



Corso di Zoologia. (M-Z) 2021

13. Filogenetica molecolare

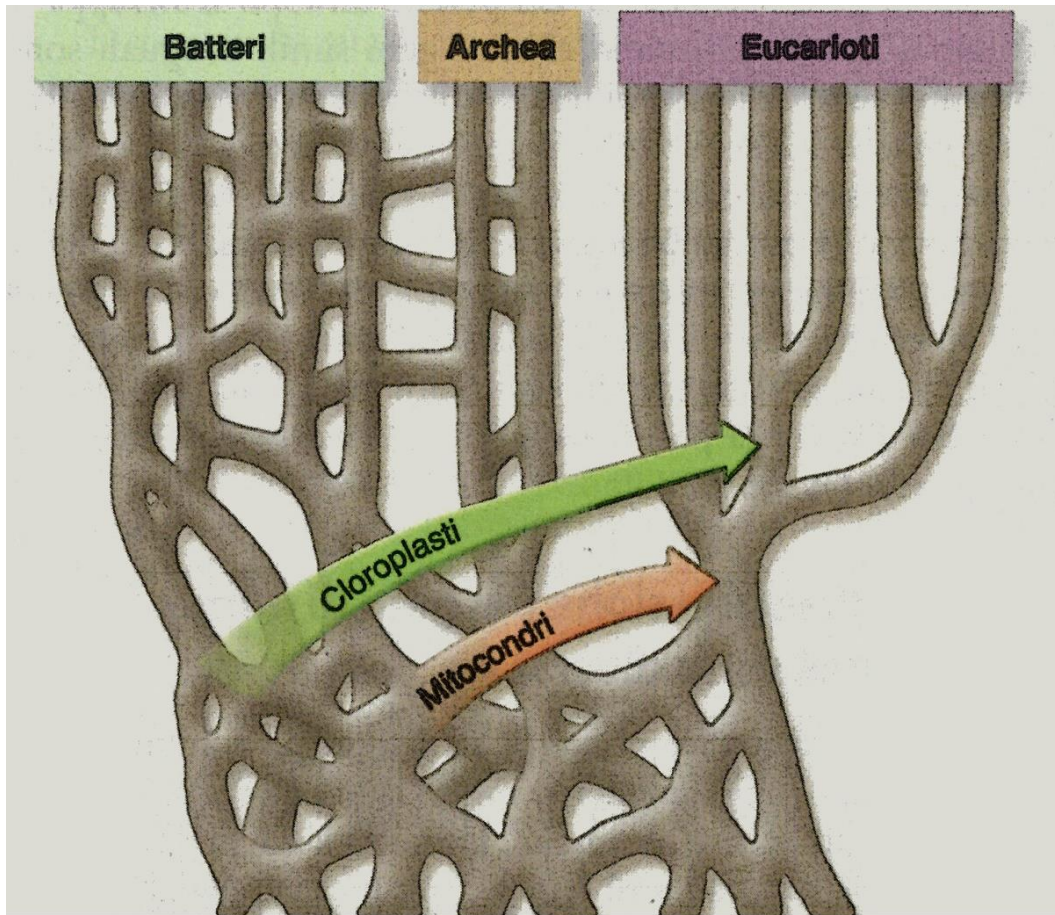


Filogenesi molecolare

Per determinare i rapporti di parentela, la **filogenesi**, tra gli organismi viventi è possibile utilizzare caratteri a livello **genetico** e **molecolare** a condizione che:

- 1.** la sequenza genica deve essere presente in tutti gli organismi di cui si vuole ricostruire la storia evolutiva;
- 2.** le sequenze considerate devono essere **omologhe** ovvero le varie copie del gene devono mostrare un livello appropriato di conservazione della sequenza tale per cui si possa postulare un'**origine comune**;
- 3.** il gene deve essere stato ereditato in tutte le specie considerate attraverso una **trasmissione verticale**.

Trasmissione orizzontale



Gli organismi viventi sono in grado di effettuare una trasmissione orizzontale dei geni per mezzo di plasmidi ed episomi. Nel passato questo è avvenuto anche attraverso eventi di **endosimbiosi**. L'albero della vita è quindi più simile a una "rete della vita". Un esempio curioso è dato da un enzima, la porfirinasi, che è stato trovato nella *Zobellia galactanivorans* e nell'intestino di alcuni volontari giapponesi. I giapponesi, al contrario dei nordamericani, sono capaci di digerire la porfira (**nori**), un'alga rossa, e di assimilarne i carboidrati. Questo può essere spiegato con un evento di trasferimento genico orizzontale tra i loro batteri intestinali e la *Zobellia* ingerita insieme alle alghe adoperate per il sushi.



RNA ribosomale

I geni che codificano per l'**RNA ribosomale** si sono dimostrati adatti per gli studi filogenetici perché:

Sono presenti in tutti gli organismi viventi per cui si prestano per creare alberi filogenetici **universali**.

Uno dei due geni (16S/18S) è abbastanza piccolo (1500/1900 nt), ma sufficientemente informativo.

L'RNA ribosomale si può isolare facilmente e si può, un po' meno facilmente, sequenziare direttamente.

Alcune regioni non possono variare facilmente e sono adatte per identificare diramazioni antiche.

Alcune regioni, invece, possono variare facilmente e sono adatte per identificare diramazioni recenti.

La presenza di regioni conservate, combinata con le recenti tecniche di amplificazione del DNA, permette approcci sperimentali rapidi ed efficaci.

In alternativa si può adoperare il **DNA mitocondriale** utile perché viene ereditato direttamente dalla sola linea materna e non va incontro a crossing-over.



Filogenesi molecolare

Le macromolecole informative (DNA, RNA e le proteine sono adatte per ricostruire gli alberi filogenetici.

