



species A

species B

species C

**Sequências de DNA na Identificação de
Espécies e Análise Filogenética**

Delimitando espécies na Zoologia

Prof. Fabricius Domingos

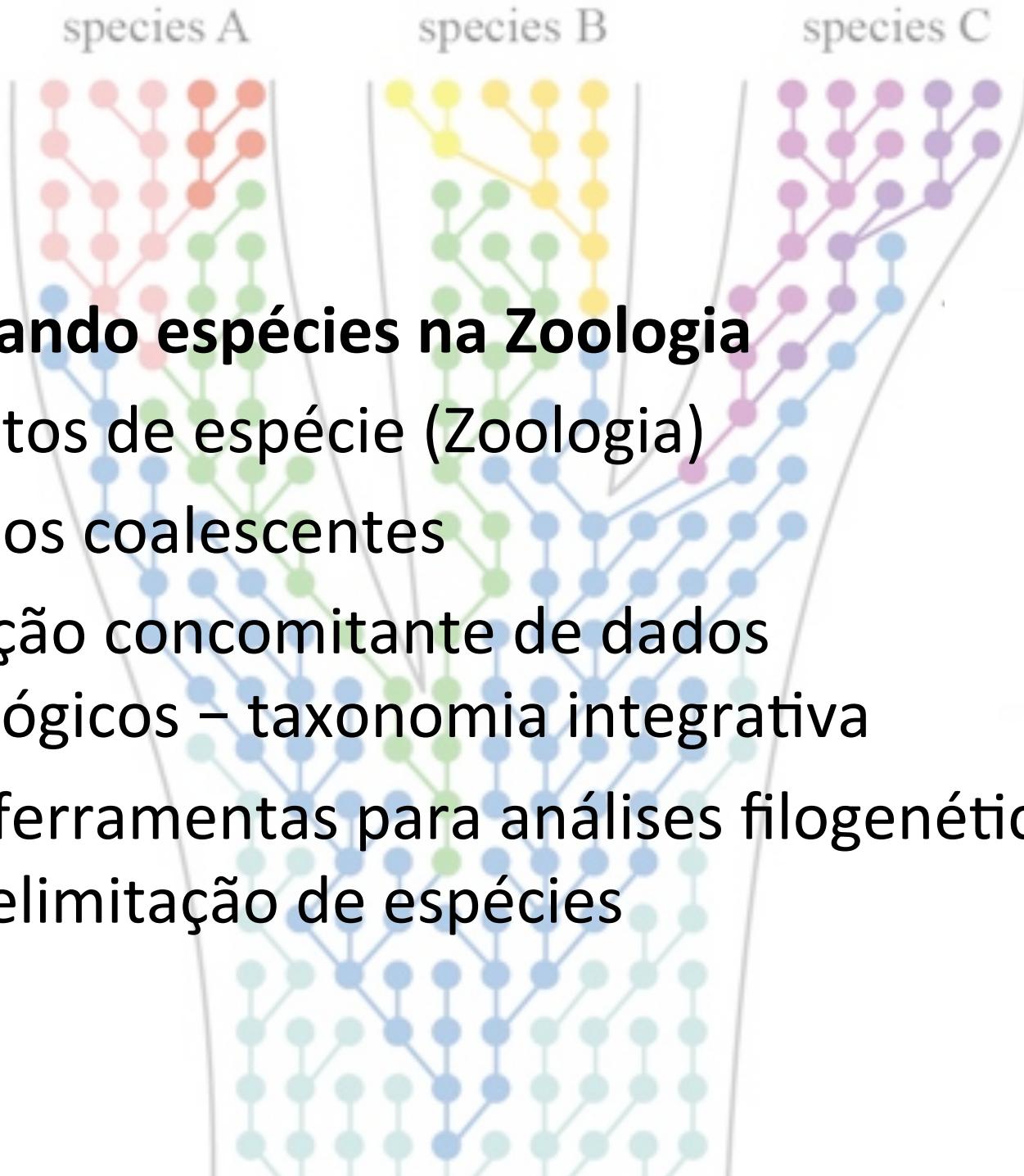
Onde buscar informações básicas?

- Sequencias
 - NCBI (GenBank) e BOLD são a regra
 - GMOD se você trabalha com organismos modelos ou parentes próximos
 - Sempre verificar nas referências importantes se eles não colocaram os dados em algum repositório não especializado (e.g., DRYAD ou FigShare)

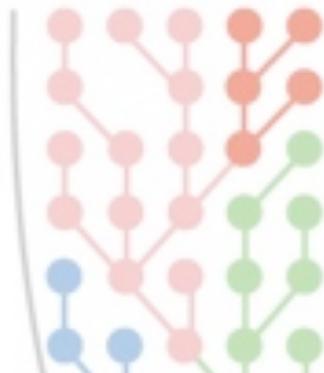
Onde buscar informações básicas?

- Taxonomia
 - IUCN – funciona razoavelmente bem para grupos com maiores informações
 - Buscar sistema especializado no grupo que você trabalha!
 - Para vertebrados, só existe consenso para répteis e anfíbios (e quase para peixes)
 - Para invertebrados, as opções variam muito!
 - Algumas são arduamente curadas por especialistas (WoRMS – marine species), outras nem tanto (encyclopedia of life)

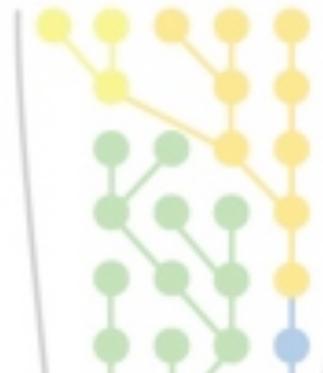
- **Delimitando espécies na Zoologia**
 1. Conceitos de espécie (Zoologia)
 2. Métodos coalescentes
 3. Utilização concomitante de dados morfológicos – taxonomia integrativa
 4. Kit de ferramentas para análises filogenéticas e de delimitação de espécies



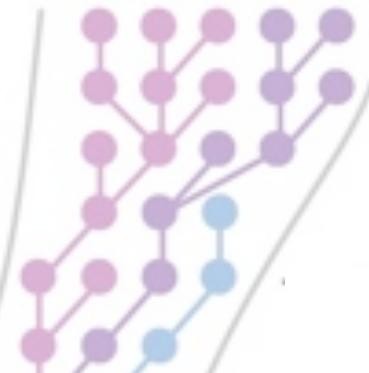
species A



species B

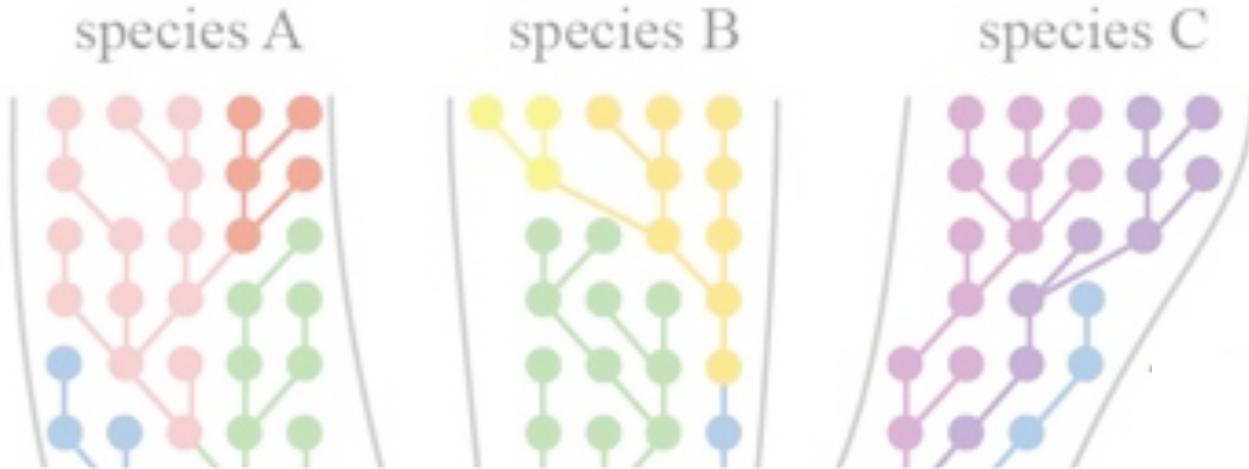


species C



- 1. Por que delimitar espécies é importante?**
- 2. E por que isso se tornou um assunto tão discutido (i.e., gerou centenas de publicações empíricas e metodológicas) nos últimos anos?**

2 minutos para pensar e fazer anotações



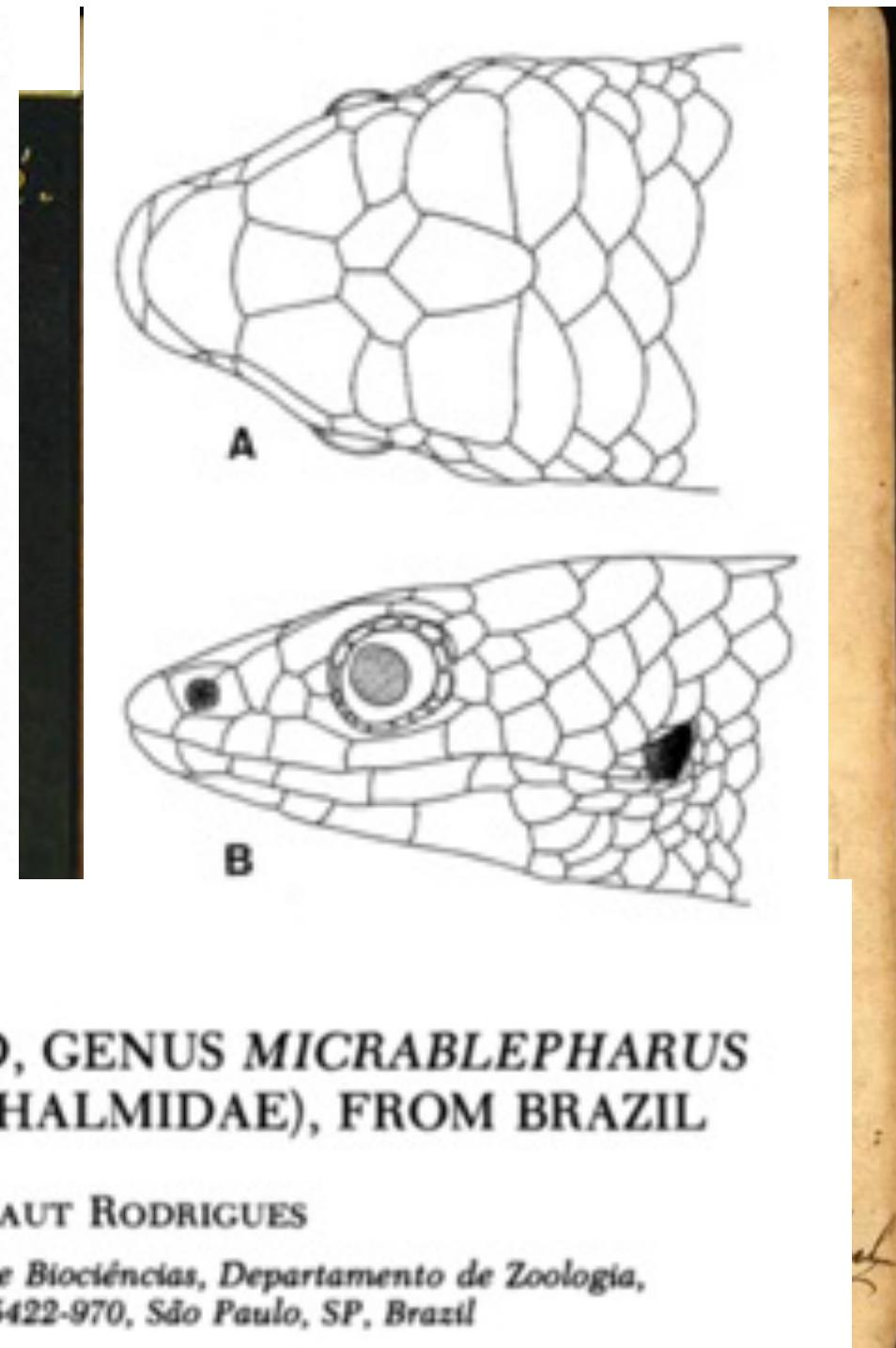
- 1. Por que delimitar espécies é importante?**
- 2. E por que isso se tornou um assunto tão discutido
(i.e., gerou centenas de publicações empíricas e
metodológicas) nos últimos anos?**

**Primeiro passo antes de delimitar: DEFINIR o que
consideramos uma espécie!**

Diagnosis.—*Micrablepharus atticolus* is distinguished from *M. maximiliani* (condition in parentheses) by the following characters: (1) fourth supralabial under the eye (fifth); (2) femoral pores present in both sexes, eight in males, 5–7 in females (10–15, males only); and (3) a pair of lateral and dorsolateral, longitudinal, white stripes on the body (lateral pair absent).

Description.—Rostral distinctly visible from above, wider than high; in broad contact with internasal, nasal, and first supralabial. Internasal polygonal; as wide as long; contacting loreal, supraciliar, supraocular, and frontal. Prefrontals absent. Frontal longer than wide, widest anteriorly. Fron-toparietals two, small; with a short median suture; longer than wide. Interparietal

Herpetologica, 52(4), 1996, 535–541
© 1996 by The Herpetologists' League, Inc.



