :    0.0111

A la població Daró, el locus G72310 es troba en greu desequilibri de HW perquè el seu p-valor é 0.0099 i és molt inferior a 0.05. En canvi el locus G72150 amb un p-valor de 0.1493 es troba en equilibri de HW. El desequilibri del locus G72310 és degut a un excés d’heterozigots, ja que el valor de F, tan per W&C (0.1667) com per R&H (0.2983) és positiu.

**Riera de Calonge**                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.    W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150       No information.
G72310      0.1390 0.0034  -0.3235 -0.2158 26157 switches

En la població Riera de Calonge el locus G72310 està en equilibri degut a que el p-valor que presenta (0.1390) és major de 0.05. S’observa que el locus G72150 és monomòrfic en aquesta població.

**Ullals de Baltasar**
                             Fis estimates
                            ---------------
locus       P-val S.E.    W&C R&H Steps
----------- ------- ------- ------- ------- ------
G72150       No information.
G72310      0.1290 0.0018  -0.4754 -0.4833 61667 switches

En la població Ullals de Baltasar el locus G72310 és monomòrfic. S’observa que el locus G72310 està en equilibri de HW ja que el p-valor que presenta (0.1290) és major de 0.05.

Observacions generals:

Els dos loci estan implicats en el desequilibri de HW, hi ha poblacions on es troben en equilibri i hi ha poblacions o no hi estan. S’observa que el locus G72150 presenta un excés d’heterozigots per les poblacions de Daró i Vallcanera, causant desequilibri de Hardy-Weinberg. En canvi en les poblacions Ullals de Baltasar, Riera de Calonge i Reclà, el loci G72150 és monomòrfic. El locus G72310 presenta un excés d’heterozigots per les poblacions de Bugantó i Reclà. Aquest excés d’heterozigots, com en el loci anterior, causa desequilibri en aquetes poblacions.

**Bugantó i Reclà pertanyen als rius Tordera i Onyar respectivament, històricament aquests dos rius estaven en contcte, cosa que podria explicar que les dues poblacions presentin un excés d’heterozigots???**

**Es sap que ha hagut introducció antòpica de peixos en la Riera de Calonge, pot afectar a lequilibri.**

**La deriva és responsable de la diferenciació genètica.**

**4. Heterogeneïtat geogràfica. Digueu si existeixen diferències genètiques significatives entre les poblacions analitzades i indiqueu quins loci contribueixen més a aquestes diferències. Justifiqueu la vostra resposta basant-vos tant en les dades obtingues en els tests de contingència com en els càlculs de FST. Comenteu breument el valor global de FST comparant-lo amb els valors de referència de l’annex 3.**

Diferències entre poblacions per tots els loci:

Comparant les poblacions dos a dos, s’observa que hi ha diferències entre totes les poblacions perquè el p-valor és menor que 0.05 per l’estadístic de Fisher, això indica que les diferències són significatives i per tant es pot parlar de poblacions diferents.

Si el p-valor fos superior a 0.05, ens indicaria que no hi ha diferències significatives entre elles per considerar-les diferents poblacions.

Les poblacions Orlina i Pedret i Marzà presenten diferències significatives, però a diferència de les altres el p-valor tot i ser inferior a 0.05, s’hi aproxima més (0.013437), i això podria ser un primer indicador de que dues poblacions són força similars entre elles.

Population pair            Chi2 df P-Value
--------------------      -------- --- --------
ORT51     & RPED31       12.59449  4 0.013437

ORT51       & RE31 Infinity 4    Highly sign.

L’índex de fixació (FST) és una mesura de la variabilitat genètica que dóna valors de 0 a 1. Un valor de FST = 0 implica una completa coincidència de material genètic entre dues poblacions, en canvi un valor de FST = 1 indica que no es comparteix diversitat genètica.

Si ens fixem amb els valors de FST es pot observar que les poblacions més diferents entre elles són Bugantó (5) i Riera de Calonge (7), ja que presenten el valor més elevat de FST (0,5906)*.*

En canvi les poblacions Orlina (1) i Pedret i Marzà (2) són les poblacions més similars entre si de totes les poblacions estudiades, ja que tenen un valor de FST baix (0.039) que indica diferenciació lleu (Hartl & Clark 1997).

Aquest últim valor demostra també que el p-valor que indica diferències significatives entre aquestes dues poblacions, encara que sigui inferior a 0.05, si que ens indicava que són dues poblacions pròximes entre si.

Matriu dels valors de FST:

Estimates for all loci (diploid):
=========================
pop      1 2       3 4 5       6 7
2      0.0390
3      0.5311 0.4698
4      0.3663 0.3006  0.1672
5      0.4645 0.4019  0.0583 0.0531
6      0.2234 0.1804  0.4474 0.3124 0.3892
7      0.4675 0.3673  0.6457 0.4980 0.5906  0.1235
8      0.4959 0.4537  0.4792 0.3849 0.4059  0.4887 0.6750

The file 233255.MIG contains the matrix ready for further analysis

Contribució de cada loci:

Per veure quin dels loci contribueix més a les diferències significatives entre poblacions, ens haurem de fixar amb els p-valors entre poblacions que hi ha per cada loci. Com s’observa a les taules de sota, pel locus G72150 hi ha 4 p-valors que indiquen que no hi ha diferències significatives entre algunes poblacions.

En canvi, pel locus G72310 hi ha 3 p-valors que mostren que no hi ha diferències. En el cas del primer locus, el p-valor on surt “No table” fa referència a dues poblacions que presenten un únic al·lel per aquell locus i és el mateix, per tant no presenten cap diferència entre elles.

Amb aquests resultats es podria dir que el locus que té una contribució mes gran a les diferències significatives és el locus G72310, perquè presenta més relacions amb diferències significatives, però per tots dos loci la majoria de p-valors es troben per sota de 0.05 i això fa que el resultat general cap relació es pugui considerar que no hi ha diferències.

