

DNA BARCODING OF THE REPTILES OF THE SOCOTRA ARCHIPELAGO

Santiago Montero Mendieta



Montero-Mendieta S., Vasconcelos R., Simó-
Riudalbas M., Sindaco R., Santos X., Fasola
M., Razzetti E., Llorente, GA. & Carranza S.

Introducción

- Conocer y distinguir ciertas especies es algo crucial para las necesidades humanas y el bienestar social.
- Actualmente, desconocemos el número total de especies.
- La taxonomía clásica es lenta y problemática.



Ejemplo: Especies crípticas **no** pueden ser identificadas.

Solución: **DNA barcoding**



Descritas: 1.9 millones

Estimadas: de 2 a 100 millones

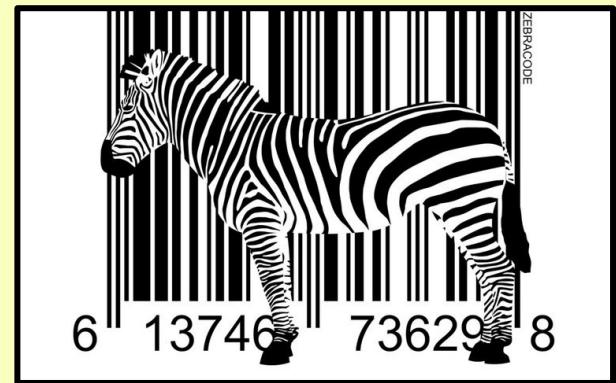


Introducción

¿Qué es el DNA barcoding?

- Método taxonómico moderno que se basa en el uso de una única región genómica corta y estandarizada.
- Con suficiente variabilidad para discriminar especies.
- Resuelve los problemas de la taxonomía morfológica.

En animales: región de 648-pb del gen mitocondrial citocromo c oxidasa I (COI).



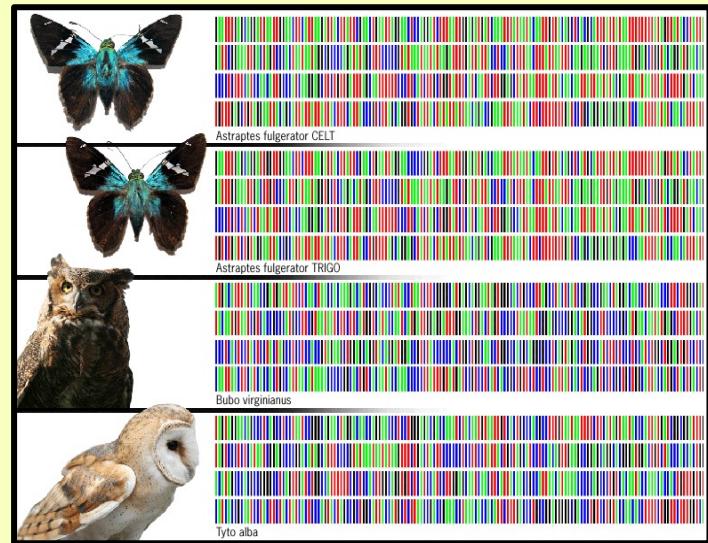
Finalidad del DNA barcoding

*Identificación de
especímenes*

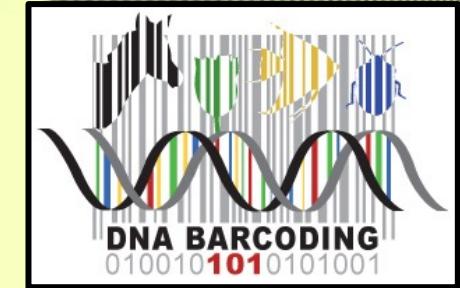
1

*Descubrimiento
de especies*

2



Introducción



Identificación
de especies
automatizada

Control del comercio
ilegal de especies

Gestión y
conservación de la
biodiversidad

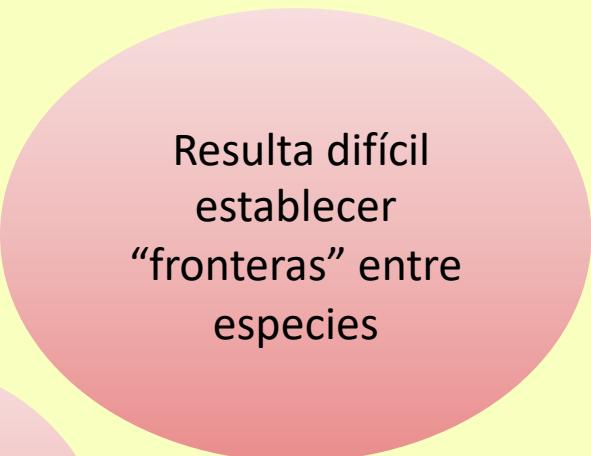
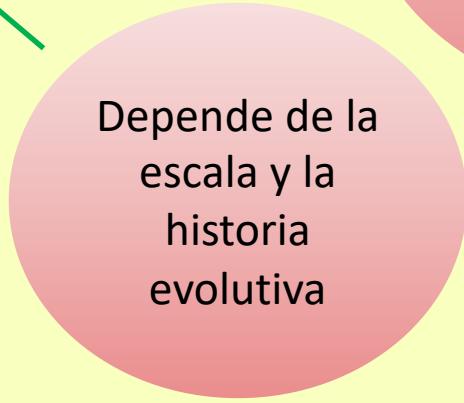
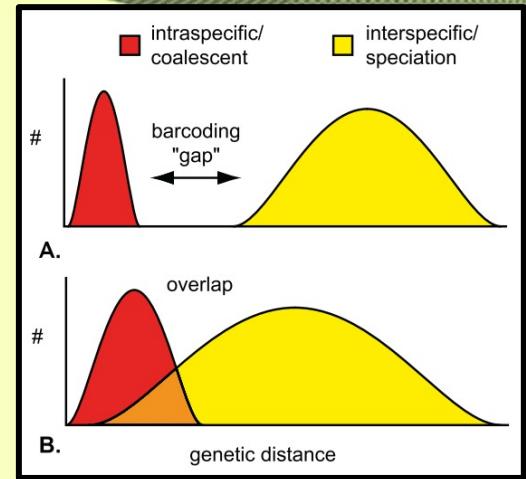
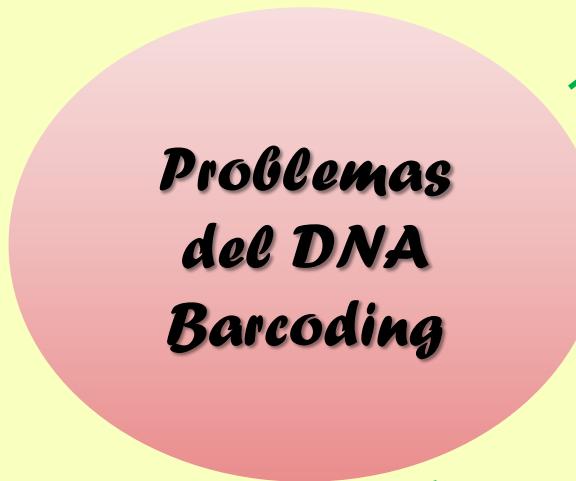
***Importancia
del DNA
Barcoding***

\$ \$ \$ \$

Investigación
Genómica

Investigación
en Ecología

Introducción



Amplificación del gen COI no es fácil en algunos grupos taxonómicos

Objetivos

1. Generar una librería de referencia de DNA para todos los reptiles del archipiélago de Socotra.
2. Probar cómo de efectiva es esta librería de DNA para la futura identificación de especímenes.
3. Explorar la posible diversidad críptica a través de los DNA barcodes.

