

### CAPÍTULO 3

## TAMAÑO EFECTIVO DE LA POBLACIÓN

---

*Alejandra Moreno Letelier*

El tamaño efectivo poblacional fue mencionado por primera vez por S. Wright en su trabajo sobre deriva génica, en el que considera a éste como el factor determinante de la tasa de decaimiento de la heterocigosis: el número de heterocigotos en una población disminuirá a una tasa de  $(\frac{1}{2}N)$ , donde  $N$  es el tamaño poblacional (Wright, 1930).

En el proceso de deriva génica, los alelos presentes en un momento dado en una población de individuos diploides son sólo una muestra de los alelos presentes en la generación previa, ya que algunos de ellos no fueron transmitidos a la siguiente generación únicamente por azar, y así sucesivamente hacia el pasado (Futuyma, 1986). Con el paso del tiempo, las siguientes generaciones presentarían cada vez menos copias de los alelos originales y cada vez los individuos se volverían más homocigos, aumentando también la probabilidad de que sus alelos sean idénticos por descendencia (ver capítulo 6). En este proceso gobernado por el azar, la pérdida de heterocigocis va también acompañada de cambios en las frecuencias alélicas, ya que un alelo que por azar deje más descendencia aumentaría su frecuencia en la población.

Puede entonces considerarse que la probabilidad de que un alelo esté representado en la siguiente generación por  $i$  número de copias, depende del número de copias total ( $2N$ , donde  $N$  es el tamaño de la población) de la generación parental y las frecuencias de los alelos. Eventualmente el muestreo azaroso de alelos de una generación a otra llevará a la fijación de una de las

copias (frecuencia de 1) y a la pérdida de la otra (frecuencia de 0) generando conjuntamente la pérdida de heterocigocis en la población (Futuyma, 1986).

La tasa de pérdida de variación y de heterocigosis por deriva génica es más alta en poblaciones pequeñas, aunque ocurre en todas las poblaciones finitas, a menos que la mutación y la inmigración contrarresten el proceso y lo hagan más lento. Por ello resulta necesario tener un estimado confiable del tamaño de la población para entender el proceso de la deriva génica y la pérdida de variación.

### ¿QUÉ SIGNIFICA EL TAMAÑO EFECTIVO?

La base intuitiva del concepto de tamaño efectivo de la población ( $N_e$ ) propuesto por Sewall Wright está asociada al tamaño poblacional que es relevante en términos evolutivos, esto es, el número de individuos reproductivos, ya que son éstos los que contribuyen a la generación siguiente en términos demográficos y sobre todo genéticos (Wright, 1969; Hedrick, 2000). Sin embargo, no existe una definición muy precisa de este concepto, por lo que la mayoría de las definiciones se refiere al número de individuos en una población cuya heterocigosis decrece a una tasa  $k=1/2N$ , donde  $N$  es el número poblacional (Merrel, 1981). Dicha población, considerada como ideal, debe cumplir las siguientes condiciones:

- El número de hembras debe ser igual al de machos.
- El apareamiento es al azar (panmixia).
- Todos los individuos contribuyen genéticamente a la siguiente generación.
- La fecundidad por familia tiene una distribución de Poisson, es decir, que los individuos reproductivos únicamente se reemplazan en la población a la siguiente generación.
- La población está en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Si una población cumple con *todos* estos requisitos, el tamaño efectivo es igual al tamaño censal. Sin embargo las variaciones en uno de estos supuestos (o en varios) afectan el tamaño efectivo de la población y por consiguiente, la forma de calcularlo, como veremos a continuación.

## MÉTODOS DE ESTIMACIÓN DIRECTOS

### SEXOS SEPARADOS

Si se considera un organismo dioico, la mitad de los gametos proviene de los individuos de un solo sexo, por lo que el tamaño efectivo depende del número de individuos de cada uno:

$$1/N_e = \frac{1}{4} N_h + \frac{1}{4} N_m \quad \text{lo que significa } N_e = 4N_h N_m / (N_h + N_m)$$

donde el número restrictivo es el del sexo menos numeroso (Merrel, 1981; Hedrick, 2000).

### FLUCTUACIONES TEMPORALES EN EL TAMAÑO POBLACIONAL

La mayoría de los estimados de  $N_e$  se basa en que la población permanece estable en el tiempo, sin embargo, cuando existe variación cíclica a través del tiempo que afecte los tamaños demográficos, el tamaño efectivo de la población a largo plazo también se verá afectado por los tamaños poblacionales menores, ya que los descendientes de un periodo de tamaño poblacional muy pequeño, serán los sobrevivientes de un cuello de botella. En este caso de poblaciones fluctuantes Sewall Wright considera la media armónica de los tamaños poblacionales como el tamaño efectivo de la población:

$$1/N_e = 1/T [1/N_1 + 1/N_2 + 1/N_3 + \dots + 1/N_T]$$

donde  $T$  es el número de generaciones (Merrel, 1981).

### ENDOGAMIA

La endogamia se refiere al apareamiento no aleatorio en donde la probabilidad de que un individuo sea autócigo (con alelos idénticos por descendencia) es mayor que para una población panmíctica. Por lo tanto, la endogamia representa una violación al supuesto de la panmixia, y reduce el número real de individuos reproductivos. Además, una endogamia intensa, producida por ejemplo por autofertilización, también reduce la heterocigosis, y el tamaño poblacional es más parecido al de una población haploide (Hedrick, 2000).

En este caso:  $N_e = N/(1 + F)$ , donde  $F$  es el coeficiente de endogamia (véase el capítulo 6 de este libro).

### OTROS MÉTODOS DE ESTIMACIÓN

Un problema de los primeros índices del tamaño efectivo fue que muchos de los parámetros eran difíciles de estimar en campo, además de que no consideraban la migración, las diferencias en historias de vida de las especies o la estructuración poblacional (ver capítulo 2). A partir de esos primeros índices se han desarrollado muchos otros, con grados variables de complejidad, que pueden lidiar con una o varias violaciones al modelo de población ideal. Es muy importante considerar que la eficacia y la exactitud de estos métodos dependen de la información disponible para las poblaciones y de la historia natural particular de la especie que se esté trabajando.

## MÉTODOS ECOLÓGICOS Y DEMOGRÁFICOS

### MÉTODOS PARA POBLACIONES AISLADAS Y GENERACIONES SOBRELAPADAS

#### *Estructura de edades*

En especies que tienen poblaciones de individuos prereproductivos y postreproductivos, la tasa de nacimientos y muertes puede variar por factores ambientales y genéticos dependiendo del grupo de edad al que pertenezcan. Entonces, los individuos de distintas edades tendrán una contribución diferencial a las siguientes generaciones (Nei e Imazumi, 1966). Estas consideraciones demográficas pueden ser integradas a métodos para calcular  $N_e$ :

$$N_e = N_r L$$

donde  $N_r$  es el número de individuos nacidos en un año dado que llegan a reproducirse y  $L$  es el tiempo generacional (Eguiarte *et al.*, 1993; Hedrick, 2000).

