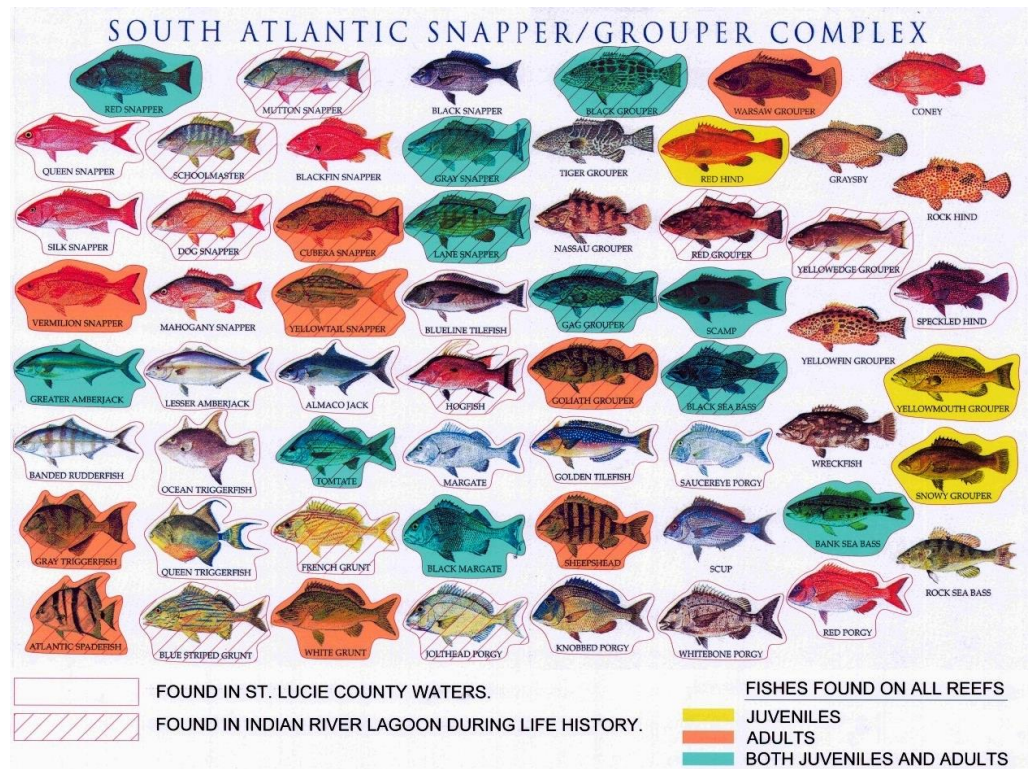


Εξελικτική Οικολογία - Διάλεξη 3

Μοριακός προσδιορισμός – είδος, άτομο, φύλο



Εισηγητής

Αναπλ. Καθ. Πουλακάκης Νίκος
roulakakis@nhmc.uoc.gr

Μπορεί να φαίνεται περίεργο, αλλά η αναγνώριση οργανισμών είναι ένα ζήτημα στην οικολογία!

Υπάρχουν δύο πλαίσια στα οποία έχουν αναπτυχθεί σημαντικά προβλήματα στην αναγνώριση ενός ατόμου, με αποτέλεσμα οι μοριακές προσεγγίσεις να είναι όχι μόνο χρήσιμες, αλλά απαραίτητες

1. Το πρώτο σχετίζεται με τις αρχές της ταξινόμιας, καθορίζοντας σε ποιο είδος ανήκει ένα άτομο και που πρέπει να χαραχθούν οι γραμμές που διακρίνουν τα είδη, τα υποείδη, τα υβρίδια κλπ.!
2. Το δεύτερο σχετίζεται με την αναγνώριση του φύλου και της ταυτότητας των ατόμων κάτω από συνθήκες όπου η μορφολογία δεν μπορεί να εφαρμοστεί!

Για παράδειγμα...

- Οργανισμοί που διαφοροποιούνται μορφολογικά σε ενήλικο στάδιο, έχουν **προνυμφικά** (εμβρυικά) στάδια που είναι **μορφολογικά αδιάκριτα** π.χ. σκαθάρια και σαλιγκάρια.
- Σε κάποια ασπόνδυλα ακόμα και το ενήλικο άτομο απαιτεί χειρισμό που οδηγεί στη θανάτωση του ζώου για την **εύρεση του φύλου ή του είδους**, ενώ σε πολλά φυτά η **μορφολογική διάκριση** μπορεί να γίνει μόνο **σε μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο του χρόνου** (π.χ. όταν έχουν ανθοφορία)!!!
- Για είδη που είναι **σπάνια** και βρίσκονται σε καθεστώς προστασίας λόγω του ότι κινδυνεύουν (π.χ. μεγάλα θηλαστικά, αρπακτικά πουλιά), είναι πιο εύκολο να βρεθούν **τμήματα ιστού** (γούνα, φτερά, περιττώματα) από το να συλληφθούν **ολόκληρα ζώα**!!!

Το είδος

Το πιο κοινό πρόβλημα που αντιμετωπίζει η Οικολογία σχετίζεται με τη διαχείριση/διατήρηση βιολογικών πόρων.

Το δίλημμα είναι αν μια ομάδα ζώων ή φυτών είναι αρκετά διακριτή ώστε να «δικαιούται» προστασία ή διαχείριση.

Αυτό μπορεί να είναι ιδιαίτερα δύσκολο σε διάφορες ταξινομικές βαθμίδες και κατηγορίες, όπως από το είδος προς το υποείδος, τις ράτσες και τις ποικιλίες, οι οποίες πολλές φορές είναι δύσκολο να καθοριστούν.

Το είδος

Το Βιολογικό είδος (Biological Species Concept, BSC) → είναι συχνά ακατάλληλο για τέτοιου είδους προσεγγίσεις



Οι οργανισμοί μπορεί να μοιάζουν αλλά είναι διαφορετικά είδη. Π.χ. *Sturnella neglecta* και *S. magna* φαίνονται ίδια, αλλά δεν διασταυρώνονται με αποτέλεσμα να θεωρούνται διαφορετικά είδη (σημαντική διαφορά στο κελάηδισμα).



Οι οργανισμοί μπορεί να διαφέρουν αλλά είναι ίδιο είδος. Π.χ. τα δύο αυτά μυρμήγκια φαίνεται ότι ανήκουν σε δυο διακριτά είδη. Όμως είναι αδέρφια που έχουν διαφορετικό ρόλο μέσα στην κοινωνία που αναπτύσσονται (*Pheidole barbata*).

Το είδος

Το Βιολογικό είδος (Biological Species Concept, BSC) → είναι συχνά ακατάλληλο για τέτοιου είδους προσεγγίσεις.

Π.χ. όταν οι πληθυσμοί δεν έχουν επικάλυψη (όταν οι κατανομές τους είναι ασυνεχείς)

Οι γενετικές αναλύσεις μπορούν να αποκαλύψουν την ύπαρξη ή όχι δομημένων πληθυσμών, δίνοντας τη δυνατότητα να διακρίνουμε υποομάδες.

Το είδος

Ωστόσο αυτό εξαρτάται άμεσα από τον τύπο του δείκτη που χρησιμοποιείται.

Αλλοένζυμα: δεν έχουν την ευαισθησία να αναδείξουν λεπτής κλίμακας ποικιλότητα και συνήθως εισηγούνται ομοιομορφία μεταξύ των πληθυσμών

Μικροδορυφορικά: συνήθως αποκαλύπτουν, λόγω έντονου πολυμορφισμού, σημαντική διαφοροποίηση σε υπομοάδες. Μάλιστα αν αναλύσουμε ένα σημαντικό αριθμό πολυμορφικών τόπων μπορούμε να διακρίνουμε ακόμα και σε επίπεδο ατόμου!!!