Locus Population pair P-Value S.E. Switches

----------- --------------------- ------- ------- --------

G72150 bu25 & RE31 0.49226 0.00164 48961

G72150 da24 & RPED31 0.06866 0.00345 54742

G72150 2ull37 & RE31 No table

G72150 2ull37 & bu25 0.49242 0.00157 49328

Locus Population pair P-Value S.E. Switches

----------- --------------------- ------- ------- --------

G72310 RPED31 & ORT51 0.06387 0.00303 61864

G72310 bu25 & va50 0.42674 0.00591 61475

G72310 cal39 & da24 0.76682 0.00264 70782

**Valor global FST vs Annex:**

El valor global de FST és la mitjana entre els valors de FST pels dos loci, obtenint així un valor de FST global de 0.3966. Respecte les dades de referència de l’article ***High genetic diversity...***, la Fst obtinguda fou de 0.436, valor molt similar al obtigut. **Això indica que hi ha variabilitat genètica entre els dos loci.**

Locus: G72150 Locus: G72310

Fst^= 0.573385 Fst^= 0.240635

Locus            Fwc(is) Fwc(st)     Fwc(it)
-------         ------- -------     -------
G72150           0.2431 0.5734      0.6771
G72310           0.0117 0.2406      0.2495

All:             0.0884 0.3966      0.4500
-----------------------------------------------

**5. Feu una matriu on indiqueu a la diagonal superior la distància de Prevosti i a la diagonal inferior els valors de FST entre mostres aparellades. Dibuixeu l’arbre distància de Prevosti – UPGMA. Observeu algun patró d’agrupació entre les mostres? en cas afirmatiu confirmeu si aquest també es pot deduir a partir dels valors de FST entre mostres aparellades.**

Primer de tot, s’han calculat les distàncies de Prevosti entre cada parell de poblacions i per cada loci. Es fa servir la fórmula Cp (x,y) = $\frac{1}{2}\sum\_{i=0}^{a}\left|xi-yi\right|$; posteriorment es fa la mitjana dels dos valors de distància. La matriu dels valors de FST s’ha obtingut amb el Genepop.

Índex per les poblacions:

1 Orlina

2 Pedret i Marzà

3 Reclà

4 Vallcanera

5 Bugantó

6 Daró

7 Riera de Calonge

8 Ullals de Baltasar

Distàncies Prevosti: **Locus G72150**

 1 2 3 4 5 6 7

2 0.312

3 1 0.938

4 0.812 0.782 0.312

5 0.938 0.876 0.062 0.312

6 0.562 0.25 0.906 0.906 0.844

7 0.906 0.625 0.969 0.969 0.969 0.438

8 1 0.938 0 0.312 0.062 0.906 0.969

Distàncies Prevosti: **Locus: G72310**

 1 2 3 4 5 6 7

2 0.249

3 0.8445 0.7815

4 0.8125 0.6875 0.5

5 0.782 0.719 0.3755 0.1245

6 0.7505 0.9065 0.531 0.521 0.5305

7 0.7505 0.9065 0.5 0.5 0.4995 0.063

8 0.5625 0.6565 1 1 1 0.594 0.562

Distàncies Prevosti pels dos loci:

 1 2 3 4 5 6 7

2 0.2805

3 0.9223 0.8598

4 0.8123 0.7348 0.4060

5 0.8600 0.7975 0.2188 0.2183

6 0.6563 0.5783 0.7185 0.7135 0.6873

7 0.8283 0.7658 0.7345 0.7345 0.7343 0.2505

8 0.7813 0.7973 0.5000 0.6560 0.5310 0.7500 0.7655

**MATRIU VALORS DE FST I DISTÀNCIES DE PREVOSTI:**

 1 2 3 4 5 6 7 8

1 0.2805 0.9223 0.8123 0.8600 0.6563 0.8283 0.7813

2 0.0390 0.8598 0.7348 0.7975 0.5783 0.7658 0.7973

3 0.5311 0.4698 0.4060 0.2188 0.7185 0.7345 0.5000

4 0.3663 0.3006 0.1672 0.2183 0.7135 0.7345 0.6560

5 0.4645 0.4019 0.0583 0.0531 0.6873 0.7343 0.5310

6 0.2234 0.1804 0.4474 0.3124 0.3892 0.2505 0.7500

7 0.4675 0.3673 0.6457 0.4980 0.5906 0.1235 0.7655

8 0.4959 0.4537 0.4792 0.3849 0.4059 0.4887 0.6750

Diagonal superior (color blau) distàncies de Prevosti

Diagonal inferior (color vermell)  valors de FST

Arbre distància de Prevosti – UPGMA:

Els passos per crear l’arbre distància de Prevosti – UPGMA es troben a la pàgina següent. A partir de l’arbre podem observar que les poblacions es divideixen en 4 grups:

El primer grup estaria format per Reclà, Vallcanera i Bugantó, les dues últimes sent més properes entre si. Si es miren els valors de FST que ens indiquen les diferenciacions entre les poblacions, Vallcanera i Bugantó obtenen un valor de 0.0531 i Vallcanera amb Reclà de 0.0583.

Es considera que un valor de FST entre 0.05-0.15 hi ha una diferenciació moderada, però Bugantó amb Reclà obtenen un valor de FST de 0.1672 que la es consideraria una diferenciació gran (Hartl & Clark 1997).

 Tot i que el nostre arbre agrupi primer Vallcanera amb Bugantó, ja s’ha vist que Reclà es gairebé igual de similar amb Vallcanera, i com es veu a l’article original (Araguas, Vidal, Pla, & Sanz, 2012) Vallcanera seria més similar a Reclà que a Bugantó, ja que són més propers geogràficament.

Respecte el segon grup diferenciat serien Daró i la Riera de Calonge que tenen un valor de FST de 0.1235, seria una diferenciació moderada (Hartl & Clark 1997). Aquestes dues poblacions també es troben properes geogràficament.

El tercer grup estaria format per Orlina i Pedret i Marzà que obtenen el valor de FST més baix 0.039, i al trobar-se entre el rang de 0-0.05 es considera que hi ha una diferenciació lleu (Hartl & Clark 1997). Això s’explicaria perquè són les dues poblacions més properes geogràficament, però la distància no és la més baixa que s’ha obtingut en el nostre cas, ja que els grups anteriors tenen una distància menor entre ells.

