

USANDO SECUENCIAS DE ADN PARA CONSTRUIR ÁRBOLES FILOGENÉTICOS

INTRODUCCIÓN

Las más de 700 islas caribeñas son el hogar de alrededor de 150 especies de anolis, un grupo de lagartijas estrechamente relacionadas (género *Anolis*) que viven en diversos hábitats y nichos. La investigación sobre estas lagartijas nos está ayudando a comprender mejor los procesos evolutivos, como la adaptación mediante selección natural, la evolución convergente y la creación de nuevas especies. Además, nos brinda explicaciones acerca de cómo y por qué existen tantas clases diferentes de organismos en la Tierra.



Figura 1: Distintos anolis tienen características en común. *Anolis cristatellus* es una especie de anolis común que se encuentra en Puerto Rico. Se caracteriza por tener, debajo de su garganta, una gaita o papada colorida que utiliza para comunicarse. Estas especies viven en diversos hábitats y presentan considerables variaciones en su tamaño y en otras características físicas evidentes, tales como la longitud de las patas y de la cola. (Foto cortesía de Luke Mahler, University of California, Davis.)



Figura 2: Las islas del Caribe son el hogar de los anolis. Las especies de anolis que se pueden observar en la película viven en islas de Cuba, Jamaica, La Española (que abarca Haití y la República Dominicana), y Puerto Rico. (Reproducido con permiso de Losos, J. *Lizards in an Evolutionary Tree*. UC Press, 2011).

MATERIALES

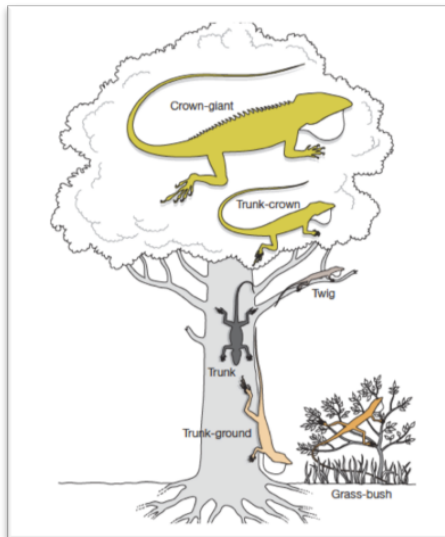
- Un juego de tarjetas de lagartijas que acompañan a este documento.
- Computadora conectada al Internet.
- Cortometraje de HHMI “Lagartijas en un árbol evolutivo”.
- (Opcional) Computadora con el programa gratuito ClustalX instalado.

PROCEDIMIENTO

Parte 1: Identificación de Ecomorfos y Exploración de la Radiación Adaptativa de los Anolis.

1. Examine las fotografías de las 16 especies de lagartijas anolis y agrúpelas de acuerdo a su apariencia en tantos grupos como usted desee.
2. Explique cómo agrupó a las lagartijas y sus razones para formar los grupos. Si usted escogió alguna característica corporal, especule sobre las ventajas o desventajas que esta característica proporciona en el hábitat que ocupan estas especies.

3. Vea la primera parte del cortometraje (hasta el tiempo 09:48, el final del experimento en la pequeña isla).
4. Ahora que tiene más información acerca de los anolis, revise sus grupos si lo desea. Explique si realizó algún cambio.
5. Las especies caribeñas de anolis pueden ser categorizadas en seis grupos de acuerdo a las características del cuerpo (morfología) y a los nichos ecológicos que ocupan. Estos grupos son conocidos como morfotipos ecológicos o ecomorfos. ¿Sus grupos coinciden con los ecomorfos descritos? ¿Por qué si o por qué no?
6. Usando el diagrama a continuación y la información del cortometraje, escoja un ecomorfo y explique cómo las características del cuerpo son adaptaciones de ese ecomorfo a un hábitat en particular. Crown-giant=copa-gigante, trunk-crown=tronco-copa, twig=rama delgada, trunk=tronco, trunk-ground=tronco-suelo, grass-bush=hierba-arbusto



7. Explique por qué los diferentes ecomorfos son un ejemplo de radiación adaptativa.
8. Desarrolle una hipótesis que explique cómo ecomorfos similares evolucionaron para estar presentes en diferentes islas del Caribe.