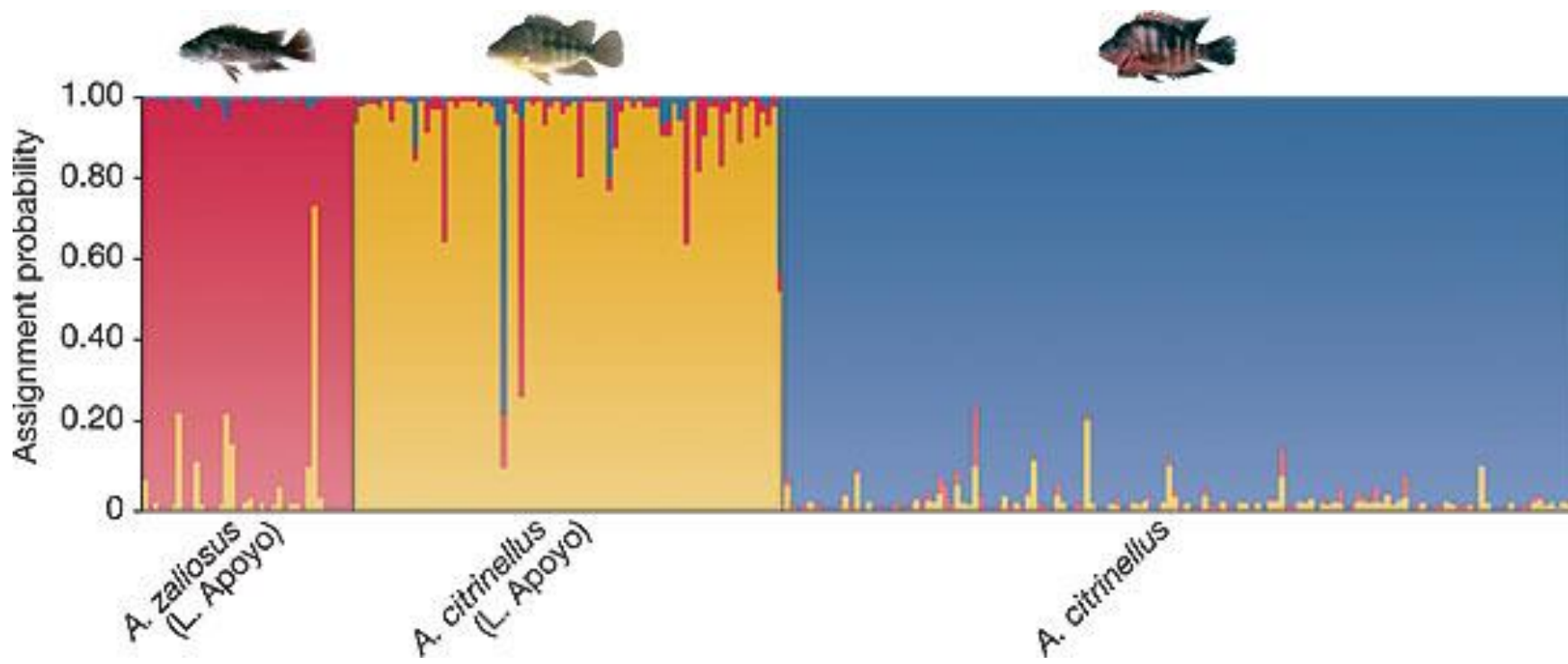
Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish

Marta Barluenga¹*, Kai N. Stöltig¹, Walter Salzburger^{1,2}, Moritz Muschick¹ & Axel Meyer¹

Sympatric speciation, the formation of species in the absence of geographical barriers, remains one of the most contentious concepts in evolutionary biology. Although speciation under sympatric conditions seems theoretically possible^{1–5}, empirical studies are scarce and only a few credible examples of sympatric speciation exist⁶. Here we present a convincing case of sympatric speciation in the Midas cichlid species complex (*Amphilophus* sp.) in a young and small volcanic crater lake in Nicaragua. **Our study includes phylogeographic, population-genetic (based on mitochondrial DNA, microsatellites and amplified fragment length polymorphisms), morphometric and ecological analyses.** We find, first, that **crater Lake Apoyo was seeded only once by the ancestral high-bodied benthic species *Amphilophus citrinellus*, the most common cichlid species in the area; second, that a new elongated limnetic species (*Amphilophus zaliosus*) evolved in Lake Apoyo from the ancestral species (*A. citrinellus*) within less than ~10,000 yr; third, that the two species in Lake Apoyo are reproductively isolated; and fourth, that the two species are eco-morphologically distinct.**



Figure 1 | The study area. **a**, Map of the Pacific coast of Nicaragua and Costa Rica showing the large Nicaraguan lakes (Managua, Nicaragua), some of the volcanic crater lakes (Apoyo, Apoyeque, Masaya and Xiloá), Tisma Pond and the rivers Tipitapa and San Juan that are home to the Midas cichlid species complex (*Amphilophus* sp.). **b**, Satellite image showing Lake Apoyo and neighbouring Lake Masaya that has partially been overflowed by lava from a more recent eruption of the Masaya Volcano. Roman numerals indicate the four sampling localities. **c**, Photograph of Lake Apoyo showing its steep crater wall.



Ωστόσο είναι τουλάχιστον αφελές να προσπαθήσουμε να δημιουργήσουμε μια γενικευμένη φόρμουλα για τη χρήση και εφαρμογή των γενετικών δεδομένων στη διαχείριση των οργανισμών, χωρίς βέβαια αυτό να σημαίνει ότι η γενετική προσέγγιση δεν έχει καμία αξία!!

Το παράδειγμα του κοάλα *Phascolactros cinereus* στην ανατολική Αυστραλία



Το κοάλα, αν και είναι ακόμα σχετικά ευρύτατα κατανεμημένο με μεγάλους πληθυσμούς, υπάρχουν κάποιες περιοχές στις οποίες έχουν υποστεί δραματικές μειώσεις (καταστροφή ενδιαιτημάτων, κυνήγι).



Ερώτημα (υπόθεση): Τα κοάλα συνιστούν μια ομοιογενή ομάδα ή υπάρχουν ομάδες εντός του είδους που θα έπρεπε να τεθούν σε διαχειριστική προτεραιότητα;

Το παράδειγμα του κοάλα *Phascolactros cinereus* στην ανατολική Αυστραλία

Στα κοάλα αναγνωρίζονται 3 μορφολογικά υποείδη.



Θα πρέπει αυτά τα υποείδη να θεωρηθούν ως διακριτές ταξινομικές μονάδες που θα πρέπει να διατηρηθούν ανεξάρτητα η μια από την άλλη;

Τα γενετικά δεδομένα μας λένε μια διαφορετική ιστορία από αυτή που θα περιμέναμε!!!

Το παράδειγμα του κοάλα *Phascolactros cinereus* στην ανατολική Αυστραλία

[*Sherwin et al. 2000 Conservation Biology 14(3), 639-649 (01)*]

Μια μεγάλη ποικιλία δεικτών (minisatellites, microsatellites, RAPDs, mtDNA) δεν έδειξε κάποιο πρότυπο ομαδοποιήσεων που να συμφωνεί με τη διάκριση σε υποειδικό επίπεδο. Αντίθετα έδειξαν μια διάκριση μεταξύ των βόρειων και των πιο νότιων πληθυσμών, το οποίο μπορεί να εξηγηθεί με την παρουσία ενός κλινούς προοδευτικά μικρών αλλαγών μεταξύ των γειτονικών πληθυσμών.