CGTGGTCCTGAC

CCTAGACTTGAT

CGTAGACTTGAT

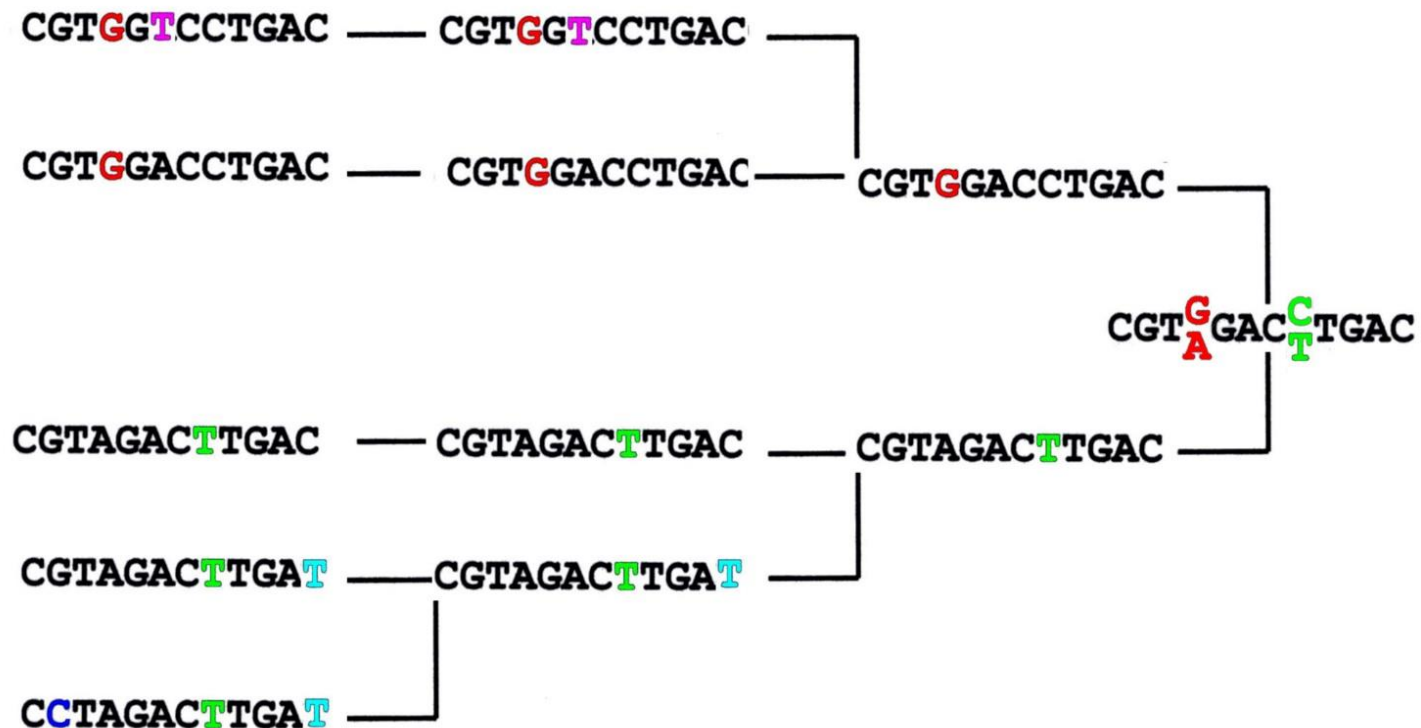
CGTAGACTTGAC

CGTGGACCTGAC



Filogenesi molecolare

Le macromolecole informative (DNA, RNA e le proteine) sono adatte per ricostruire gli alberi filogenetici.



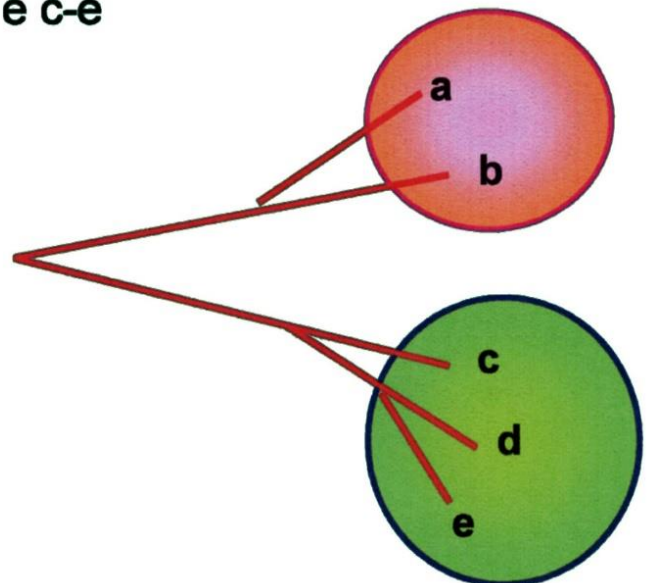
Ricostruzione della filogenesi tramite sequenze di DNA

a. CGT**GGT**CCTGAC
 b. CGT**G**GACCTGAC
 c. CGTAGACT**T**TGAC
 d. CGTAGACT**T**TGAT**T**
 e. C**C**TAGACT**T**TGAT**T**

1. a-b e c-d-e si aggregano in due gruppi
2. b è più vicina di a al gruppo c-d-e
3. nel gruppo c-d-e c è l'elemento più vicino ad a-b
4. nel gruppo c-d-e la coppia di elementi più distanti è c-e

Distanze filogenetiche

a-b	1
a-c	3
a-d	4
a-e	5
b-c	2
b-d	3
b-e	4
c-d	1
c-e	2
d-e	1



Metodo UPGMA

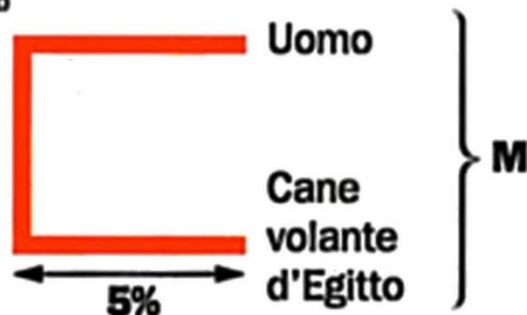
(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean.)

	Carpa comune	Uomo	Cane volante d'Egitto	Pollo
Carpa comune	0,00			
Uomo	52,11	0,00		
Cane volante d'Egitto	50,70	9,93	0,00	
Pollo	52,82	29,79	31,21	0,00

- Distanza minima:

$$d(\text{uomo}, \text{cane volante}) = 9,93 \%$$

$$\text{Radice a } 9,93/2 = 5\%$$



- $d(M, \text{carpa}) = (52,11 + 50,70)/2 = 51,40\%$
 $d(M, \text{pollo}) = (29,79 + 31,21)/2 = 30,5\%$

L'algoritmo **UPGMA** raggruppa i punti, ad esempio sequenze, in cluster (grappoli). Ogni cluster contiene un certo numero di punti e la distanza tra due cluster si definisce come la media delle distanze tra i loro punti. Qui le **matrici di distanza** sono ricavate dalle sequenze allineate di un tratto dell'emoglobina α . I punti sono le percentuali di amminoacidi differenti tra le specie. All'inizio ogni cluster è costituito da un punto;

- 1) si trovano i due cluster più vicini (uomo e cane volante);
- 2) si raggruppano i due cluster in un nuovo cluster (M);
- 3) si calcolano le distanze (medie) tra il nuovo cluster e gli altri cluster;

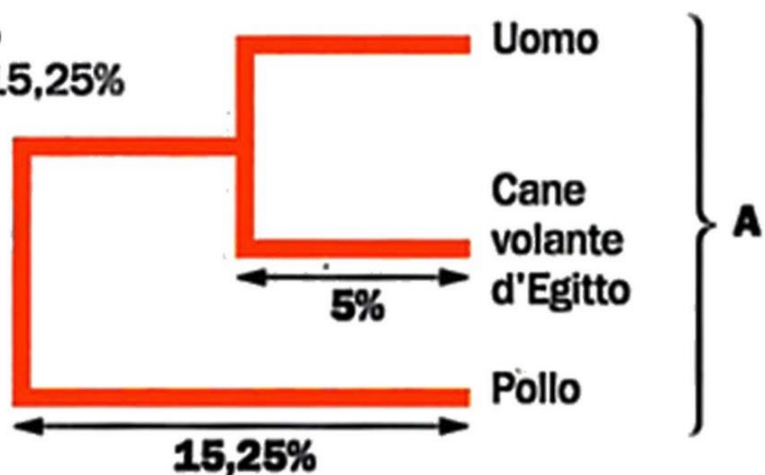
Metodo UPGMA

(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean.)