Per últim trobaríem la població d’Ullals de Baltasar que no es troba agrupada properament amb cap població. Consultant l’article original, s’observa el mateix resultat, i això és degut a que la mostra té una procedència molt allunyada geogràficament de la resta. Encara que presenti grans diferències, és més propera al primer grup (Reclà, Vallcanera i Bugantó), que quedarien més a prop de la localització que no pas la resta de poblacions.

Passos seguits per aconseguir l’arbre:

Distàncies Prevosti pels dos loci:

 1 2 3 4 5 6 7

2 0.2805

3 0.9223 0.8598

4 0.8123 0.7348 0.4060

5 0.8600 0.7975 0.2188 0.2183

6 0.6563 0.5783 0.7185 0.7135 0.6873

7 0.8283 0.7658 0.7345 0.7345 0.7343 0.2505

8 0.7813 0.7973 0.5000 0.6560 0.5310 0.7500 0.7655

(4+5)= la distància de cada branca serà (0.2183/2= 0.10915 $≅$ **0.11**

 4 + 5 1 2 3 6 7

1 0.83615

2 0.76615 0.2805

3 0.3124 0.9223 0.8598

6 0.7004 0.6563 0.5783 0.7185

7 0.7344 0.8283 0.7658 0.7345 0.2505

8 0.5935 0.7813 0.7973 0.5 0.75 0.7655

 (6+7)= la distància de cada branca serà (0.2505/2= 0.12525 $≅$ **0.13**

 6 + 7 4 + 5 1 2 3

4 + 5 0.7174

1 0.7423 0.83615

2 0.67205 0.76615 0.2805

3 0.7265 0.3124 0.9223 0.8598

8 0.75775 0.5935 0.7813 0.5 0.5

 (1+2)= la distància de cada branca serà (0.2805/2= 0.14025 $≅$ **0.14**

 1 + 2 6 + 7 4 + 5 3

6 + 7 0.707175

4 + 5 0.80115 0.7174

3 0.89105 0.7265 0.3124

8 0.7893 0.75775 0.5935 0.5

(4+5+3)= la distància de cada branca serà (0.3124/2= 0.1562 $≅$ **0.16**

 4 + 5 + 3 1 + 2 6 + 7

1 + 2 0.8461

6 + 7 0.72195 0.707175

8 0.54675 0.7893 0.75775

(4+5+3+8)= la distància de cada branca serà (0.54675/2= 0.1 ≈ 0.273375 $≅$ **0.27**

 4 + 5 + 3 + 8 1 + 2

1 + 2 0.8177

6 + 7 0.73985 0.707175

(1+2+6+7)= la distància de cada branca serà (0.707175/2= 0.3535875 $≅$ **0.35**

 4 + 5 + 3 + 8

1 + 2 + 6 + 7 0.778775

4+5+3+8+1+2+6+7= la distància de cada branca serà (0.778775/2= 0.3893875 $≅$ **0.39**

**Bibliografia:**

Hartl DL, Clark AG (1997) Principles of Population Genetics, 3nd edn. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA

ARAGUAS, R. M., VIDAL, O., PLA, C., & SANZ, N. (2012). High genetic diversity of the endangered Iberian three-spined stickleback (Gasterosteus aculeatus) at the Mediterranean edge of its range. *Freshwater Biology*, *57*(1), 143–154. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2011.02705.x

**Sortides del programa Genepop:**

**1.- Test de HW (Opció 1.3)**

Genepop version 4.2: Hardy-Weinberg test

File: 012156 (Poblacions)

Number of populations detected: 8

Number of loci detected: 2

Estimation of exact P-Values by the Markov chain method.

---------------------------------------------

Markov chain parameters for all tests:

Dememorization: 1000

Batches: 100

Iterations per batch: 1000

Hardy Weinberg: Probability test

 \*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*

==========================================

 Results by locus

==========================================

Locus "G72150"

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

POP P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

ORT51 0.2363 0.0071 -0.0465 0.1153 15652 switches

RPED31 0.8902 0.0033 -0.1009 -0.0874 25322 switches

RE31 -

va50 0.0000 0.0000 1.0000 1.0667 59245 switches

bu25 0.0329 0.0008 1.0000 1.0667 3282 switches

da24 0.1492 0.0067 0.1837 0.0573 15886 switches

cal39 -

2ull37 -

All (Fisher's method):

 Chi2: 34.0020

 Df : 10.0000

 Prob : 0.0002

Locus "G72310"

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

POP P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

ORT51 0.6837 0.0041 0.0000 0.0046 37017 switches

RPED31 0.7629 0.0065 -0.0141 -0.0277 15796 switches

RE31 0.0279 0.0018 0.4141 0.4959 33609 switches

va50 0.0961 0.0031 0.2283 0.1666 45655 switches

bu25 0.7358 0.0057 0.1060 0.1164 22502 switches

da24 0.0054 0.0007 0.0940 0.3990 33950 switches

cal39 0.1391 0.0030 -0.3235 -0.2158 26198 switches

2ull37 0.1295 0.0018 -0.4754 -0.4833 61519 switches

All (Fisher's method):

 Chi2: 32.2271

 Df : 16.0000

 Prob : 0.0093

==========================================

 Results by population

==========================================

 Pop : ORT51

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 0.2363 0.0071 -0.0465 0.1153 15652 switches

G72310 0.6837 0.0041 0.0000 0.0046 37017 switches

All (Fisher's method):

 Chi2 : 3.6461

 Df : 4.0000

 Prob : 0.4560

 Pop : RPED31

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 0.8902 0.0033 -0.1009 -0.0874 25322 switches

G72310 0.7629 0.0065 -0.0141 -0.0277 15796 switches

All (Fisher's method):

 Chi2 : 0.7738

 Df : 4.0000

 Prob : 0.9419

 Pop : RE31

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 No information.