Material y métodos

➤ ZONA DE ESTUDIO



El Archipiélago de Socotra

“ ... *La joya del Mar Arábigo* ”

“ ... *Las Galápagos del Océano Índico* ”

“ ... *El lugar más extraterrestre de la Tierra* ”

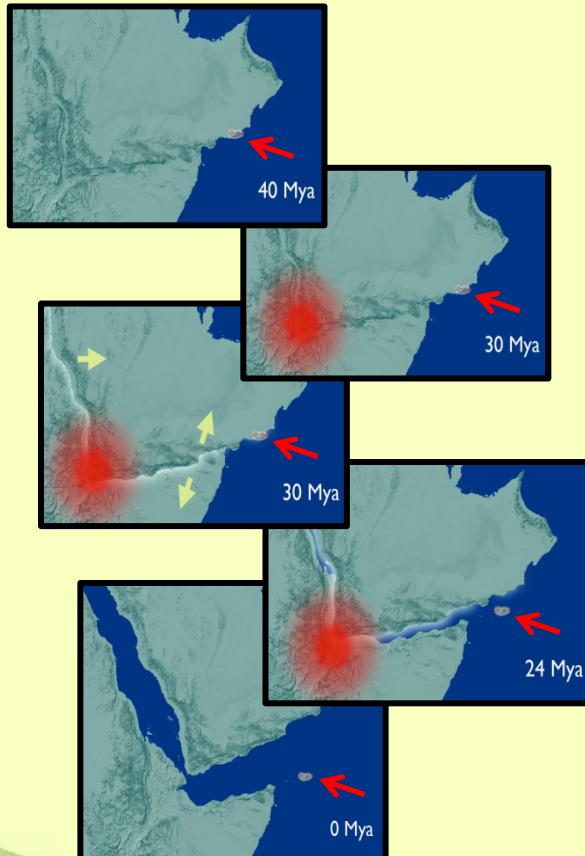
“ ... *Uno de los lugares más aislados del planeta* ”



Material y métodos

➤ ZONA DE ESTUDIO

El Archipiélago de Socotra



- **Origen continental:** Archipiélago de Socotra adyacente a la región de Dhofar (Omán).
- ≈ 30–17.6 Ma: el archipiélago de Socotra se separa del continente arábigo.

Material y métodos

➤ ZONA DE ESTUDIO



El Archipiélago de Socotra

- Gran diversidad paisajística y de hábitats
- Gran diversidad de estrategias biológicas
- Patrimonio de la Humanidad (UNESCO, 2008)

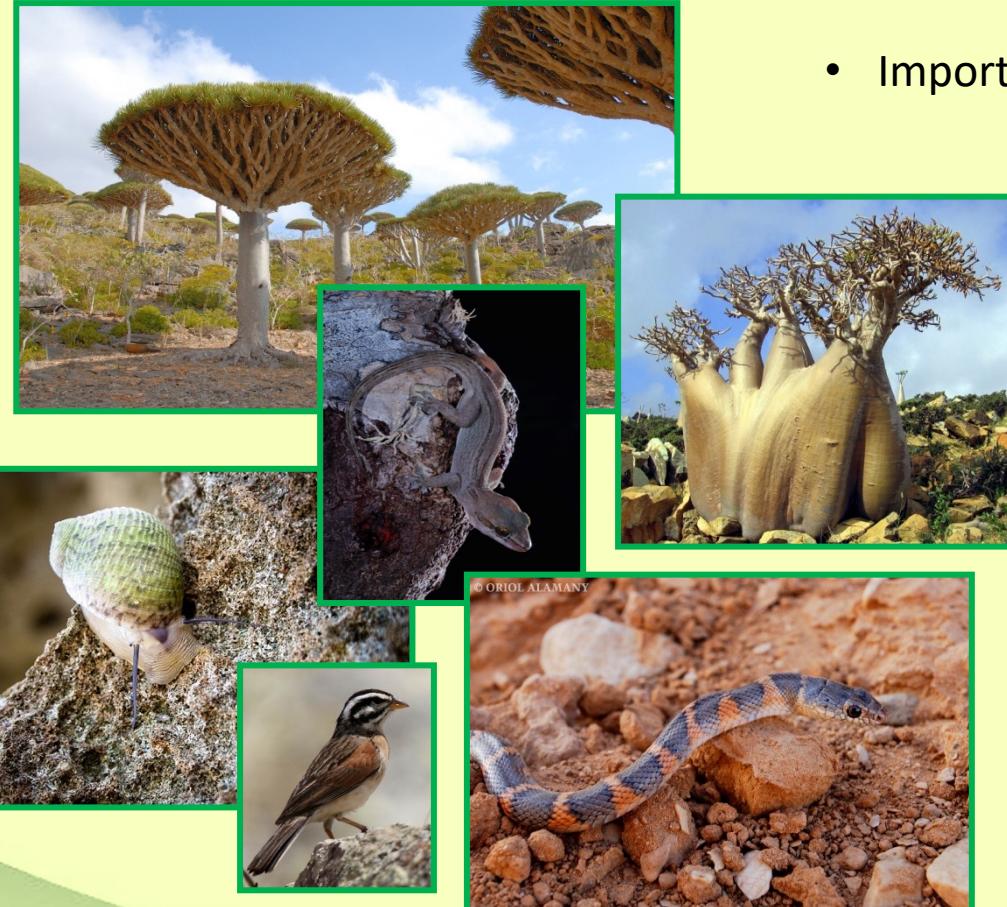


Material y métodos

➤ ZONA DE ESTUDIO

El Archipiélago de Socotra

- Importancia del DNA barcoding en Socotra



Alto endemismo a nivel de especie:

- 37% de 825 especies de plantas
- 95% de 100 especies de caracoles
- 94% especies de reptiles (29/31)

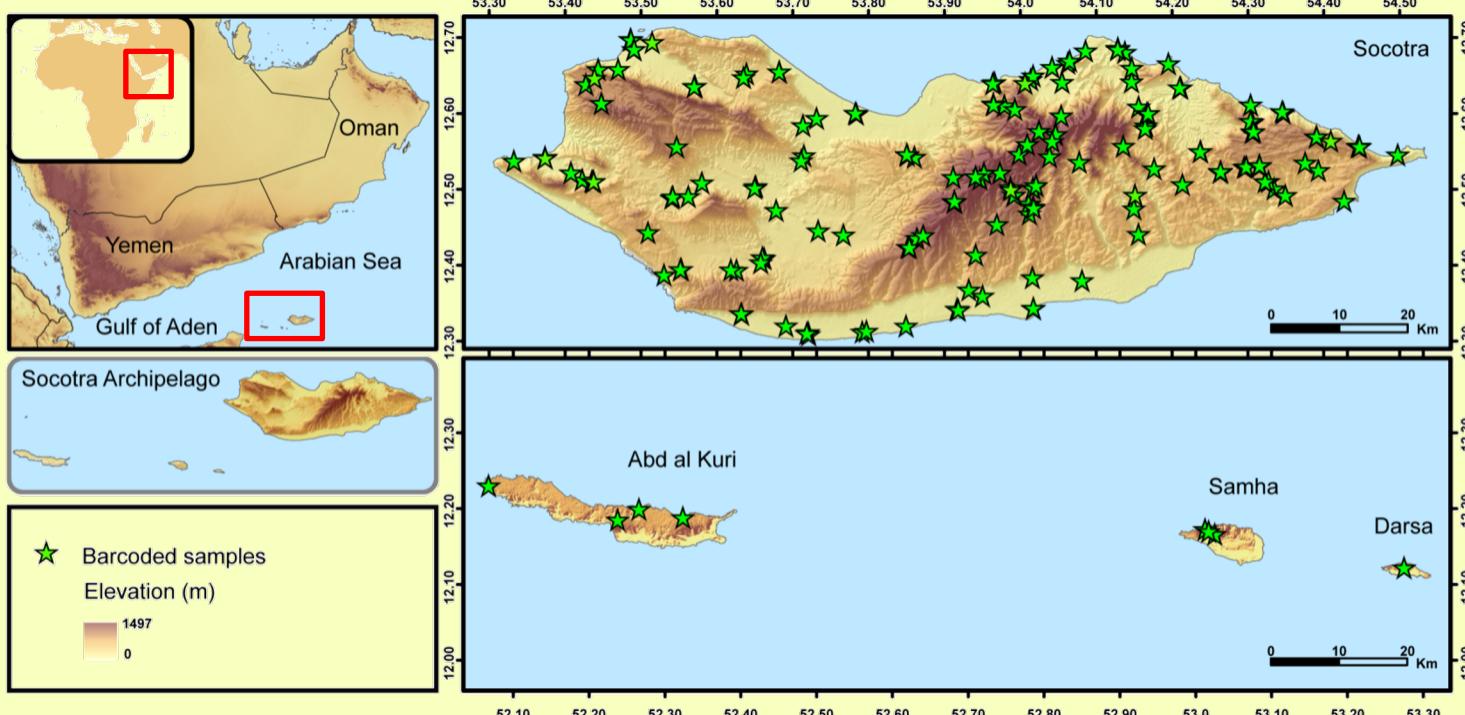
Alto endemismo a nivel de género:

- 3.5% del total de géneros de plantas
- 75% del total de géneros de caracoles
- 42% del total de géneros de reptiles

Material y métodos

➤ MUESTREO

Entre 2007 y 2014



Para cada especie ➔ 1 individuo por cada franja de distribución $10 \times 10 \text{ km}^2$
(3 individuos en el caso de especies con diversidad críptica ya conocida).

Material y métodos

➤ EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN

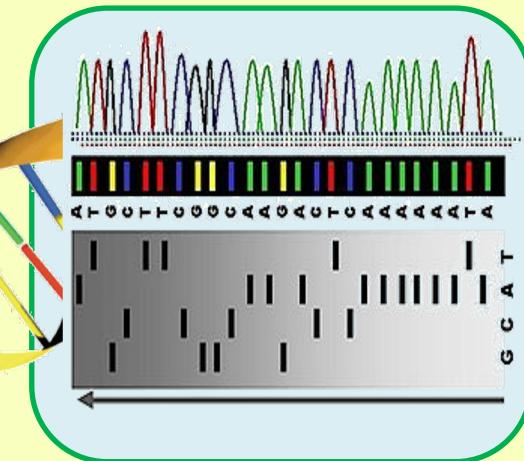
Del gen COI de 380 individuos de todas las especies de reptiles actualmente reconocidas en el archipiélago de Socotra.



Extracción del DNA
del tejido muscular



Amplificación del gen COI
con 3 parejas de primers



Secuenciación

Material y métodos

➤ ANÁLISIS

1

Distancias genéticas

- Explorar el barcoding gap “global”
- Explorar el barcoding gap “local”

- 1) Global barcoding gap: Histogramas de distribución de frecuencias de todas las distancias genéticas Intra-/Inter- a diferentes niveles taxonómicos.
- 2) Local barcoding gap: para cada especie, la máxima distancia intraespecífica versus la mínima interespecífica.

- A nivel de especies
- A nivel de género
- A niveles monofiléticos superiores (Gekkota, Serpentes, etc.)

Material y métodos

➤ ANÁLISIS

1

Distancias
genéticas

- Explorar el barcoding gap “global”
- Explorar el barcoding gap “local”

2

Identificación de
especímenes

- Basada en distancias genéticas
- Basada en árboles filogenéticos

Distance-based techniques:

- * [1) Best match (BM)
2) Best close match (BCM)
3) All species barcodes (ASB)

Tree-based techniques:

- 1) Criterio Hebert
2) Criterio Meier

Identificación

Exitosa

Ambigua

Errónea

* Umbral de semejanza: 1%, 3%, 6% , 9% y 14.38%

Material y métodos

➤ ANÁLISIS

1

Distancias
genéticas

- Explorar el barcoding gap “global”
- Explorar el barcoding gap “local”

2

Identificación de
especímenes

- Basada en distancias genéticas
- Basada en árboles filogenéticos

3

Descubrimiento
de especies

- Delimitación con umbrales de distancia
- Delimitación a través del enfoque GMYC

1) Umbrales de distancia fijados: 1%, 3%, 6%, 9% y 14.38%

2) GMYC: umbral único/múltiple a través de diferentes datasets

Precisión
taxonómica

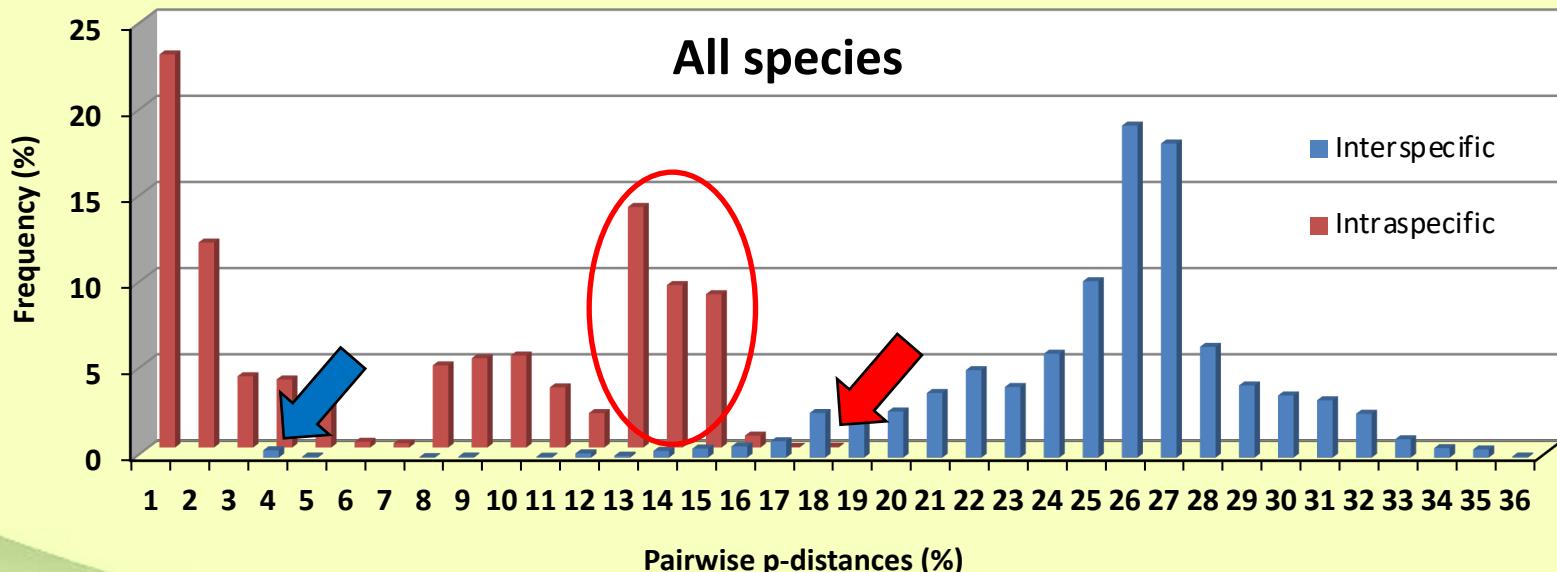
Resultados

A nivel de especies

a. Distancias genéticas

Taxonomic levels	Pairwise <i>p</i> -distances (%)		
	Minimum	Mean	Maximum
Species	0.00	7.04	17.10
Genus	3.13	18.50	24.15
Family	17.00	26.28	35.80