- $d(M, \text{carpa}) = (52,11 + 50,70)/2 = 51,40\%$
 $d(M, \text{pollo}) = (29,79 + 31,21)/2 = 30,5\%$

	M	Carpa	Pollo
M	0,00		
Carpa	51,4	0,00	
Pollo	30,5	52,82	0,00

- Distanza minima:
 $d(M, \text{pollo}) = 30,5\%$
Radice a $30,5/2 = 15,25\%$



- $d(A, \text{carpa}) = (52,82 + 51,4)/2 = 52,11\%$

4) si ripete la procedura con un cluster in meno perché due cluster sono stati raggruppati in uno solo (M);



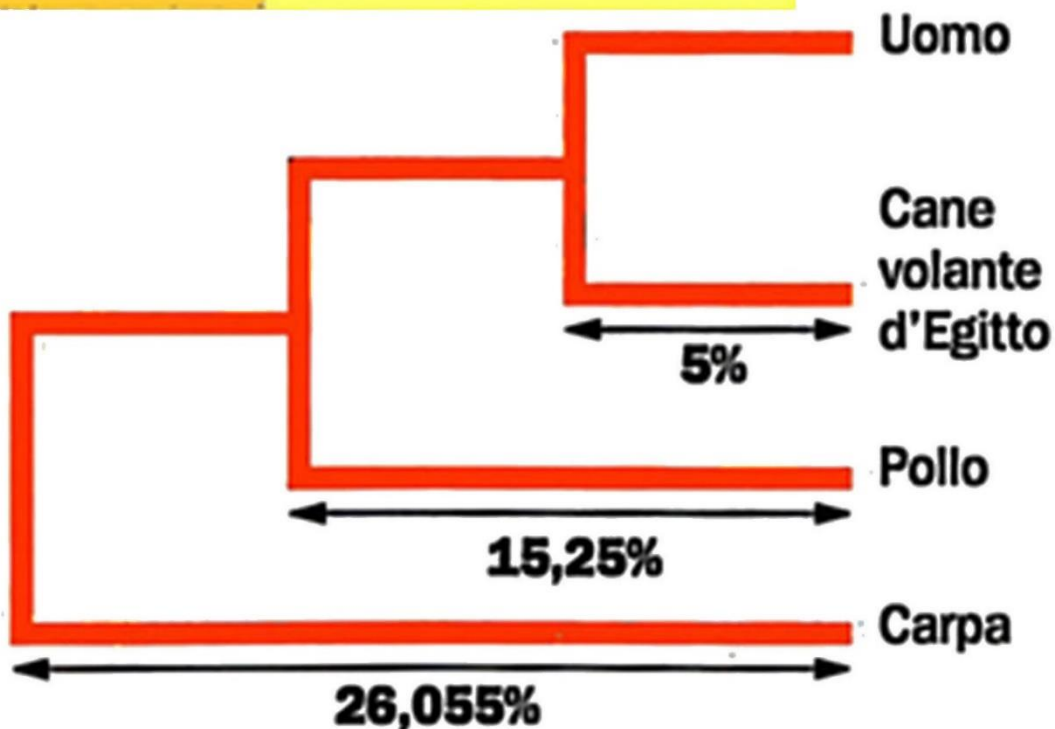
Metodo UPGMA

(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean.)

- $d(A, \text{carpa}) = (52,82 + 51,4)/2 = 52,11\%$

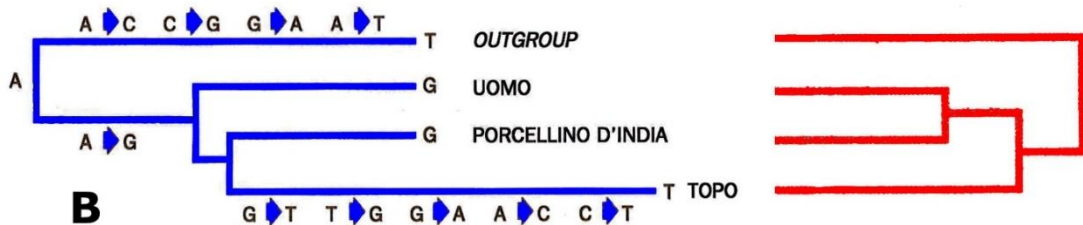
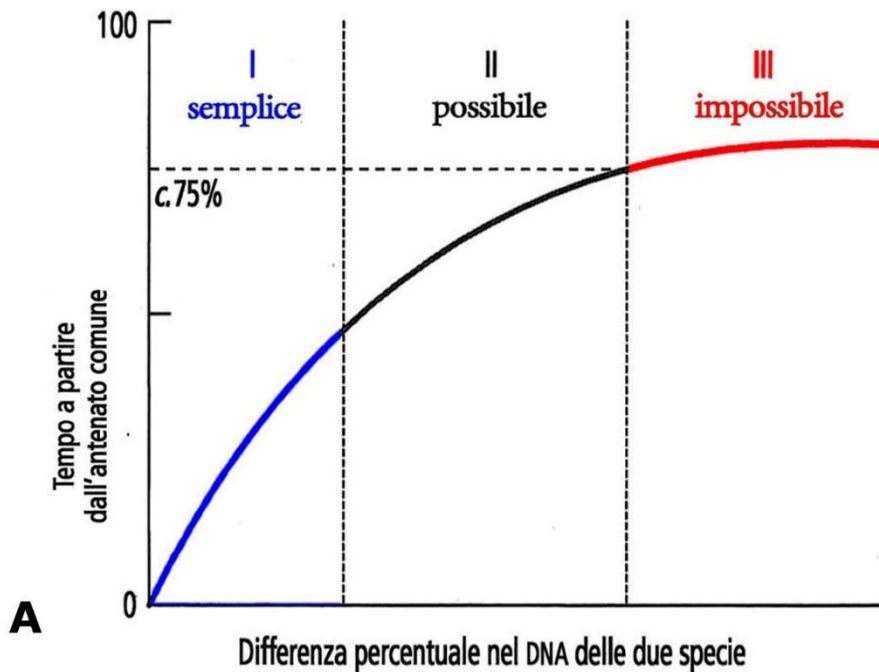
Radice a $52,11/2 = 26,055\%$

	A	Carpa
A	0,00	
Carpa	52,11	0,00



5) il procedimento termina quando si rimane con un solo cluster. In realtà UPGMA si basa su alcune ipotesi che raramente vengono soddisfatte. Una è che il **tasso di evoluzione** sia costante, cioè che le sequenze evolvano alla stessa velocità, il che di norma è falso.