#### *Estructura de edades y diferencias en fecundidad*

Este método es uno de los más clásicos y considera el número de individuos nacidos en un año dado ( $N_o$ ), el tiempo generacional ( $L$ ) y el parámetro  $i$  que

significa la suma de todas las edades del cuadrado de la sobrevivencia específica de cada edad por la fecundidad específica para las edades:

$$N_e = N_0 L_i$$

Se supone una estructura estable de edades y que la población no está creciendo (Crow y Kimura, 1984; Eguiarte *et al.*, 1993).

#### *Diferencias en el éxito reproductivo*

Este método es uno de los más empleados y confiables en el cálculo de  $N_e$ , ya que aborda una de las violaciones más comunes de la población ideal: que la progenie por familia no tenga una distribución de Poisson (Eguiarte *et al.*, 1993; Hedrick, 2000). El supuesto principal es que la población tenga una estructura estable de edades y un tamaño constante. El tamaño efectivo se calcula:

$$N_e = \frac{4(N_0 - 2) L}{V + 2}$$

donde  $N_0$  es el número de individuos nacidos en una temporada,  $L$  el tiempo generacional y  $V$  es la varianza en el tamaño de las familias (Eguiarte *et al.*, 1993). Sin embargo, muchos de estos parámetros son difíciles de obtener para especies con generaciones muy largas (Storz *et al.*, 2001).

Existe una variante que considera la varianza en el éxito reproductivo específico de cada sexo, lo que permite el estudio de sus efectos sobre el tamaño efectivo para cada sexo y para loci heredados uniparentalmente (mitocondria, cloroplasto o cromosoma Y). Por ejemplo, en especies que presentan poliginia la varianza del éxito reproductivo de los machos es mucho mayor que la de las hembras, por lo que su tamaño efectivo es menor. Lo mismo para loci heredados uniparentalmente, cuyo tamaño efectivo es 4 veces menor al de los loci autosomales (Storz *et al.*, 2001). El cálculo del tamaño efectivo para genes autosomales es:

$$\frac{1}{N_e A} = \frac{1}{16N_m} \left[ 2 + \text{var}(X_{mm}) + 2 \left( \frac{N_m}{N_f} \right) \text{cov}(X_{mm,mf}) + \left( \frac{N_m}{N_f} \right)^2 \text{var}(X_{mf}) \right] + \frac{1}{16N_f} \left[ 2 + \text{var}(X_{ff}) + 2 \left( \frac{N_f}{N_m} \right) \text{cov}(X_{fm,ff}) + \left( \frac{N_f}{N_m} \right)^2 \text{var}(X_{fm}) \right]$$

donde  $N_i$  es el número de individuos de sexo  $i$  ( $i$ =masculino o femenino) y  $X_{ij}$  es la progenie neta (de toda la vida) de sexo  $j$  ( $j$ =masculino o femenino) para cada padre de sexo  $i$ . Para loci mitocondriales y de cromosoma Y las fórmulas son:

$$\frac{1}{N_e Y} = \frac{\frac{\{2+2[\text{var}(X_{mm})]\}}{N_m}}{\frac{\{2+2[\text{var}(X_{ff})]\}}{N_f}}$$

En este método, los datos individuales entran en una simulación de cerca de 1000 repeticiones para obtener los estimados de  $N_e$ .

En el caso de que la población esté creciendo puede usarse un método basado en la varianza del éxito reproductivo que es :

$$N_e = \frac{Nk - 1}{(k - 1) + \frac{V_k}{k}}$$

donde  $k$  es el número promedio de la progenie por cada padre y  $V_k$  es la varianza en el éxito reproductivo (Hedrick, 2000).

#### *Varianza del éxito reproductivo*

Este método requiere de estimados del potencial reproductivo parcial (de una temporada) y la media y varianza de la sobrevivencia de los individuos. A partir de estos estimados, el tamaño efectivo poblacional basado en el potencial reproductivo a lo largo de la vida  $N_{lrs}$ , se calcula:

$$N_{lrs} = \frac{4N - 4}{S_{vls}^2 + 2}$$

donde  $N$  es la población muestreada y  $S_{vls}^2$  es la varianza en el éxito reproductivo a lo largo de la vida. En poblaciones pequeñas, el que algunos individuos vivan un poco más aumenta muchísimo la varianza en el éxito reproductivo (Barrowclough y Rockwell, 1993; Tremblay y Ackerman, 2001).

Cuando el cálculo del éxito reproductivo a lo largo de la vida se complica por tiempos generacionales muy largos, se pueden aplicar simulaciones basadas en individuos que además permiten evaluar los efectos de la estocasticidad demográfica. En este caso se necesita información demográfica como las tasas de sobrevivencia y fertilidad específicas de cada edad para simular el destino reproductivo de cada individuo en una cohorte (Stroz *et al.*, 2001). También pueden hacerse simulaciones del éxito reproductivo y sobrevivencia para cada sexo. Con base en estas simulaciones se obtiene el éxito reproductivo para cada individuo en su tiempo de vida, lo cual es directamente aplicable al método de Barrowclough y Rockwell (Tremblay y Ackerman, 2001).

#### *Método de Orive*

Utiliza las variables demográficas descritas anteriormente pero además incluye un modelo de matrices de estructura de edades o tamaños. El estimado del tamaño efectivo se basa en el tiempo de coalescencia y es muy útil para organismos diploides, con reproducción sexual y generaciones sobrelapadas. Sus supuestos son que el tamaño poblacional debe ser constante y con una estructura de edades estable. El estimado de tamaño efectivo depende de la probabilidad de reproducción y de transición entre las categorías para cada población (Orive, 1993; Tremblay y Ackerman, 2001).

#### *Método de Nunney*

Calcula el cociente del tamaño efectivo entre el tamaño censal ( $N_e/N$ ) de una población y utiliza datos demográficos. Es necesario que la especie en cuestión cumpla con los supuestos de apareamiento aleatorio (panmixia), que la sobrevivencia de machos y hembras sea independiente después de la madurez sexual, que el éxito reproductivo tenga una distribución de Poisson y que la proporción de adultos que intenta reproducirse sea conocida.

$$\frac{N_e}{N} = \frac{4r(1-r)T}{rA_f(1+I_{Af}) + (1-r)A_m(1+A_m) + (1-r)I_{bm} + rI_{bf}}$$

Los parámetros son los siguientes: tiempo de maduración ( $M$ ), longevidad de los adultos ( $A$ ), tiempo generacional ( $T$ ), varianza en el éxito reproductivo de las hembras ( $I_{bf}$ ), varianza en el éxito reproductivo de los machos ( $I_{bm}$ ) y

proporciones sexuales de los adultos ( $r$ ). Un aspecto que puede influenciar los cálculos es el sistema de apareamiento. En general, para ciertos animales se asume que los machos se aparean varias veces con un número aleatorio de hembras, y que las hembras lo hacen una sola vez. Apareamientos múltiples por parte de las hembras aumentaría los estimados de  $N_e$  (Antolin *et al.*, 2001; Nunney, 2002).