G72310 0.0279 0.0018 0.4141 0.4959 33609 switches

 Pop : va50

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 0.0000 0.0000 1.0000 1.0667 59245 switches

G72310 0.0961 0.0031 0.2283 0.1666 45655 switches

All (Fisher's method):

 Chi2 : 24.9374

 Df : 4.0000

 Prob : 0.0001

 Pop : bu25

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 0.0329 0.0008 1.0000 1.0667 3282 switches

G72310 0.7358 0.0057 0.1060 0.1164 22502 switches

All (Fisher's method):

 Chi2 : 7.4398

 Df : 4.0000

 Prob : 0.1144

 Pop : da24

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 0.1492 0.0067 0.1837 0.0573 15886 switches

G72310 0.0054 0.0007 0.0940 0.3990 33950 switches

All (Fisher's method):

 Chi2 : 14.2360

 Df : 4.0000

 Prob : 0.0066

 Pop : cal39

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 No information.

G72310 0.1391 0.0030 -0.3235 -0.2158 26198 switches

 Pop : 2ull37

-----------------------------------------

 Fis estimates

 ---------------

locus P-val S.E. W&C R&H Steps

----------- ------- ------- ------- ------- ------

G72150 No information.

G72310 0.1295 0.0018 -0.4754 -0.4833 61519 switches

==========================================

 All locus, all populations

==========================================

All (Fisher's method) :

 Chi2 : 51.0331

 Df : 26.0000

 Prob : 0.0024

Normal ending

**2.- Desequilibri de lligament (Opció 2.1)**

Genepop version 4.2, Genotypic linkage disequilibrium

File: 012441 (Poblacions)

Number of populations detected : 8

Number of loci detected : 2

Markov chain parameters

 Dememorisation : 1000

 Batches : 100

 Iterations per batch : 1000

Pop Locus#1 Locus#2 P-Value S.E. Switches

---------- ------- ------- -------- -------- --------

ORT51 G72150 G72310 0.984 0.002494 8106

RPED31 G72150 G72310 0.543180 0.018769 5538

RE31 G72150 G72310 No contingency table

va50 G72150 G72310 0.241480 0.004935 31034

bu25 G72150 G72310 0.425900 0.007216 8370

da24 G72150 G72310 0.528690 0.008517 17283

cal39 G72150 G72310 1.000000 0.000000 10322

2ull37 G72150 G72310 No contingency table

P-value for each locus pair across all populations

(Fisher's method)

-----------------------------------------------------

Locus pair Chi2 df P-Value

-------------------- -------- --- --------

G72150 & G72310 7.076633 12 0.852508

Normal ending.

**3.- Diferenciació entre poblacions (Opció 3.1 i 3.2)**

**3.1**

Genepop version 4.2, Genic differentiation (Fisher's exact Probability test)

File: 013128 (Poblacions)

Number of populations detected : 8

Number of loci detected : 2

Markov chain parameters

 Dememorisation : 1000

 Batches : 100

 Iterations per batch : 1000

Locus: G72150

=================================

Pop Alleles:

 ------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

 249 251 253 255 257 259 Total

ORT51 0 21 0 6 3 2 32

RPED31 0 14 2 5 11 0 32

RE31 0 0 32 0 0 0 32

va50 0 0 22 10 0 0 32

bu25 0 2 30 0 0 0 32

da24 1 11 3 0 17 0 32

cal39 0 0 1 0 31 0 32

2ull37 0 0 32 0 0 0 32

Total: 1 48 122 21 62 2 256

P-value = 0 S.E. = 0 (34354 switches)

Locus: G72310

=================================

Pop Alleles:

 ------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

 117 119 123 125 127 129 133 135 Total

ORT51 8 6 12 0 6 0 0 0 32

RPED31 1 10 11 2 8 0 0 0 32

RE31 0 0 5 21 0 0 0 6 32

va50 0 0 0 16 9 0 7 0 32

bu25 0 0 2 18 5 0 7 0 32

da24 13 0 0 15 0 4 0 0 32

cal39 14 0 0 16 0 2 0 0 32

2ull37 16 16 0 0 0 0 0 0 32

Total: 52 32 30 88 28 6 14 6 256

P-value = 0 S.E. = 0 (48498 switches)

=================================

P-value across all loci

(Fisher's method)

-----------------------------------------------------

Locus P-Value

------------- --------

G72150 0

G72310 0

All: Chi2= Infinity (df= 4), highly significant

Normal ending.

**3.2**

Genepop version 4.2, Genic differentiation for each population pair (Fisher's exact Probability test)

File: 012847 (Poblacions)

Number of populations detected : 8

Number of loci detected : 2

Markov chain parameters

 Dememorisation : 1000

 Batches : 100

 Iterations per batch : 1000

Locus: G72150

=================================

Pop Alleles:

 ------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

 249 251 253 255 257 259 Total

ORT51 0 21 0 6 3 2 32

RPED31 0 14 2 5 11 0 32

RE31 0 0 32 0 0 0 32

va50 0 0 22 10 0 0 32

bu25 0 2 30 0 0 0 32

da24 1 11 3 0 17 0 32

cal39 0 0 1 0 31 0 32

2ull37 0 0 32 0 0 0 32

Total: 1 48 122 21 62 2 256

Locus Population pair P-Value S.E. Switches

----------- --------------------- ------- ------- --------

G72150 RPED31 & ORT51 0.02883 0.00238 54358

G72150 RE31 & ORT51 0.00000 0.00000 55586

G72150 RE31 & RPED31 0.00000 0.00000 67682

G72150 va50 & ORT51 0.00000 0.00000 58130

G72150 va50 & RPED31 0.00000 0.00000 71856

G72150 va50 & RE31 0.00108 0.00020 73187

G72150 bu25 & ORT51 0.00000 0.00000 55837

G72150 bu25 & RPED31 0.00000 0.00000 67981

G72150 bu25 & RE31 0.49226 0.00164 48961

G72150 bu25 & va50 0.00048 0.00013 56516

G72150 da24 & ORT51 0.00005 0.00005 49052

G72150 da24 & RPED31 0.06866 0.00345 54742

G72150 da24 & RE31 0.00000 0.00000 58105

G72150 da24 & va50 0.00000 0.00000 59102

G72150 da24 & bu25 0.00000 0.00000 58786

G72150 cal39 & ORT51 0.00000 0.00000 49964

G72150 cal39 & RPED31 0.00000 0.00000 60838

G72150 cal39 & RE31 0.00000 0.00000 80869

G72150 cal39 & va50 0.00000 0.00000 73993

G72150 cal39 & bu25 0.00000 0.00000 59506

G72150 cal39 & da24 0.00000 0.00000 52383

G72150 2ull37 & ORT51 0.00000 0.00000 55371

G72150 2ull37 & RPED31 0.00000 0.00000 67420

G72150 2ull37 & RE31 No table

G72150 2ull37 & va50 0.00070 0.00016 73190

G72150 2ull37 & bu25 0.49242 0.00157 49328

G72150 2ull37 & da24 0.00000 0.00000 57939

G72150 2ull37 & cal39 0.00000 0.00000 80695

Locus: G72310

=================================

Pop Alleles:

 ------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

 117 119 123 125 127 129 133 135 Total

ORT51 8 6 12 0 6 0 0 0 32

RPED31 1 10 11 2 8 0 0 0 32

RE31 0 0 5 21 0 0 0 6 32

va50 0 0 0 16 9 0 7 0 32

bu25 0 0 2 18 5 0 7 0 32

da24 13 0 0 15 0 4 0 0 32

cal39 14 0 0 16 0 2 0 0 32

2ull37 16 16 0 0 0 0 0 0 32

Total: 52 32 30 88 28 6 14 6 256

Locus Population pair P-Value S.E. Switches

----------- --------------------- ------- ------- --------

G72310 RPED31 & ORT51 0.06387 0.00303 61864

G72310 RE31 & ORT51 0.00000 0.00000 63752

G72310 RE31 & RPED31 0.00000 0.00000 57586

G72310 va50 & ORT51 0.00000 0.00000 65251

G72310 va50 & RPED31 0.00000 0.00000 58872

G72310 va50 & RE31 0.00000 0.00000 62800

G72310 bu25 & ORT51 0.00000 0.00000 65108

G72310 bu25 & RPED31 0.00000 0.00000 58870

G72310 bu25 & RE31 0.00005 0.00005 61762

G72310 bu25 & va50 0.42674 0.00591 61475

G72310 da24 & ORT51 0.00000 0.00000 62597

G72310 da24 & RPED31 0.00000 0.00000 64427

G72310 da24 & RE31 0.00000 0.00000 61098

G72310 da24 & va50 0.00000 0.00000 63891

G72310 da24 & bu25 0.00000 0.00000 56294

G72310 cal39 & ORT51 0.00000 0.00000 59497

G72310 cal39 & RPED31 0.00000 0.00000 61581

G72310 cal39 & RE31 0.00000 0.00000 57673

G72310 cal39 & va50 0.00000 0.00000 60127

G72310 cal39 & bu25 0.00000 0.00000 53376

G72310 cal39 & da24 0.76682 0.00264 70782

G72310 2ull37 & ORT51 0.00000 0.00000 69400

G72310 2ull37 & RPED31 0.00000 0.00000 61161

G72310 2ull37 & RE31 0.00000 0.00000 65923

G72310 2ull37 & va50 0.00000 0.00000 68372

G72310 2ull37 & bu25 0.00000 0.00000 59668

G72310 2ull37 & da24 0.00000 0.00000 67222

G72310 2ull37 & cal39 0.00000 0.00000 61898

=================================

P-value for each population pair across all loci

(Fisher's method)

-----------------------------------------------------

Population pair Chi2 df P-Value

-------------------- -------- --- --------

ORT51 & RPED31 12.59449 4 0.013437

ORT51 & RE31 Infinity 4 Highly sign.

RPED31 & RE31 Infinity 4 Highly sign.

ORT51 & va50 Infinity 4 Highly sign.

RPED31 & va50 Infinity 4 Highly sign.

RE31 & va50 Infinity 4 Highly sign.

ORT51 & bu25 Infinity 4 Highly sign.

RPED31 & bu25 Infinity 4 Highly sign.

RE31 & bu25 21.224472 4 0.000286

va50 & bu25 16.986610 4 0.001945

ORT51 & da24 Infinity 4 Highly sign.

RPED31 & da24 Infinity 4 Highly sign.

RE31 & da24 Infinity 4 Highly sign.

va50 & da24 Infinity 4 Highly sign.

bu25 & da24 Infinity 4 Highly sign.

ORT51 & cal39 Infinity 4 Highly sign.

RPED31 & cal39 Infinity 4 Highly sign.

RE31 & cal39 Infinity 4 Highly sign.

va50 & cal39 Infinity 4 Highly sign.

bu25 & cal39 Infinity 4 Highly sign.

da24 & cal39 Infinity 4 Highly sign.

ORT51 & 2ull37 Infinity 4 Highly sign.

RPED31 & 2ull37 Infinity 4 Highly sign.

RE31 & 2ull37 Infinity 2 Highly sign.

va50 & 2ull37 Infinity 4 Highly sign.

bu25 & 2ull37 Infinity 4 Highly sign.

da24 & 2ull37 Infinity 4 Highly sign.

cal39 & 2ull37 Infinity 4 Highly sign.

Normal ending.

**4.- Freqüències al·lèliques i diversitat gènica –Q-inter– (Opció 5.1 i 5.2)**

Genepop version 4.2, Basic data for each locus in each population

File: 013408 (Poblacions)

Number of populations detected : 8

Number of loci detected : 2

'Expected' numbers of homozygotes or heterozygotes

are computed using Levene's correction

Fis: computed as in Weir & Cockerham (1984);

also as in Robertson & Hill (1984).