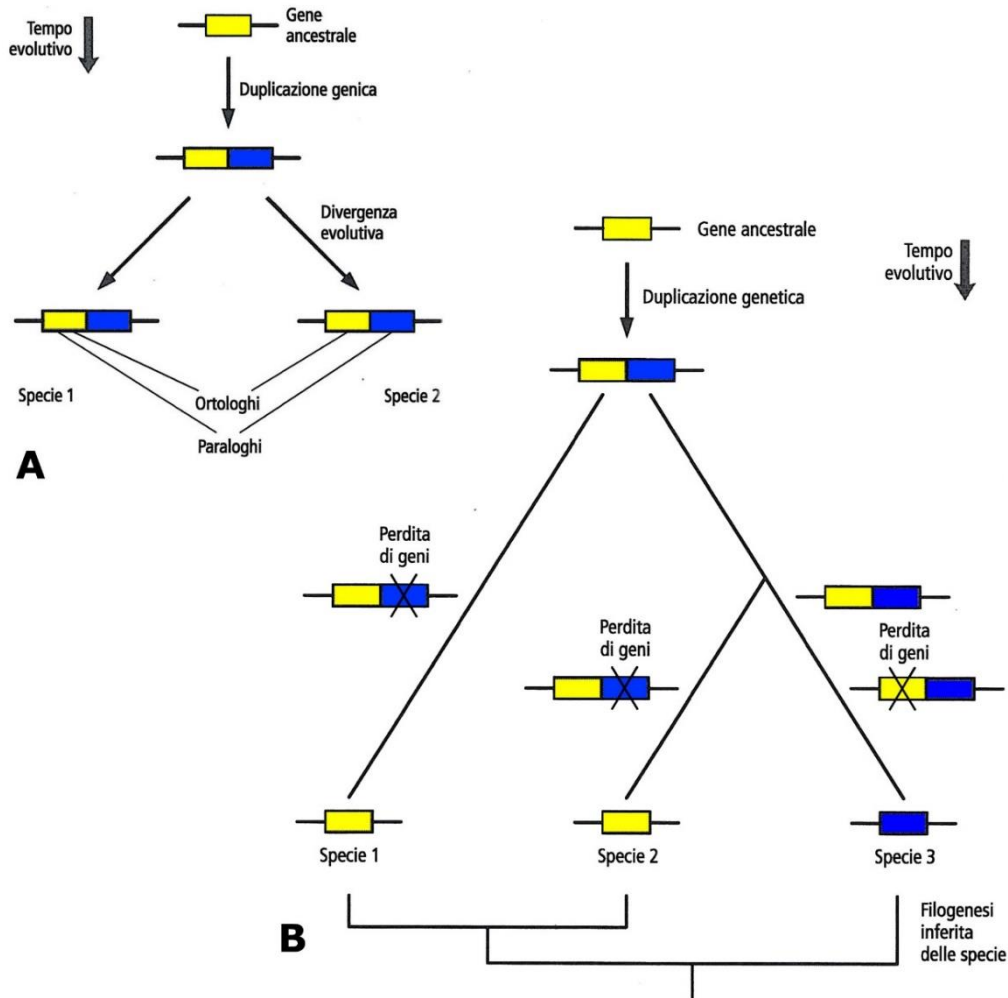
Inferenza molecolare della filogenesi



(A) Se 2 specie evolvono separatamente, inizialmente ogni cambiamento evolutivo aumenta la loro differenza genetica. Dopo un po' di tempo però, potrebbe verificarsi un cambiamento in un sito dove ne era già avvenuto uno, il che non aumenterà la differenza tra le due specie. Alla fine ulteriori variazioni non comporteranno un effetto visibile. Per 4 basi nucleotidiche, in media, questo capiterà in corrispondenza di una differenza del 75% tra le sequenze. Nella regione I l'inferenza molecolare della filogenesi è relativamente semplice, nella II è possibile, ma richiede correzioni, nella III è impossibile. **Quando due specie sono molto diverse l'inferenza molecolare della filogenesi è impossibile.**

(B) Un artefatto frequente è la cosiddetta **attrazione dei rami lunghi**. A sinistra la sequenza reale degli eventi, a destra la sua ricostruzione. L'outgroup ha accumulato nel corso del tempo molte mutazioni rispetto alle tre specie considerate. Se nel topo un gene x accelera il suo tasso di mutazione può capitare che, per convergenza, molti nucleotidi di questi e dell'outgroup risultino identici, inducendoci a ritenere che i roditori siano parafiletici. Di fatto outgroup e topo sembrano simili solo perché hanno accumulato tante mutazioni. **Quando le specie evolvono a velocità diverse l'inferenza molecolare della filogenesi è difficile.** In pratica dobbiamo scegliere molecole che, nel corso dell'evoluzione, si siano allontanate della «giusta» misura.

Geni ortologhi e paraloghi



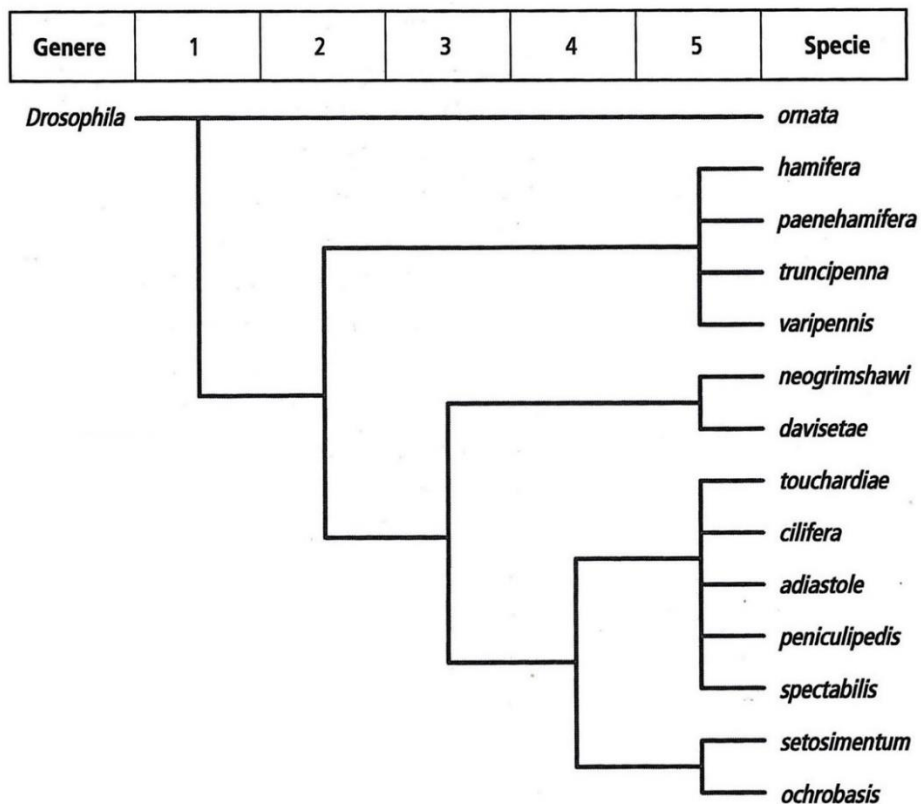
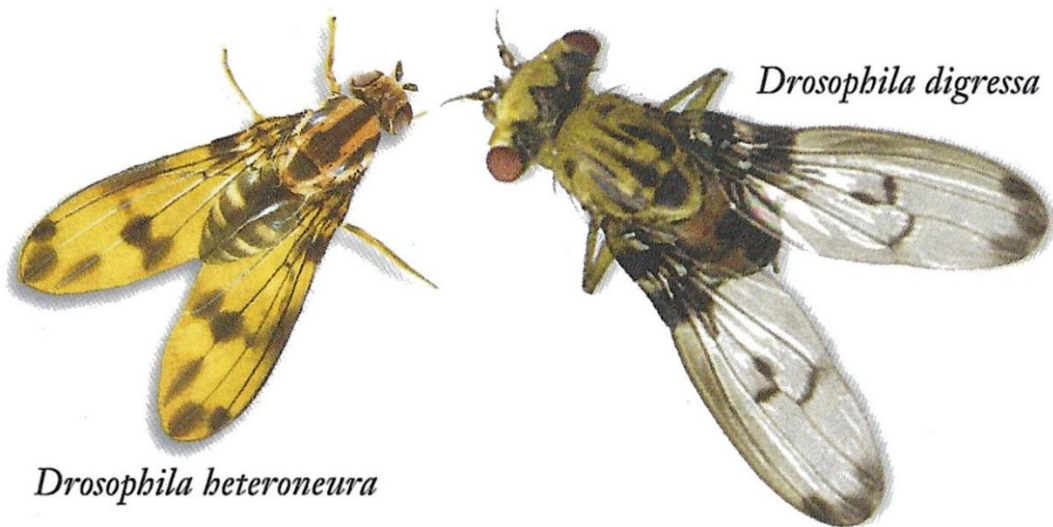
(A) Fra i geni esistono **omologie ortologhe** e **paraloghe**. Sia i **geni ortologhi** che i **geni paraloghi** derivano un unico **gene ancestrale**. I primi si riscontrano in organismi correlati tra di loro; i geni si sono separati in seguito a un processo di **speciazione**, e non di **duplicazione**, e continuano a codificare per proteine con strutture e funzioni simili. I secondi, invece, si sono duplicati nello stesso organismo e, con il tempo, finiscono per codificare per prodotti differenti. Si assume che gli ortologhi rimangano più simili, tra di loro, rispetto ai paraloghi. Nell'immagine un gene si è duplicato nel passato e le due copie sono state trasmesse alle specie 1 e 2. I geni che discendono dalla stessa copia sono ortologhi (stesso colore), quelli che discendono da copie diverse sono paraloghi (colore diverso). **(B)** La presenza di geni paraloghi può indurre in errore. In questo caso nelle diverse linee filetiche alcune copie dei geni sono andate perdute. I geni presenti nelle specie 1 e 2 sono ortologhi, e quindi più simili rispetto al gene paralogo presente nella specie 3, ma l'**albero filogenetico dei geni** non corrisponde a quello **delle specie**. Questo problema si osserva più spesso nei vertebrati, caratterizzati da numerose duplicazioni, mentre negli invertebrati, di norma, i geni uguali sono omologhi perché non sono duplicati.