#### *Métodos para poblaciones aisladas y generaciones discretas*

El método de Heywood (1986) se basa en el de Kimura y Crow (1970) que describe el tamaño efectivo como una función de la distribución de la progenie entre los padres. El modelo de Heywood reformula el anterior, considerando la varianza en el éxito reproductivo. Este método es adecuado para especies con generaciones discretas, donde la varianza del éxito reproductivo asociada al tiempo de vida es mínima, ya que todos los individuos tienen periodos de vida cortos y muy similares. La estimación se hace de la siguiente manera:

$$N_v = \left[ \frac{1}{(1 + F) (s_b^2 / \bar{X}_b^2 + 1)} \right] N$$

donde  $b$  es la variable con la cual se mide el éxito reproductivo (número de flores, número de semillas, número de hijos, etc.),  $s^2$  y  $\bar{X}$  son la varianza y la media de la variable,  $F$  es el coeficiente de endogamia y  $N$  el número de muestra (Tremblay y Ackerman, 2001).

Otro método aplicable a especies con generaciones discretas es el de Waples, especialmente para especies que presentan bancos de semillas o tiempos de maduración sexual variables, ya que esto actúa como una forma de almacenamiento genético. Incluye también la posibilidad de que el tamaño de la población sea fluctuante y se expresa como  $N_e = TN_h$ , donde  $T$  es el tiempo promedio a la madurez sexual (Nunney, 2002).

#### *Método para poblaciones continuas: tamaño del vecindario*

En muchos casos, no se pueden aplicar los métodos anteriores, ya que no es posible delimitar claramente las poblaciones que tienen una distribución muy grande y continua. Para salvar este problema se introdujo el concepto de tamaño del vecindario (Wright, 1943) que permite evaluar los efectos de



tamaños finitos en especies con este tipo de distribución (Hedrick, 2000). El tamaño del vecindario está determinado por la capacidad de dispersión del organismo en cuestión, que en el caso de animales puede ser medida directamente (aunque en animales migratorios puede complicarse). En plantas tiene que considerarse la tasa de fecundación cruzada, la dispersión del polen y la de las semillas (Eguiarte *et al.*, 1993; véanse los capítulos 5 y 6 de este libro). El tamaño de vecindario es el número de individuos en un círculo cuyo radio es el doble de la desviación estándar del flujo génico por generación ( $\sqrt{2V}$ ). Si se conoce la densidad de los individuos ( $d$ ) y el área del círculo del vecindario ( $4\pi V$ ), se puede estimar el tamaño efectivo de la población como sigue (Hedrick, 2000):

$$N_e = 2 \pi V d$$

A veces, el cálculo del tamaño efectivo utilizando este método no es lo suficientemente preciso debido a otros factores que desvían a la población del ideal. Sin embargo, conociendo el tamaño del vecindario, es posible considerarlo como una población aislada y aplicar cualquiera de los otros métodos desarrollados para este tipo de poblaciones, pero cuyos supuestos se apeguen mejor a las características de la especie bajo estudio (Eguiarte *et al.*, 1993).

## MÉTODOS INDIRECTOS

Como vimos anteriormente, se pueden obtener estimados de  $N_e$  con métodos ecológicos utilizando información demográfica. Estos estimados nos dan como resultado el tamaño efectivo actual, en tiempo ecológico (instantáneo) y muchas veces, de una generación a otra. Por su parte, los estimados de tamaño efectivo con métodos genéticos son un promedio a lo largo de un periodo de tiempo que está determinado por la tasa de mutación por generación del locus bajo estudio (Beerli y Felsenstein, 1999).

Otros métodos pueden estimar los tamaños efectivos a corto plazo al analizar los efectos de la deriva génica sobre las medidas genéticas, ya que si el tamaño efectivo histórico de la población ha sido pequeño, se espera encontrar más evidencia de deriva génica, mientras que si el tamaño efectivo ha sido grande no se obtendrá mucha señal de deriva en los datos (Hedrick, 2000). Pueden entonces compararse con diversos métodos los datos reales con lo esperado por deriva génica para estimar el tamaño efectivo de la población. A continuación enlistamos los más utilizados:

## MÉTODOS DE MEDICIÓN DE CAMBIOS GENÉTICOS

Como se mencionó anteriormente, es posible inferir  $N_e$  a partir de los cambios en la composición genética de una población a través del tiempo. Por ejemplo la disminución de la heterocigocis debida a la deriva génica sería:

$$H_e(L) = H_e(0) \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)^L$$

o bien, con base en las fluctuaciones temporales de las frecuencias génicas, donde  $P(L)$  es la frecuencia génica al tiempo  $L$  (con  $Q = 1 - P$ ):

$$\frac{1}{2N_e} = \frac{[P(L) - P(0)]^2}{LP(0)Q(0)}$$

ESTIMADOS BASADOS EN  $F_{st}$ 

La estructuración poblacional es uno de los factores que pueden influenciar  $N_e$ . El modelo más sencillo para ejemplificar esto es el modelo de islas, donde la población está subdividida en un número aleatorio de islas con reproducción panmíctica dentro de ellas, salvo por la recepción ocasional de migrantes, todos ellos con la misma probabilidad de llegar a una de las islas desde cualquier otra (figura 1; Wright, 1969; ver capítulo 2). En este caso, se espera que la subdivisión aumente  $N_e$  en toda la población (Laporte y Charlesworth, 2002), como lo muestra la fórmula:  $N_e = ND / (1 - F_{st})$ , donde  $N$  es el número censal y  $D$  el número de subpoblaciones. En cualquier caso  $F_{st}$  puede calcularse independientemente usando datos de frecuencias génicas (Nichols *et al.*, 2001):

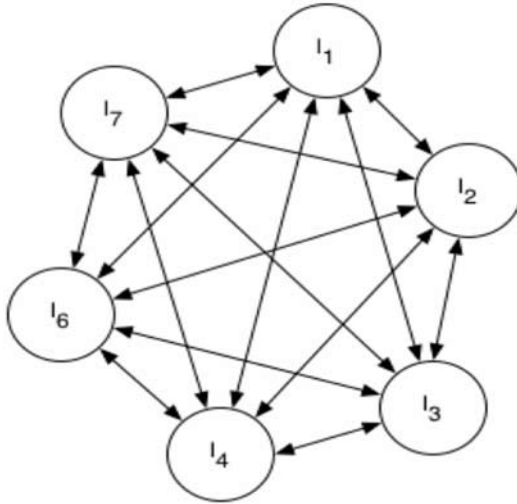
$$F_{st} = \frac{2Var(p_i)}{1 - G_T}$$

donde  $Var(p_i)$  es la varianza del alelo  $p$  en  $i$  número de subpoblaciones y  $G_T$  es la probabilidad de que dos alelos tomados al azar (con reemplazamiento) de la especie completa sean idénticos por descendencia:  $G_T = p^2 + q^2$  (Gillespie, 1998).