=============================================

 Detailed analyses

=============================================

 Pop: ORT51 Locus: G72150

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 251 255 257 259

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 251 6

 255 6 0

 257 1 0 1

 259 2 0 0 0

 Genotypes Obs. Expected

 251 , 251 6 6.7742

 255 , 251 6 4.0645

 255 , 255 0 0.4839

 257 , 251 1 2.0323

 257 , 255 0 0.5806

 257 , 257 1 0.0968

 259 , 251 2 1.3548

 259 , 255 0 0.3871

 259 , 257 0 0.1935

 259 , 259 0 0.0323

 Expected number of homozygotes : 7.3871

 Observed number of homozygotes : 7

 Expected number of heterozygotes: 8.6129

 Observed number of heterozygotes: 9

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 251 21 0.6562 -0.2162

 255 6 0.1875 -0.2000

 257 3 0.0938 0.6512

 259 2 0.0625 -0.0345

 Tot 32 -0.0465 0.1153

 -------------------------------------------------------

 Pop: ORT51 Locus: G72310

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 117 119 123 127

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 117 1

 119 3 0

 123 3 2 2

 127 0 1 3 1

 Genotypes Obs. Expected

 117 , 117 1 0.9032

 119 , 117 3 1.5484

 119 , 119 0 0.4839

 123 , 117 3 3.0968

 123 , 119 2 2.3226

 123 , 123 2 2.1290

 127 , 117 0 1.5484

 127 , 119 1 1.1613

 127 , 123 3 2.3226

 127 , 127 1 0.4839

 Expected number of homozygotes : 4.0000

 Observed number of homozygotes : 4

 Expected number of heterozygotes: 12.0000

 Observed number of heterozygotes: 12

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 117 8 0.2500 0.0323

 119 6 0.1875 -0.2000

 123 12 0.3750 -0.0345

 127 6 0.1875 0.2105

 Tot 32 0.0000 0.0046

 -------------------------------------------------------

 Pop: RPED31 Locus: G72150

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 251 253 255 257

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 251 2

 253 1 0

 255 4 0 0

 257 5 1 1 2

 Genotypes Obs. Expected

 251 , 251 2 2.9355

 253 , 251 1 0.9032

 253 , 253 0 0.0323

 255 , 251 4 2.2581

 255 , 253 0 0.3226

 255 , 255 0 0.3226

 257 , 251 5 4.9677

 257 , 253 1 0.7097

 257 , 255 1 1.7742

 257 , 257 2 1.7742

 Expected number of homozygotes : 5.0645

 Observed number of homozygotes : 4

 Expected number of heterozygotes: 10.9355

 Observed number of heterozygotes: 12

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 251 14 0.4375 -0.2397

 253 2 0.0625 -0.0345

 255 5 0.1562 -0.1538

 257 11 0.3438 0.0625

 Tot 32 -0.1009 -0.0874

 -------------------------------------------------------

 Pop: RPED31 Locus: G72310

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 117 119 123 125 127

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 117 0

 119 0 2

 123 1 2 2

 125 0 0 1 0

 127 0 4 3 1 0

 Genotypes Obs. Expected

 117 , 117 0 0.0000

 119 , 117 0 0.3226

 119 , 119 2 1.4516

 123 , 117 1 0.3548

 123 , 119 2 3.5484

 123 , 123 2 1.7742

 125 , 117 0 0.0645

 125 , 119 0 0.6452

 125 , 123 1 0.7097

 125 , 125 0 0.0323

 127 , 117 0 0.2581

 127 , 119 4 2.5806

 127 , 123 3 2.8387

 127 , 125 1 0.5161

 127 , 127 0 0.9032

 Expected number of homozygotes : 4.1613

 Observed number of homozygotes : 4

 Expected number of heterozygotes: 11.8387

 Observed number of heterozygotes: 12

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 117 1 0.0312 0.0000

 119 10 0.3125 0.1589

 123 11 0.3438 0.0625

 125 2 0.0625 -0.0345

 127 8 0.2500 -0.3043

 Tot 32 -0.0141 -0.0277

 -------------------------------------------------------

 Pop: RE31 Locus: G72150

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 253

 \_\_\_\_

 253 16

 Genotypes Obs. Expected

 253 , 253 16 16.0000

 Expected number of homozygotes : 16.0000

 Observed number of homozygotes : 16

 Expected number of heterozygotes: 0.0000

 Observed number of heterozygotes: 0

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 -------------------------------------------------------