3. Definizione delle serie gerarchiche

Linneo	Hennig
<i>Dominio</i>	
<i>Regno</i>	1 Entognatha
Phylum	2 Ectognatha
<i>Subphylum</i>	2.1 Archaeognatha
<i>Superclasse</i>	2.2 Dicondylia
Classe	2.2.1 Zygentoma
<i>Sottoclasse</i>	2.2.2 Pterygota
<i>Coorte</i>	2.2.2.1 Palaeoptera
<i>Superordine</i>	2.2.2.1.1 Ephemeroptera (mayflies)
Ordine	2.2.2.1.2 Odonata (dragonflies)
<i>Sottordine</i>	2.2.2.2 Neoptera
<i>Superfamiglia</i>	2.2.2.2.1 Plecoptera (stoneflies)
Famiglia	↓
<i>Sottofamiglia</i>	2.2.2.2.3.2.2.2 Hemiptera
<i>Tribù</i>	2.2.2.2.3.2.2.2.1 Heteropteroidea
Genere	2.2.2.2.3.2.2.2.1.1 Coleorrhyncha
<i>Sottogenere</i>	2.2.2.2.3.2.2.2.1.2 Heteroptera (bugs)
Specie	
<i>Sottospecie</i>	

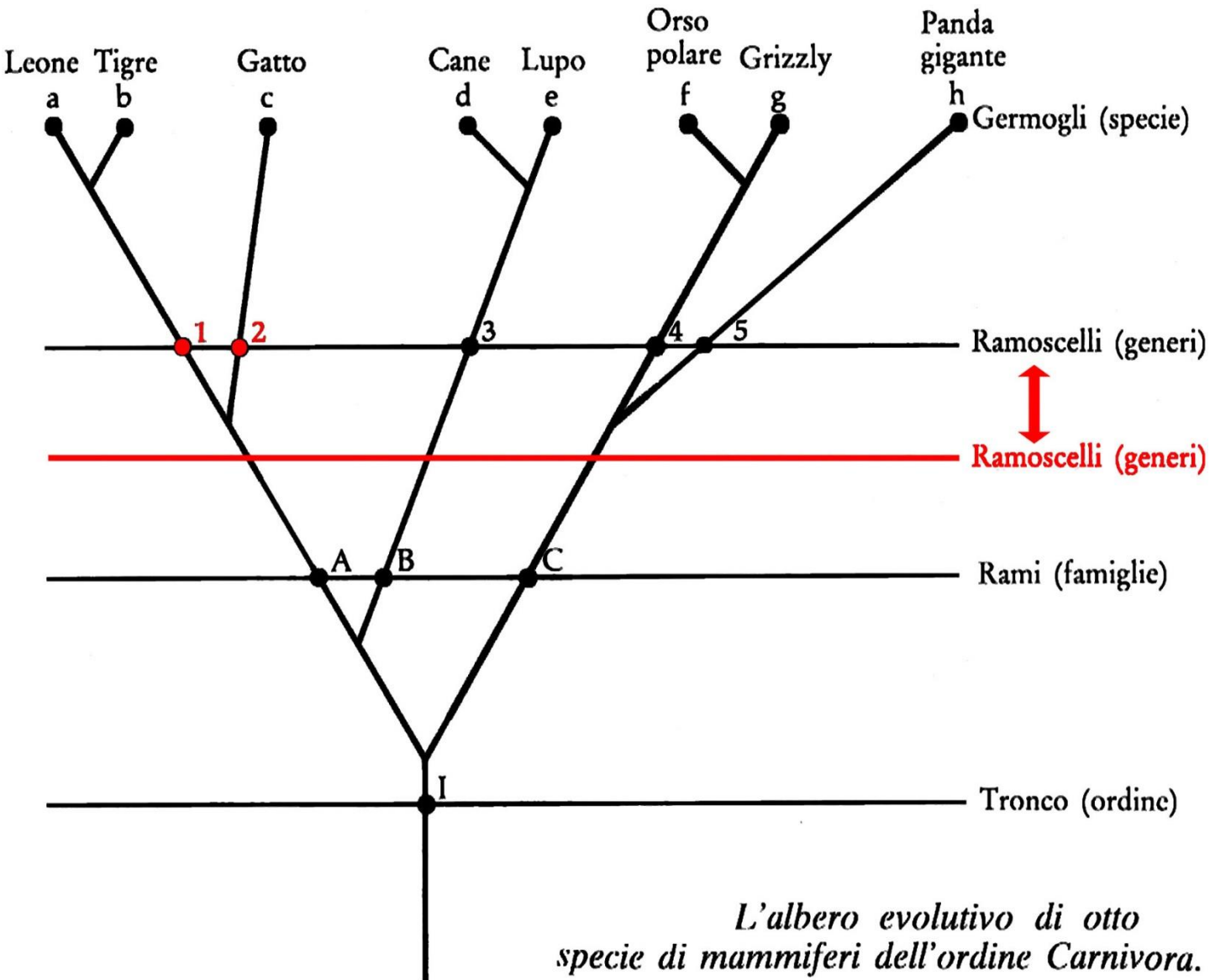
Linneo è il padre della sistematica moderna mentre Hennig è il padre della cladistica. Nel 1981 lo stato delle conoscenze filogenetiche sugli insetti è talmente avanzato che a Hennig, un entomologo, non risulta possibile "comprimerlo" nelle 7 categorie sistematiche proposte da Linneo, né bastano le categorie aggiunte in seguito dai suoi epigoni. Per questo Hennig alla fine ripiega su serie di numeri per identificare le categorie sistematiche riconosciute. Il problema diviene memorizzarle!