Table 1. Analyses of DNA variation in koalas.

Method	Code	Level of variation ^a	
		within populations	among populations
Minisatellite	MN ^b	S: ≥75% band-sharing (I2, P1)	SP/S: 75-100% band-sharing (I1-2, P4)
	MN ^c	N: band-sharing 71-92% (I36, P1), all individuals unique, parentage determined	
	MN ^d	SP: band-sharing 76-95% (I9-16, P2), other results complicated by sex differences and broad confidence intervals	
Mitochondrial restriction fragment length polymorphism (RFLP)	MT ^e	S: 2 haplotypes (I20, P1) SP: 1-2 haplotypes (I10-21, P4)	S/SP: significant differences of haplotype frequency (I10-21, P5)
	MT ^f	N: 2 haplotypes (I10-12, P2)	N: significant differences of haplotype frequency (I10-12, P2)
Mitochondrial control-region sequence	CR ^g	N: 1-3 haplotypes (I8-22, P8) S: 1-3 haplotypes (I1-19, P3) SP: 1 haplotype (I5-15, P5)	N: significant frequency differences between all populations (I8-22, P8) N/S/SP: no distinct ESUs SP: no significant differentiation (I5-15, P5)
Major histocompatibility loci	MHC ^h	N: (captive): ≥9 sequences ≥ 3 loci; further analysis difficult until allelism resolved	
RAPD	RA ⁱ	N: 60-85% bands polymorphic (I8-23 P4) S: 35% bands polymorphic (I11, P1) SP: 20-35% bands polymorphic (I10-20 P3)	N: 19.7% of variation between populations (I8-23 P4) N vs. S/SP: 33.9% of variation between regions S/SP: 8.8% of variation between populations (I10-20 P4)
Microsatellite	MS ^j	N: H_e 0.67-0.83 (I14-27, P4) S: H_e 0.48 (I47, P1) SP: H_e 0.33-0.48 (I17-43, P5)	N: delta 3.5-6.9 (I14-27, P4) Nvs/SP: delta 9.1-31.0 (I14-47, P10) S/SP: delta 0.02-15.4 (I17-47, P6)

^aN, northern populations (Queensland and New South Wales); SP, southern populations that apparently have been seriously perturbed in the past 200 years (most Victorian and South Australian populations); and S, less perturbed southern populations (Victoria); I, number of individuals counted for totalation; P, number of populations counted

Οπότε πως θα μπορούσαν τα μορφολογικά και τα γενετικά δεδομένα να έρθουν σε συμφωνία;

Το παράδειγμα του κοάλα *Phascolactros cinereus* στην ανατολική Αυστραλία

[Sherwin et al. 2000 *Conservation Biology* 14(3), 639-649 (01)]

Δυστυχώς τέτοιες ασυμφωνίες δεν είναι σπάνιες και πρέπει να αντιμετωπίζονται με προσοχή

1. Σε ορισμένες περιπτώσεις η **μορφολογική διαφοροποίηση** αναπτύσσεται **λόγω περιβάλλοντος** και όχι λόγω γενετικών αιτιών με αποτέλεσμα να μην είναι κληρονομήσιμη.
2. Μπορεί να υπάρχει **ισχυρή επιλογή** σε γονίδια που είναι υπεύθυνα για τις μορφολογικές διαφορές, δίνοντας ένα διαφορετικό πρότυπο γενετικής ποικιλότητας από αυτό που δίνουν οι ουδέτεροι δείκτες που χρησιμοποιούνται στις μελέτες.
3. Τα **κριτήρια διάκρισης** σε επίπεδο υποείδους δεν ήταν **σωστά** (π.χ. λίγα άτομα και πληθυσμοί είχαν εξεταστεί)

Το παράδειγμα του κοάλα *Phascolactros cinereus* στην ανατολική Αυστραλία

[*Sherwin et al. 2000 Conservation Biology 14(3), 639-649 (01)*]

Στην περίπτωση των κοάλα όλοι οι πληθυσμοί και τα υποείδη θα πρέπει να αντιμετωπιστούν ως μια ταξινομική μονάδα, οπότε αντί να εστιάσουμε, από άποψη διαχείρισης, σε ειδικές απομονωμένες ομάδες, θα πρέπει να προσπαθήσουμε στη διατήρηση της συνέχειας των ενδιαιτημάτων τους σε όλο το εύρος της κατανομής τους, διατηρώντας το κλινές στη γενετική τους δομή.

Αυτό θα έχει το πλεονέκτημα να μειώσει μακροπρόθεσμους κινδύνους από φαινόμενα γενετικής παρέκκλισης και ενδογαμίας, τα οποία «ταλαιπωρούν» τους απομονωμένους υποπληθυσμούς.

Το παράδειγμα του θαλασσοπουλιού *Pterodroma heraldica* στον Ειρηνικό Ωκεανό

[Brooke & Rowe 1996 *Ibis* 138, 420-432 (02)]

Φυσικά υπάρχουν και οι ακριβώς αντίθετες περιπτώσεις, επιβεβαιώνοντας τη σημασία των μορφολογικών και ηθολογικών διαφορών των ατόμων (πληθυσμών)



Το παράδειγμα του θαλασσοπουλιού *Pterodroma heraldica* στον Ειρηνικό Ωκεανό

[Brooke & Rowe 1996 *Ibis* 138, 420-432 (02)]

Το είδος χαρακτηρίζεται από μορφολογική διαφοροποίηση (ανοικτόχρωμα και σκουρόχρωμα πουλιά), στην οποία δεν είχε δοθεί η απαραίτητη σημασία. Οι μορφολογικοί τύποι έχουν και ηθολογική διαφοροποίηση: τα σκουρόχρωμα ζευγαρώνουν με σκουρόχρωμα και τα ανοικτόχρωμα με ανοικτόχρωμα.

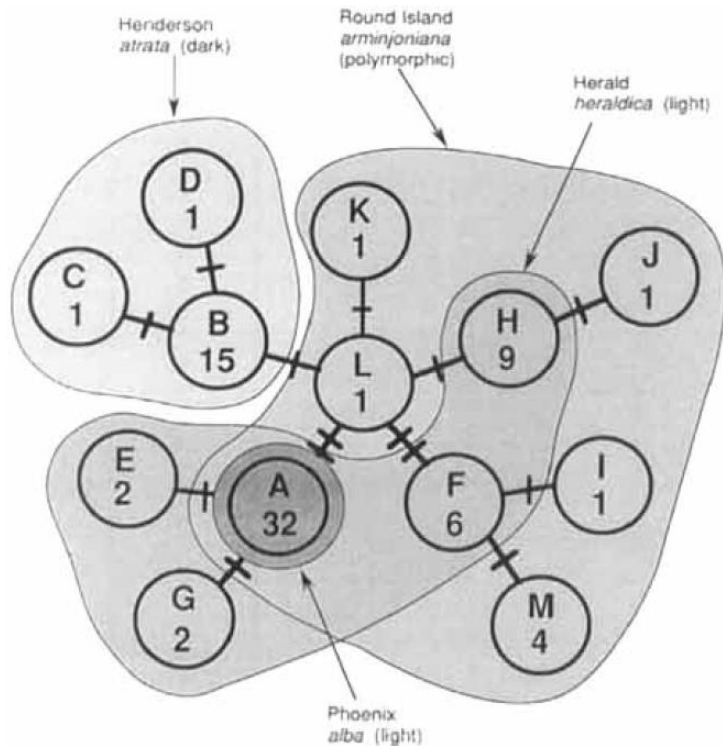
Είναι αυτό στοιχείο ότι πρόκειται για διακριτά τάξα;



Το παράδειγμα του θαλασσοπουλιού *Pterodroma heraldica* στον Ειρηνικό Ωκεανό

[Brooke & Rowe 1996 *Ibis* 138, 420-432 (02)]

Ανάλυση του μιτοχονδριακού γονιδίου του κυτοχρώματος β σε ένα μεγάλο αριθμό ατόμων και από τις δυο ομάδες πουλιών φανέρωσε 8 απλότυπους, οι οποίοι είναι μοναδικοί σε κάθε μορφή.