A NEW SPECIES OF LIZARD, GENUS *MICRABLEPHARUS* (SQUAMATA: GYMNOPTHALMIDAE), FROM BRAZIL

MIGUEL TREFAUT RODRIGUES

Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia,
Caixa Postal 11.461, CEP 05422-970, São Paulo, SP, Brazil

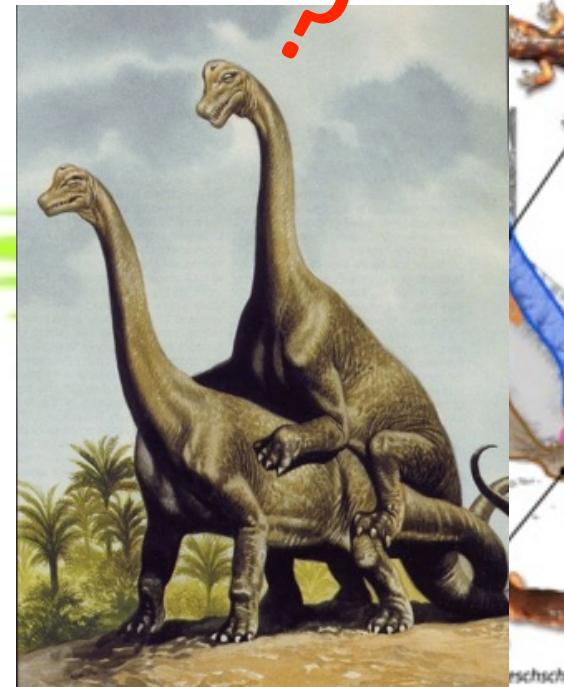
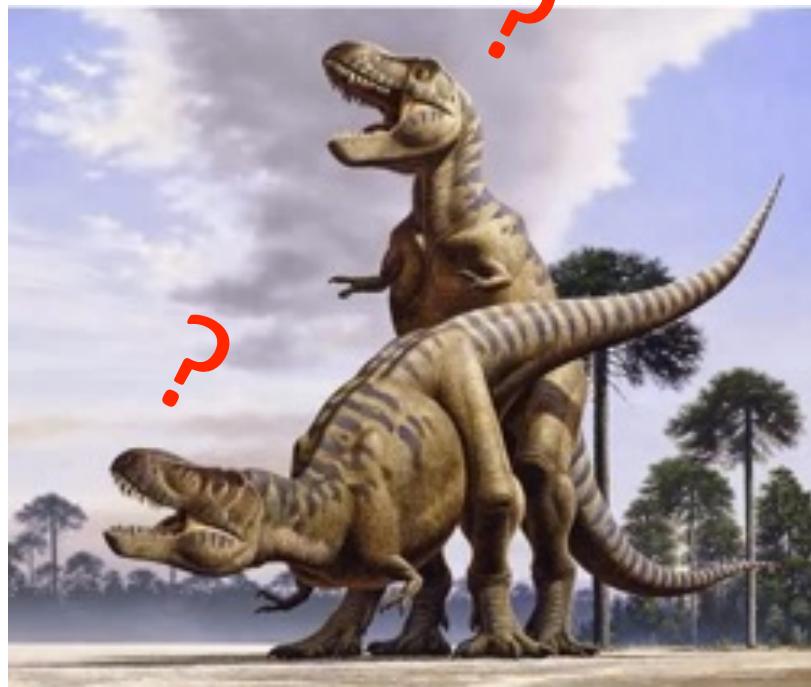
Conceitos de espécie

- Conceito Tipológico: implicações filosóficas e práticas
 - Descrição da espécie baseada no espécime-tipo. Todos os indivíduos suficientemente semelhantes ao “tipo” pertencem à mesma espécie
 - Origem no essencialismo grego. Indivíduos são manifestações do mesmo tipo ou essência
 - Holótipo



Conceitos de espécie

- O que é uma espécie?
- Conceito Biológico: “uma espécie é um grupo de populações naturais intercruzantes que está separado reprodutivamente de outros grupos desse tipo” (Dobzhansky, popularizado por Mayr)



Conceitos de espécie

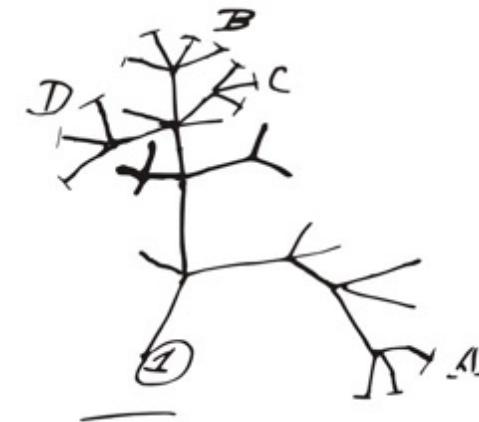
- Lineu: já utilizava um conceito tipológico (morfológico) no século XVIII
- Dezenas de conceitos foram discutidos e desenvolvidos entre 1940 e 2000
- Quantos conceitos de espécie existem?
 - Muitos! (1940 – 2000)
 - Tipológico
 - Biológico
 - Nominalista
 - Fenético
 - Solução?
 - Focar no processo!
 - Evolução -
I think



Systema Naturae
1735 - 1768

Evolutivo origem das espécies: 1859

- Ecológico
 - De coesão
 - Filogenético
 - Pluralista, etc...



Conceitos de espécie no século XXI

- Focar no **processo** de especiação: evolução
 - Todos os conceitos concordam em tratar populações evoluindo separadamente como uma unidade básica
- **Conceito de espécie** X Delimitação de espécies
 - Problemas separados
 - Critérios para separar espécies são relevantes apenas para delimitação



Syst. Biol. 56(6):879–886, 2007
Copyright © Society of Systematic Biologists
ISSN: 1063-5157 print / 1076-836X online
DOI: 10.1080/10635150701701083

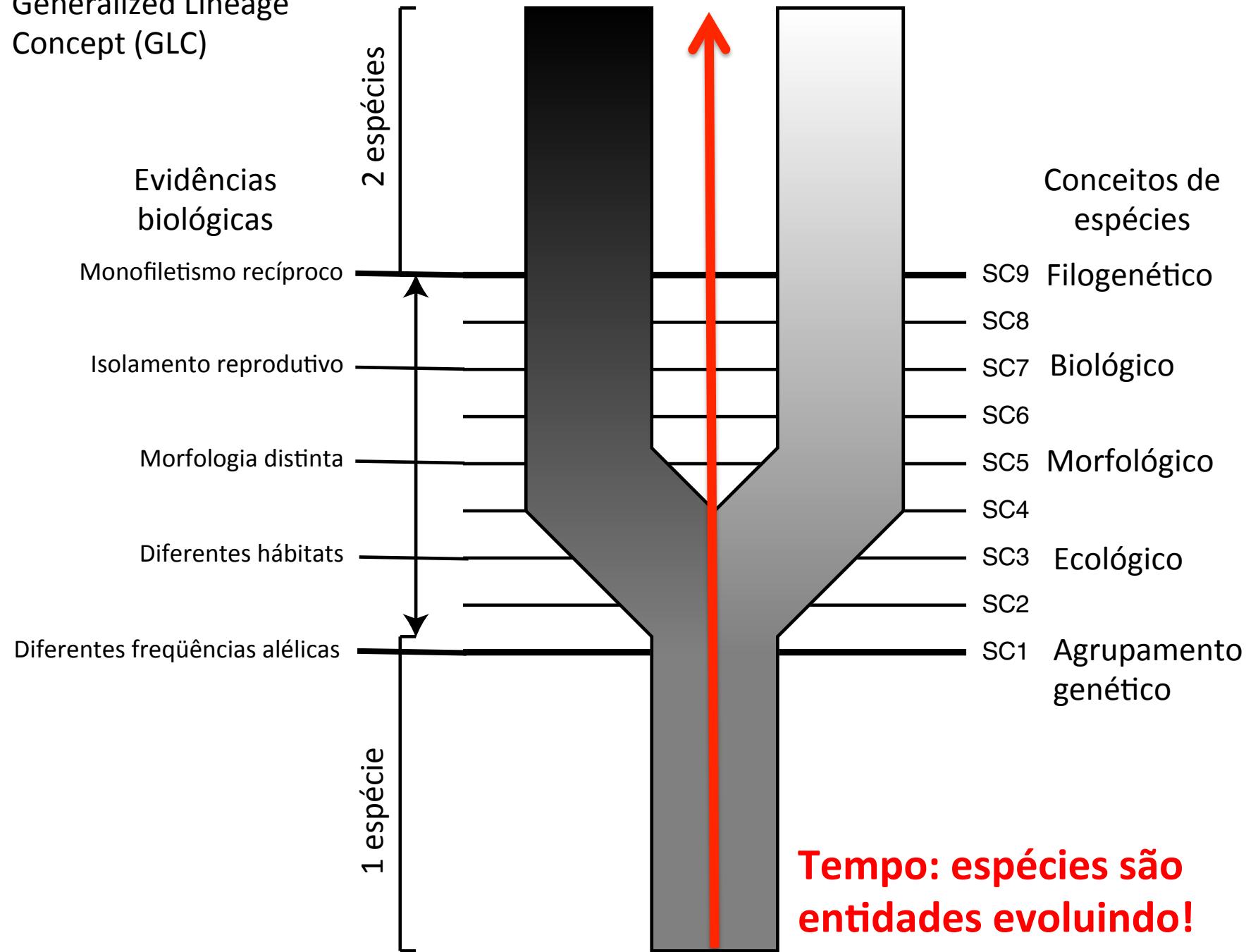
Species Concepts and Species Delimitation

KEVIN DE QUEIROZ

Department of Vertebrate Zoology, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington,
DC 20560-0162, USA; E-mail: dequeirozk@si.edu

Generalized Lineage Concept (GLC)

Generalized Lineage Concept (GLC)



Conceitos de espécie no século XXI

- O que é uma espécie?
- Entidades evoluindo: evidências biológicas surgem com o tempo, e vão satisfazendo diferentes conceitos de espécies (GLC)
- Mas então por que taxonomia ainda é instável?
 - Muitos taxonomistas utilizam diferentes conceitos de espécies
 - Depende do problema em questão: na prática, como delimitar espécies?
 - Quais os dados disponíveis?
 - Morfológicos, ecológicos, genéticos...
 - Quem está decidindo?

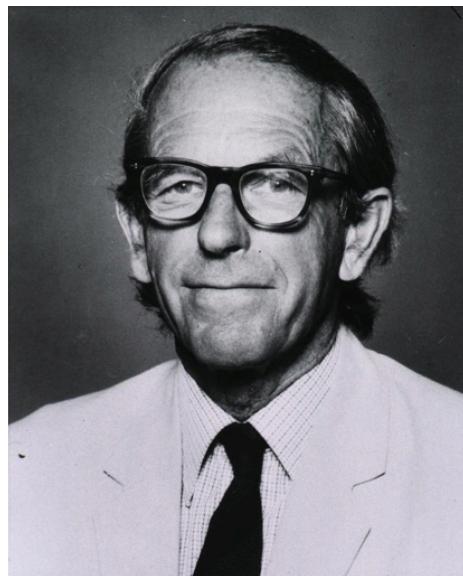


Conceitos de espécie no século XXI

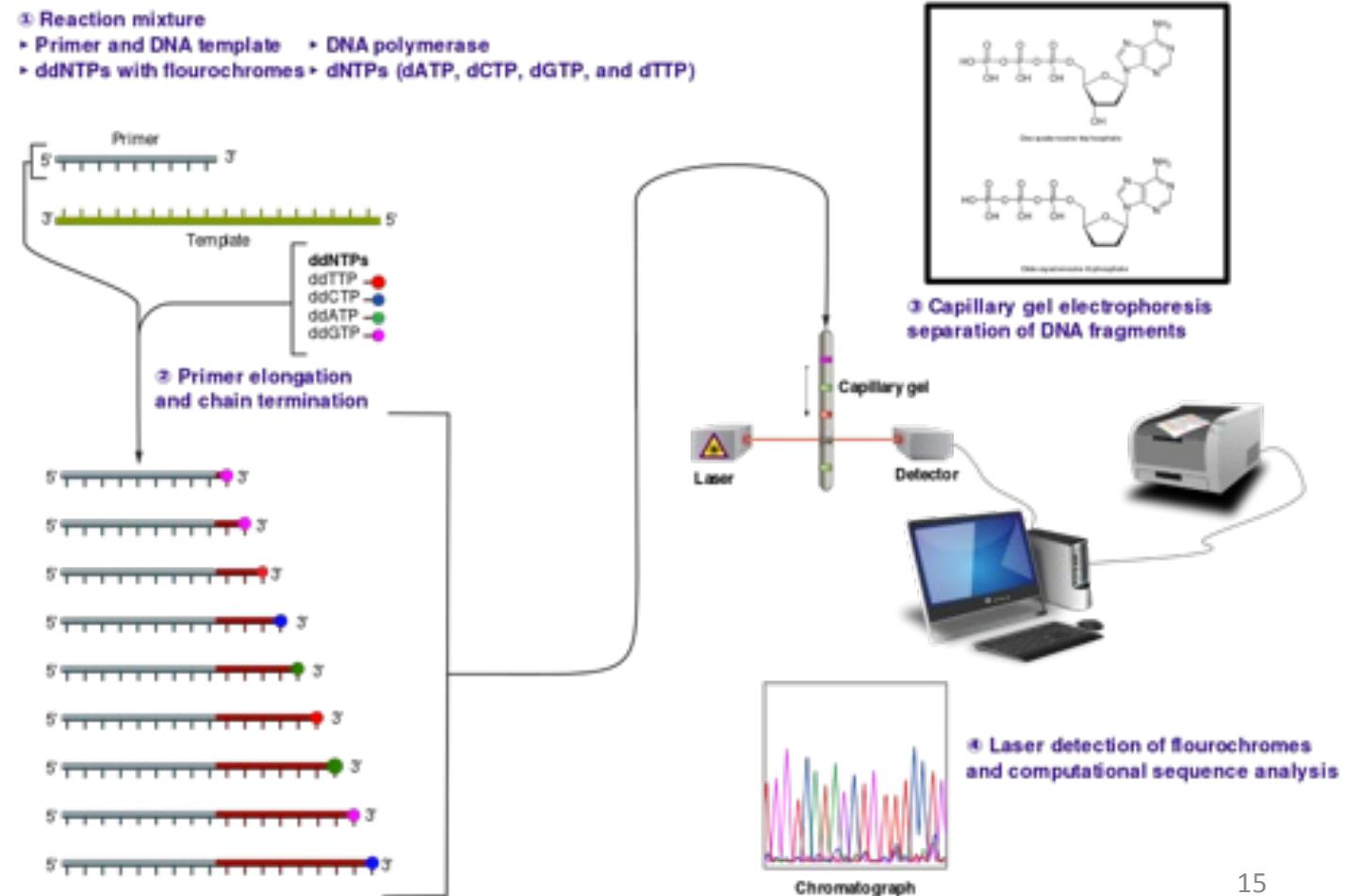
- O que é uma espécie?
- 1) Entidades evoluindo: evidências biológicas surgem com o tempo, e vão satisfazendo diferentes conceitos de espécies (GLC)
- 2) Espécies são hipóteses!
 - Mais importante!!!!
 - Espécies não são unidades claramente definidas (como Lineu imaginava)!
 - Assim como tudo na ciência, as hipóteses são testadas, adaptadas e modificadas de acordo com os evidências disponíveis
 - Morfológicas, ecológicas, comportamentais, genéticas, etc...