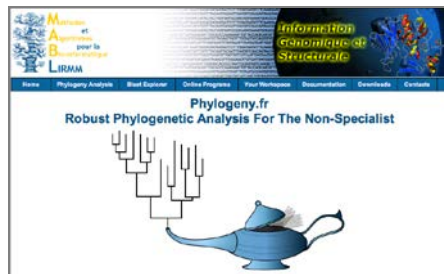
Parte 2: Generación de una filogenia a partir de secuencias de ADN para determinar las relaciones evolutivas de los Anolis

¿Cómo explica por qué los ecomorfos similares pueden ser encontrados en cada una de las diferentes islas del Caribe?

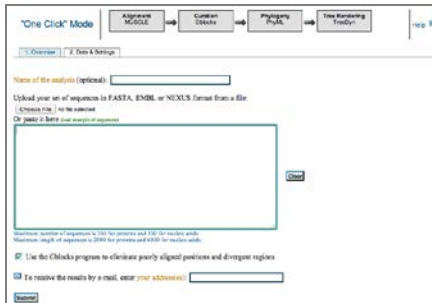
Hipótesis 1: Cada ecomorfo evolucionó en la misma isla y luego migró por canales para establecerse en las otras islas. O tal vez las islas eran contiguas en el pasado cuando los ecomorfos evolucionaron, y subsecuentemente se separaron. Entonces se esperaría que las especies pertenecientes al mismo ecomorfo estén estrechamente relacionadas entre sí.

Hipótesis 2: Los ecomorfos evolucionaron repetida e independientemente en cada una de las islas. Los ecomorfos son ejemplos de evolución convergente. (La evolución convergente ocurre cuando diferentes grupos de organismos evolucionan características similares independientemente, al adaptarse a medioambientes similares). En este caso se esperaría que los anolis de cada isla tengan entre sí una relación más estrecha que con especies de otras islas.

1. Descargue el archivo “Anolis DNA sequences TXT file” (<http://media.hhmi.org/biointeractive/activities/lizard/Anolis-DNA-sequences.txt>). Este archivo incluye secuencias de ADN de las 16 especies de *Anolis* que se muestran en las fotografías. La secuencia utilizada corresponde a una región de ADN mitocondrial que incluye el gen NADH deshidrogenasa-subunidad 2 (ND2) y a cinco genes de ARN de transferencia. Estos genes son lo suficientemente conservados en especies de animales como para ser reconocidos y comparados en especies distantes, y al mismo tiempo son lo suficientemente variables como para tener una secuencia única en cada especie. Estos genes pueden ser comparados entre especies cercanas para inferir relaciones evolutivas. Genes como éstos son también usados para identificar especies en base a sus perfiles de ADN. Además de los anolis, una especie no relacionada, *Leiocephalus barahonensis*, está incluida como grupo externo con el fin de darle una “raíz” al árbol —es decir para proporcionar un nodo que represente un pariente lejano, similar al ancestro a partir del cual las especies en el árbol irradiaron.
2. Abra www.phylogeny.fr en un navegador. Phylogeny.fr es un sitio fácil de usar para la alineación de secuencias y la generación de filogenias. El inicio de la página debe verse así:



3. Seleccione el enlace “One Click” en la página de inicio www.phylogeny.fr. Esta página se abrirá así:



4. Para cargar las secuencias hay dos opciones:
 - a. Cargar las secuencias desde el archivo seleccionando “Choose File” y seguir las instrucciones; o
 - b. Abrir el archivo con un editor de texto, copiar todo, y pegarlo en el cuadro de búsqueda.
5. Presione “Submit” (enviar).
6. El sitio generará un árbol filogenético. Los números rojos en la filogenia son valores de “bootstrap” y denotan el nivel de confianza asociado con los patrones de ramificación del árbol. Un valor de 1 indica alta confiabilidad; 0 indica no confiabilidad. Valores menores a 0.5 generalmente se interpretan como incertidumbre en un nodo. Ya que el propósito de esta actividad es ilustrar el principio del uso de secuencias de ADN en análisis filogenético, no le prestaremos demasiada atención a estos valores.
7. Imprima dos copias del árbol filogenético. (Puede que su instructor le reparta los árboles ya impresos.)
8. Use la lista de especies de lagartijas y colorea los árboles filogenéticos para tener una representación visual de cómo las especies evolucionaron:
 - a. Colorea cada rama de acuerdo con la isla de origen (Cuba, La Española, Jamaica, o Puerto Rico). Si dos ramas unidas por un nodo son del mismo color, colorea también la raíz de la rama y continúe hacia la izquierda hasta el siguiente nodo. Escriba una leyenda para la figura.
 - b. Colorea cada rama de acuerdo al ecomorfo de cada especie. Escriba una leyenda para la figura.

Preguntas de Análisis: Examine los árboles filogenéticos que coloreó y conteste las siguientes preguntas.

1. ¿Qué patrones generales ve en el árbol?
2. ¿Las especies con el mismo ecomorfo se agrupan juntas en el árbol? Describa la evidencia que apoya su respuesta.
3. ¿Las especies de la misma isla se agrupan juntas en el árbol? Describa la evidencia que apoya su respuesta.
4. Basándose en los árboles coloreados, escriba una afirmación acerca de si las especies que pertenecen al mismo ecomorfo o las especies que viven en la misma isla están más estrechamente relacionadas entre sí. Justifique su afirmación con evidencia obtenida de los árboles filogenéticos coloreados.
5. Revisemos las dos hipótesis discutidas anteriormente. Una hipótesis es que cada ecomorfo evolucionó una sola vez. La hipótesis alternativa es que los ecomorfos evolucionaron repetida e independientemente en cada una de las islas. ¿Cuál hipótesis es apoyada por el análisis filogenético? Justifique su respuesta y explique su razonamiento.
6. Examine la relación entre *Anolis sheplani* y *Anolis augusticeps*. ¿Encaja esta relación con la hipótesis que escogió en la pregunta anterior? Explique su respuesta. Proponga una hipótesis adicional que pueda explicar esta relación.

7. ¿Los resultados coinciden con lo que se muestra en el cortometraje? ¿Cuáles son las similitudes y las diferencias?

Lista de especies:

Nombre de la Especie	Isla	Ecomorfo
<i>Anolis alutaceus</i>	Cuba	Hierba-arbusto
<i>Anolis angusticeps</i>	Cuba	Rama delgada
<i>Anolis chlorocyanus</i>	La Española	Tronco-copa
<i>Anolis cristatellus</i>	Puerto Rico	Tronco-suelo
<i>Anolis cybotes</i>	La Española	Tronco-suelo
<i>Anolis evermanni</i>	Puerto Rico	Tronco-copa
<i>Anolis grahmi</i>	Jamaica	Tronco-copa
<i>Anolis lineatopus</i>	Jamaica	Tronco-suelo
<i>Anolis occultus</i>	Puerto Rico	Rama delgada
<i>Anolis olssoni</i>	La Española	Hierba-arbusto
<i>Anolis ophiolepis</i>	Cuba	Hierba-arbusto
<i>Anolis porcatus</i>	Cuba	Tronco-copa
<i>Anolis pulchellus</i>	Puerto Rico	Hierba-arbusto
<i>Anolis sagrei</i>	Cuba	Tronco-suelo
<i>Anolis sheplani</i>	La Española	Rama delgada
<i>Anolis valencienni</i>	Jamaica	Rama delgada
<i>Leiocephalus barahonensis</i>		Grupo externo