Sin embargo, la subdivisión poblacional puede reducir el tamaño efectivo poblacional cuando cada una de las islas contribuye de manera desigual a la poza de migrantes. Considerando estos casos se han desarrollado otros métodos como

el modelo de *stepping stone* o piedras de paso. En este modelo  $N_b = 2\pi Nm$ , donde  $N_b$  es el tamaño efectivo poblacional del vecindario (Slatkin y Barton, 1989).

Figura 1. El modelo de islas de Wright asume tamaño poblacional igual y que el intercambio de migrantes de una isla a otra ocurre con la misma probabilidad ( $m$ )



## MÉTODOS DE MÁXIMA VEROSIMILITUD Y COALESCENCIA

La máxima verosimilitud de un parámetro discreto dado un conjunto de datos, es la probabilidad de observar esos datos dado ese valor del parámetro (Williamson y Slatkin, 1999; ver capítulo 4).

Este tipo de métodos se ha desarrollado mucho en los últimos años, sobre todo porque ofrecen estimados más robustos que los métodos tradicionales basados en  $F_{st}$ , además de que algunos de estos métodos pueden incluir la estimación de eventos de migración, cambios de tamaño poblacional y otras violaciones al modelo de población ideal (Berthier *et al.*, 2002; Beerli y Felsenstein, 1999; Kuhner *et al.*, 1998; Williamson y Slatkin, 1999).

Uno de los modelos más sencillos es el que considera las frecuencias alélicas de loci neutrales y no ligados tomados al azar de una población, a generaciones  $t_0, t_1, t_2, \dots, t_r$ . Esto se basa en el modelo de Wright-Fisher en que la varianza

en las frecuencias alélicas con valor inicial de  $p$  es  $p(1-p)/2N_e$  después de una generación, por lo tanto, si se conoce la varianza de las frecuencias alélicas en distintas generaciones, es posible aproximar  $N_e$  (Williamson y Slatkin, 1999). Este método, como la mayoría de los métodos basados en los estadísticos  $F$ , tiende a sobreestimar  $N_e$ , pero posee intervalos de confianza menores y posee la flexibilidad suficiente para modificar alguno de los supuestos, como el tamaño poblacional, ya que permite incluir datos de crecimiento exponencial de la población. Sin embargo, es muy demandante computacionalmente y no puede lidiar con eventos de selección, migración y mutación que también pudieran cambiar las frecuencias alélicas (Williamson y Slatkin, 1999).

Como alternativa a los métodos de máxima verosimilitud tradicionales, existen los métodos que utilizan el algoritmo de aproximación Metropolis-Hastings cadena de Markov Monte-Carlo y que generan todas las posibles genealogías y eventos de migración para buscar el escenario que mejor explique los datos, además de que acepta distintos modelos de mutación: modelo de alelos infinitos para marcadores electroforéticos; el modelo paso a paso para microsatélites y el modelo de sitios finitos para secuencias de ADN (Beerli y Felsenstein, 1999). Este modelo consiste en dos poblaciones con tamaños efectivos  $N_{e(1)}$  y  $N_{e(2)}$  (que no tienen que ser iguales), y que intercambian migrantes a tasas  $m_1$  y  $m_2$ . Los parámetros que se calculan son:

$$\bar{\gamma} = 4N_e m$$

donde  $\bar{\gamma}$  es el número efectivo de migrantes,  $N_e$  el tamaño efectivo de la población y  $m$  es la tasa de migración por generación.

Adicionalmente se calculan otros parámetros que "absorben" el de tasa de mutación que generalmente no se conoce como  $\theta = 4N_{e(i)}\mu$  y  $M_i = m_i/\mu$  (Beerli y Felsenstein, 1999), que puede luego sustituirse en:

$$\gamma = \theta_i M_i = 4N_{e(i)} m_i$$

A partir de esto, se aplican métodos de máxima verosimilitud.

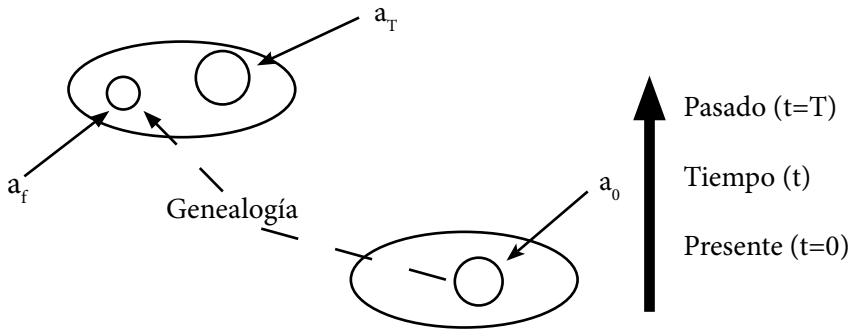
En métodos anteriores no se podían obtener estimados de coalescencia en presencia de migración, pero el presente método especifica los momentos y lugares de los eventos de migración. Cabe notar aquí que los parámetros iniciales necesarios para calcular  $N_e$  y los eventos de migración ( $\theta$  y  $M$ ), son obtenidos de manera independiente usando  $F_{st}$ . Este método inicialmente no admitía variaciones temporales en el tamaño poblacional, pero una variante del

mismo con un muestreo de genealogías Metropolis-Hastings permite calcular  $\theta$  y la tasa de crecimiento de la población (Kuhner *et al.*, 1998).

Este conjunto de métodos son utilizados por el programa LAMARC (<http://evolution.genetics.washington.edu/lamarc.html/>) y sus distintas variantes dependiendo de los supuestos iniciales y de los estimados de interés.

Existen otros métodos que utilizan máxima verosimilitud y coalescencia, como el propuesto por Berthier *et al.* (2002), en el que se toman dos muestras de una población cerrada en distintos tiempos (figura 2).