 Pop: RE31 Locus: G72310

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 123 125 135

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 123 2

 125 1 8

 135 0 4 1

 Genotypes Obs. Expected

 123 , 123 2 0.3226

 125 , 123 1 3.3871

 125 , 125 8 6.7742

 135 , 123 0 0.9677

 135 , 125 4 4.0645

 135 , 135 1 0.4839

 Expected number of homozygotes : 7.5806

 Observed number of homozygotes : 11

 Expected number of heterozygotes: 8.4194

 Observed number of heterozygotes: 5

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 123 5 0.1562 0.7761

 125 21 0.6562 0.3363

 135 6 0.1875 0.2105

 Tot 32 0.4141 0.4959

 -------------------------------------------------------

 Pop: va50 Locus: G72150

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 253 255

 \_\_\_\_\_\_\_\_

 253 11

 255 0 5

 Genotypes Obs. Expected

 253 , 253 11 7.4516

 255 , 253 0 7.0968

 255 , 255 5 1.4516

 Expected number of homozygotes : 8.9032

 Observed number of homozygotes : 16

 Expected number of heterozygotes: 7.0968

 Observed number of heterozygotes: 0

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 253 22 0.6875 1.0000

 255 10 0.3125 1.0000

 Tot 32 1.0000 1.0667

 -------------------------------------------------------

 Pop: va50 Locus: G72310

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 125 127 133

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 125 6

 127 3 1

 133 1 4 1

 Genotypes Obs. Expected

 125 , 125 6 3.8710

 127 , 125 3 4.6452

 127 , 127 1 1.1613

 133 , 125 1 3.6129

 133 , 127 4 2.0323

 133 , 133 1 0.6774

 Expected number of homozygotes : 5.7097

 Observed number of homozygotes : 8

 Expected number of heterozygotes: 10.2903

 Observed number of heterozygotes: 8

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 125 16 0.5000 0.5238

 127 9 0.2812 -0.0500

 133 7 0.2188 0.1176

 Tot 32 0.2283 0.1666

 -------------------------------------------------------

 Pop: bu25 Locus: G72150

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 251 253

 \_\_\_\_\_\_\_\_

 251 1

 253 0 15

 Genotypes Obs. Expected

 251 , 251 1 0.0323

 253 , 251 0 1.9355

 253 , 253 15 14.0323

 Expected number of homozygotes : 14.0645

 Observed number of homozygotes : 16

 Expected number of heterozygotes: 1.9355

 Observed number of heterozygotes: 0

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 251 2 0.0625 1.0000

 253 30 0.9375 1.0000

 Tot 32 1.0000 1.0667

 -------------------------------------------------------

 Pop: bu25 Locus: G72310

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 123 125 127 133

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 123 0

 125 2 5

 127 0 2 1

 133 0 4 1 1

 Genotypes Obs. Expected

 123 , 123 0 0.0323

 125 , 123 2 1.1613

 125 , 125 5 4.9355

 127 , 123 0 0.3226

 127 , 125 2 2.9032

 127 , 127 1 0.3226

 133 , 123 0 0.4516

 133 , 125 4 4.0645

 133 , 127 1 1.1290

 133 , 133 1 0.6774

 Expected number of homozygotes : 5.9677

 Observed number of homozygotes : 7

 Expected number of heterozygotes: 10.0323

 Observed number of heterozygotes: 9

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 123 2 0.0625 -0.0345

 125 18 0.5625 0.0164

 127 5 0.1562 0.3182

 133 7 0.2188 0.1176

 Tot 32 0.1060 0.1164

 -------------------------------------------------------

 Pop: da24 Locus: G72150

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 249 251 253 257

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 249 0

 251 0 2

 253 0 3 0

 257 1 4 0 6

 Genotypes Obs. Expected

 249 , 249 0 0.0000

 251 , 249 0 0.3548

 251 , 251 2 1.7742

 253 , 249 0 0.0968

 253 , 251 3 1.0645

 253 , 253 0 0.0968

 257 , 249 1 0.5484

 257 , 251 4 6.0323

 257 , 253 0 1.6452

 257 , 257 6 4.3871

 Expected number of homozygotes : 6.2581

 Observed number of homozygotes : 8

 Expected number of heterozygotes: 9.7419

 Observed number of heterozygotes: 8

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 249 1 0.0312 0.0000

 251 11 0.3438 0.0625

 253 3 0.0938 -0.0714

 257 17 0.5312 0.4000

 Tot 32 0.1837 0.0573

 -------------------------------------------------------

 Pop: da24 Locus: G72310

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 117 125 129

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 117 2

 125 9 3

 129 0 0 2

 Genotypes Obs. Expected

 117 , 117 2 2.5161

 125 , 117 9 6.2903

 125 , 125 3 3.3871

 129 , 117 0 1.6774

 129 , 125 0 1.9355

 129 , 129 2 0.1935

 Expected number of homozygotes : 6.0968

 Observed number of homozygotes : 7

 Expected number of heterozygotes: 9.9032

 Observed number of heterozygotes: 9

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 117 13 0.4062 -0.1345

 125 15 0.4688 -0.0976

 129 4 0.1250 1.0000

 Tot 32 0.0940 0.3990

 -------------------------------------------------------

 Pop: cal39 Locus: G72150

--------------------------------------

 Genotypic matrix:

 253 257

 \_\_\_\_\_\_\_\_

 253 0

 257 1 15

 Genotypes Obs. Expected

 253 , 253 0 0.0000

 257 , 253 1 1.0000

 257 , 257 15 15.0000

 Expected number of homozygotes : 15.0000

 Observed number of homozygotes : 15

 Expected number of heterozygotes: 1.0000

 Observed number of heterozygotes: 1

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 253 1 0.0312 0.0000

 257 31 0.9688 0.0000

 Tot 32 0.0000 0.0000

 -------------------------------------------------------

 Pop: cal39 Locus: G72310

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 117 125 129

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 117 1

 125 10 3

 129 2 0 0

 Genotypes Obs. Expected

 117 , 117 1 2.9355

 125 , 117 10 7.2258

 125 , 125 3 3.8710

 129 , 117 2 0.9032

 129 , 125 0 1.0323

 129 , 129 0 0.0323

 Expected number of homozygotes : 6.8387

 Observed number of homozygotes : 4

 Expected number of heterozygotes: 9.1613

 Observed number of heterozygotes: 12

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 117 14 0.4375 -0.5000

 125 16 0.5000 -0.2195

 129 2 0.0625 -0.0345

 Tot 32 -0.3235 -0.2158

 -------------------------------------------------------

 Pop: 2ull37 Locus: G72150

-----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 253

 \_\_\_\_

 253 16

 Genotypes Obs. Expected

 253 , 253 16 16.0000

 Expected number of homozygotes : 16.0000

 Observed number of homozygotes : 16

 Expected number of heterozygotes: 0.0000

 Observed number of heterozygotes: 0

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 -------------------------------------------------------

 Pop: 2ull37 Locus: G72310

----------------------------------------

 Genotypic matrix:

 117 119

 \_\_\_\_\_\_\_\_

 117 2

 119 12 2

 Genotypes Obs. Expected

 117 , 117 2 3.8710

 119 , 117 12 8.2581

 119 , 119 2 3.8710

 Expected number of homozygotes : 7.7419

 Observed number of homozygotes : 4

 Expected number of heterozygotes: 8.2581

 Observed number of heterozygotes: 12

 Allele frequencies and Fis:

 -------------------------------------------------------

 Fis

 ----------------

 Allele Sample count Frequency W&C R&H

 117 16 0.5000 -0.4754

 119 16 0.5000 -0.4754

 Tot 32 -0.4754 -0.4833

 -------------------------------------------------------

Tables of allelic frequencies for each locus:

 Locus: G72150

------------------

 Pop Alleles Genes

 ----------------------------------- -----

 249 251 253 255 257 259

ORT51 0.000 0.656 0.000 0.188 0.094 0.062 32

RPED31 0.000 0.438 0.062 0.156 0.344 0.000 32

RE31 0.000 0.000 1.000 0.000 0.000 0.000 32

va50 0.000 0.000 0.688 0.312 0.000 0.000 32

bu25 0.000 0.062 0.938 0.000 0.000 0.000 32

da24 0.031 0.344 0.094 0.000 0.531 0.000 32

cal39 0.000 0.000 0.031 0.000 0.969 0.000 32

2ull37 0.000 0.000 1.000 0.000 0.000 0.000 32

 Locus: G72310

------------------

 Pop Alleles Genes

 ----------------------------------------------- -----

 117 119 123 125 127 129 133 135

ORT51 0.250 0.188 0.375 0.000 0.188 0.000 0.000 0.000 32

RPED31 0.031 0.312 0.344 0.062 0.250 0.000 0.000 0.000 32

RE31 0.000 0.000 0.156 0.656 0.000 0.000 0.000 0.188 32

va50 0.000 0.000 0.000 0.500 0.281 0.000 0.219 0.000 32

bu25 0.000 0.000 0.062 0.562 0.156 0.000 0.219 0.000 32

da24 0.406 0.000 0.000 0.469 0.000 0.125 0.000 0.000 32

cal39 0.438 0.000 0.000 0.500 0.000 0.062 0.000 0.000 32

2ull37 0.500 0.500 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 32

Normal ending.

**5.- FST (Opció 6.1 i 6.2)**

**6.1**

Genepop version 4.2

Allele frequency-based correlation (Fis, Fst, Fit)

One locus estimates following standard ANOVA as in Weir and Cockerham (1984)

File: 013837 (Poblacions)

Number of populations detected : 8

Number of loci detected : 2

 Locus: G72150

---------------------------------

Pop Genotypes:

 ------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

 251 251 253 251 255 249 251 253 255 257 251

 251 253 253 255 255 257 257 257 257 257 259 Total

ORT51 6 0 0 6 0 0 1 0 0 1 2 16

RPED31 2 1 0 4 0 0 5 1 1 2 0 16

RE31 0 0 16 0 0 0 0 0 0 0 0 16

va50 0 0 11 0 5 0 0 0 0 0 0 16

bu25 1 0 15 0 0 0 0 0 0 0 0 16

da24 2 3 0 0 0 1 4 0 0 6 0 16

cal39 0 0 0 0 0 0 0 1 0 15 0 16

2ull37 0 0 16 0 0 0 0 0 0 0 0 16

Total: 11 4 58 10 5 1 10 2 1 24 2 128

Fis^= 0.243061

Fst^= 0.573385

Fit^= 0.677078

1-Qintra^= 0.234375 (gene diversity intra-individuals)

1-Qinter^= 0.309635 (gene diversity inter-individuals intra-pop)

 Locus: G72310

---------------------------------

Pop Genotypes:

 ------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

 117 117 119 117 119 123 117 123 125 119 123 125 127 117 129 125 127 133 125 135

 117 119 119 123 123 123 125 125 125 127 127 127 127 129 129 133 133 133 135 135 Total

ORT51 1 3 0 3 2 2 0 0 0 1 3 0 1 0 0 0 0 0 0 0 16

RPED31 0 0 2 1 2 2 0 1 0 4 3 1 0 0 0 0 0 0 0 0 16

RE31 0 0 0 0 0 2 0 1 8 0 0 0 0 0 0 0 0 0 4 1 16

va50 0 0 0 0 0 0 0 0 6 0 0 3 1 0 0 1 4 1 0 0 16

bu25 0 0 0 0 0 0 0 2 5 0 0 2 1 0 0 4 1 1 0 0 16

da24 2 0 0 0 0 0 9 0 3 0 0 0 0 0 2 0 0 0 0 0 16

cal39 1 0 0 0 0 0 10 0 3 0 0 0 0 2 0 0 0 0 0 0 16

2ull37 2 12 2 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 16

Total: 6 15 4 4 4 6 19 4 25 5 6 6 3 2 2 5 5 2 4 1 128

Fis^= 0.011676

Fst^= 0.240635

Fit^= 0.249502

1-Qintra^= 0.617188 (gene diversity intra-individuals)

1-Qinter^= 0.624479 (gene diversity inter-individuals intra-pop)

Multilocus estimates for diploid data

Locus Fwc(is) Fwc(st) Fwc(it)

------------ ------- ------- -------

G72150 0.2431 0.5734 0.6771

G72310 0.0117 0.2406 0.2495

 All: 0.0884 0.3966 0.4500

-----------------------------------------------

Normal ending.

**6.2**

Genepop version 4.2

Pairwise Fst's

One locus estimates following standard ANOVA as in Weir and Cockerham (1984)

File: 014020 (Poblacions)

Number of populations detected : 8

Number of loci detected : 2

Indices for populations:

---- -------------

1 ORT51

2 RPED31

3 RE31

4 va50

5 bu25

6 da24

7 cal39

8 2ull37

----------------------

Estimates for each locus:

========================

 Locus: G72150

---------------------------------

pop 1 2 3 4 5 6 7

2 0.0645

3 0.7312 0.6367

4 0.4711 0.3726 0.2667

5 0.6546 0.5590 0.0000 0.1795

6 0.2065 0.0216 0.6621 0.4277 0.5860

7 0.6700 0.4408 0.9677 0.7339 0.9034 0.3004

8 0.7312 0.6367 - 0.2667 0.0000 0.6621 0.9677

 Locus: G72310

---------------------------------

pop 1 2 3 4 5 6 7

2 0.0172

3 0.3184 0.2969

4 0.2621 0.2278 0.1209

5 0.2720 0.2432 0.0642 -0.0185

6 0.2371 0.2900 0.1665 0.1714 0.1512

7 0.2608 0.3162 0.1814 0.1903 0.1681 -0.0236

8 0.1947 0.2465 0.4792 0.4219 0.4313 0.2915 0.3120

Estimates for all loci (diploid):

=========================

pop 1 2 3 4 5 6 7

2 0.0390

3 0.5311 0.4698

4 0.3663 0.3006 0.1672

5 0.4645 0.4019 0.0583 0.0531

6 0.2234 0.1804 0.4474 0.3124 0.3892

7 0.4675 0.3673 0.6457 0.4980 0.5906 0.1235

8 0.4959 0.4537 0.4792 0.3849 0.4059 0.4887 0.6750

The file 014020.MIG contains the matrix ready for further analysis

Normal ending.