Τα mtDNA δεδομένα έδειξαν ότι έχουν δυο διακριτές ομάδες με αναπαραγωγική απομόνωση τα οποία πρέπει να διακριθούν σε επίπεδο είδους

Σήμερα:

P. heraldica ανοιχτόχρωμη μορφή

P. atrata σκουρόχρωμη μορφή

B, C,D: σκουρόχρωμη μορφή
A, E-H: ανοιχτόχρωμη μορφή

Υβριδισμός – Υβρίδια

Ορισμός: οργανισμοί που προέρχονται από τη διασταύρωση ατόμων που ανήκουν σε διαφορετικά είδη



Liger: Lion x Tiger = Λίγρης



Zonkey: Zebra x Donkey



Wholphin ή wolphin: female bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) x a male false killer whale (*Pseudorca crassidens*)



Jaglion

Υβριδισμός – Υβρίδια

Ως φαινόμενο έρχεται να περιπλέξει ακόμα περισσότερο την ταξινομική αναγνώριση.

Γενικά οι οργανισμοί διαφέρουν σημαντικά ως προς την ικανότητά τους να υβριδίζουν. Σε γενικές γραμμές είναι πιο συχνός στα φυτά από ότι στα ζώα!

Λόγω της σπανιότητάς τους, συνήθως δεν επηρεάζουν, όμως υπάρχουν ορισμένες εξαιρέσεις όπου τα υβρίδια είναι κοινά και συνεισφέρουν σημαντικά στις βιοκοινότητες!!

Υβριδισμός – Υβρίδια

Οι ζώνες υβριδισμού που δημιουργούνται από την υποχώρηση συγγενικών ειδών σε καταφύγια (λόγω παγετώνων), τα οποία ξανασυναντιούνται όταν επεκτείνουν τις κατανομές τους στις μεσωπαγετώδεις περιόδους

review article

The genetic legacy of the Quaternary ice ages

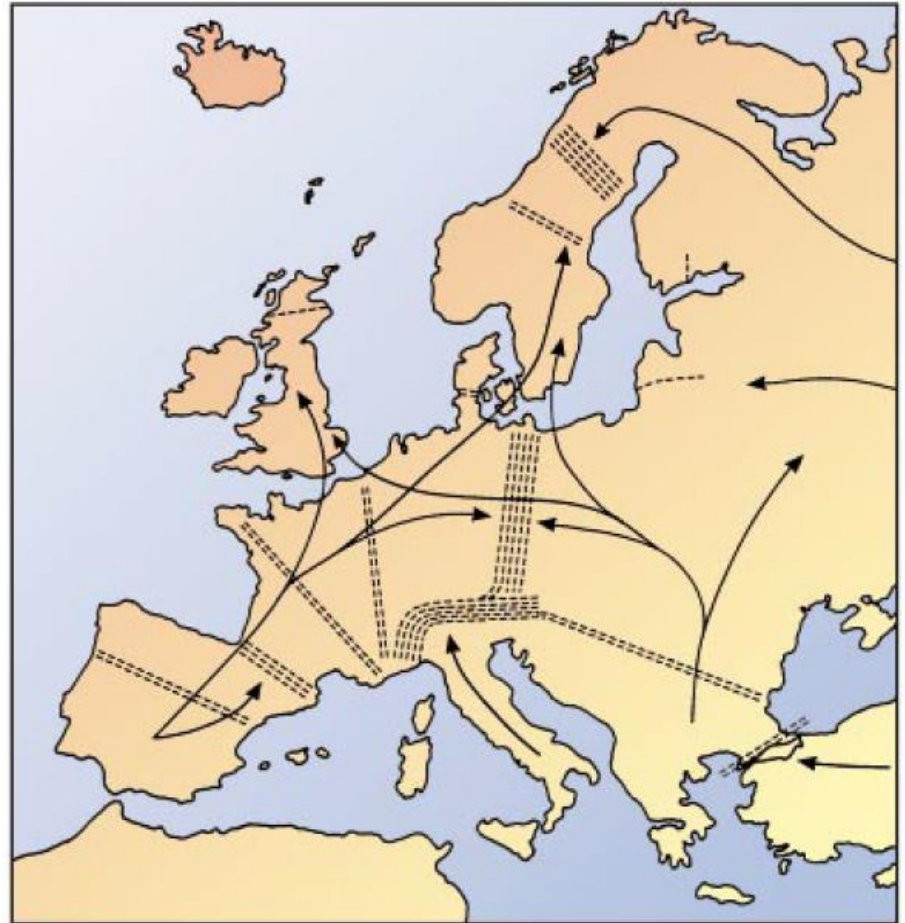
Godfrey Hewitt

School of Biological Sciences, University of East Anglia, Norwich NR4 7TJ, UK

Global climate has fluctuated greatly during the past three million years, leading to the recent major ice ages. An inescapable consequence for most living organisms is great changes in their distribution, which are expressed differently in boreal, temperate and tropical zones. Such range changes can be expected to have genetic consequences, and the advent of DNA technology provides most suitable markers to examine these. Several good data sets are now available, which provide tests of expectations, insights into species colonization and unexpected genetic subdivision and mixture of species. The genetic structure of human populations may be viewed in the same context. The present genetic structure of populations, species and communities has been mainly formed by Quaternary ice ages, and genetic, fossil and physical data combined can greatly help our understanding of how organisms were so affected.

[Hewitt 2000 *Nature* 405, 907-913 (03)]