Drosophile hawaiane



Il problema di individuare un numero di categorie sistematiche adeguato a soddisfare le esigenze della cladistica rimane sostanzialmente irrisolto. Le 103 specie di drosofile hawaiane sono estremamente variabili per l'aspetto, ma non sono che una piccola frazione delle drosofile mondiali. Tuttavia quello che sappiamo sulla filogenesi di queste sole 14 specie, pur con diversi nodi ancora irrisolti, si notino i due nodi non dicotomici, richiederebbe almeno 5 nuovi livelli compresi tra la specie e il genere.

Categorie sistematiche



Assegnare un rango nella gerarchia sistematica è sempre soggettivo. Ad esempio potremmo chiamare sottogeneri i ramoscelli e generi i rami. Oppure, come nella figura, riconoscere 3 o 5 generi diversi. L'esempio è realistico. Un tempo (linea rossa) leoni e tigri erano ascritti al genere *Felis* (2), come i gatti; oggi (linea nera) sono nel genere *Panthera* (1). Le categorie sistematiche di differenti taxa non sono quindi equivalenti. Le classi dei nematodi, non corrispondono alle classi dei vertebrati. Ai gruppi gerarchici superiori a quello di specie non corrispondono entità naturali.



4. Nomenclatura binomiale

Il nome della specie è definito da due termini in latino di cui il primo, maiuscolo, indica il **nome generico**, mentre il secondo, minuscolo, indica il **nome specifico**, o **epiteto**; il nome va scritto *in corsivo*.

Bubo bubo, Linnaeus, 1758 gufo reale

Bufo bufo, Linnaeus, 1758 rospo comune

Bubalus bubalis, Linnaeus, 1758 bufalo indiano

Badate che entrambi i termini sono necessari. La nostra specie non è *homo*, ma *Homo sapiens*. Entrambi i termini possono avere un valore descrittivo e possono riferirsi a caratteri fisiologici, morfologici, cromatici, geografici, al nome dello scopritore o di un suo mentore, o ad altro.

Escherichia Theodor Escherich

Bacillus bastoncello

melanoleuca bianco e nero

cuniculus galleria

maritimus marino

sapiens sapiente

troglodytes cavernicolo

La denominazione ufficiale è completata dal nome dell'autore che per primo ha descritto la specie e dall'anno della descrizione.

Canis lupus, Linnaeus, 1758

Bufo viridis, Laurenti, 1768



Nomi comuni o vernacoli

Titolo	Titolo originale	Autore	Genere	Nazionalità autore	1ª ed. originale
Avventure di Huckleberry Finn Le	Adventures of Huckleberry Finn The	Twain M	Ragazzi.	Statunitense	1884
Avventure di Tom Bombadil Le	Adventures of Tom Bombadil The	Tolkien JRR	Fantasy.	Britannico	1962
Avventure di Tom Sawyer Le	Adventures of Tom Sawyer The	Twain M	Ragazzi.	Statunitense	1876
Avventure di Pinocchio Le	Avventure di Pinocchio Le	Collodi C	Ragazzi, fantastico.	Italiano	1881
Avventure di Ettore Servadac Le	Hector Servadac	Verne J	Romanzo fantastico.	Francese	1877
Hobbit o la riconquista del tesoro Lo	Hobbit or There and Back Again The	Tolkien JRR	Fantasy.	Britannico	1937
Isola misteriosa L'	Île mystérieuse L'	Verne J	Avventura, fantascienza.	Francese	1875
Isola di Arturo L'	Isola di Arturo L'	Morante E	Romanzo.	Italiano	1957
Avventure di Jim Bottone Le	Jim Knopf und Lukas der Lokomotivführer	Ende M	Fantasy, ragazzi.	Tedesco	1960
Signore delle mosche II	Lord of the Flies	Golding W	Romanzo.	Britannico	1954
Signore degli anelli II	Lord of the Rings The	Tolkien JRR	Fantasy.	Britannico	1955
Signore di Ballantrae II	Master of Ballantrae The	Stevenson RL	Avventura, storico.	Britannico	1888
Momo	Momo	Ende M	Romanzo.	Tedesco	1973
Ragazzi della via Pál I	Pál utcai fiúk A	Molnár F	Ragazzi.	Ungherese	1907
Ragazzi di vita	Ragazzi di vita	Pasolini PP	Romanzo.	Italiano	1955
Silmarillion II	Silmarillion The	Tolkien JRR	Fantasy, mitopoiesi, epico.	Britannico	1977
Storia della Colonna Infame.	Storia della Colonna Infame.	Manzoni A	Storico, saggio.	Italiano	1840
Storia di una capinera	Storia di una capinera	Verga G	Epistolare.	Italiano	1871
Isola del tesoro L'	Treasure Island	Stevenson RL	Avventura.	Britannico	1883
Storia infinita La	Unendliche Geschichte Die	Ende M	Fantasy	Tedesco	1979
Vita dei campi	Vita dei campi	Verga G	Raccolta di novelle.	Italiano	1880
Vita violenta Una	Vita violenta Una	Pasolini PP	Romanzo.	Italiano	1959
Avventure del capitano Hatteras Le	Voyages at aventures du capitaine Hatteras	Verne J	Avventura.	Francese	1864

Classificazione oggettiva, ma artificiale

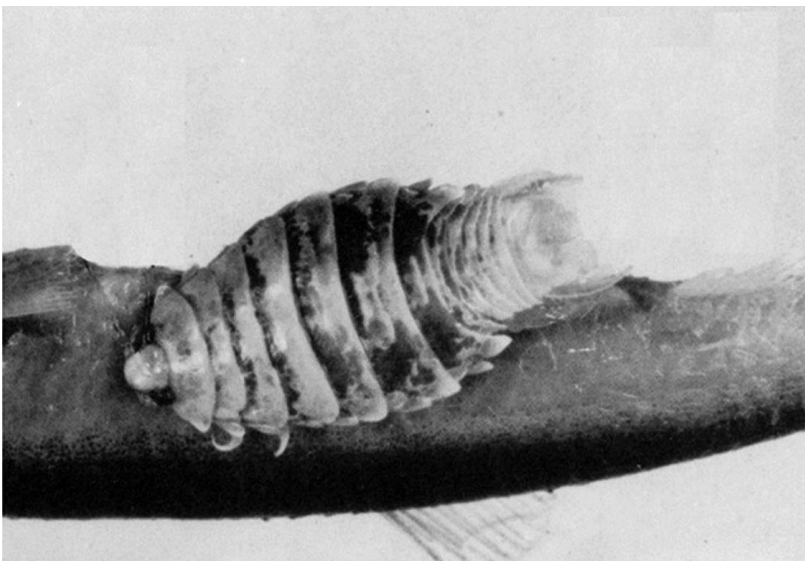
Ordinare in ordine alfabetico in base al titolo in lingua originale, consente a bibliotecari diversi di riporre lo stesso libro nella medesima posizione.