Ok... evidências...

- DNA: dados mais modernos – desde 1977
(barato apenas no início dos anos 90)



Frederick Sanger



Ok... evidências...

- DNA: dados mais modernos – desde 1977 (barato apenas no início dos anos 90)
- Vários métodos de delimitação de espécies usando sequências de DNA surgiram nos anos 90 e início do século XXI

Opinion



Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy

Matthew K. Fujita^{1*}, Adam D. Leaché², Frank T. Burbrink³, Jimmy A. McGuire⁴ and Craig Moritz⁴

¹ Museum of Comparative Zoology and Department of Organismic and Evolutionary Biology, Harvard University, 26 Oxford Street, Cambridge, MA 02138, USA

² Department of Biology and Burke Museum of Natural History and Culture, University of Washington, Box 351800, Seattle, WA 98195, USA

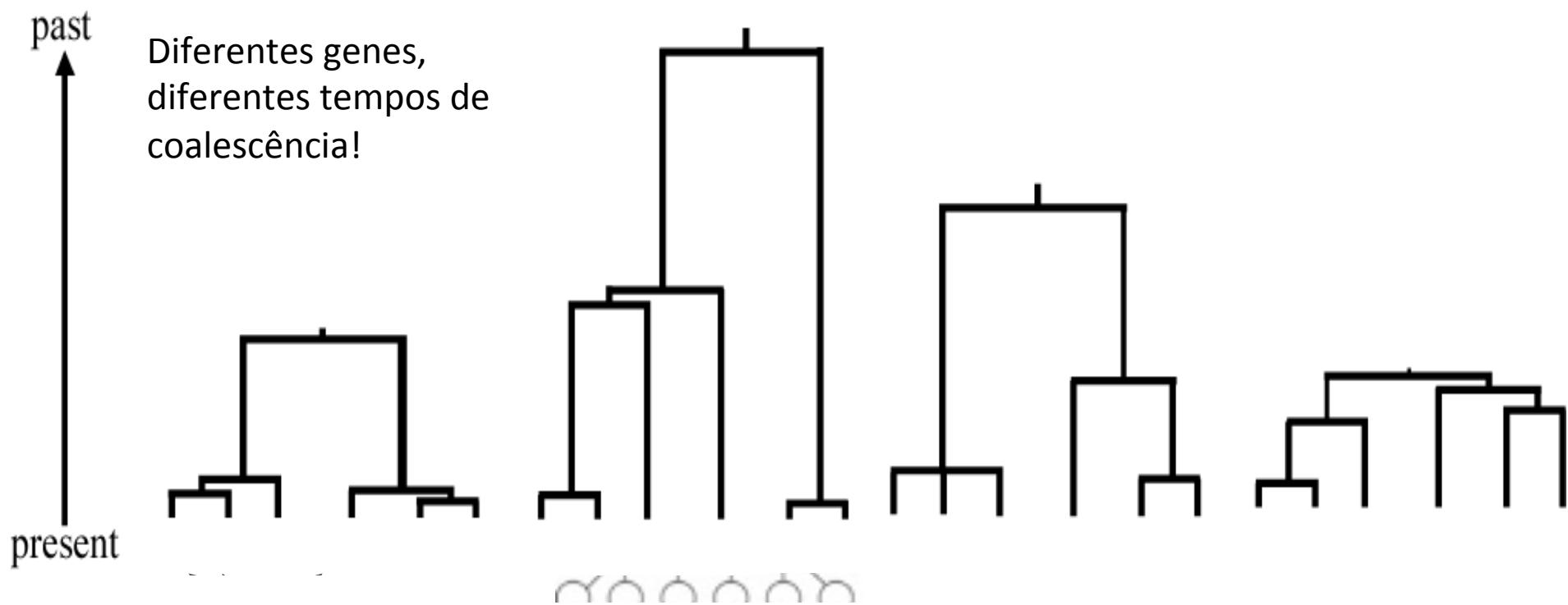
³ Biology Department, College of Staten Island, City University of New York, Staten Island, 2800 Victory Blvd, New York, NY 10314, USA

⁴ Museum of Vertebrate Zoology and Department of Integrative Biology, University of California, 3101 Valley Life Sciences Building, Berkeley, CA 94720, USA

Delimitação de espécies baseada em coalescência

- DNA: dados mais modernos – desde 1977 (barato apenas no início dos anos 90)
- Século XXI: coletar vários genes ficou cada vez mais barato!
- Como usar esses dados de maneira eficiente?
- Teoria coalescente
 - Evolução dos genes é diferente da evolução da espécie

Coalescência



Delimitação de espécies baseada em coalescência

- Teoria coalescente
 - Evolução dos genes é diferente da evolução da espécie
- Árvore de espécies X árvores de genes
- Quais as vantagens de usar essas informações para delimitar espécies?
 - Foco no processo evolutivo
 - Dinâmica da divergência
 - Inferir relações filogenéticas
 - Maior objetividade e estabilidade taxonômica! Não depende do pesquisador, mas de um **método explícito!**

Delimitação usando coalescência: os métodos!

MOLECULAR ECOLOGY

Molecular Ecology (2013) 22, 4369–4383

doi: 10.1111/mec.12410

INVITED REVIEWS AND META-ANALYSES

How to fail at species delimitation

BRYAN C. CARSTENS,* TARA A. PELLETIER,* NOAH M. REID† and JORDAN D. SATLER*

**Department of Evolution, Ecology and Organismal Biology, The Ohio State University, 318 W. 12th Avenue, Columbus, OH43210-1293, USA*, †*Department of Biological Sciences, Louisiana State University, Life Sciences Building, Baton Rouge, LA 70803, USA*

- “Inferences drawn from species delimitation studies should be conservative... it is better to fail to delimit species than it is to falsely delimit entities that do not represent actual evolutionary lineages”
- Basicamente: não divida em muitas espécies (seja conservativo)!

Delimitação usando coalescência: os métodos!

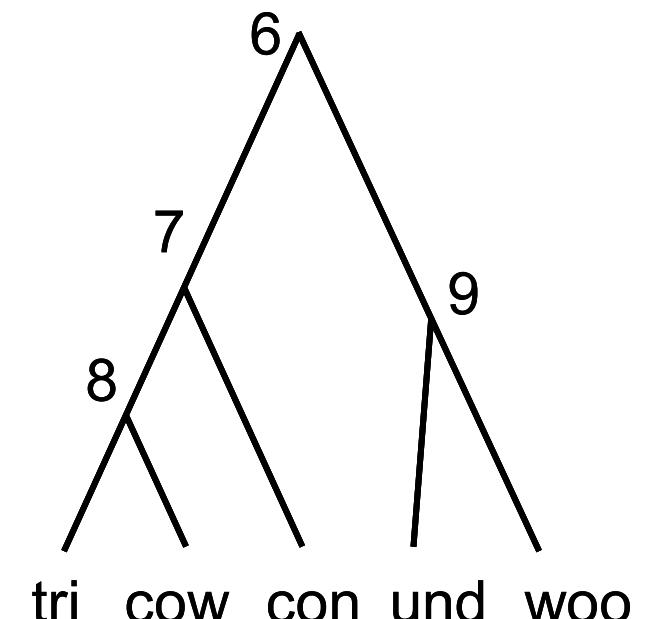
- Species discovery X species validation
- Descoberta das espécies -> sem hipótese prévia
- Validação das espécies -> hipóteses de espécies existem e métodos serão utilizados para testá-las
- Discovery:
 - Structurama/ Structure/ etc
 - GENELAND: genetic and nongenetic data (phenotypical, geographical, behavioural)
 - Gaussian clustering
 - Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC)/ Bayesian GMYC (bGMYC)
 - Poisson Tree Processes (PTP)
 - spedeSTEM discovery
 - etc...
- Nem todos são coalescentes! Opinião pessoal – não faz sentido usar um método não coalescente (a não ser que seus dados não permitam)

Delimitação usando coalescência: os métodos!

- Species discovery X species validation
- Validation:
 - speeSTEM (caiu em desuso)
 - BPP (Bayesian Phylogenetics and Phylogeography)/
iBPP
 - Bayes Factor Delimitation (BFD): (usando *Beast ou
SNAPP, ambos no BEAST)
 - STACEY (Beast)
- BPP certamente domina o mercado da
delimitação de espécies!
 - Os diferentes artigos descrevendo o programa acumulam em
torno de 2000 citações.
 - Permite utilização de dados genômicos (mais complicados no
BEAST)

Como o BPP funciona

Tree	Posterior Probability
0000	0.006
1000	0.020
1001	0.088
1100	0.039
1101	0.168
1110	0.129
1111	0.549

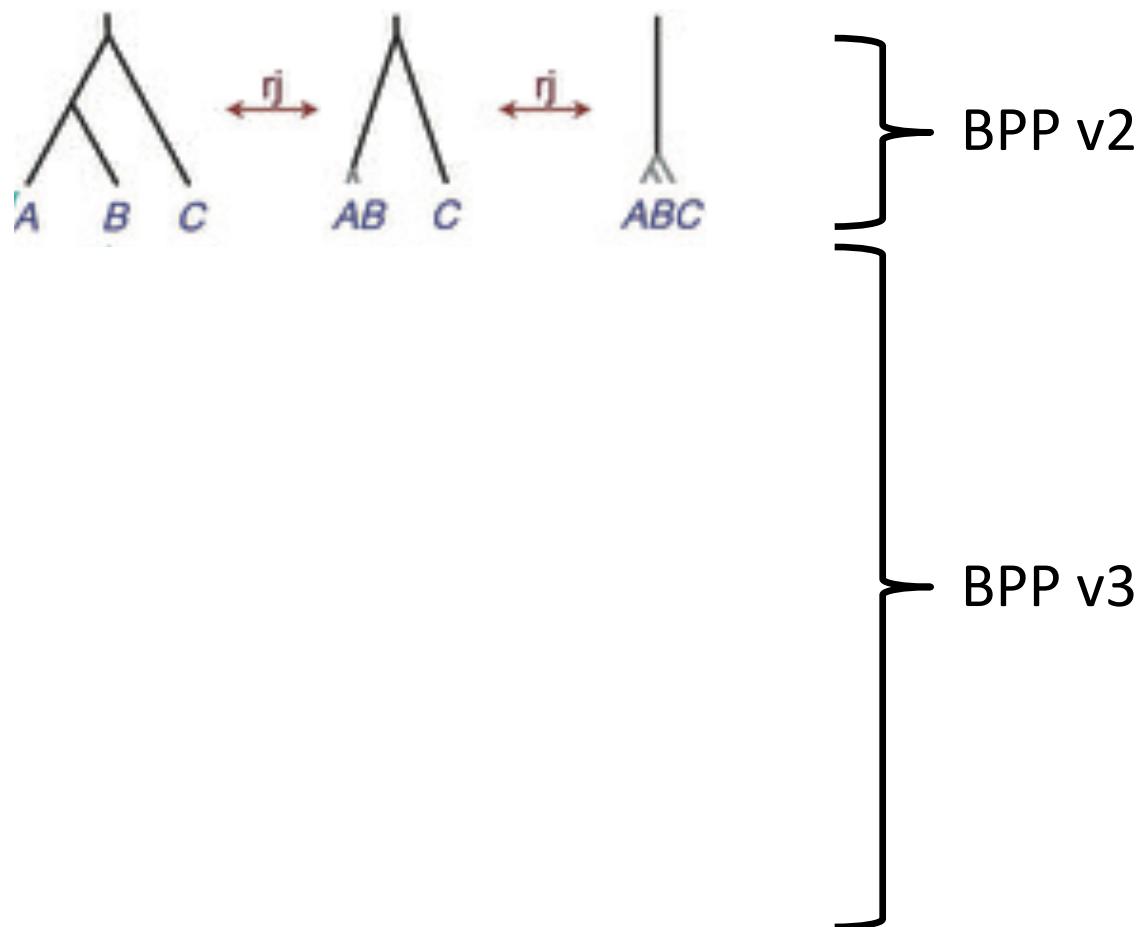


BPP v2 (Yang and Rannala 2010; Rannala and Yang 2013)

- Topologia fixa
- Reversible-jump algorithm

BPP v3 (Yang and Rannala 2014)

- Topologia pode variar, i.e. também estima uma species tree
- Antes Nearest-neighbor interchange, agora Subtree Pruning and Regrafting



Delimitação usando coalescência: os métodos!