Figura 2. Modelo de máxima verosimilitud . La población es la línea punteada,  $a_0$  es la muestra más reciente ( $t=0$ ) y la muestra más antigua es  $a_T$  tomada al tiempo  $t=T$ . Se supone que  $a_0$  tiene una genealogía y  $a_T$  representa sus fundadores



Para un locus, cada una de las muestras representa un vector ( $a_0$  y  $a_T$ ), de  $n_0$  y  $n_T$  cromosomas con  $k$  alelos distintos. Para el número de alelos distintos se considera el total de los observados en las muestras, donde cada una de las muestras tiene  $<k$  alelos ( $k_0$  y  $k_T$ ). Se supone que las muestras son independientes con probabilidades  $p(a_T|n_T, k, x)$  y  $p(a_0|t, N_e, n_0, k, x)$ , donde  $N_e$  es el tamaño efectivo de la población y  $x$  es la frecuencia genética paramétrica al tiempo  $T$ . Las muestras en cada loci  $m$  también se suponen independientes y por lo tanto, su verosimilitud general sería  $L(T, N_e, x_1, x_2, \dots, x_m)$ , que se obtiene multiplicando las probabilidades a través de todas las muestras y a través de todos los loci (Berthier *et al.*, 2002). También se utiliza el algoritmo Metropolis-Hastings para integrar  $x_i$ . Cabe hacer notar que este método no funciona en presencia de migración, pero sí tiene mayor precisión que los métodos basados en  $F_{st}$  (Berthier *et al.*, 2002).

También se han hecho algunas modificaciones a los métodos de máxima verosimilitud, siendo una de ellas el llamado método de pseudo-máxima verosimilitud (Seo *et al.*, 2002). Es llamado así porque en algunos métodos comunes de máxima verosimilitud, los intervalos de tiempo a la coalescencia son estimados y no conocidos con certeza, lo que añade ruido a los cálculos. El método de pseudo-máxima verosimilitud calcula  $t$  independientemente y luego es incluido a la función de máxima verosimilitud.

$$\hat{N}_e = \frac{1}{2(n-1)} \sum_{i=2}^n i(i-1)t_i$$

siendo  $n$  el número de secuencias,  $i$  el número de linajes ancestrales y  $t_i$  la duración del periodo de tiempo con  $i$  linajes.

Sin embargo, este método no puede tomar en cuenta los niveles de incertidumbre de los parámetros calculados independientemente, como por ejemplo los de la genealogía, para hacerlo sería necesario adoptar una aproximación bayesiana (Seo *et al.*, 2002; Drummond *et al.*, 2002).

#### MÉTODOS DE COALESCENCIA

A partir de datos genéticos es posible calcular el tiempo de divergencia entre alelos dentro de una población usando como base la teoría de coalescencia. Con estos análisis se puede determinar la genealogía de los alelos, el tiempo hacia el pasado en que divergieron de uno solo y parámetros demográficos como el tamaño efectivo histórico de la población (Furlong y Brookfield, 2001). Esto es posible debido a que la probabilidad de coalescencia varía de forma recíproca al tamaño efectivo poblacional, como lo muestra la fórmula  $\tau = N_e(1-1/n)$  donde  $\tau$  es el número de generaciones a la coalescencia de  $n$  alelos de un locus muestreado al azar en una población (Hughes y Verra, 2001). También puede calcularse el tiempo de coalescencia de manera independiente con base en las tasas de sustitución de nucleótidos de una secuencia:  $l = \pi_s/2\lambda_s$ , donde  $\pi_s$  es el número de sustituciones sinónimas pareadas y  $\lambda_s$  es la tasa de sustitución (Hughes y Verra, 2001).

Los tiempos entre eventos de coalescencia están determinados por distribuciones exponenciales negativas independientes, donde para un evento de coalescencia en que  $i$  linajes disminuyen a  $i-1$ , entonces  $t = 2N[i(i-1)]$ , donde

$N$  es el tamaño efectivo haploide de la población. En este caso  $N$  debe ser constante a través del tiempo.

Sin embargo, estos primeros análisis son muy limitados en cuanto a los supuestos de tamaño poblacional constante y a la ausencia de selección natural. Violaciones a este punto pueden tener distintas implicaciones: por ejemplo en el caso de un barrido selectivo o *selective sweep* todos los alelos serían producto de un solo alelo ventajoso de origen muy reciente, lo que generaría un patrón similar a la expansión poblacional (Furlong y Brookfield, 2001). Aunque también puede darse el caso de que, en efecto, haya existido una expansión demográfica en el pasado, y al contrario de una población constante, los eventos de coalescencia no son independientes entre sí, sino que unos proceden de otros en un periodo de tiempo muy corto, dando como resultado tiempos de coalescencia pequeños y ausencia de linajes que divergieron muy temprano en el tiempo (Furlong y Brookfield, 2001).

Un ejemplo de cómo se puede calcular el tiempo de coalescencia relacionado con  $N_e$  en casos de que la población haya crecido en el pasado fue desarrollado originalmente por Slatkin y Hudson:

$$t = \frac{\ln}{r} 1 - \left[ \frac{(2rN \ln(1 - P))}{n(n - 1)} \right]$$

donde  $P$  es la probabilidad de que la coalescencia pase en  $t$  generaciones,  $r$  la tasa de crecimiento poblacional y  $n$  el tamaño muestral (Furlong y Brookfield, 2001).

Existen también otros métodos basados en coalescencia que pueden ser aplicados a poblaciones con otras violaciones a la población ideal, por ejemplo el desarrollado por Laporte y Charlesworth (2002) para poblaciones subestructuradas y para loci con distintos patrones de herencia. Bajo este modelo se pueden estimar los tiempos de coalescencia pareados y probabilidades de identidad por descendencia de alelos en una metapoblación con un esquema de migración arbitrario. Se basa en que la probabilidad de que un par de genes coalesca es de:  $P_i = 1/2t_i N_{ie}$ .

Los individuos en cada deme (grupo de individuos con reproducción panmíctica) son divididos en machos y hembras, que tienen diferentes propiedades demográficas y migratorias. A partir de lo anterior se pueden obtener estimados de  $N_e$  con fuerte base biológica. Por ejemplo, para loci autosomales, la expresión sería:

$$\frac{1}{N_{eA}} \approx \frac{(1+F)}{4} \left\{ \frac{1}{N_f} + \frac{1}{N_m} + \frac{(1-c)^2 \Delta V_f}{N_f} + \frac{c^2 \Delta V_f}{N_m} \right\}$$

y para genes con herencia materna:

$$\frac{1}{N_{eA}} \approx \frac{2 [1 + (1-c)^2 \Delta V_f]}{N_f}$$

donde  $\Delta V_f$  y  $\Delta V_m$  son los excesos sobre una distribución de Poisson del total de progenie *per capita* para hembras y machos respectivamente;  $F$  es el coeficiente de endogamia;  $N_f$  y  $N_m$  el número de hembras y machos; y  $c$  es la proporción de machos en los adultos reproductivos (Laporte y Charlesworth, 2002). Cabe hacer notar que este método, aunque basado en coalescencia, requiere ciertos datos demográficos para estimar las probabilidades de coalescencia y las desviaciones a la distribución de Poisson en la progenie. Sin embargo, es bastante versátil porque permite el cálculo de la coalescencia y de tamaño efectivo para distintos escenarios y con diferentes tipos de datos, además de que es más adecuado que los métodos clásicos de  $F_{st}$  para estimar tamaños efectivos en presencia de migración específica a un sexo (p.ej. filopatría) y de fuerte diferenciación entre subpoblaciones (Laporte y Charlesworth, 2002).