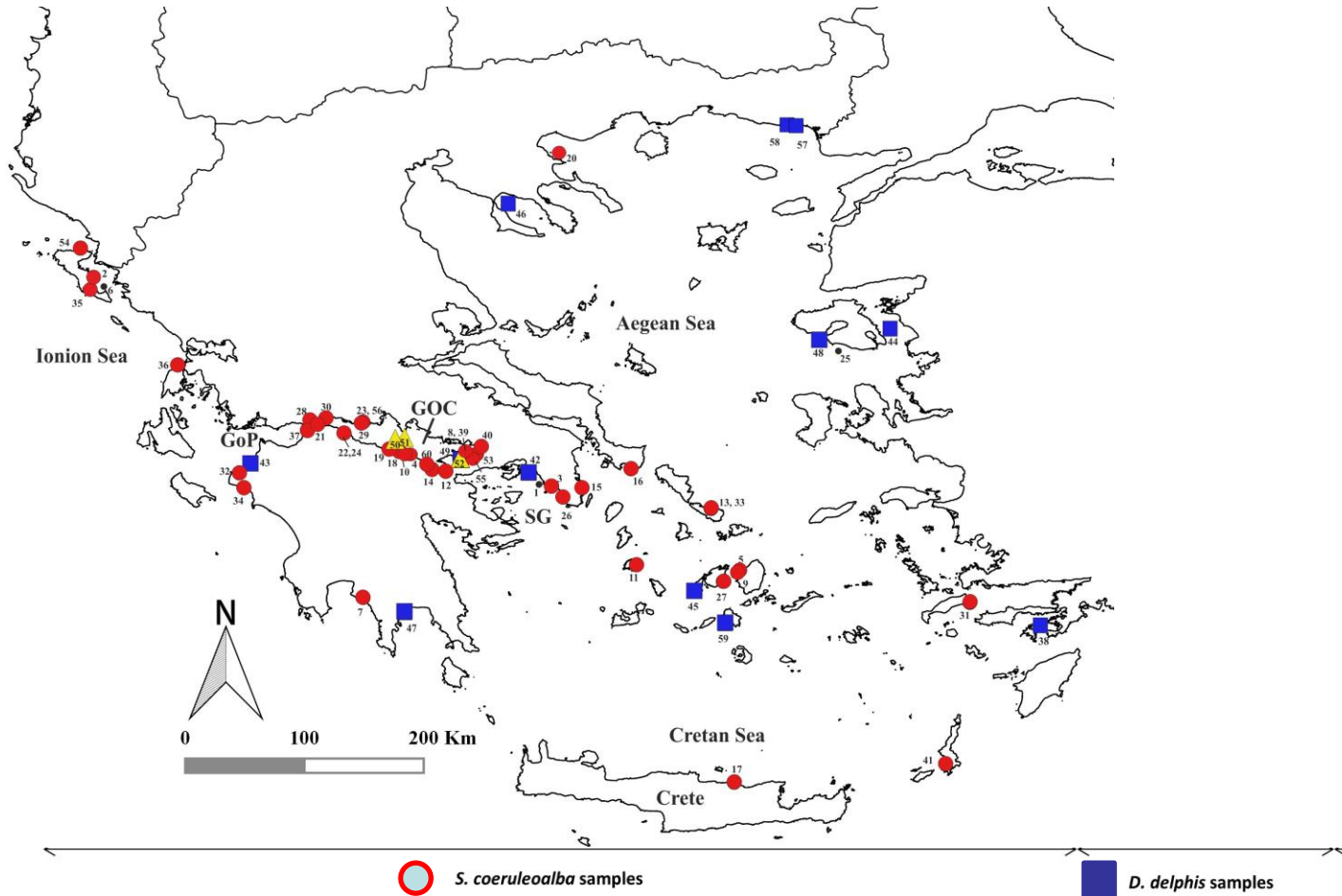
Αυτές οι περιοχές έχουν ιδιαίτερο εξελικτικό αλλά και οικολογικό ενδιαφέρον και έχουν περιγραφεί ως φυσικά πειράματα στα οποία είναι δυνατόν να μετρηθούν τα αποτελέσματα της επιλογής στη φύση



Υβριδισμός – Υβρίδια

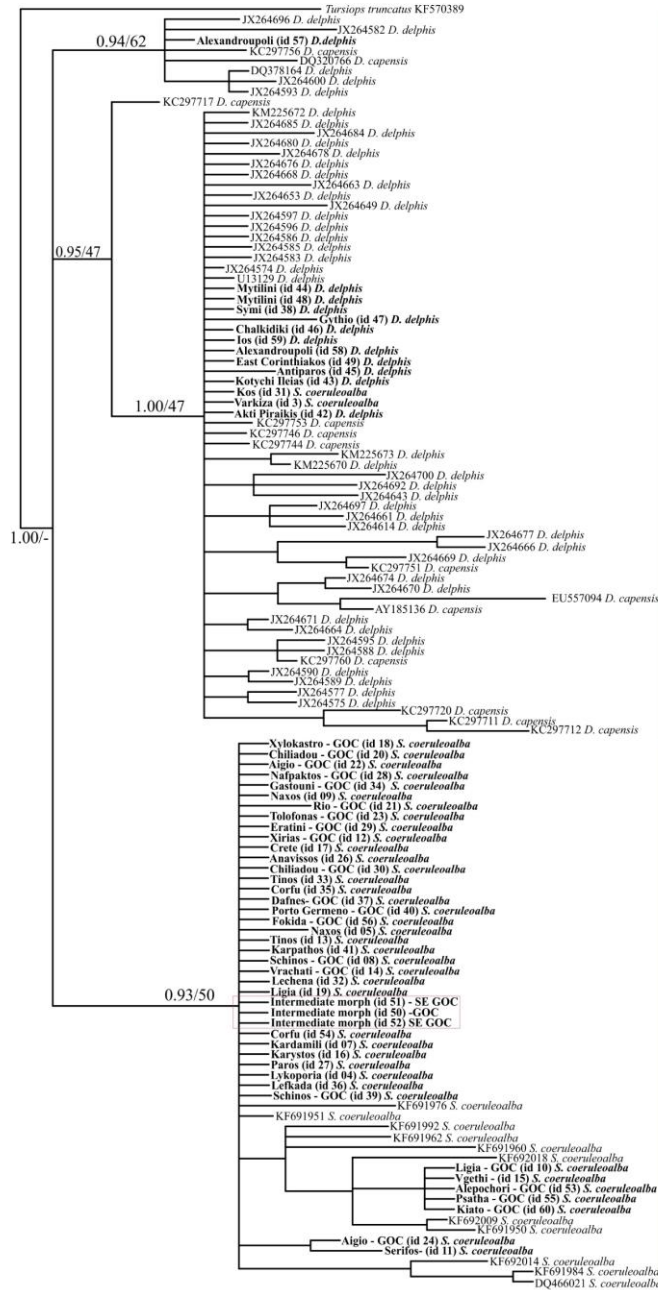
Υβριδισμός σε δελφίνια στο Αιγαίο (*Delphinus* και *Stenella*)

Μία από πολύ πρόσφατα αναγνωρισμένη περίπτωση υβριδισμού μεταξύ δελφινιών διαφορετικών γενών στον Κορινθιακό κόλπο (*Antoniou et al. 2018*)



Υβριδισμός – Υβρίδια

BI/ML



Delphinus delphis and *D. capensis*

Stenella coeruleoalba

Q-values: frequency of real samples

Υβριδισμός – Υβρίδια

Υβριδισμός στις μπομπίνες (*Bombina*)

Μία από τις πιο καλά μελετημένες ζώνες υβριδισμού είναι αυτή μεταξύ δυο ειδών μπομπίνων (*Bombina bombina* & *B. variegata*) στην ανατολική Ευρώπη



Τα είδη αυτά μοιράζονται έναν πιο πρόσφατο κοινό πρόγονο ο οποίος έζησε πριν από 4 εκ. χρόνια και πιθανά επιβίωσαν σε ξεχωριστά καταφύγια κατά τη διάρκεια των πρόσφατων Παγετώνων του Πλειστοκαίνου.

Υβριδισμός – Υβρίδια

Εμφανίζουν μορφολογικές διαφορές:

- Αν και συγγενικά και σχετικά όμοια σε σχήμα και μέγεθος, διαφέρουν μορφολογικά στο χρώμα της κοιλιάς, στο μέγεθος των στιγμάτων, στο πάχος της επιδερμίδας και στη ευρωστία του σκελετού τους.