- Tudo ia muito bem, e todos éramos felizes utilizando o BPP... até que...
- Sukumaran & Knowles 2017



Multispecies coalescent delimits structure, not species

Jeet Sukumaran^{a,1,2} and L. Lacey Knowles^{a,1}

^aDepartment of Ecology and Evolutionary Biology, University of Michigan, Ann Arbor MI 48109-1079

Edited by David M. Hillis, University of Texas at Austin, Austin, TX, and approved December 29, 2016 (received for review May 23, 2016)

The multispecies coalescent model underlies many approaches used for species delimitation. In previous work assessing the performance of species delimitation under this model, speciation was treated as an instantaneous event rather than as an extended process involving distinct phases of speciation initiation (struc-

consequence, the increased resolution of genomic data makes it possible to not only detect divergent species lineages, but also local population structure within them—that is, a fractal hierarchy of divergences.

Misidentification of population structure as putative species

- Simularam árvores com um modelo do processo de especiação – início (estrutura pop) até formação de espécies.
- Utilizam BPP para testar suporte para as linhagens.
- Resultado: análises coalescentes não conseguem distinguir entre estrutura populacional e limites de espécies

Delimitação usando coalescência: os métodos!



PNAS

Multispecies coalescent delimits structure, not species

Jeet Sukumaran^{a,1,2} and L. Lacey Knowles^{a,1}

^aDepartment of Ecology and Evolutionary Biology, University of Michigan, Ann Arbor MI 48109-1079

Edited by David M. Hillis, University of Texas at Austin, Austin, TX, and approved December 29, 2016 (received for review May 23, 2016)

The multispecies coalescent model underlies many approaches used for species delimitation. In previous work assessing the performance of species delimitation under this model, speciation was treated as an instantaneous event rather than as an extended process involving distinct phases of speciation initiation (struc-

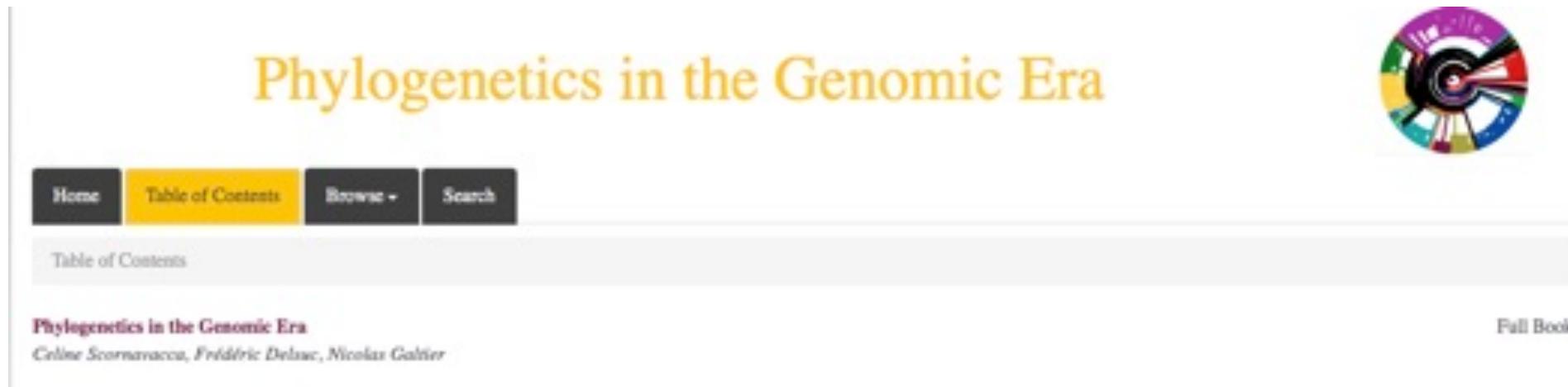
consequence, the increased resolution of genomic data makes it possible to not only detect divergent species lineages, but also local population structure within them—that is, a fractal hierarchy of divergences.

Misidentification of population structure as putative species

- Bom artigo, mas com alguns problemas:
 - Não definem um conceito de espécie!
 - Quando estrutura genética passa a ser uma espécie verdadeira? Limitação teórica do modelo utilizado.
 - Evolução por seleção natural é muito rápida – “estrutura genética” pode ser a única coisa que separa duas “espécies verdadeiras”.
- Alerta para sermos cuidadosos, mas não parece invalidar métodos coalescentes.
 - Sugere que outros dados sejam utilizados (morfologia, ecologia) – mas e se não existirem diferenças? Outras diferenças não são obrigatórias, genética sim!

Delimitação usando coalescência: os métodos!

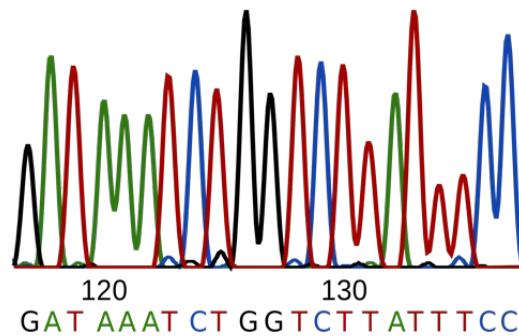
- Onde estamos em 2020 (pós-Sukumaran e Knowles, e os respectivos avanços do próprio BPP)?
- Estamos sendo mais cuidadosos do que quando começamos (por volta de 2010), mas delimitação de espécies usando dados genéticos é a norma!
- Principais autores do BPP (Ziheng Yang e Bruce Rannala) publicam dezenas de artigos por ano testando o programa e implementando novas opções!



The screenshot shows the homepage of the book "Phylogenetics in the Genomic Era". The title is at the top center in a large, yellow font. To the right is a circular logo composed of colored segments. Below the title are four navigation buttons: "Home" (black), "Table of Contents" (yellow), "Browse", and "Search". A "Table of Contents" sidebar is visible on the left. At the bottom, the authors' names are listed: Céline Scornavacca, Frédéric Delsuc, Nicolas Galtier. On the far right, there is a link to a "Full Book".

Ok... evidências... E qual a melhor evidência então?

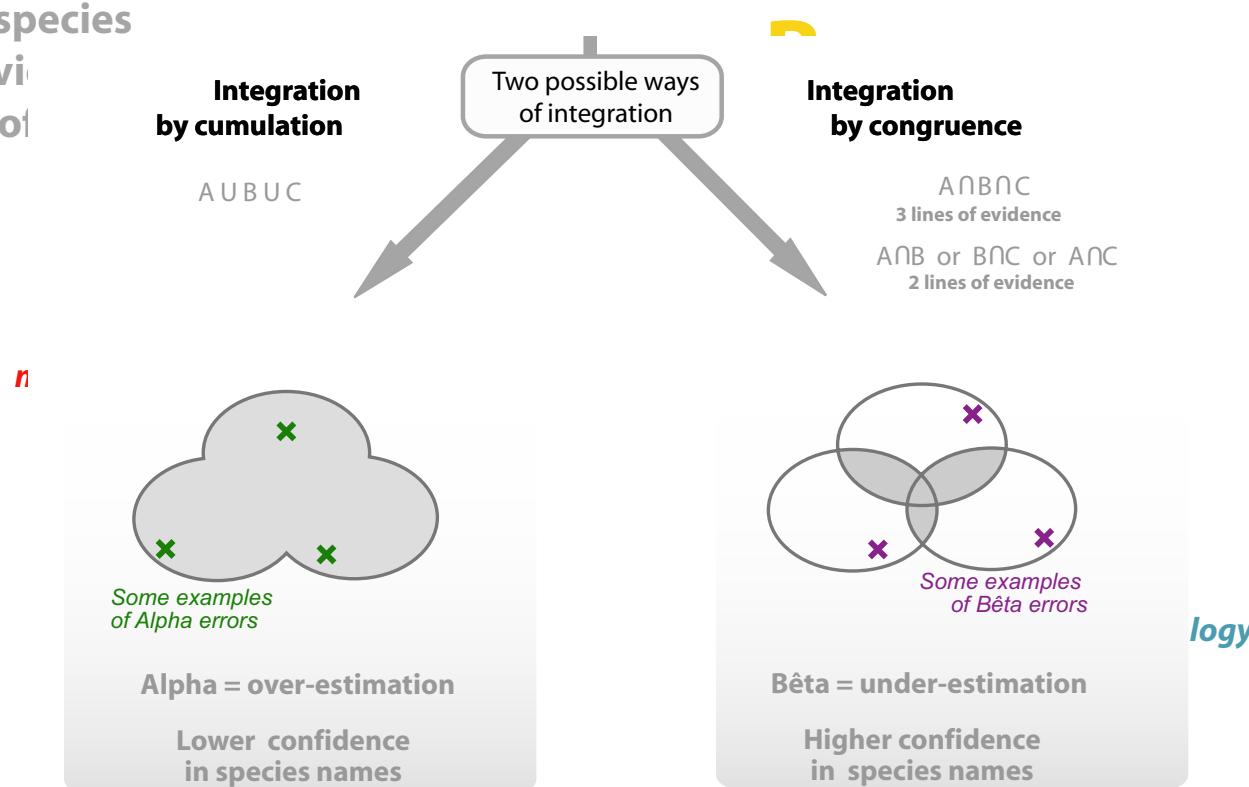
- DNA e métodos coalescentes são certamente o novo paradigma!
 - Quantidade de caracteres supera qualquer outro conjunto de dados (ainda mais considerando dados genômicos)
- Qual o papel de dados morfológicos e ecológicos (etc)?
 - Mais evidências é sempre melhor!
 - Tempo de coalescência recente, mas comportamento reprodutivo diferente
 - E os fósseis? (ancient DNA, mas apenas para sub-fósseis)
- Taxonomia integrativa!



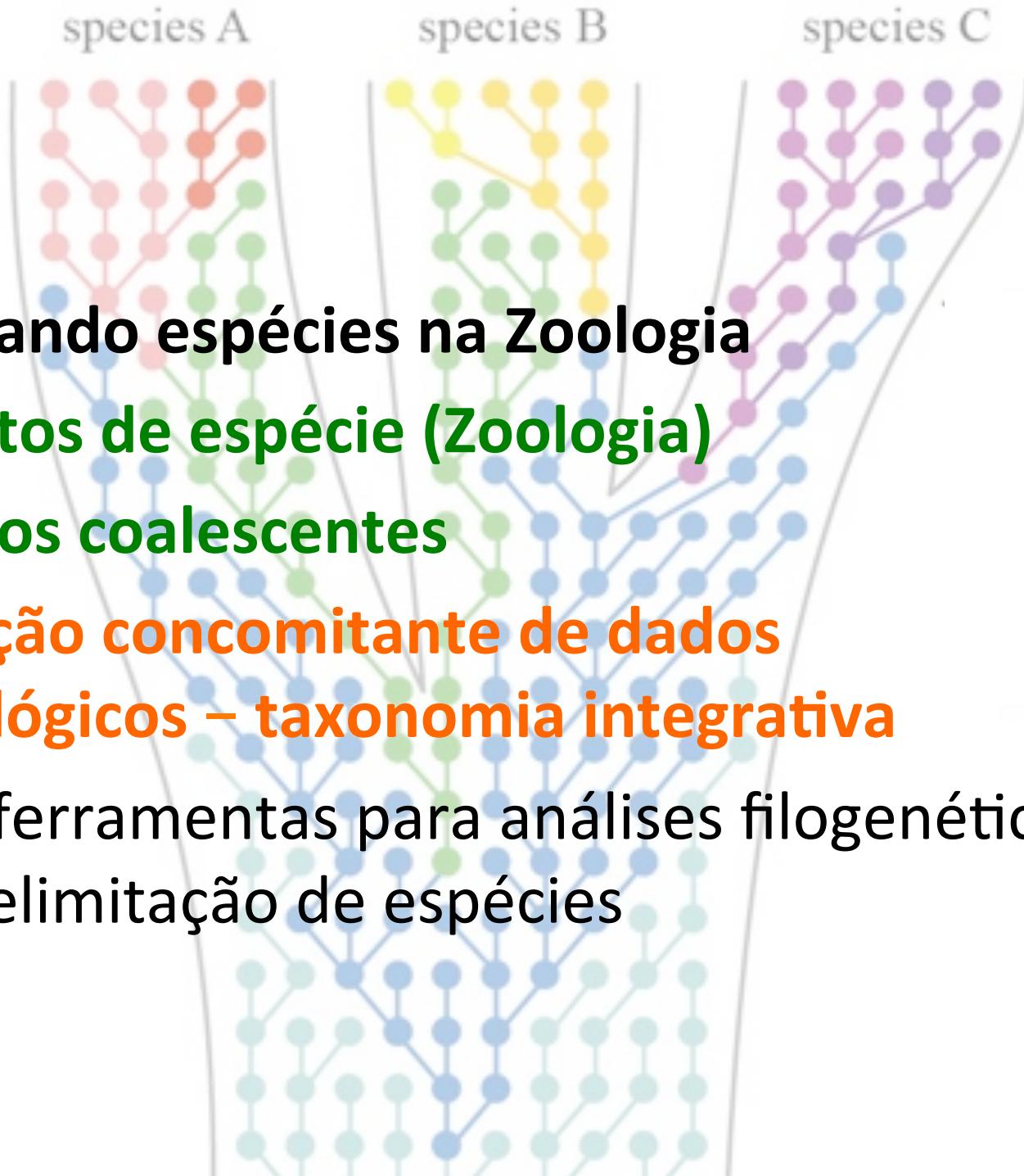
Taxonomia integrativa

- Espécies são hipóteses!
 - Utilizar todas as evidências disponíveis para testar as hipóteses – mas e se elas discordarem?
- Congruência X incongruência

Full space for species discovery provided by three sources of



- Delimitando espécies na Zoologia
 1. Conceitos de espécie (Zoologia)
 2. Métodos coalescentes
 3. Utilização concomitante de dados morfológicos – taxonomia integrativa
 4. Kit de ferramentas para análises filogenéticas e de delimitação de espécies



Para pensar e discutir

Species tree (árvore de espécies coalescentes) X
análises filogenéticas concatenadas

- Quando e por quê utilizar cada uma?
- Qual é melhor para cada caso: delimitação de espécies, investigar história evolutiva, inferir tempos de divergência?
- 2 minutos para pensar e fazer anotações, depois conversamos!