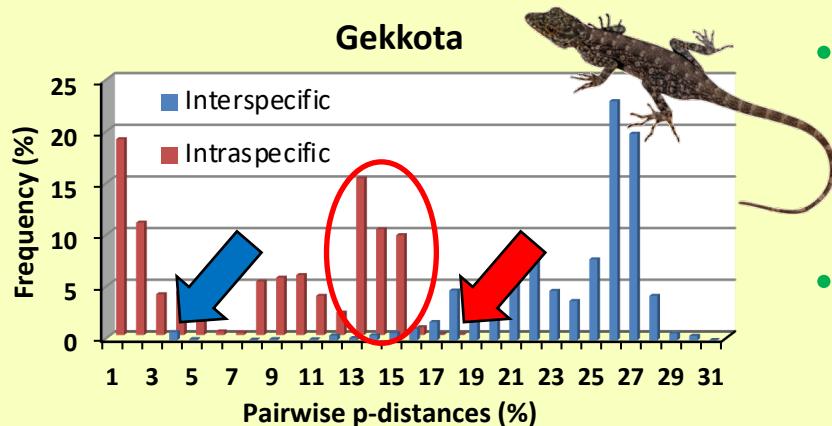
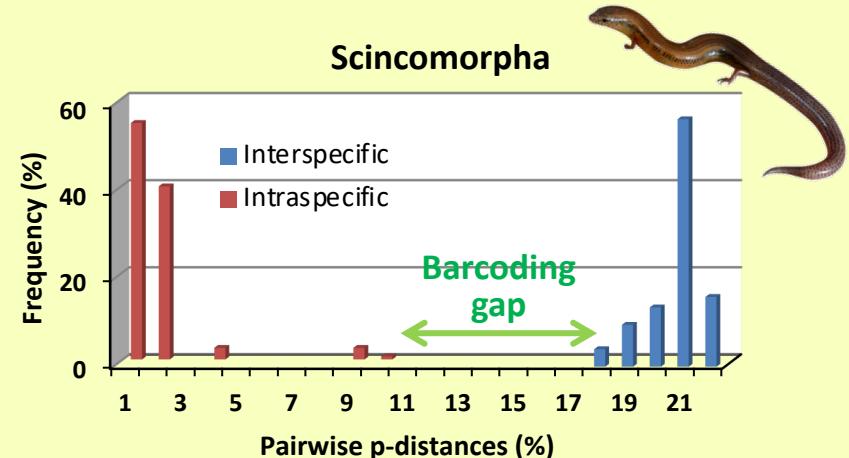
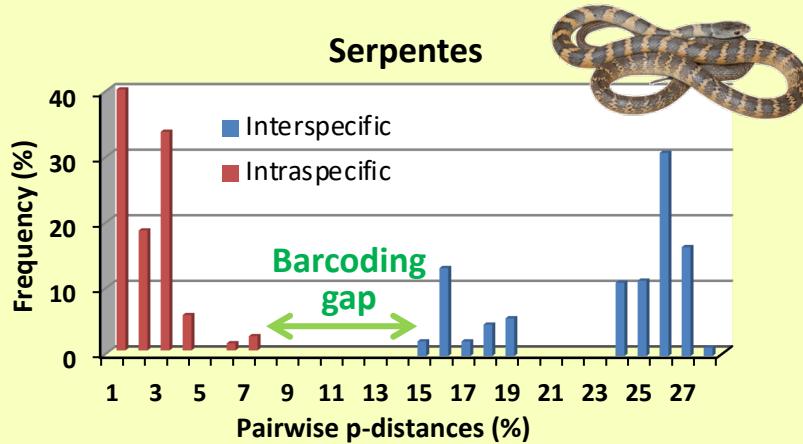
- Amplio **solapamiento** entre las distancias **intraespecíficas** y las distancias **interespecíficas**.
- No barcoding gap “global”.
- Alta **variabilidad intraespecífica**.



Resultados

A niveles monofiléticos superiores

a. Distancias genéticas

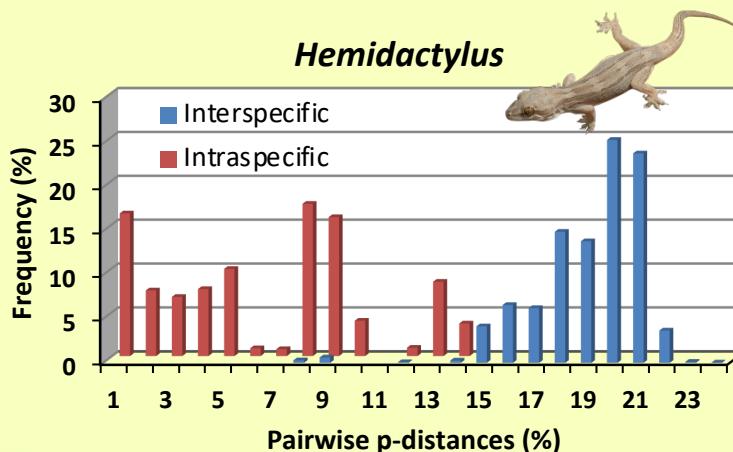
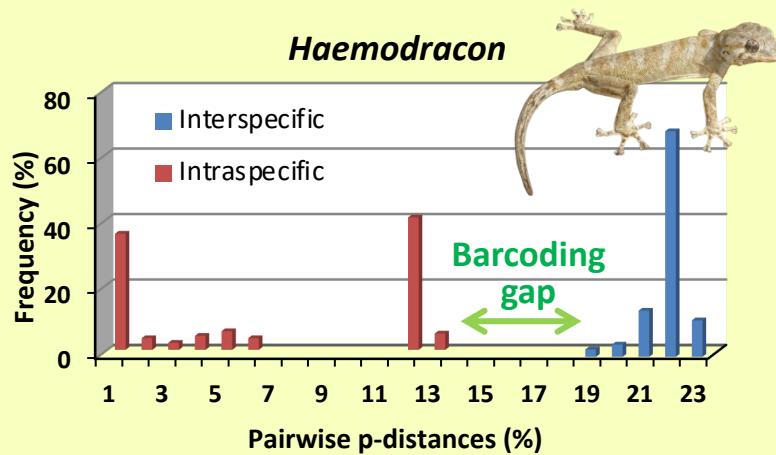


- Presencia de **barcode gap** en el dataset de Serpentes y en el de Scincomorpha (escíncidos).
- La alta divergencia **intraespecífica** y la baja **interespecífica** se encuentran en el suborden **Gekkota** (geckos).