#### GENES CON HERENCIA UNIPARENTAL

Genes como los de mitocondria, cloroplasto y cromosoma Y han sido muy utilizados en años recientes para establecer relaciones entre organismos y para estudios de genética de poblaciones (Hedrick, 2000). Han resultado especialmente útiles en disciplinas como la filogeografía, ya que al ser haploides permiten reconstruir filogenias sin el inconveniente de la recombinación (que genera reticulación de ramas) y estimar tiempos de coalescencia con mayor exactitud (ver capítulo 15).

En el caso de estos genes, si la proporción de los sexos es igual, su tamaño efectivo es igual a  $N_e/4$ , ya que sólo se heredan por uno de los padres y cada uno de los padres sólo tiene una versión del gen. Sin embargo, si la proporción de sexos no es igual, en el caso de genes de herencia materna (mitocondria y cloroplasto en la mayoría de los casos) el tamaño efectivo es:  $N_e = N_f/2$ , que



significa la mitad del tamaño efectivo para las hembras. Si consideramos el cromosoma Y o el cloroplasto cuando se hereda paternalmente (como en coníferas)  $N_e = N_{em} / 2$  (Hedrick, 2000). Lo anterior sólo es válido si no existen diferencias ligadas al sexo en las tasas de mutación o si el éxito reproductivo o la tasa de migración es similar entre los sexos. Por ejemplo, si existe una varianza muy grande en el éxito reproductivo de los machos aumentará el tamaño efectivo para los genes del cromosoma X en comparación con los genes autosomales, ya que la transmisión del cromosoma X es el doble para hembras que para machos (Charlesworth, 2001).

#### IMPLICACIONES EVOLUTIVAS

Dado que la variación genética es la materia prima sobre la cual puede actuar la selección natural y dar origen a adaptaciones, se ha llegado a considerar su presencia como indicador de la buena “salud” de una población, mientras que su ausencia limitaría la capacidad de respuesta de una población a un medio cambiante en el corto y largo plazo (Amos y Harwood, 1998; véase el capítulo 8 de este libro). Como se mencionó al inicio de este capítulo, el tamaño efectivo de la población determina la tasa de pérdida de esta variación por deriva génica, fenómeno que puede calcularse es:

$$H_t = H_0 (1 - 1/2N)^t$$

donde  $H_0$  y  $H_t$  son la heterocigosis inicial y al tiempo  $t$ , respectivamente.

En este contexto, es de esperarse que un gran tamaño efectivo reduzca la pérdida de variación por deriva génica y se mantenga la diversidad por largo tiempo, así como la efectividad de la selección natural sobre dicha variación (Cruzan, 2001; Kawata, 2001). Sin embargo los niveles de variabilidad no siempre corresponden a lo predicho por la teoría, ya que algunas especies con alta variación tienen poblaciones pequeñas y demográficamente en peligro, mientras que otras con crecimiento exponencial sólo presentan unos pocos genotipos distintos, como las plagas, lo que hace que la relación entre  $N_e$  y el nivel de pérdida de variabilidad sea más complejo (Amos y Harwood, 1998). Por ejemplo, durante los procesos de colonización y expansión del rango de distribución de una especie, pueden ocurrir muchos efectos fundador en las poblaciones pioneras, reduciéndose  $N_e$  a pesar de que el tamaño censal sea grande (Nichols *et al.*, 2001). Esto puede reducir la variación genética de toda la especie al terminar el proceso de expansión del rango a niveles menores que

lo esperado por el tamaño histórico de la especie en su conjunto. Lo mismo se observa en metapoblaciones, ya que en cada subpoblación  $N_e$  es generalmente muy pequeño y en el proceso de extinción y recolonización puede perderse mucha variación.

Otro efecto de la reducción de  $N_e$  y que cobra gran importancia a la luz de la biología de la conservación es la depresión por endogamia, que es la reducción en la adecuación de los individuos producto de apareamientos entre parientes, lo que expone los alelos deletéreos a la acción de la selección natural y puede reducir aún más la variación genética, más allá que la deriva génica por sí sola (Amos y Harwood, 1998; Thévenon y Couvet, 2002). Y si aunado a esto, la acción de la deriva génica es muy severa, estos alelos deletéreos pueden llegar a fijarse en la población y a la larga reducir la adecuación de la población entera y no de unos pocos individuos (Cruzan, 2001).

La variación genética se produce en primera instancia por mutación y bajo el modelo de mutación de sitios infinitos; el equilibrio de la variación neutral en una población panmíctica y cerrada está determinado por el producto de la tasa de mutación y el tamaño efectivo de la población (Cherry, 1998; Charlesworth, 2001). Con base en esto se han relacionado el tamaño efectivo y la tasa de sustitución ( $k$ ) (Cherry, 1998; Seo *et al.*, 2002). Dentro del marco de la teoría casi neutral de la evolución, la probabilidad de fijación de un alelo mutante con un coeficiente de selección ( $s$ ) depende del tamaño efectivo de la población ( $N_e$ ) y es igual a:  $S = 2N_e s$  para una población haploide. Los supuestos de esta afirmación son que existe una distribución constante de  $s$  entre mutantes y la tasa de mutación también es constante. Entonces, si se considera una distribución exponencial de  $s$  la relación es  $k \propto 1/N_e$  y si se considera una distribución gamma,  $k \propto 1/\sqrt{N_e}$  (Cherry, 1998). Esto predice que la probabilidad de fijación de las mutaciones favorables con coeficientes de selección pequeños va a ser mayor en poblaciones con  $N_e$  alto, y menor en poblaciones con  $N_e$  pequeño ya que en estos casos la deriva génica actúa con mayor fuerza que la selección, y dichas mutaciones se comportan como neutras. Lo mismo sucede con las mutaciones ligeramente deletéreas, que en poblaciones grandes son eliminadas por la selección, mientras que en poblaciones pequeñas se comportan como neutras (Cherry, 1998).

Si se considera un modelo donde la mayoría de las mutaciones son deletéreas y los coeficientes de selección tienen una distribución constante, en una población pequeña la deriva fijará una fracción de ellas, generando un decremento en la adecuación, mientras que en una población grande se eliminarán, generando un incremento en la adecuación (Cherry, 1998). Pero

esta afirmación es poco realista, ya que en algún momento debe alcanzarse un balance que mantenga la adecuación en un estado estable. Uno de los mecanismos para mantener ese balance considera la distribución de los coeficientes de selección una vez ocurrida la mutación, basándose en la idea de que si se han acumulado muchas mutaciones deletéreas en una secuencia codificante, quedan ya pocas maneras de empeorar la adecuación de esa secuencia y más formas de mejorarla (Cherry, 1998). Por otro lado, es necesario también considerar que aunque únicamente la mutación puede generar nueva variación dentro de una población, la migración puede aportar esa variación proveniente de otros sitios, por lo que no sólo el tamaño efectivo de la población es determinante para el mantenimiento de la variación genética y la adecuación, sino también la posibilidad de intercambiar genes por migración de individuos o gametos de poblaciones cercanas. Esto hace posible que poblaciones muy pequeñas puedan persistir a lo largo del tiempo gracias al efecto de rescate de los migrantes (Cruzan, 2001).