Para pensar e discutir

Se vamos fazer delimitação de espécies,
queremos criar nossa hipótese inicial baseada
em morfologia ou molecular?

- Leve em consideração a origem e evolução dos caracteres em questão (dimorfismo sexual, variação geográfica, adaptação)
- 2 minutos para pensar e fazer anotações, depois conversamos!

O maior desafio da taxonomia integrativa: descrever espécies!

- Taxonomistas clássicos utilizam dados morfológicos
- Sistematistas trabalhando com evolução da biodiversidade que usam dados moleculares geralmente não possuem treinamento em taxonomia
- Isso gerou dezenas de publicações de espécies crípticas sem descrições formais!

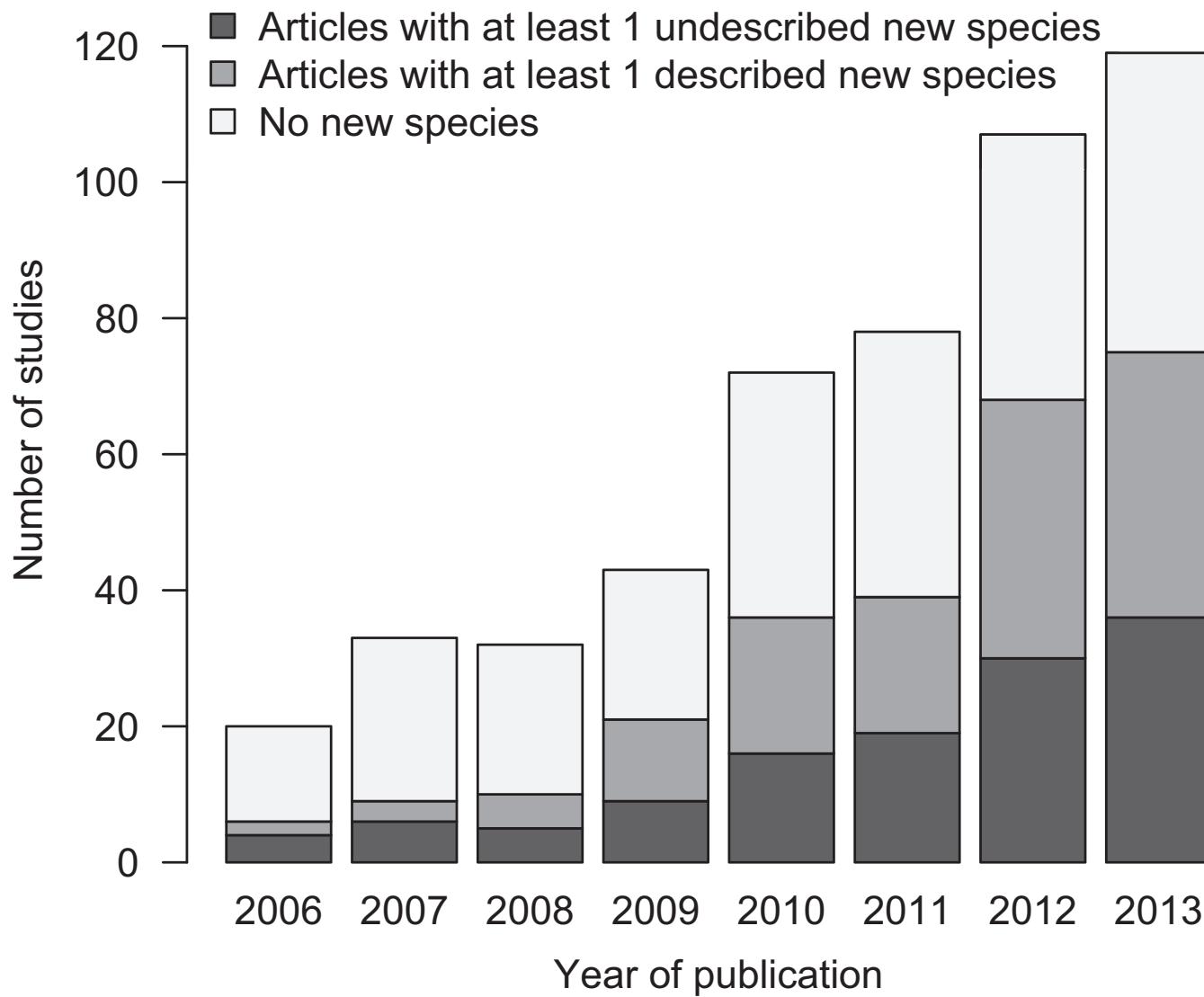


FIGURE 1. Number of articles (2006–2013) that did not delimit new species (dark gray), delimited new species without formally describing them (medium gray), and described newly delimited species (light gray).

A Return to Linnaeus's Focus on Diagnosis, Not Description: The Use of DNA Characters in the Formal Naming of Species

SUSANNE S. RENNER*

Systematic Botany and Mycology, University of Munich (LMU), Menzinger Street 67, 80638 Munich, Germany

*Correspondence to be sent to: *Systematic Botany and Mycology, University of Munich (LMU), Menzinger Street 67, 80638 Munich, Germany;*
E-mail: renner@lrz.uni-muenchen.de

- A solução pode ser utilizar diagnoses moleculares (apesar dos narizes torcidos dos zoólogos mais tradicionais)
- Pessoal dos fungos domina a área da diagnose molecular!

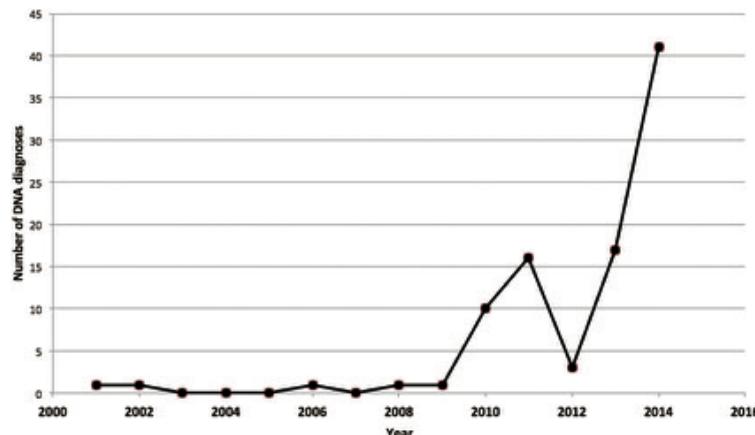
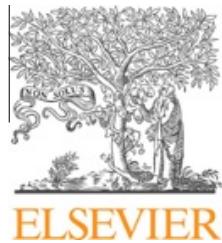


FIGURE 1. DNA-based formal diagnoses of new species of eukaryotes (mainly fungi, animals, and plants) since 2000 (based on data in Table 1). I am aware of only one molecular diagnosis published in 2015 ([Irimia and Gottschling 2016](#)).

O maior desafio da taxonomia integrativa: descrever espécies!

- Diagnoses moleculares
- Utilização de estatística multivariada moderna
 - Aumenta a credibilidade da diagnose
 - Assim como análises de delimitação moleculares, estabelece parâmetros objetivos e menos enviesados



Contents lists available at ScienceDirect

Molecular Phylogenetics and Evolution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ympev



Out of the deep: Cryptic speciation in a Neotropical gecko (Squamata, Phyllodactylidae) revealed by species delimitation methods



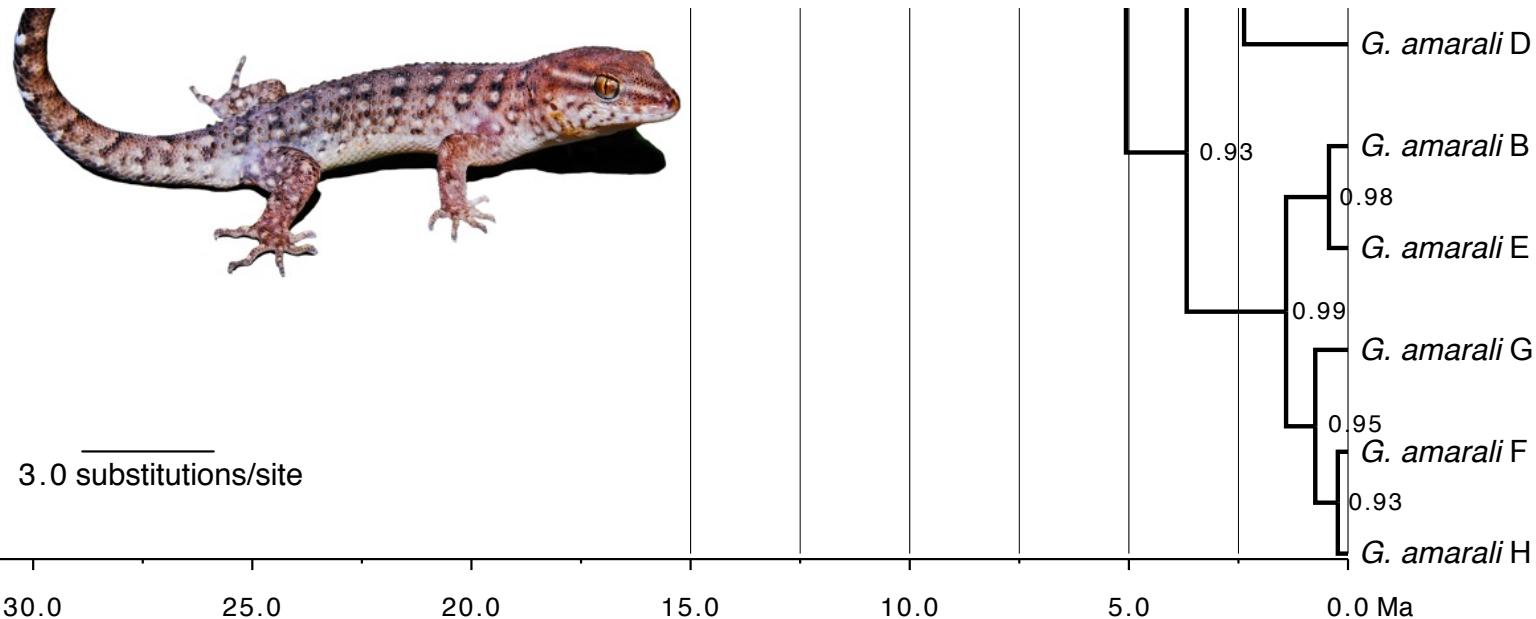
Fabricius M.C.B. Domingos ^{a,*}, Renan J. Bosque ^b, José Cassimiro ^c, Guarino R. Colli ^d, Miguel T. Rodrigues ^c, Marcella G. Santos ^b, Luciano B. Beheregaray ^a

^a Molecular Ecology Laboratory, School of Biological Sciences, Flinders University, Adelaide, SA 5001, Australia

^b Department of Biology, University of Mississippi, Box 1848, University, MS 38677-1848, USA

^c Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Cidade Universitária, 05508-090 São Paulo, SP, Brazil

^d Departamento de Zoologia, Universidade de Brasília, 70910-900 Brasília, DF, Brazil



Domingos
et al. 2014

Morfologia

- 29 caracteres
- 2,436 observações
 - 29 caracteres de 84 espécimes
- 255 (10.5%) eram dados faltantes (missing) devido à espécimes danificados
- Imputação múltipla para substituí-los