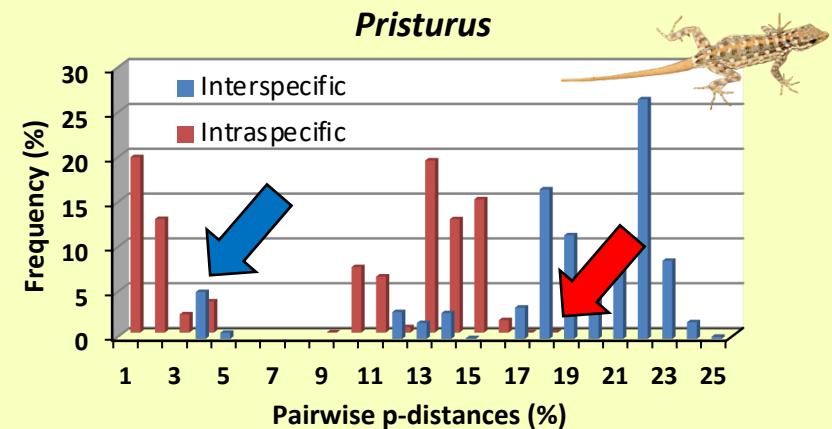
Resultados

A nivel de género

a. Distancias genéticas



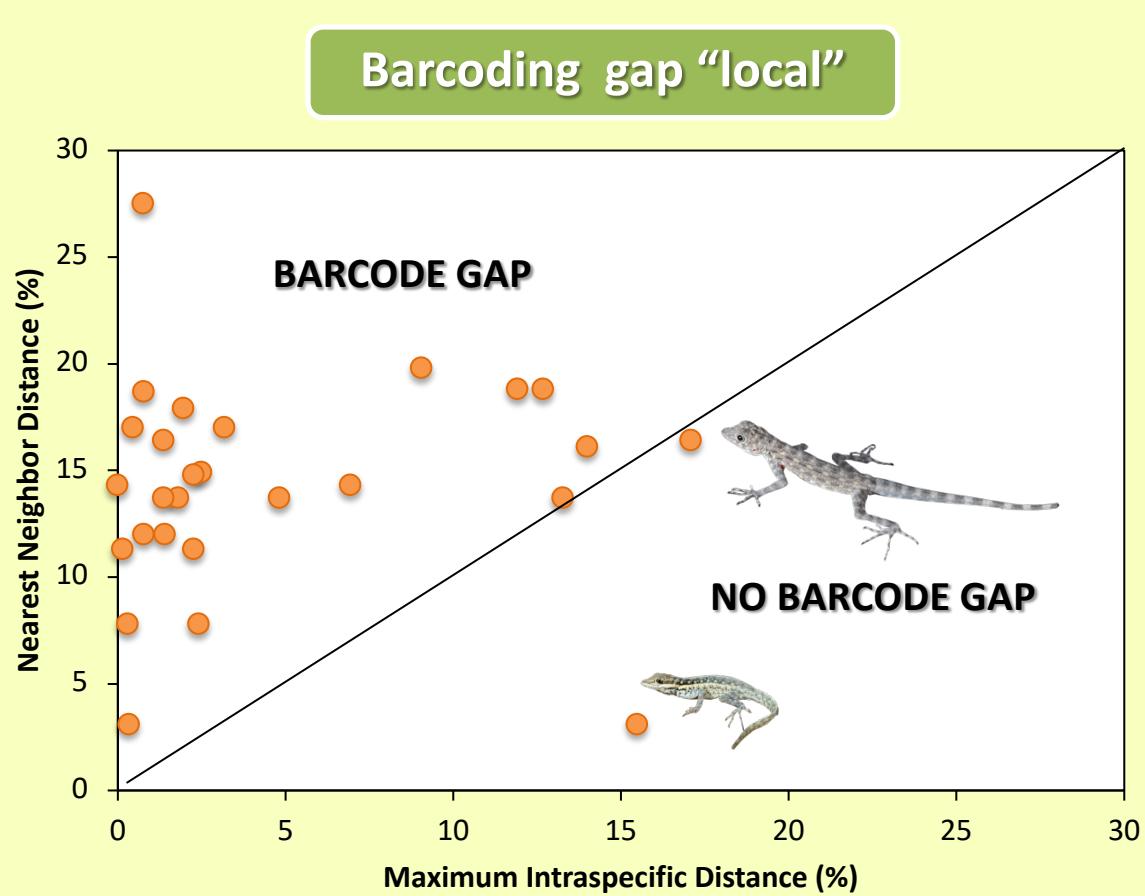
- Los 2 únicos géneros que **no tienen barcoding gap** son *Hemidactylus* y *Pristurus*.
- Los individuos del género *Pristurus* presentan la máxima divergencia **intraespecífica** observada.



Resultados

a. Distancias genéticas

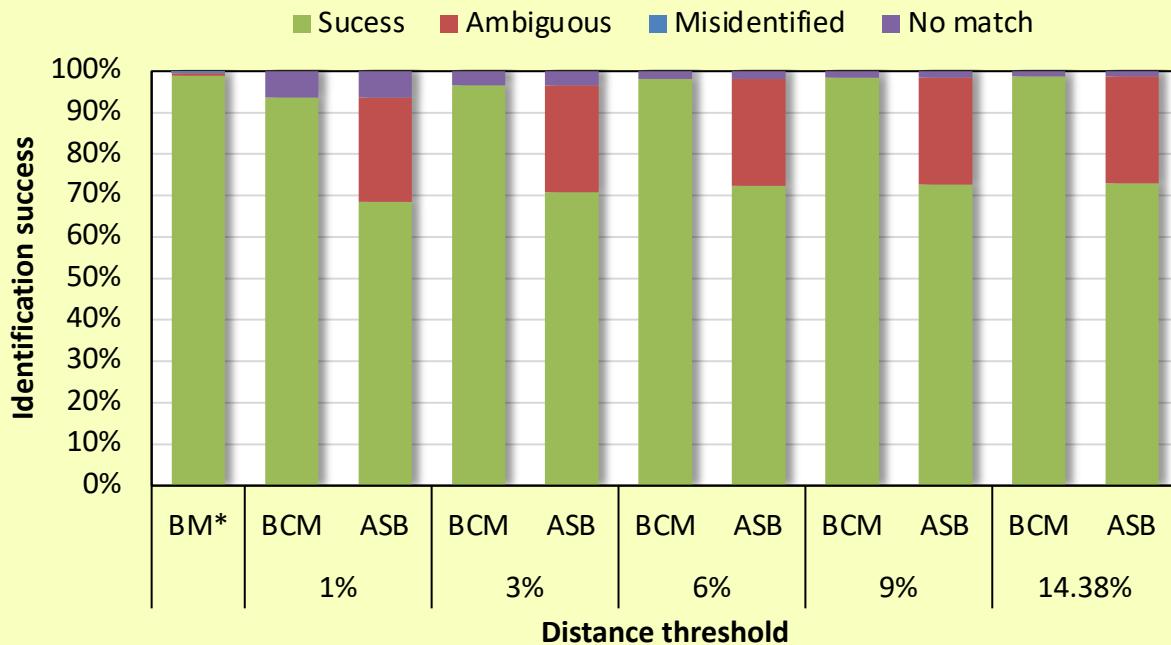
- Presencia de barcoding gap “local” para 29 de las 31 especies.
- Solo en el caso de *Pristurus sokotranus* y *Pristurus insignis* la máxima distancia intraespecífica supera a la mínima interespecífica.



Resultados

b. Identificación de especímenes

Basada en distancias genéticas

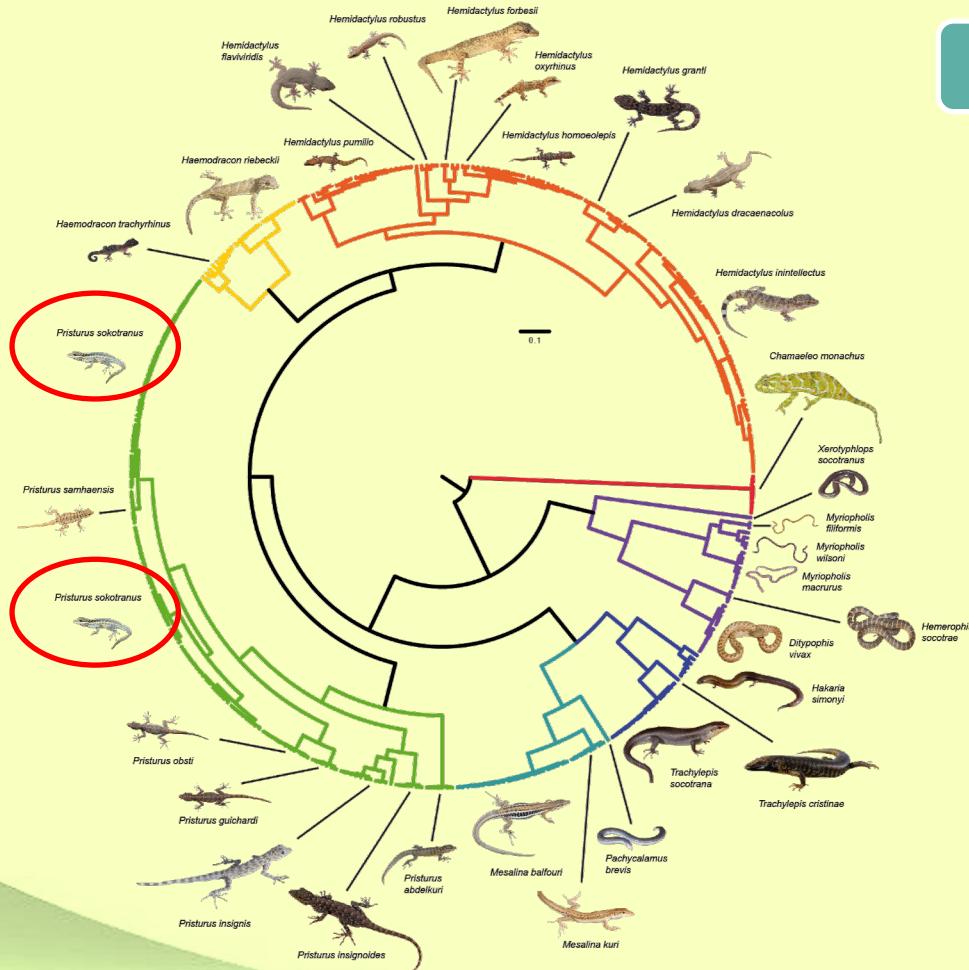


El éxito de identificación es de **moderado a alto**:

- 1) BM: 99%
- 2) BCM: 94 – 99%
- 3) ASB: 68 – 73%

Resultados

b. Identificación de especímenes



Basada en árboles filogenéticos

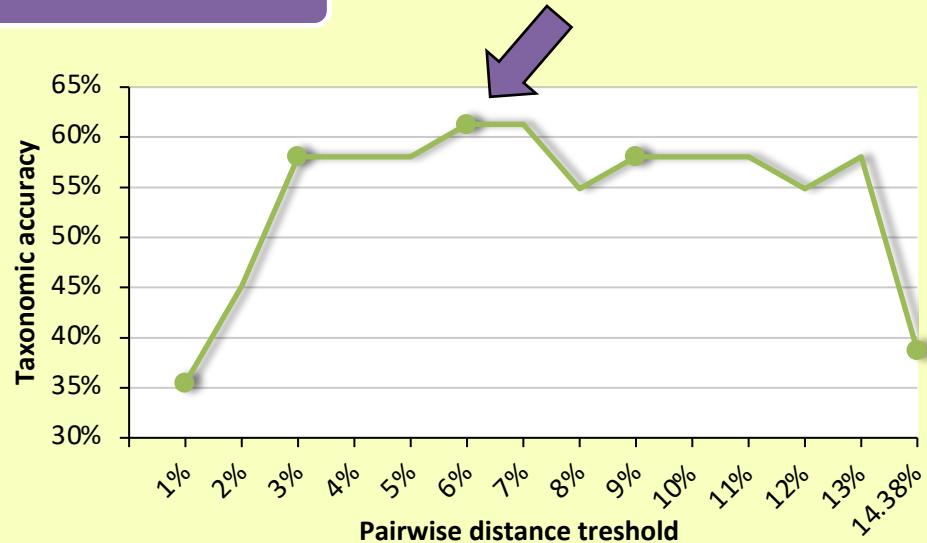
- Los 3 tipos de árboles filogenéticos (BI, NJ, ML) presentan topologías similares.
- Parafilia de *Pristurus sokotranus*.
- El éxito de identificación depende del criterio utilizado:
 - 1) Criterio Hebert: 75%
 - 2) Criterio Meier: 96%

Resultados

c. Descubrimiento de especies

Delimitación con umbrales de distancia

- En algunos clusters, la máxima distancia observada supera el valor de umbral fijado.
- El número de clusters **nunca coincide estrictamente** con el número de especies taxonómicas.
- El umbral del 6% es el que presenta la mayor precisión taxonómica.



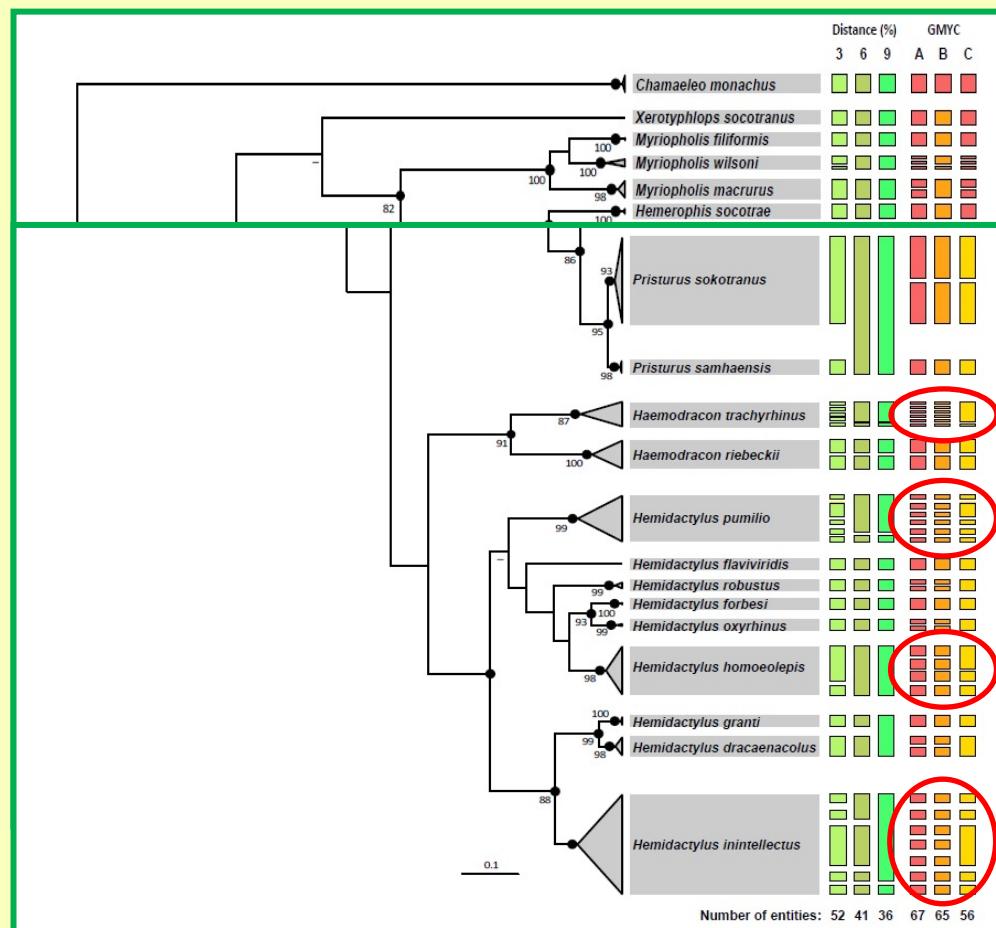
Threshold pairwise distance	Nº of clusters	Maximum pairwise distance	Nº of clusters with threshold violations	Nº of clusters corresponding to taxonomy	Taxonomic accuracy	Max. Nº of species per cluster
1%	78	2.07%	11 (14.10%)	11	35.48%	1
3%	52	3.92%	6 (11.53%)	18	58.06%	1
6%	41	6.93%	1 (2.43%)	19	61.29%	2
9%	36	11.05%	3 (8.33%)	18	58.06%	2
14.38%	24	17.94%	5 (20.83%)	12	38.71%	3