Εμφανίζουν και οικολογικές διαφορές:

- *B. bombina* ζει σε χαμηλά υψόμετρα, σε ρηχές αλλά με σχετικά μόνιμο νερό λιμνούλες. Γεννάει μικρότερα αυγά και έχει μεγαλύτερη προνυμφική περίοδο.
- *B. variegata* ζει σε πολύ ρηχές λίμνες σε μεγάλα υψόμετρα

Τα αρσενικά έχουν διακριτά κοάσματα! [*Nurnberger et al. 1995 Evolution 49(6), 1224-1238 (04)*]

Υβριδισμός – Υβρίδια

[Nurnberger et al. 1995 Evolution 49(6), 1224-1238 (04)]

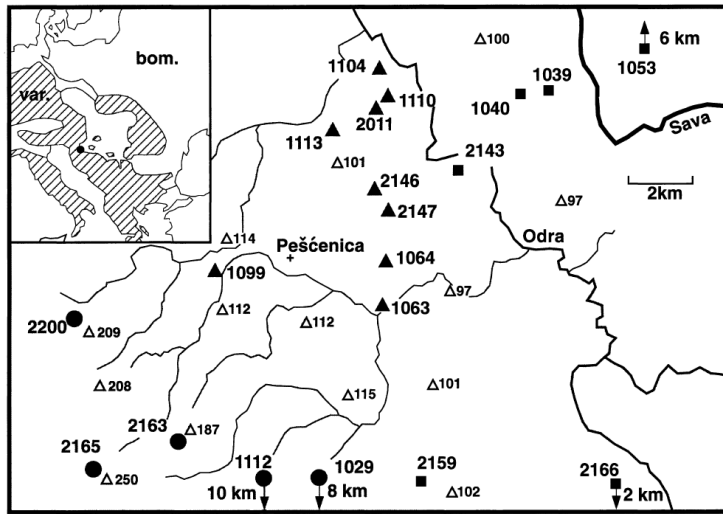
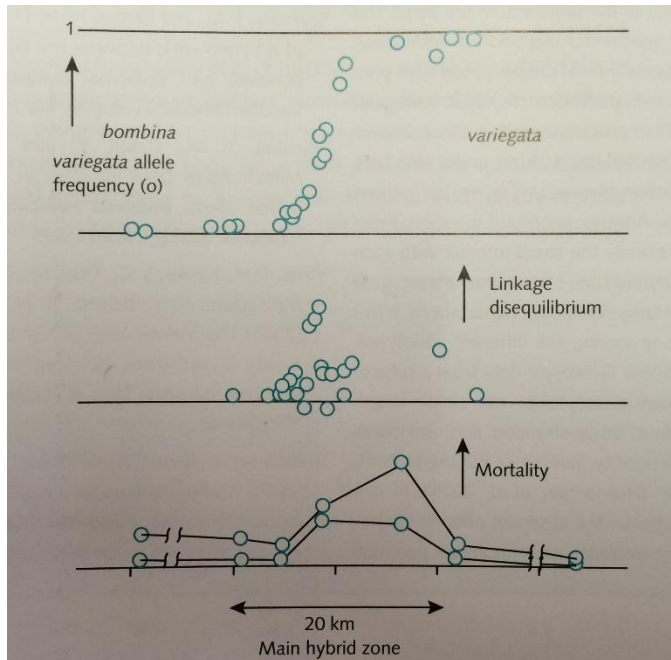


FIG. 1. Map of the Peščenica transect with sampling locations. Different symbols are used for the three categories: ● *variegata*, ▲ hybrid, and ■ *bombina*. The mean frequency of *variegata* alleles and estimates of F_{ST} and D are given in table 1. The numbers next to small open triangles give elevations in meters. Shaded areas represent forest. The inset (redrawn after Szymura and Barton 1986) shows the distribution of the two taxa in central and Eastern Europe; Peščenica is indicated by a filled circle.

Τα δύο είδη υβριδίζουν στην ανατολική Ευρώπη (εδώ Κροατία).

Μελέτη με την ανάλυση αλλοενζύμων.

Οι πατρικοί πληθυσμοί (είδη), μακριά από τη ζώνη υβριδισμού (200 km πλάτος), έχουν διαφορετικά αλληλόμορφα, τα οποία όμως εμφανίζονται και στη ζώνη αυτή, με τη συχνότητά τους να μειώνεται καθώς περνάμε από το ένα είδος στο άλλο



Ανισορροπία Σύνδεσης (Linkage disequilibrium)
η εμφάνιση ορισμένων συνδυασμών αλληλομόρφων ή δεικτών σε ένα πληθυσμό πιο συχνά ή λιγότερο συχνά σε σχέση με το τι θα περιμέναμε από ένα τυχαίο συνδυασμό αυτών των αλληλομόρφων γονοτύπων βάσει των συχνοτήτων τους

Υβριδισμός – Υβρίδια

[Szymura et al. 2000 *Molecular Ecology* 9, 891-899 (05)]

Molecular Ecology (2000) 9, 891–899

Mitochondrial DNA variation in the hybridizing fire-bellied toads, *Bombina bombina* and *B. variegata*

J. M. SZYMURA, T. UZZELL and C. SPOLSKY

The Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 1900 Benjamin Franklin Parkway, Philadelphia, PA 19103–1195, USA

RFLPs στο μιτοχονδριακό DNA με 5 περιοριστικά ένζυμα

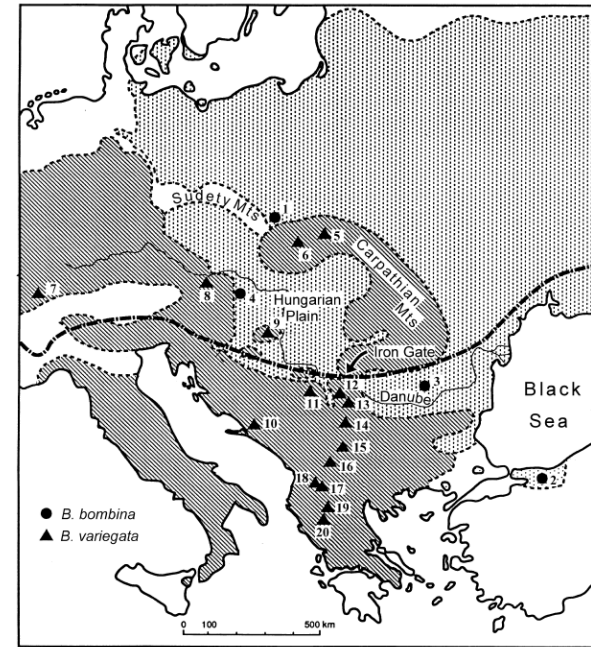


Fig. 1 Distribution of *Bombina bombina* and *B. variegata* in Europe and location of samples. The thick broken line indicates the southern margin of permafrost during the last glacial maximum.

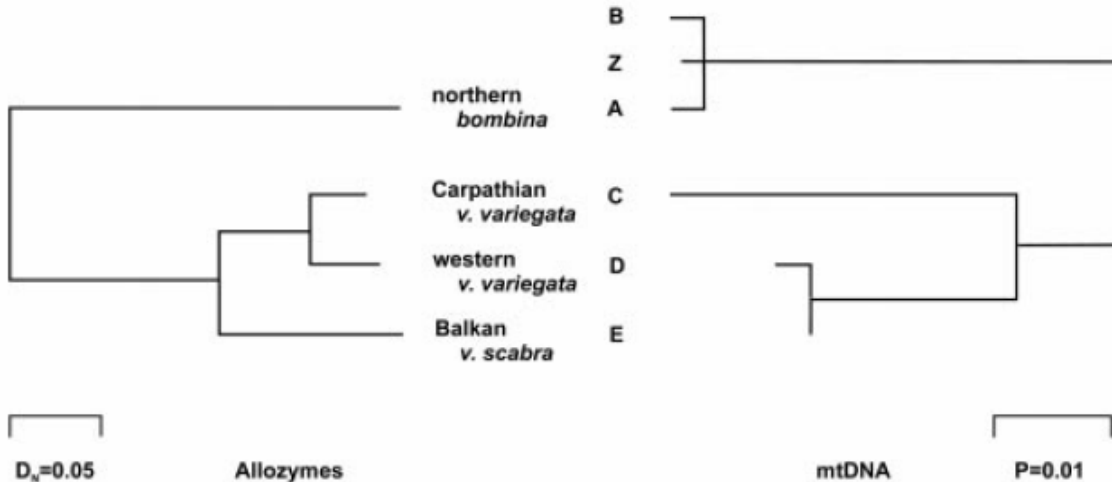


Fig. 2 Maximum likelihood trees obtained using FITCH in Felsenstein's PHYLIP 3.57 for mitochondrial DNA (mtDNA) and allozymes in *Bombina*. Phenograms are based on sequence similarity of mtDNA haplotypes (p) and Nei's *D* calculated from 29 loci studied in *B. bombina* and representative populations of *B. variegata* from the Carpathian, western and Balkan groups. The trees were rooted at the midpoint of the longest path.