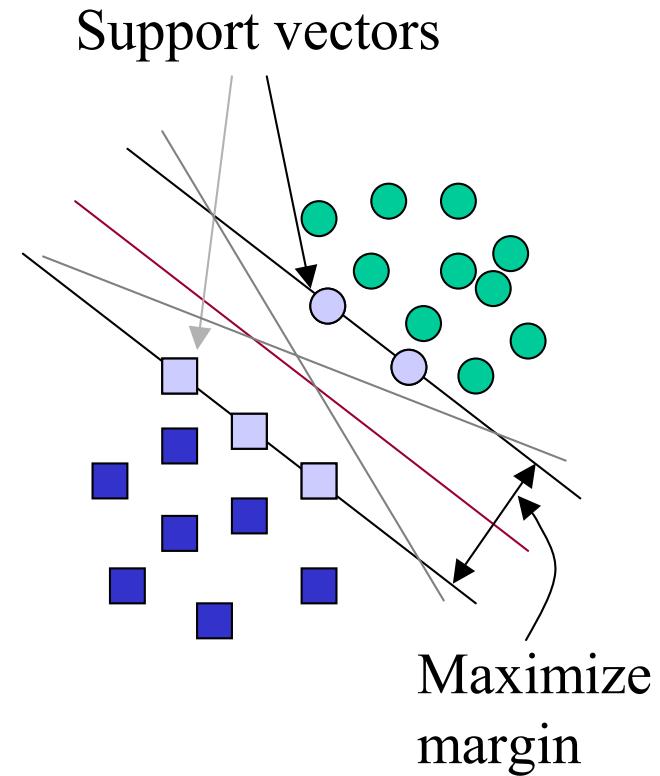


Morfologia

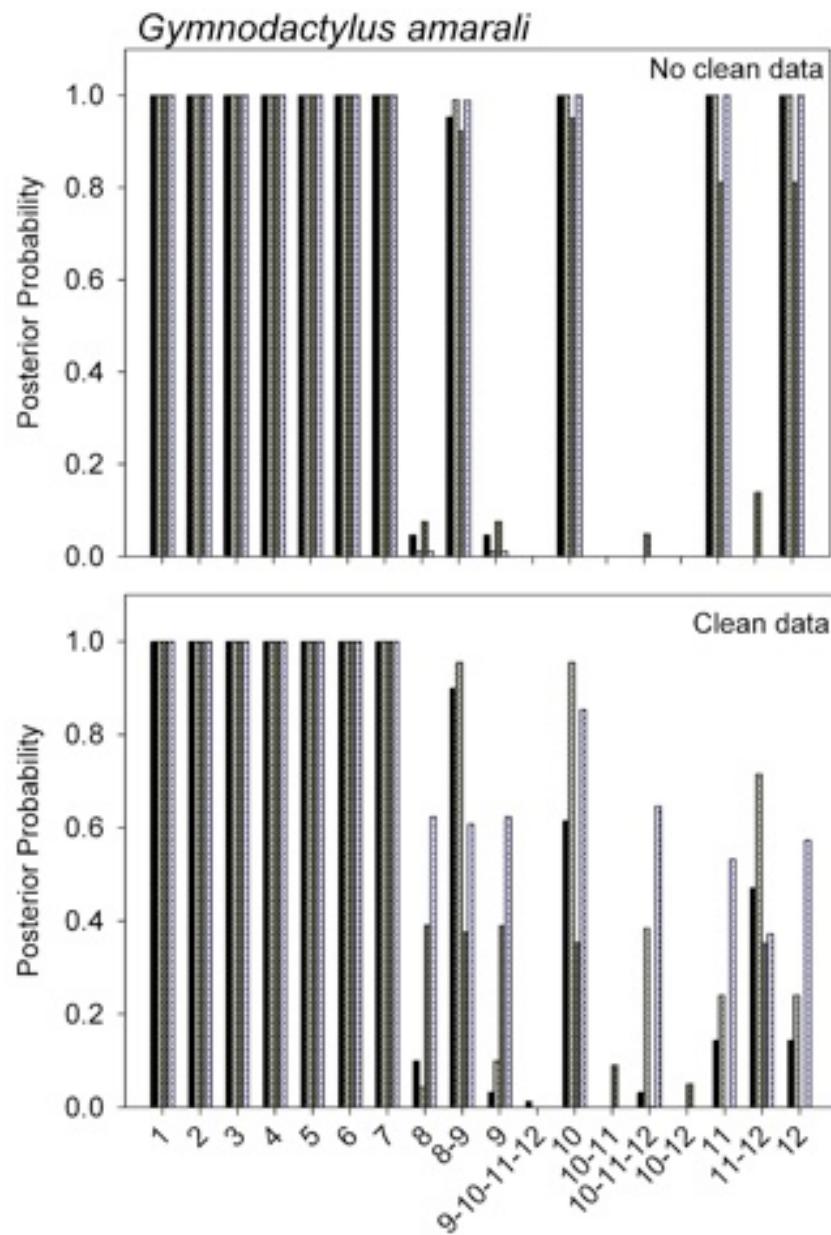
- Confirmar que as espécies eram morfologicamente distintas
- Classificar e prever amostras: Análise discriminante
 - Normalidade, sem colinearidade, e homoscedasticidade
 - Não pode ser aplicada quando o número de casos é menor que o número de variáveis
- Meh... Eu não tenho nada disso!
 - Caracteres merísticos não são distribuídos de maneira normal (mesmo se você tentar muito transformá-los)
 - Para alguns clados nós tínhamos no máximo 3 indivíduos

Morfologia – aprendizado de máquina

- Support Vector Machine
 - Abordagem de treino de modelo (model-training) para classificar e prever a filiação de amostras, baseado em teoria de aprendizado
 - Maximizar a margem de separação ao redor de um hiperplano de separação
- Usado em biologia molecular e computacional, e modelagem de distribuição
- Primeira vez que SVM foi utilizada para investigar segregação morfológica em animais
 - Apenas 3% de erro de classificação (contra 7% da discriminante)



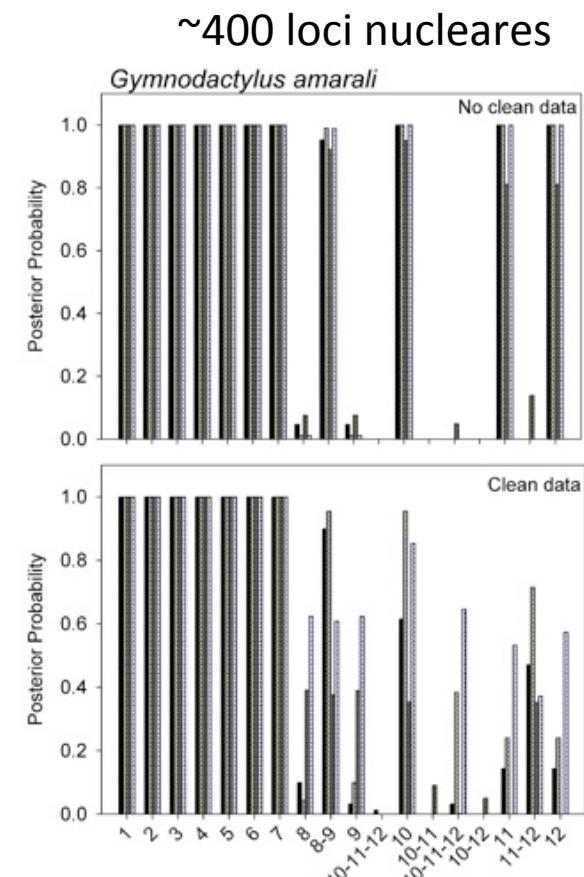
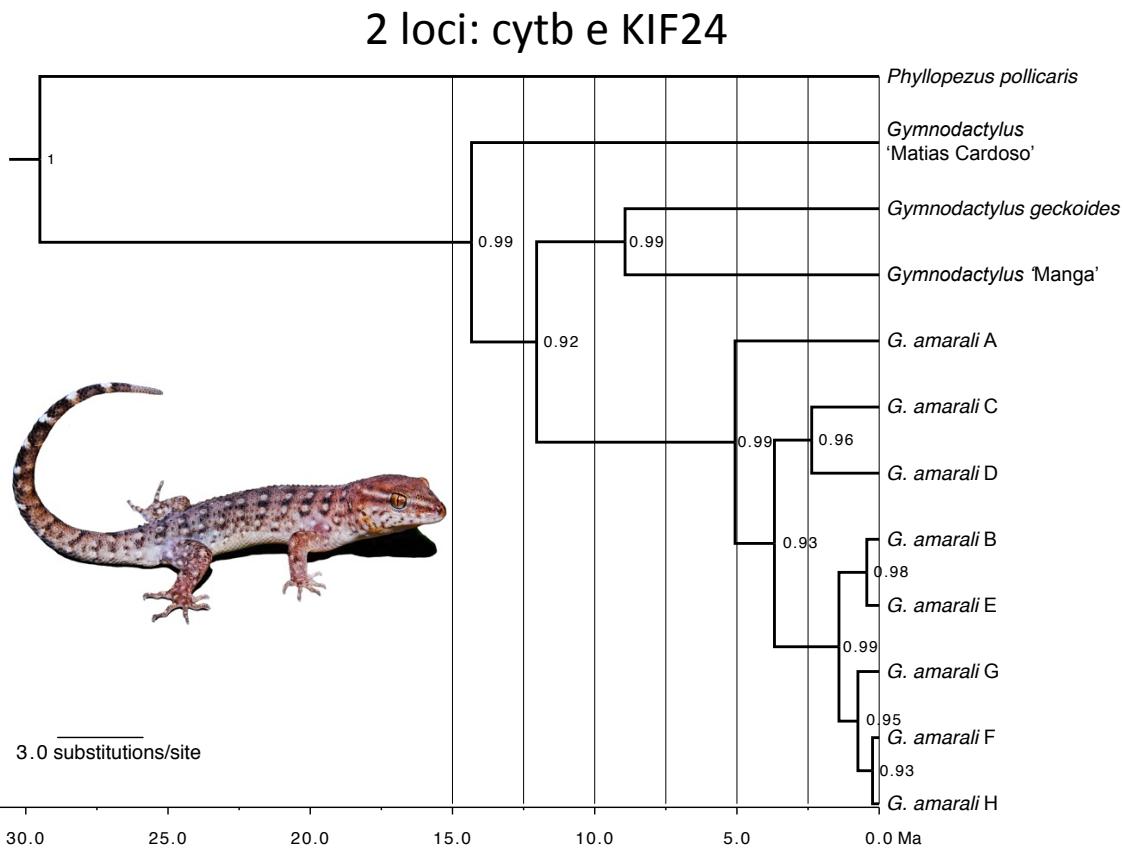
Depois que obtive dados genômicos...



- 9 clados bem suportados

■ Algorithm 0, run 1
■ Algorithm 0, run 2
■ Algorithm 1, run 1
■ Algorithm 1, run 2

- Qual a diferença entre os dois conjuntos de dados?
 - Clados B e E agora apenas uma espécie
 - Clado H dividido (maior resolução)
- Exatamente os responsáveis pelos erros de classificação morfológica!



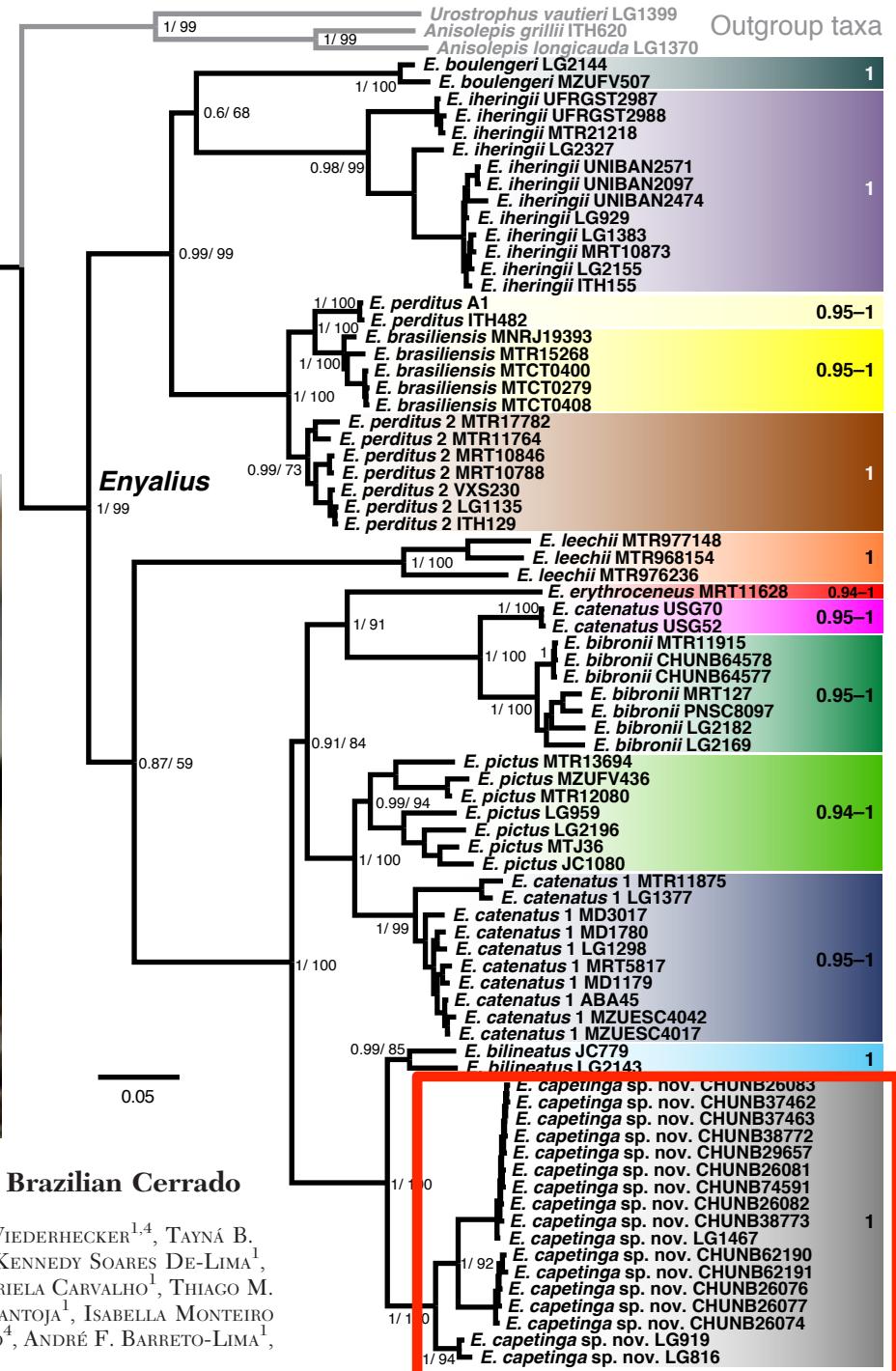
- Taxonomia integrativa
+ ensino científico