Resultados

c. Descubrimiento de especies

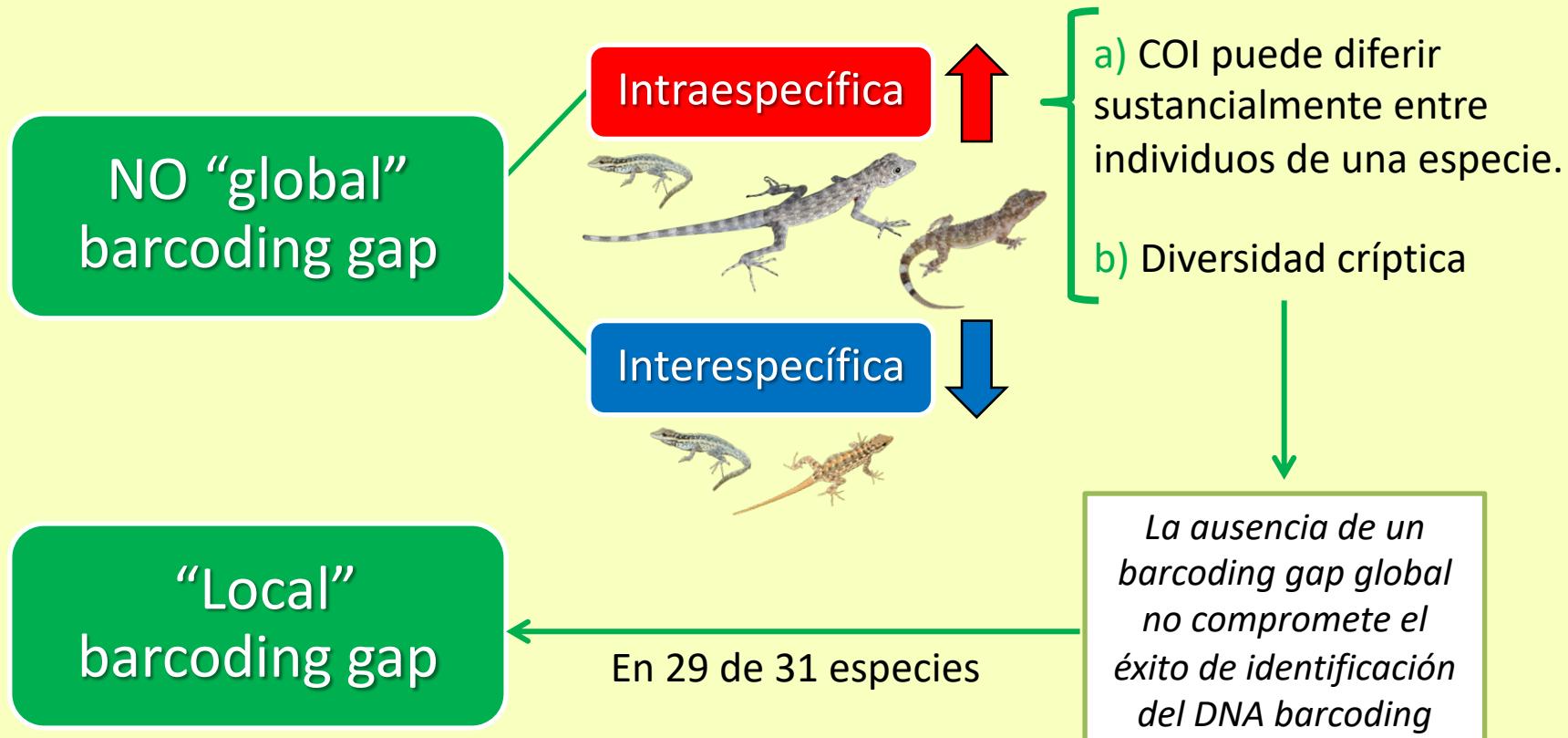
Delimitación con GMYC

- Número de entidades depende del tipo de umbral:
 - 1) Único: 67 entidades
 - 2) Múltiple: 188 entidades
 - Muchas de las especies presentan **más de una entidad!**