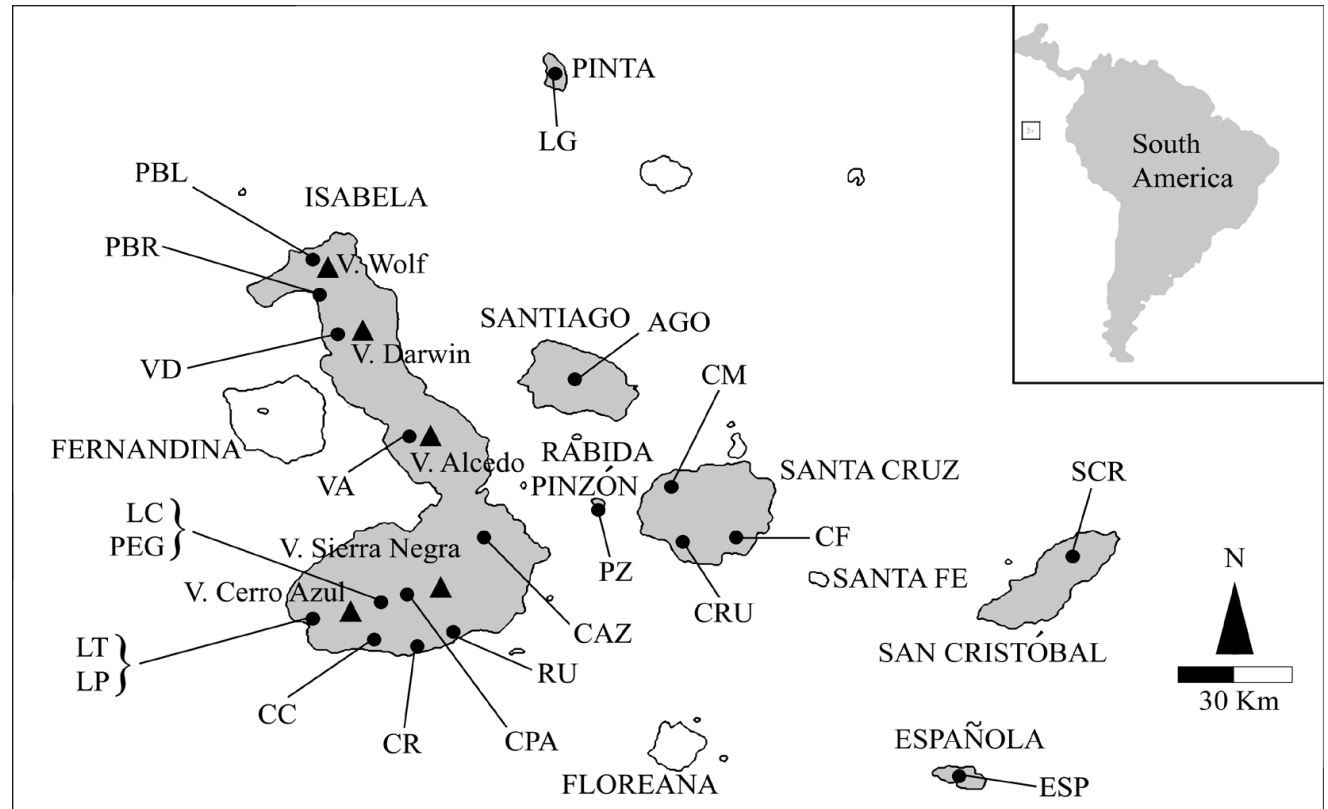
Little or no mtDNA introgression between the species has occurred outside the narrow hybrid zones that separate these parapatric species

Γιγάντιες χελώνες των Galápagos (*Chelonoidis* spp.)

[Poulakakis et al. 2008 PNAS 105(40), 15464–15469 (06)]

Παραμένουν τρωτές σε όλη την έκταση της κατανομής τους (IUCN 2006). Πληθυσμοί τους εντοπίζονται σε 6 νησιά

- Isabela
- Santiago
- Pinzon
- Santa Cruz
- Española
- San Cristobal



Σήμερα

- 14 taxa έχουν προσδιοριστεί (είδη ή υποείδη)
- 11 αρτίγωνα taxa (απειλούμενα από τον άνθρωπο)

Η τρέχουσα ταξινομική βασίζεται σε μορφολογικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών (σχήμα χέλιου)

Ποικιλομορφία χέλιου (καβούκι)



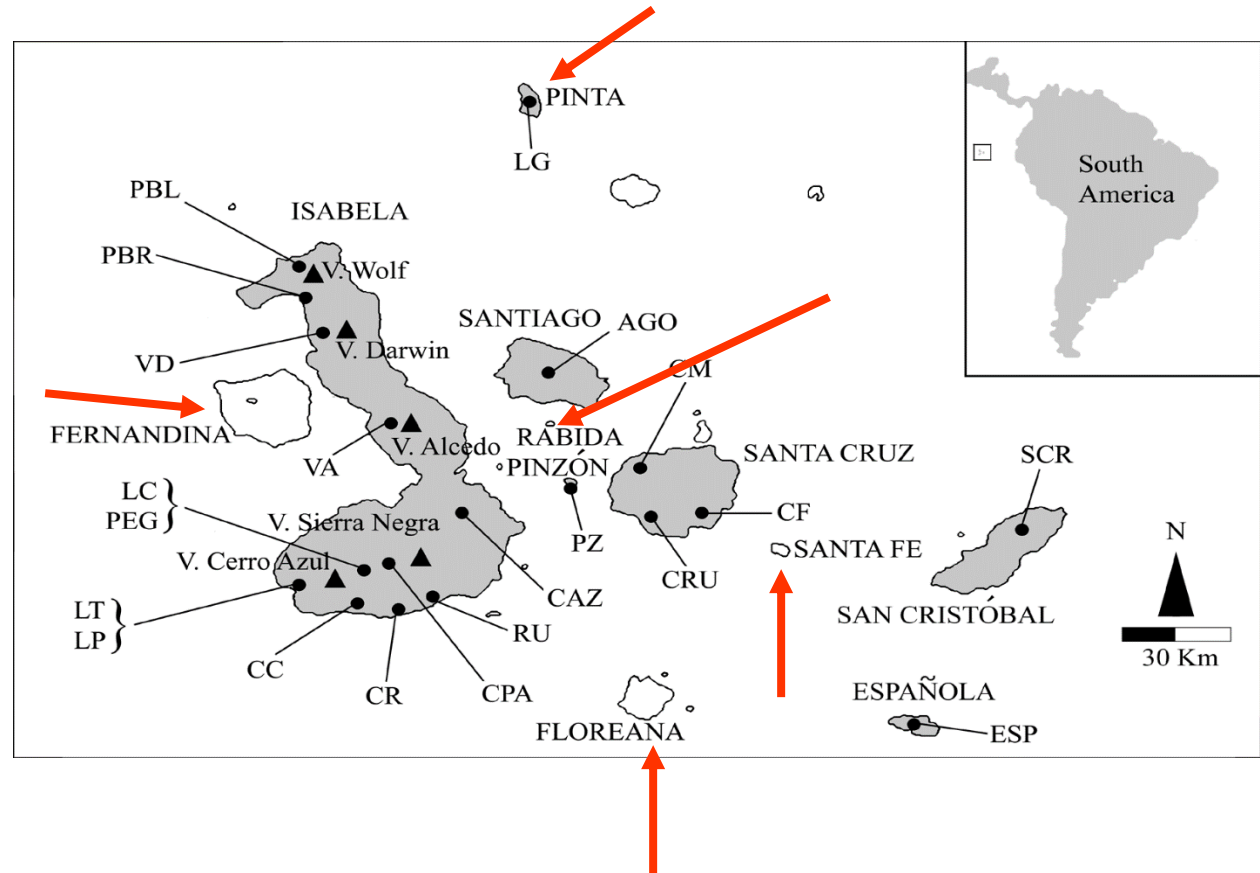
Σχήμα σέλας (Saddle back)