Enyalius capetinga



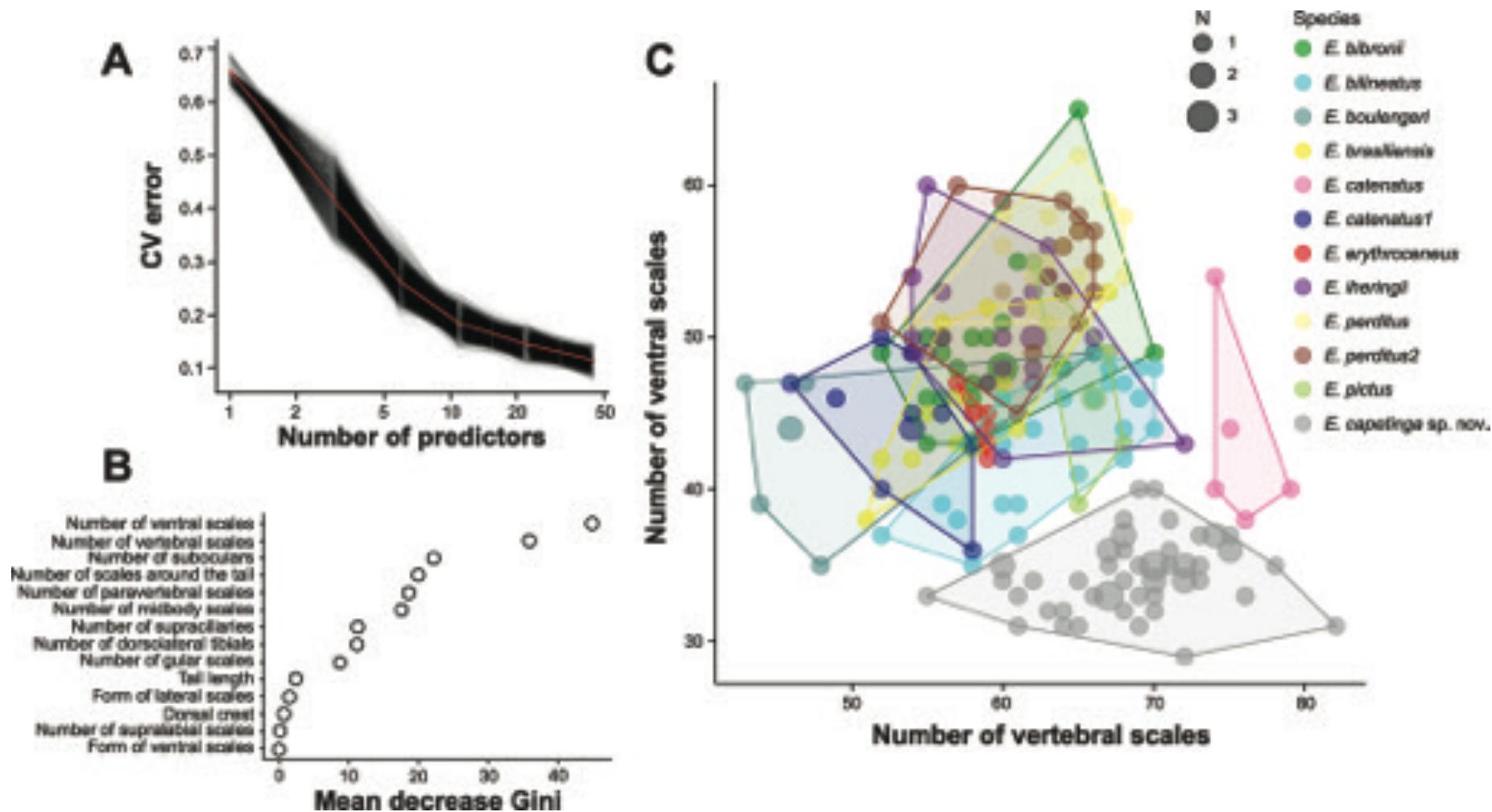
A New Species of *Enyalius* (Squamata, Leiosauridae) Endemic to the Brazilian Cerrado

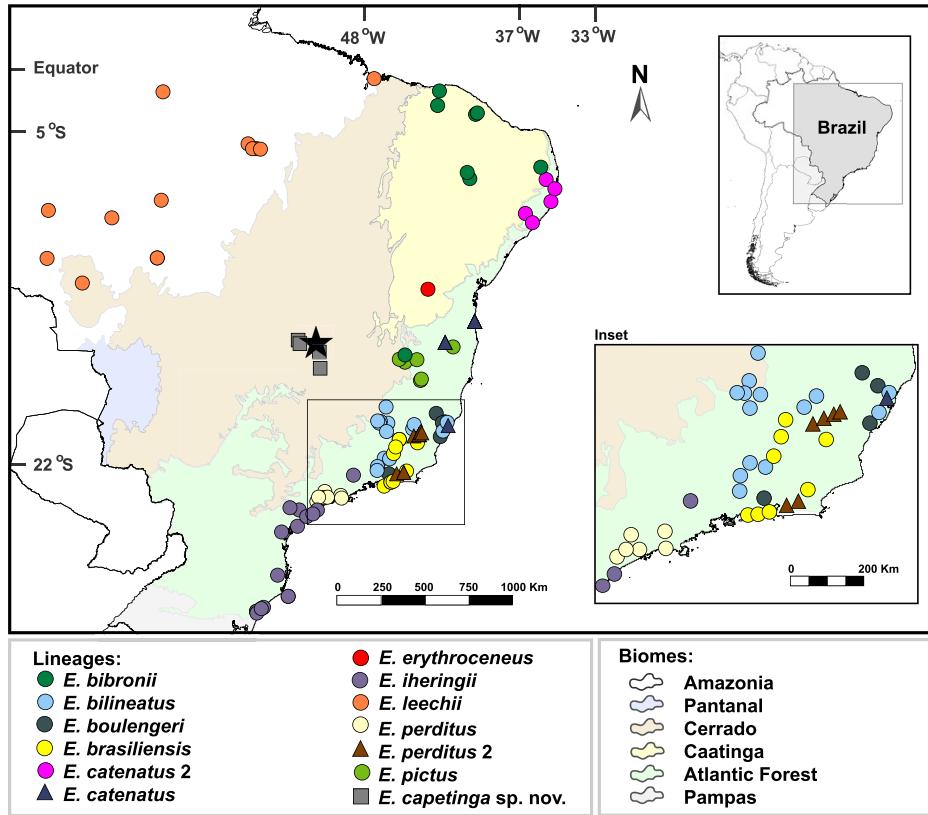
M. FLORENCIA BREITMAN^{1,6}, FABRICIUS M.C.B. DOMINGOS^{1,2}, JUSTIN C. BAGLEY^{1,3}, HELGA C. WIEDERHECKER^{1,4}, TAYNÁ B. FERRARI⁴, VÍTOR H.G.L. CAVALCANTE^{1,5}, ANDRÉ C. PEREIRA¹, TARCÍSIO L.S. ABREU¹, ANDERSON KENNEDY SOARES DE-LIMA¹, CARLOS J.S. MORAIS¹, ANA C.H. DEL PRETTE¹, IZABELLA P.M.C. SILVA¹, RODRIGO DE MELLO⁴, GABRIELA CARVALHO¹, THIAGO M. DE LIMA⁴, ANANDHA A. SILVA¹, CAROLINE AZEVEDO MATIAS¹, GABRIEL C. CARVALHO¹, JOÃO A.L. PANTOJA¹, ISABELLA MONTEIRO GOMES¹, INGRID PINHEIRO PASCHOALETTO¹, GABRIELA FERREIRA RODRIGUES¹, ÂNGELA V.C. TALARICO⁴, ANDRÉ F. BARRETO-LIMA¹, AND GUARINO R. COLLI¹



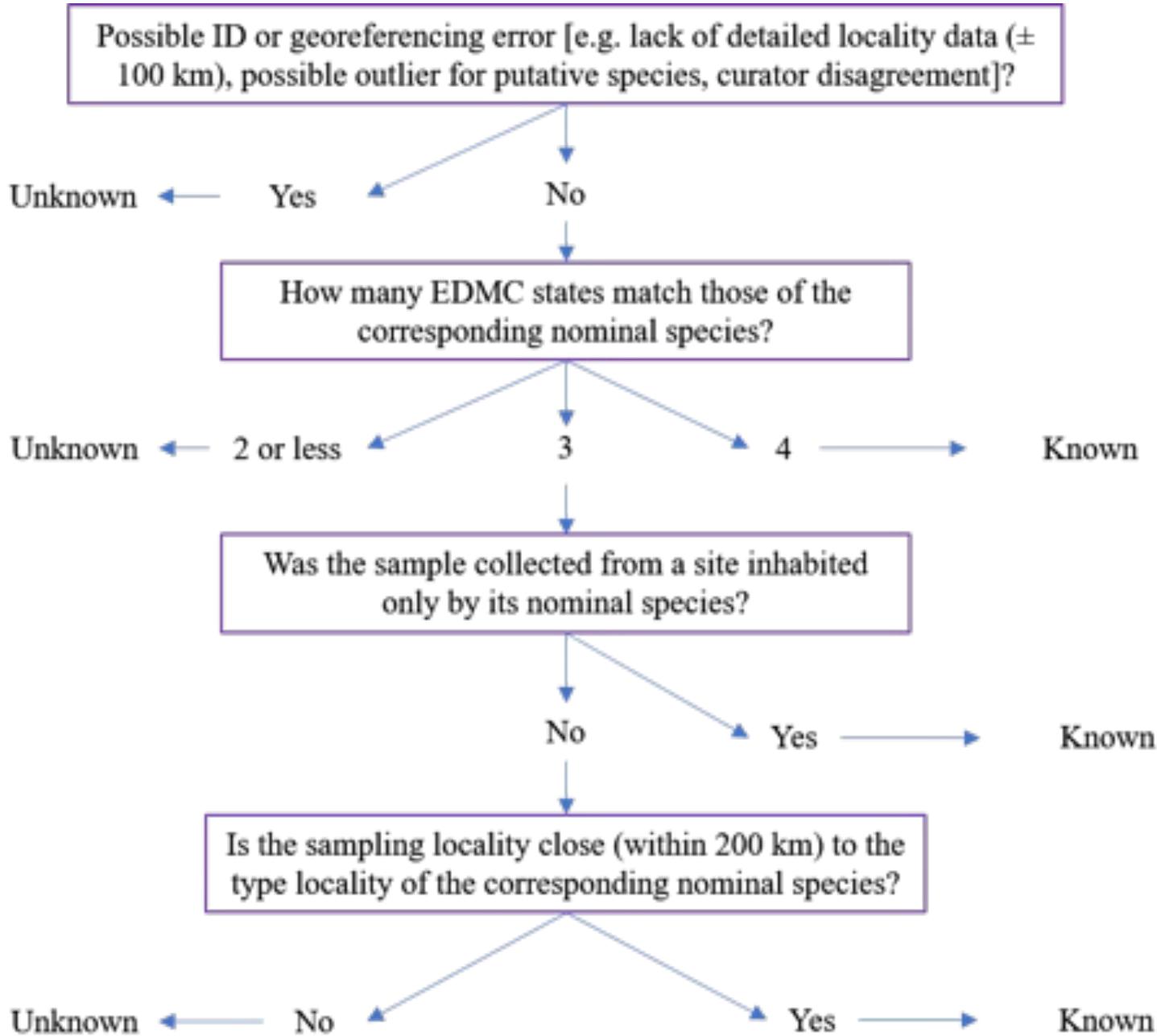
Morfología – aprendizado de máquina

- Random Forest





- Tínhamos MUITO mais exemplares na coleção do que sequências
- Taxonomia tão ruim que era impossível definir a qual espécie pertencia cada indivíduo baseados em morfologia
- Adaptamos um método de agrupamento gaussiano semi-supervisionado, onde é preciso inserir a probabilidade a priori (prior) da “crença” acerca da espécie que o indivíduo pertence (abordagem similar à estatística Bayesiana)



iBPP: usando morfologia e molecular em uma única análise

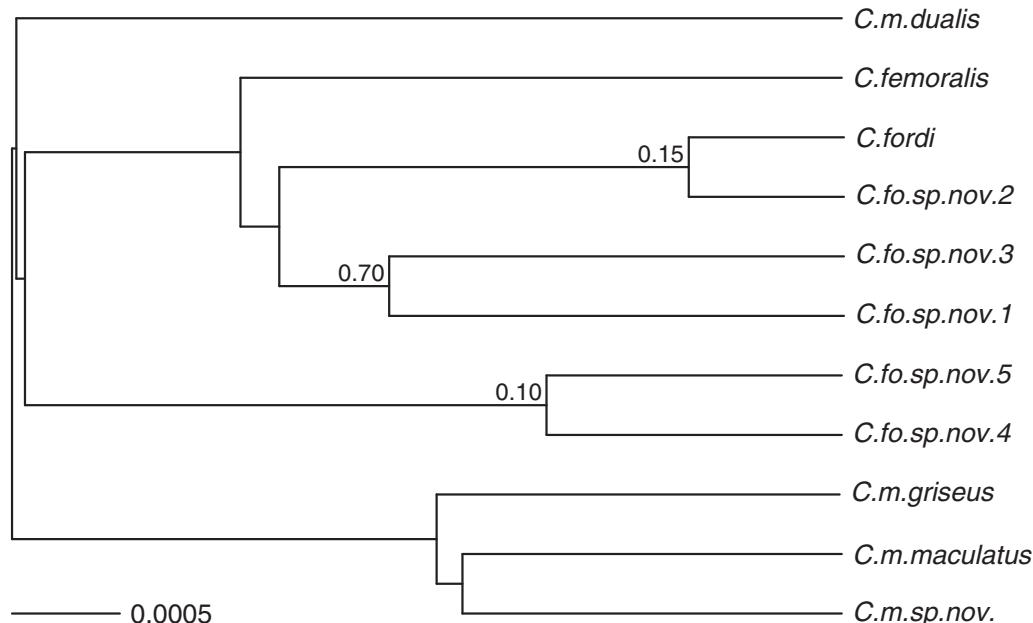
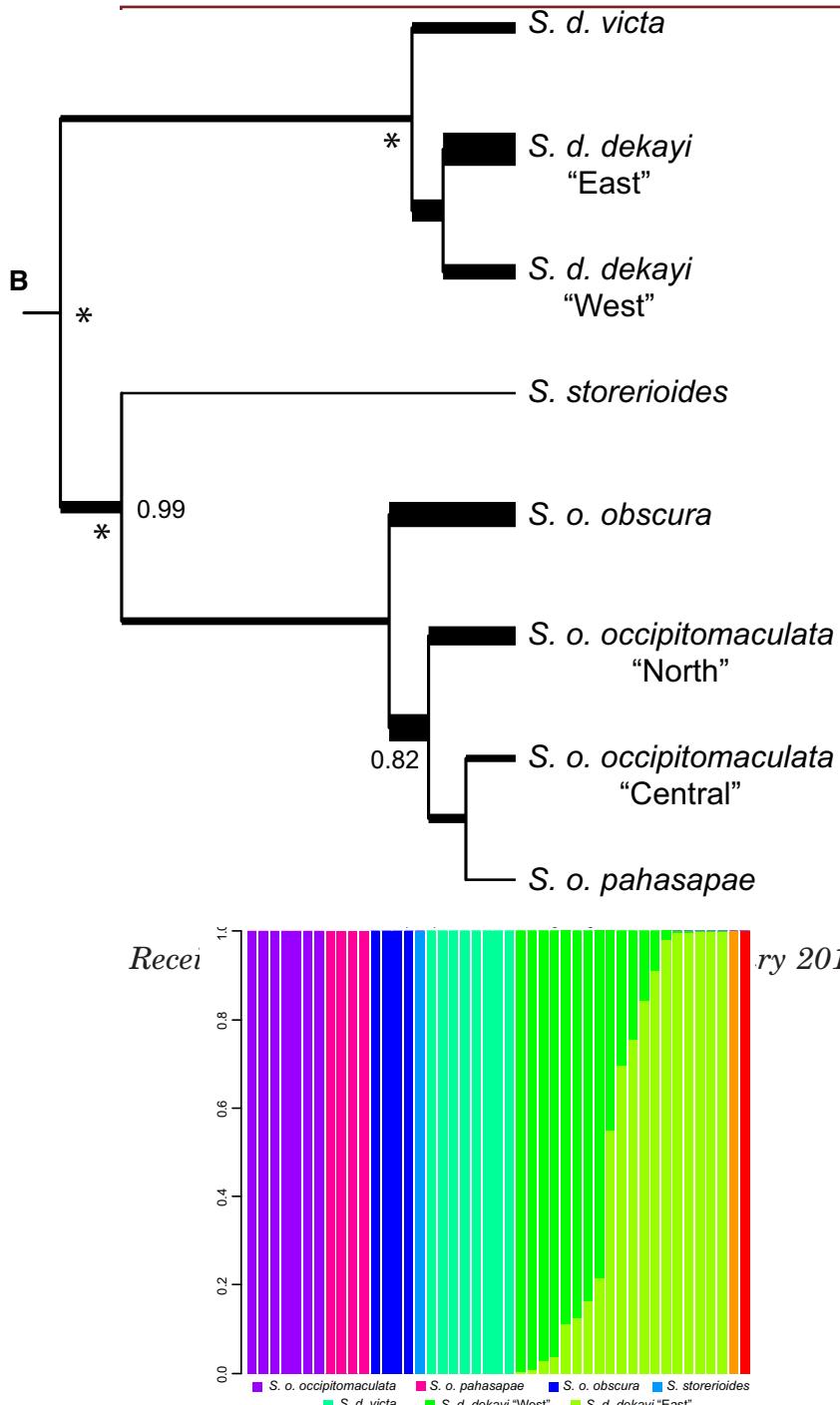