Osservazioni

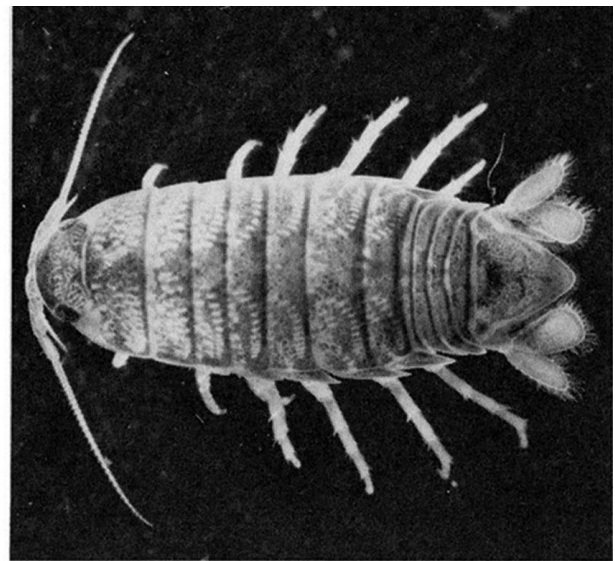
Le **avventure** in inglese e italiano finiscono ancora vicine, ma non quelle in altre lingue, a parte una per caso. I **signori** finiscono vicini, ma solo per caso. Paradossalmente l'edizione originale e quella tradotta dello stesso libro finirebbero in scaffali differenti. Per questo la nomenclatura scientifica non utilizza i nomi comuni nelle diverse lingue degli scienziati.

Nomenclatura curiosa.

Vi sono alcuni nomi di animali alquanto curiosi, come, ad esempio, *Agratation* (in italiano Secca tura); Erwin ebbe parecchie difficoltà per collezionare questo coleottero tropicale. Leach, un naturalista del XIX secolo, inventò di sana pianta i nomi di numerosi generi di crostacei isopodi, utilizzando anagrammi di Carolina (o Caroline); rimane ignoto il rapporto tra Leach e Carolina. Tra questi *Anilocra*, *Cirolana*, *Lanocira*, *Rocinela*, *Nerocila*, *Conilera*, *Olincera* e altri.



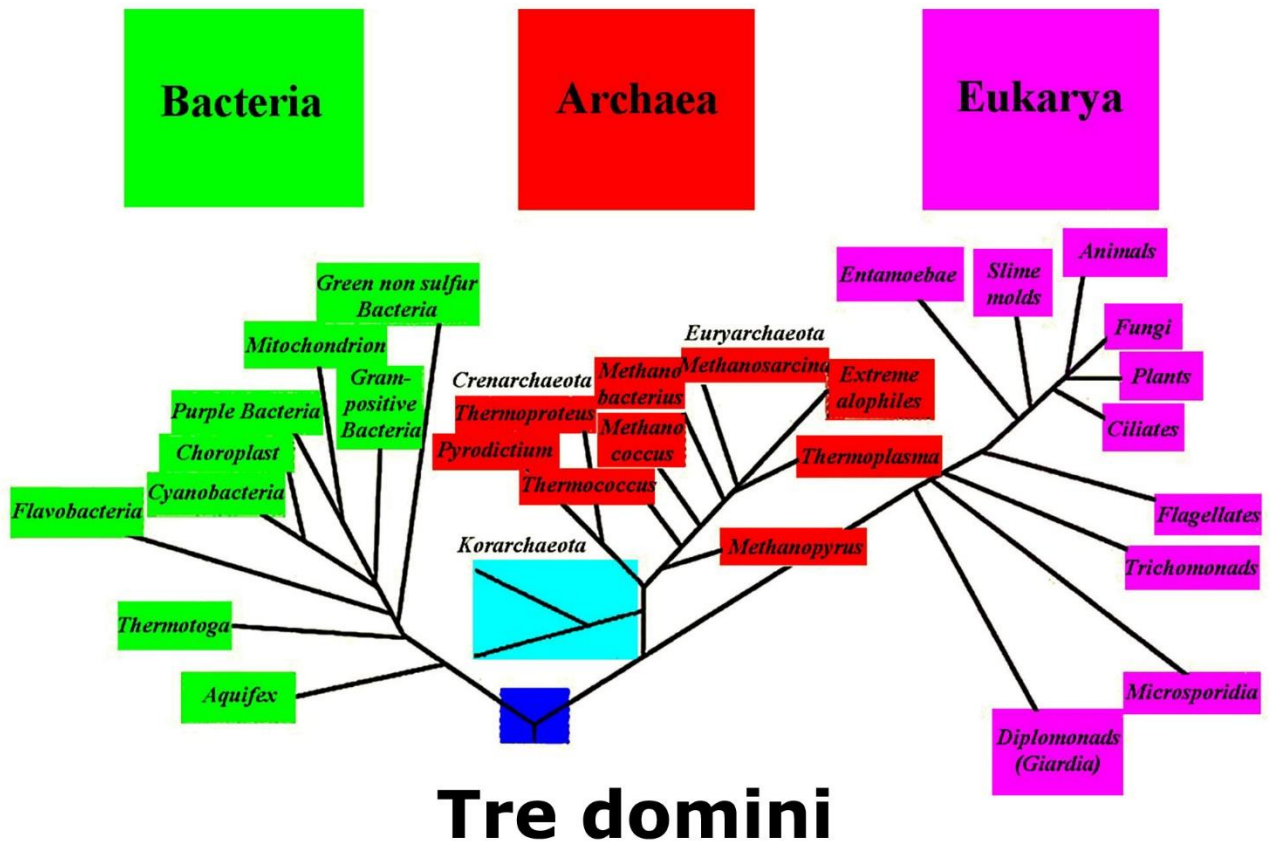
***Anilocra physodes* (zecca dei pesci)**



Cirolana harfordi

L'entomologo Kirkaldy ha creato diversi generi di emitteri *Pollychisme* ("Polly baciarmi"), *Ochisme*, *Dolichisme*, *Florichisme*, *Marichisme*, *Nanichisme*, *Peggichisme*, beccandosi per questo una reprimenda dalla London Zoological Society nel 1912, mentre, più di recente, Evenhuis ha chiamato due mosche fossili *Carmenelectra shechisme* e *Carmenelectra shehuggme*. Non mancano nemmeno casi di ingiurie nascoste all'interno di nomi conati per l'occasione: Marsh gratificò il suo rivale Cope inventandosi il *Mosasaurus copeanus*. Molti binomi sono composti addirittura da più di 30 lettere, come ad esempio, quello del comune riccio di mare *Strongylocentrotus droebachiensis* (31 lettere). I crostacei anfipodi sembrano essere i più popolari nella categoria del «nome più lungo». *Polichinellobizarrocomic burlescomagicaraneus* (44 lettere) e *Siemienkiewiczechinogammarus siemienkiewitschii* (46 lettere). Lo sparuto cespuglio *Eriophyllum (Eriophyllum) staechadifolium artemisiaefolium*, il chaparral, ha ben 53 lettere tra sottogenere e sottospecie. E per finire con alcuni dei più fantasiosi, *Abra cadabra*, un mollusco, *Lycodryas cococola* un serpente, e il batterio *Midichloria mitochondrii* del nostro collega il Prof. Bandi!