#### CONSIDERACIONES PRÁCTICAS SOBRE LOS MÉTODOS INDIRECTOS

Los métodos indirectos se basan principalmente en el uso de marcadores moleculares para estimar la variación neutral a nivel intraespecífico, por lo que sus resultados dependen en gran medida de que estos marcadores sean los adecuados. Por ejemplo, los marcadores con una baja tasa de evolución podrían subestimar el tamaño efectivo, mientras que aquellos que evolucionan rápidamente sobreestimarían  $N_e$  (Avice, 2000). También hay que tomar en cuenta la homoplasia, ya que alteraría los resultados de los métodos basados en coalescencia o para el caso del tamaño del vecindario, sobreestimaría el flujo génico en la población (Cuenca *et al.*, 2003).

Por lo anterior, es necesario considerar las características de los marcadores moleculares a utilizar, ya sea su tasa de mutación, tasa de recombinación, si pueden estar sujetos a selección natural, etc., ya que estos elementos pueden afectar las estimaciones y por lo tanto deben ser considerados de manera explícita en los modelos (Nordborg y Innan, 2002).

#### APLICACIONES

A pesar de la vaga definición del tamaño efectivo de una población existen numerosas aplicaciones de este concepto en la literatura. Entre las más im-

portantes actualmente están la filogeografía, la epidemiología y la biología de la conservación (véase el capítulo 8 de este libro).

### FILOGEOGRAFÍA

La filogeografía es una disciplina que se enfoca en explicar los patrones de distribución geográfica de la variación genética en las poblaciones, como producto de procesos históricos y contemporáneos (Cruzan y Templeton, 2000). La estructuración genética de las poblaciones, y a la larga, la formación de nuevos linajes evolutivos, es producto de los patrones de flujo génico, la migración, la deriva génica y la dinámica demográfica de las poblaciones, determinada en parte por factores internos a las poblaciones como por factores externos como cambios climáticos y geológicos (Schaal *et al.*, 1998).

Para reconstruir esta historia se construyen genealogías de genes y utilizando como marco la teoría de la coalescencia, se pueden inferir eventos demográficos pasados y recientes que dejan huella en la estructura genética de las poblaciones. Por ejemplo, los métodos filogeográficos pueden ayudar a estimar los tamaños poblacionales de una especie en el pasado y cómo fueron sus fluctuaciones, así como detectar si éstas se dieron por posibles cuellos de botella, por expansión del rango o por colonización a larga distancia, y sus consecuencias en la evolución de la especie (Nichols *et al.*, 2002; Cruzan, 2001; Vilà *et al.*, 1999; véase el capítulo 14 de este libro).

Cabe mencionar que el empleo de marcadores haploides es de gran utilidad, ya que su  $N_e$  es la mitad de la de los genes nucleares y presentan mayor resolución para detectar cambios poblacionales (Schaal *et al.*, 1998; Cruzan y Templeton, 2000).

### EPIDEMIOLOGÍA

Tradicionalmente, la demografía histórica se ha aplicado al estudio de poblaciones de mamíferos, peces, reptiles y algunas especies de plantas, pero recientemente se ha considerado como una herramienta muy útil en el control de enfermedades porque permite conocer la dinámica poblacional de los patógenos a lo largo de la historia (Hughes y Verra, 2001). La utilidad de estos métodos se basa en que si se puede determinar que un patógeno es descendiente de un solo o pocos ancestros, tendrá muy poca variación genética y por lo tanto menos variación preexistente para responder a vacunas y tratamientos, mientras que si ha tenido tamaños efectivos poblacionales muy

grandes en el pasado, tendrá mayor variación y por lo tanto mayor base de acción para la selección natural (véase el capítulo 1 de este libro). Estos dos escenarios requieren estrategias de control de la enfermedad con distintos grados de complejidad (Hughes y Verra, 2001).

Un enfoque novedoso del cálculo del tamaño efectivo se ha aplicado al estudio de la evolución de la fase asintomática del SIDA. Se ha demostrado que existe una correlación negativa entre el tamaño efectivo poblacional, dentro de un paciente, del virus VIH-1 y la tasa de evolución de las secuencias del virus, como lo predice la teoría casi neutral o de las mutaciones ligeramente deletéreas. Bajo este modelo la tasa de fijación de los alelos depende del tamaño efectivo poblacional y de los coeficientes de selección, por lo que si la mayoría de las mutaciones son ligeramente deletéreas, los coeficientes de selección serán negativos en su mayoría, siendo entonces la selección negativa la que dirige la evolución viral a tamaños poblacionales altos. Pero esta correlación podría también ser producto de la reacción del sistema inmune del paciente, ya que cuando el sistema inmune es muy fuerte, las secuencias virales estarán bajo una presión de selección muy fuerte, lo que reducirá  $N_e$  pero aumentará su tasa de evolución. El entendimiento de este fenómeno llevaría a comprender mejor cuáles son los factores que determinan el desarrollo rápido de la enfermedad en unos pacientes, y una fase asintomática muy larga en otros (Seo *et al.*, 2002).

## CONCLUSIÓN

El concepto de tamaño efectivo de la población, a pesar de ser un poco vago y a veces hasta oscuro, ha resultado muy útil en la biología, no sólo por sus aplicaciones sino también por su papel en el desarrollo de modelos teóricos como la coalescencia o la teoría neutral de evolución molecular, que actualmente constituyen la base de disciplinas como la filogeografía y la sistemática molecular que representan nuevas formas de contestar las preguntas clásicas de la biología evolutiva.