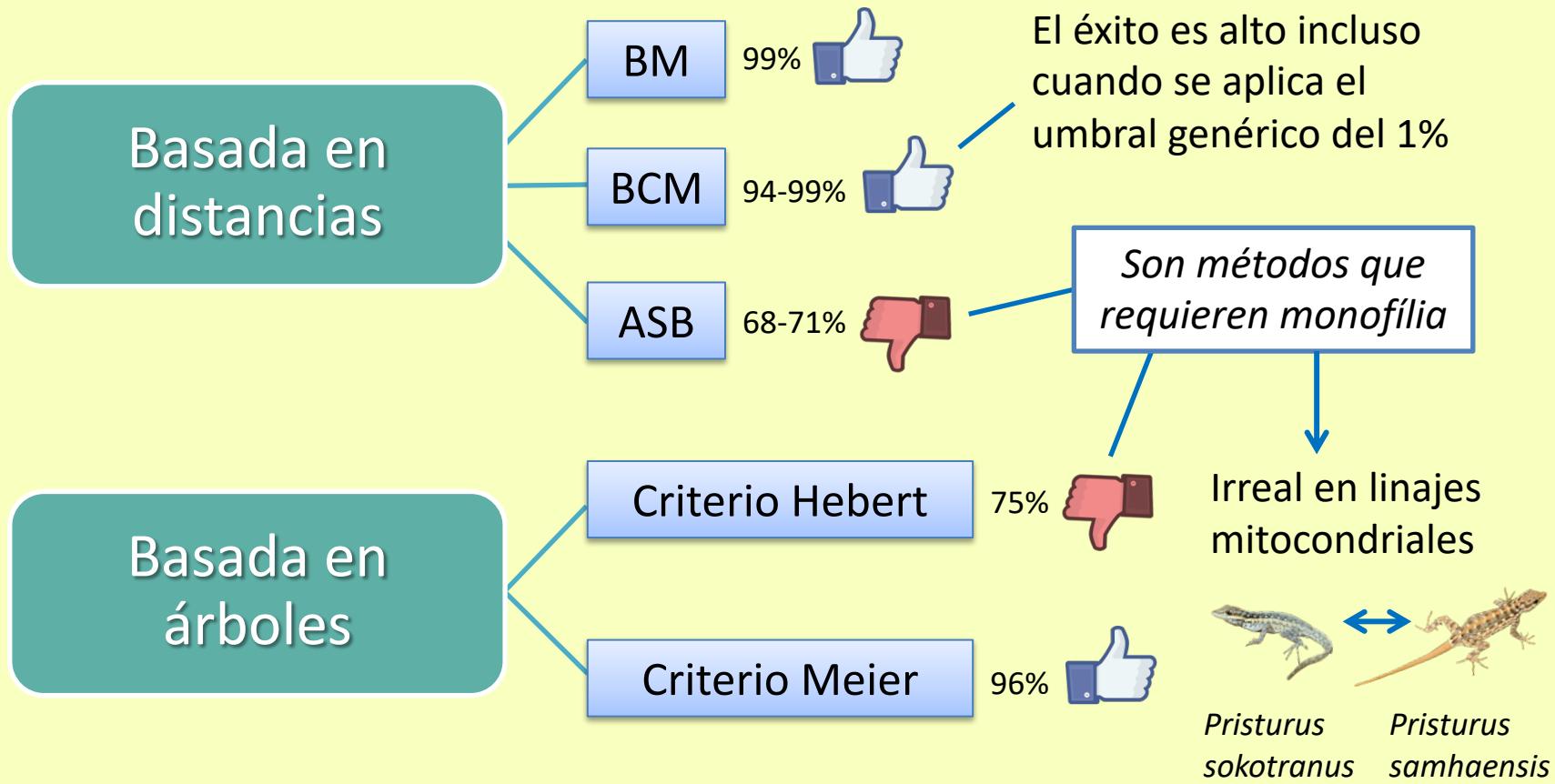
Discusión

a. Variabilidad genética en los reptiles de Socotra



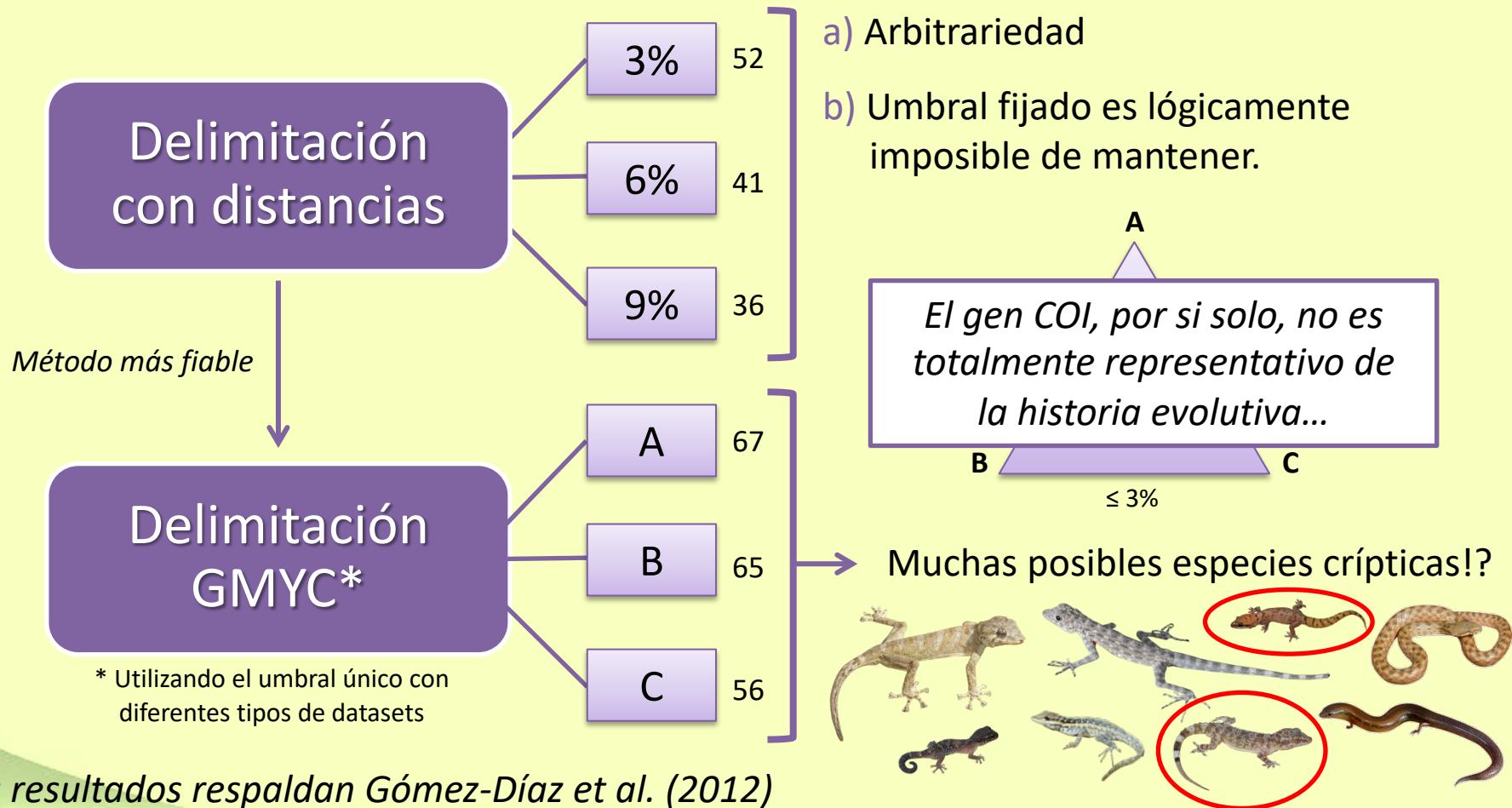
Discusión

b. Éxito de identificación del DNA barcoding



Discusión

c. Diversidad críptica en los reptiles de Socotra



Conclusiones

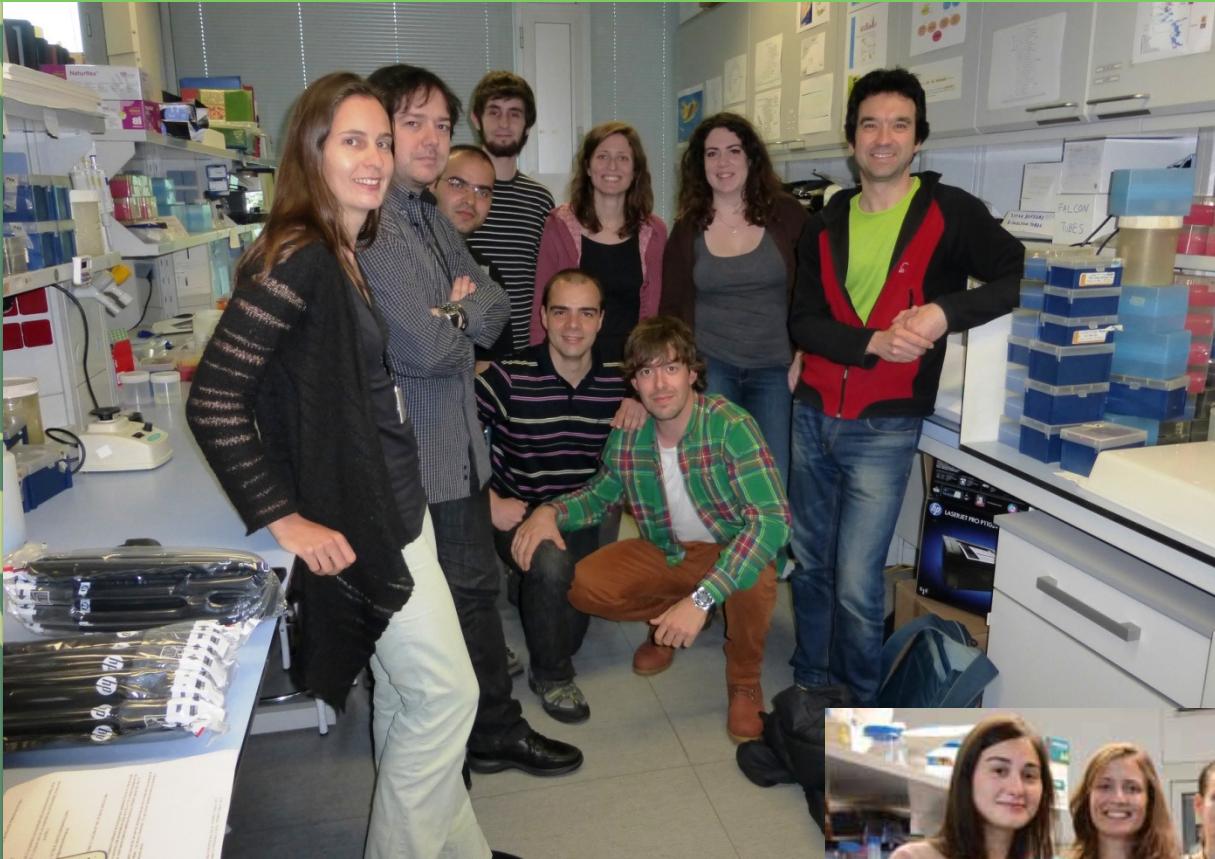
El DNA barcoding no es la panacea para resolver los problemas de la taxonomía, pero es una herramienta muy útil para monitorear y evaluar de forma rápida la biodiversidad

Aunque no se ha detectado un *barcoding gap* en los reptiles de Socotra, el éxito de identificación de especímenes es de moderado a alto, dependiendo del método utilizado

Los altos niveles de divergencia intraespecífica son coherentes con la delimitación de especies y sugieren diversidad críptica en los reptiles de Socotra, a tener en cuenta para conservación

El DNA barcoding es muy útil para la identificación de especímenes, pero para el descubrimiento de especies sólo será eficaz si se incorpora en un marco taxonómico más integrador

iiiMUCHAS GRACIAS!!!



Agradecimientos:

Salvador Carranza
Raquel Vasconcelos
Marc Simó-Riudalbas
Margarita Metallinou
Joan García-Porta
Luis Machado
João Maia
Duarte V. Gonçalves
Joana Mendes
Isabel Tavares
Karin Tamar
Jiří Šmíd
Erika Zakar
Nefeli Paschou
Josep Roca