Storia delle classificazioni

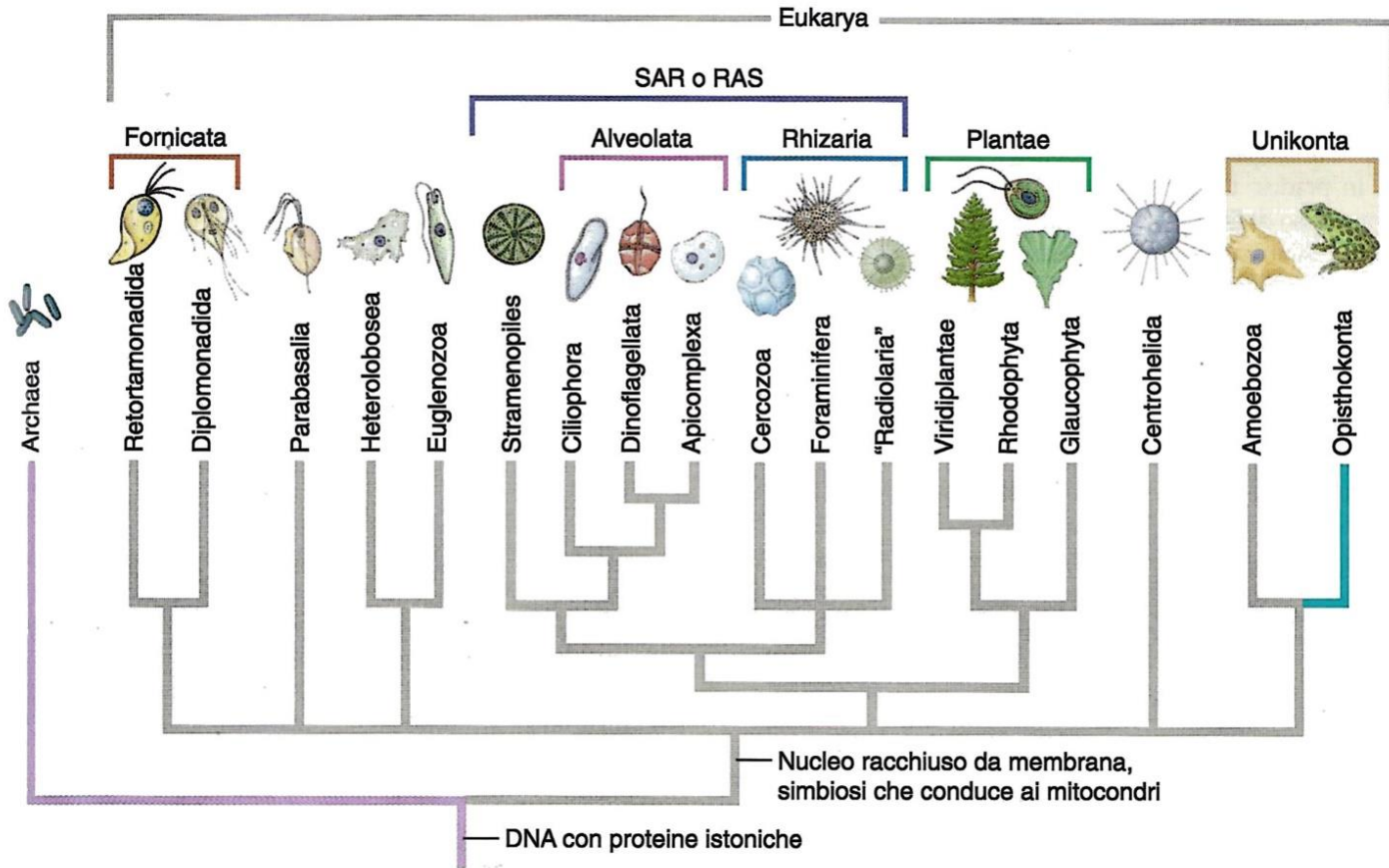


Linnaeus 1735	Haeckel 1866	Chatton 1925	Copeland 1938	Whittaker 1969	Woese et al. 1977	Woese et al. 1990	Cavalier-Smith 1993	Cavalier-Smith 1998	Ruggiero et al. 2015
2 kingdoms	3 kingdoms	2 empires	4 kingdoms	5 kingdoms	6 kingdoms	3 domains	8 kingdoms	6 kingdoms	7 kingdoms
		Prokaryota	Monera	Monera	Eubacteria	Bacteria	Eubacteria	Bacteria	Bacteria
					Archaeobacteria	Archaea	Archaeobacteria		Archaea
(not treated)	Protista		Protista	Protista	Protista		Archezoa	Protozoa	Protozoa
							Protozoa		
							Chromista	Chromista	Chromista
Vegetabilia	Plantae	Eukaryota	Plantae	Plantae	Plantae	Eucarya	Plantae	Plantae	Plantae
Animalia	Animalia		Fungi	Fungi	Fungi		Fungi	Fungi	Fungi
			Animalia	Animalia	Animalia		Animalia	Animalia	Animalia

L'albero filogenetico a tre domini di Woese mostrato in alto è stato ottenuto sulla base dell'analisi di RNA ribosomale. Nessuna delle classificazioni proposte è accettabile dal punto di vista cladistico. La classificazione in 5 regni, ad esempio, comprende due taxa, le monere e i protisti, parafiletici. Forse il taxon meno noto tra i citati sono i Chromista (stramenopili, aptofite e alveolati) caratterizzati da un cloroplasto circondato da 4 membrane, che si ritiene derivare da una endosimbiosi secondaria di un eucariote e un'alga rossa unicellulare.



Filogenesi degli eucarioti



Cladogramma semplificato degli eucarioti. Gran parte dei taxa tradizionali non sono accettabili dal punto di vista cladistico. I **protozoi** sono infatti parafiletici, mentre le **protofite** sono polifiletiche perché derivano da un progenitore eterotrofo che possedeva i mitocondri, ma era privo di cloroplasti; le «**amebe**» sono polifiletiche e i **flagellati** parafiletici.

Infine è bene spiegare alcuni termini molto usati. Due taxa derivanti da un comune progenitore sono chiamati **gruppi fratelli** o, in inglese, **sister taxa** o **sister groups** o **adelphotaxon**. Attenzione a non confonderli con le **specie gemelle**, o **criptospecie**, in inglese **sibling species**, due specie, isolate dal punto di vista riproduttivo, ma indistinguibili dal punto di vista morfologico. La confusione nasce dal fatto che talvolta le «sister species» vengono tradotte come **specie sorelle**. Tanto per fare degli esempi in questo cladogramma gli eterolobosi sono il sister group degli euglenozoi, le stramenopili il sister group degli alveolati (che qui include tre taxa diversi) e gli amebozoi sono il sister group degli opistoconti.