Figure 10. All 11 putative species in the *Ctenophorus maculatus* species complex were delimited with full support (i.e., 1.0 PP) in each of the iBPP analyses of the three datasets (traits only, genes only, and genes and traits), except when only the traits were analyzed (nodes PP as marked). The guide tree used in iBPP analyses was from Edwards and Knowles (2014), which is from a species tree estimated from multilocus data with *BEAST. Branches lengths (τ) are shown as estimated from genes and traits. Estimated rescaled population sizes (θ) ranged from 0.0014 to 0.019, excluding the value at the root (0.130).

Problemas:

- BPP = 1.0000000000000002
- Topologia fixa
- Apenas caracteres morfológicos contínuos
- Premissas da evolução morfológica (puramente por deriva genética, caracteres evoluem independentemente,
- Distribuição estatística dos caracteres morfológicos



- Discriminant analyses of Principal Components (DAPC)
 - Filogenias e árvores de espécies
 - ~~BDP~~ **Phenotypic data to imitation models in brown butterflies**
 - IBPP usando a árvore e espécies delimitadas pelo BPP v3
- SIEH¹, ALAN R. LEMMON², EMILY M.

¹Washington University, 2023 G St. NW, Washington
²State University, Tallahassee FL, 32306-4120, USA
³University, Tallahassee FL, 32306-4295, USA

Received 10 January 2016; accepted for publication 3 January 2016



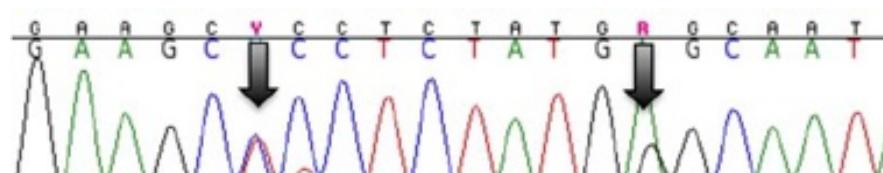
-
- Delimitando espécies na Zoologia
 - 1. Conceitos de espécie (Zoologia)
 - 2. Métodos coalescentes
 - 3. Utilização concomitante de dados morfológicos – taxonomia integrativa
 - 4. Kit de ferramentas para análises filogenéticas e de delimitação de espécies

Kit de ferramentas básico (do Fabricius)

- Moleculares (após obtenção dos dados)
 - Resolver os picos duplos no cromatograma!
 - Alinhamento
 - Análises filogenéticas concatenadas
 - Análises filogenéticas coalescentes (species trees)
 - Delimitação de espécies
 - Estimativas de tempos de divergências
 - Outras análises biogeográficas, filogeográficas, etc...
- Morfológicas
 - Imputação múltipla de dados faltantes (NAs)
 - Análises de aprendizado de máquina

Kit de ferramentas básico (do Fabricius)

- Moleculares (após obtenção dos dados)
 - Resolver os picos duplos no cromatograma!
 - Em sequências nucleares: phasing
 - Estimar os haplótipos (separar os diferentes alelos)
 - É feito estatisticamente – dezenas de programas
 - Mais famoso é PHASE
 - Se existe um genoma publicado, a estimativa é muito melhor



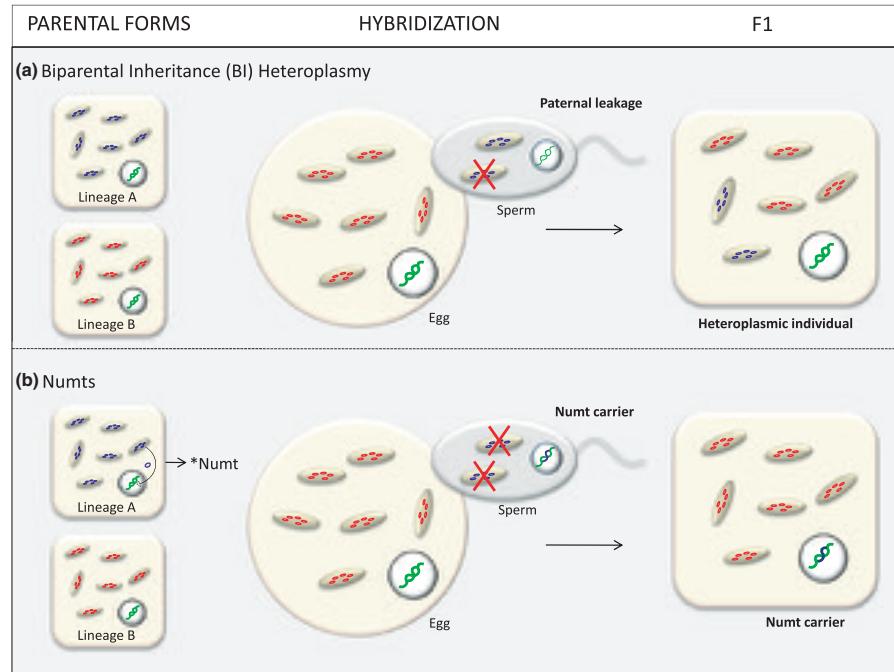
C Y CCTCTATG R
C [C] CCTCTATG [A]
[T] [G]

Possíveis haplótipos: CYCCTCTATGR

CCCCTCTATGA CCCCTCTATGG

CTCCTCTATGA CTCCTCTATGG

- Moleculares (após obtenção dos dados)
 - Resolver os picos duplos no cromatograma!
 - Picos duplos em mitocondrias (SOCORRO)
 - Podem ser dois motivos
 - Heteroplasmia
 - Cópia (incorporação) de gene mitocondrial nos genoma nuclear



Geralmente, o resultado é esse em termos de cromatogramas:

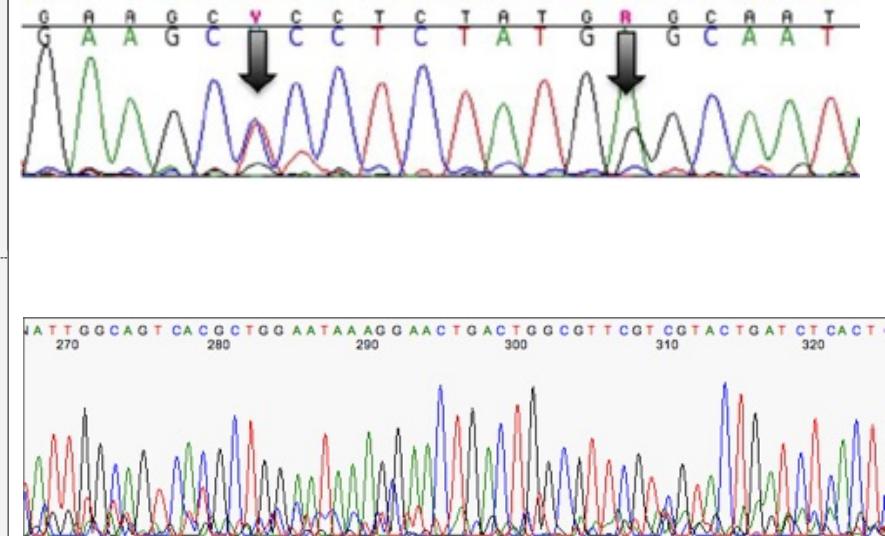


Fig. 3 (a) Biparental inheritance (BI) heteroplasmy—heteroplasmy is generated through paternal leakage at the time of fertilization. Hybridization of individuals from two different mitochondrial lineages results in F1 carrying two types of mitochondrial DNA. (b) Numts—incorporation of mitochondrial DNA in the nuclear genome of lineage A. When numt carrying males from lineage A hybridize with females from lineage B, F1 will be polymorphic for the transferred mitochondrial fragments, as they harbour the complete mitochondrial genome from lineage B (through maternal inheritance of mtDNA) and fragments of mitochondrial DNA from lineage A as numts. Somatic cells are represented as squares. Within each cell, mitochondria are shown as ellipses and mitochondrial DNA is represented as coloured ellipses inside mitochondria. Blue mtDNA represents mitochondrial lineage A, while red mtDNA represents mitochondrial lineage B. Nuclei are represented as white circles within each cell with nuclear genomes shown as green helices.

Isso é só uma dica, para resolver mesmo o problema é mais difícil!

Kit de ferramentas básico (do Fabricius)

- Moleculares (após obtenção dos dados)
- Depois do phasing, eu prezo sempre pela velocidade!
- Vamos ver os sites
 - Alinhamento
 - PASTA – alinha centenas de sequencias em segundos
 - Análises filogenéticas concatenadas
 - Inferência de modelos de evolução e partições
 - PartitionFinder
 - Máxima Verossimilhança: RAxML ou IQTree
 - Bayesiana: MrBayes (morfologia) ou ExaBayes (molecular)
 - Análises filogenéticas coalescentes (species trees)
 - Muitas opções que usam árvores e não sequencias (mas precisa de muitas árvores, i.e., muitos loci)
 - ASTRAL
 - Sequencias
 - BPP (rápido)
 - BEAST (lento, mas v2 melhorou bastante)
 - SVDQuartets (rápido, mas mais apropriado para SNPs)

Kit de ferramentas básico (do Fabricius)

- Moleculares (após obtenção dos dados)
 - Delimitação de espécies
 - bGMYC (um locus) ou bPTP
 - BPP (multilocus)
 - Estimativas de tempos de divergências
 - BEAST
 - Outras análises biogeográficas, filogeográficas, etc...
- Morfológicas
 - Imputação múltipla de dados faltantes (NAs)
 - Várias opções no R – depende do caso
 - Pacote MICE é bem rápido
 - Análises de aprendizado de máquina
 - Random Forest é mais flexível
 - Pacote CARET pode ser usado para explorar opções.

-
- Delimitando espécies na Zoologia
 - 1. Conceitos de espécie (Zoologia)
 - 2. Métodos coalescentes
 - 3. Utilização concomitante de dados morfológicos – taxonomia integrativa
 - 4. Kit de ferramentas para análises filogenéticas e de delimitação de espécies



Mensagens
para lembrar
são...



Espécies são
hipóteses!!!!

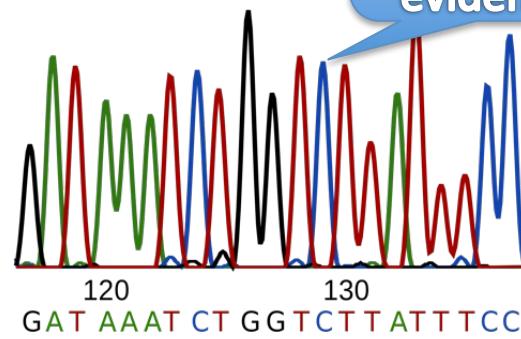


Delimitação de espécies
usando coalescência está
se tornando um novo
paradigma em taxonomia!



Taxonomia
integrativa!

Mais dados
= melhores
evidências



species A

species B

species C

Sequências de DNA na Identificação de Espécies e Análise Filogenética

Delimitando espécies na Zoologia

DÚVIDAS?
CURIOSIDADES?

Prof. Fabricius Domingos