Es necesario el desarrollo de más y mejores métodos para calcular el tamaño efectivo poblacional, sobre todo que incorporen con mayor flexibilidad las características de las especies en su estado natural, relajando los supuestos y utilizando métodos con mayor poder estadístico que puedan lidiar con la incertidumbre de más parámetros. Esto es aplicable principalmente a los métodos genéticos, porque la inferencia del tamaño efectivo de la población es indirecta y depende mucho del modelo en el cual se basa. Por otra par-

te los estimados ecológicos requieren de mucha más información que los métodos genéticos, aunque arrojan resultados más exactos para obtener el tamaño efectivo instantáneo de la población. La desventaja de estos métodos contra los estimados genéticos es que se requiere un conocimiento mucho más completo de la biología de la especie y de datos demográficos confiables, lo que no siempre está disponible, especialmente en especies con tiempos generacionales muy largos. Por otra parte, el inconveniente de los estimados genéticos son sus incertidumbres muy altas, sobre todo si para calcularlos se tuvo que calcular muchos parámetros indirectamente. Sin embargo, en algunos casos, como la demografía histórica, son la única alternativa.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amos, W. y J. Harwood. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 353:177-186.
- Antolin, M.F., B. Van Horne, M.D. Berger Jr., A. K. Holloway, J.L. Roach y R.D. Weeks Jr. 2001. Effective population size and genetic structure of Piute ground squirrel (*Spermophilus mollis*) population. *Canadian Journal of Zoology* 79:26-34.
- Avise, J. 2000. *Phylogeography. The history and formation of species*. Harvard University Press. Cambridge Mass.
- Barrowclough, G.F. y R.F. Rockwell. 1993. Variance in lifetime reproductive success: estimation based on demographic data. *American Naturalist* 141:281-295.
- Berli, P. y J. Felsenstein. 1999. Maximum-likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using a coalescent approach. *Genetics* 152:763-773.
- Berthier, P., M. A. Beaumont, J.M. Cornuet y G. Luikart. 2002. Likelihood-based estimation of the effective population size using temporal changes in allele frequencies: a genealogical approach. *Genetics* 160:741-751.
- Charlesworth, B. 2001. The effect of life history and mode of inheritance on neutral genetic variability. *Genetic Research* 77:153-166.
- Cherry, J.L. 1998. Should we expect substitution rate to depend on population size? *Genetics* 150:911-919.
- Crow, J.F. y M. Kimura. 1970. *An introduction to population genetic theory*. Harper & Row. Nueva York.
- Cruzan, M.B. 2001. Population size and fragmentation thresholds for the maintenance of genetic diversity in the herbaceous endemic *Scutellaria montana* (Lamiaceae). *Evolution* 55:1569-1580.

- Cruzan, M.B. y A.R. Templeton. 2000. Paleocology and coalescence: phylogeographic analysis of hypotheses from the fossil record. *TREE* 15:491-496.
- Cuenca, A., A. Escalante y D. Piñero. 2003. Long-distance colonization, isolation by distance, and historical demography in a relictual mexican pinyon pine (*Pinus nelsonii* Shaw) as revealed by paternally inherited genetic markers. *Molecular Ecology* 12:2087-2097.
- Drummond, A.J., G.K. Nicholls, A.G. Rodrigo y W. Solomon. 2002. Estimating mutation parameters, population history and genealogy simultaneously from temporally spaced sequence data. *Genetics* 161:1307-1320.
- Eguiarte, L.E., A. Búrquez, J. Rodríguez, M. Martínez-Ramos, J. Sarukhán y D. Piñero. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution* 47:75-87.
- Furlong, R.F. y J.F.Y. Brookfield. 2001. Inference of past population expansion from the timing of coalescence events in a gene genealogy. *Journal of theoretical biology* 209:75-86.
- Futuyma, D.J. 1986. *Evolutionary biology*. Sinauer. Sunderland.
- Gillespie, J.H. 1998. *Population genetics: a concise guide*. Johns Hopkins University Press. Baltimore.
- Hedrick, P.W. 2000. *Genetics of populations*. Jones & Bartlett Publishers. Boston.
- Hill, W.G. 1972. Effective size of populations with overlapping generations. *Theoretical Population Biology* 3:278-289
- Hughes, A.L. y F. Verra. 2001. Very large long-term effective population size in the virulent human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the Royal Society of London Biological Sciences* 268:1855-1860.
- Kawata, M. 2001. The influence of neighborhood size and habitat shape on the accumulation of deleterious mutations. *Journal of Theoretical Biology* 211:187-199.
- Kuhner, M.K., J. Yamato y J. Felsenstein. 1998. Maximum likelihood estimation of population growth rates based on the coalescent. *Genetics* 149:429-434.
- Laporte, V. y B. Charlesworth. 2002. Effective population size and population subdivision in demographically structured populations. *Genetics* 162:501-519.
- Merrel, D. J. 1981. *Ecological genetics*. Longman. Londres.
- Nei, M. y Y. Imaizumi. 1966. Effective population size with overlapping generations. *Heredity* 21:344
- Nichols, R.A., M.W. Bruford y J.J. Groombridge. 2001. Sustaining genetic variation in a small population: evidence from the Mauritius kestrel. *Molecular Ecology* 10:593-602.
- Nordborg, M. y H. Innan. 2002. Molecular population genetics. *Current Opinion in Plant Biology* 5:69-73.

- Nunney, L. 1993. The influence of mating system and overlapping generations on effective population size. *Evolution* 47:1329-1241.
- . 2002. The effective size of annual plant populations: the interaction of a seed bank with fluctuating population size in maintaining genetic variation. *American Naturalist* 160:195-204.
- Ohta T. 1992. The nearly neutral theory of molecular evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics* 3:263-286.
- Orive, M. 1993. Effective population size in organisms with complex life-histories. *Theoretical Population Biology* 44:316-340.
- Schaal, B.A., D.A. Hayworth, K.M. Olsen, J.T. Rauscher y W.A. Smith. 1998. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology* 7:465-474.
- Seo, T., J.L. Thorne, M. Hasegawa y H. Kishino. 2002. Estimation of effective population size of HIV-1 within a host: a pseudomaximum-likelihood approach. *Genetics* 160:1283-1293.
- Slatkin, M. y N.H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43:1349-1368.
- Slatkin, M. y R.R. Hudson. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial-DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129:555-562
- Storz, J.F., U. Ramakrishnan y S.C. Alberts. 2001. Determinants of effective population size Implicaciones evolutivas for loci with different modes of inheritance. *Journal of Heredity* 92:497-502.
- Thévenon, S. y D. Couvet. 2002. The impact of inbreeding depression on population survival depending on demographic parameters. *Animal Conservation* 5:53-60.
- Tremblay, R.L. y J.D. Ackerman. 2001. Gene flow and affective population size in *Lepanthes* (Orchidaceae): a case for genetic drift. *Biological Journal of the Linnean Society* 72:47-62.
- Vilà, C., I.R. Amorim, J.A. Leonard, D. Posada, J. Castroviejo, F. Petrucci-Fonseca, K.A. Crandall, H. Ellegren y R.K. Wayne. 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. *Molecular Ecology* 8:2089-2103.
- Williamson, E.G. y M. Slatkin. 1999. Using maximum likelihood to estimate population size from temporal changes in allele frequencies. *Genetics* 152:755-761.
- Wright, S. 1930. Evolution in mendelian populations. *Genetics* 16:97-158.
- . 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28:114-138.
- . 1969. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 2: The theory of gene frequencies. University of Chicago Press. Chicago.