Σχήμα θόλου (Dome)

Ο προσδιορισμός της εξελικτικής προέλευσης και η κατανόηση της ιστορίας των 5 εξαφανισμένων πληθυσμών (μουσειακά δείγματα)

- Floreana
- Santa Fe
- Fernandina
- Rabida
- Pinta



Με τη χρήση:

- αλληλουχιών mtDNA (περιοχή ελέγχου, CR) και
- μικροδορυφορικών πυρηνικών τόπων (10)

Δεδομένα mtDNA

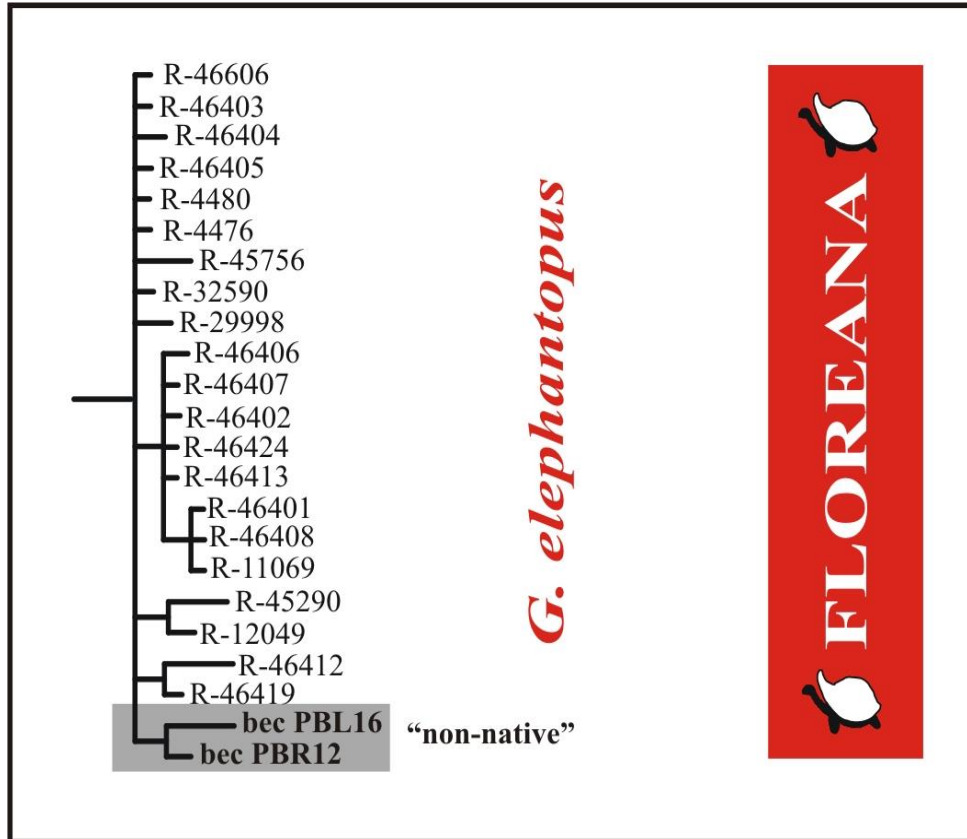
PBL16 και PBR12

“Alien” ή “non-native” ή
αλλόχθονα άτομα

(13 άτομα)

Διαφέρουν κατά

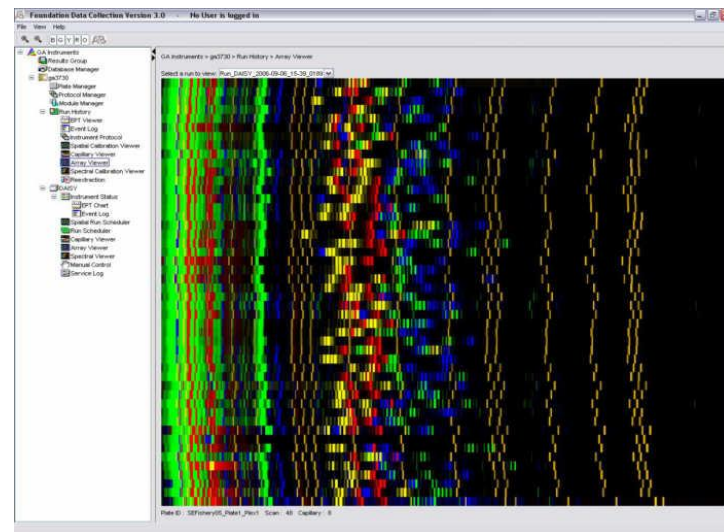
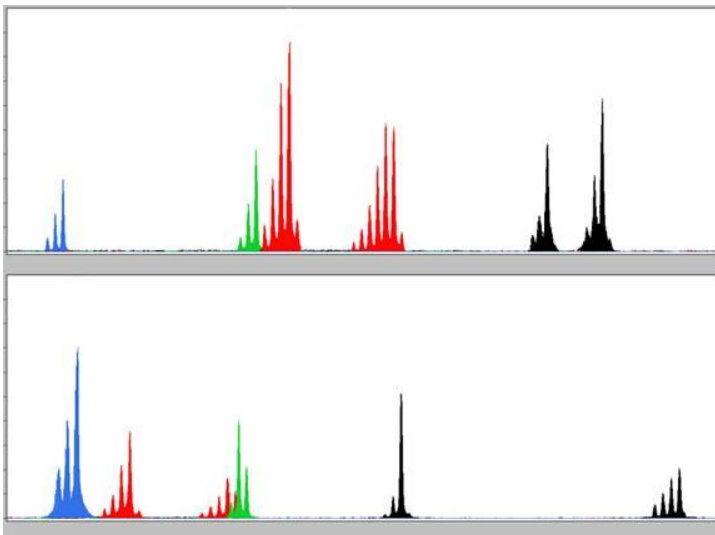
- 17-32 νουκλεοτιδικές υποκαταστάσεις από τα υπόλοιπα άτομα του νησιού Isabela,
- 2-9 υποκαταστάσεις από τους απλότυπους του κλάδου της Floreana.



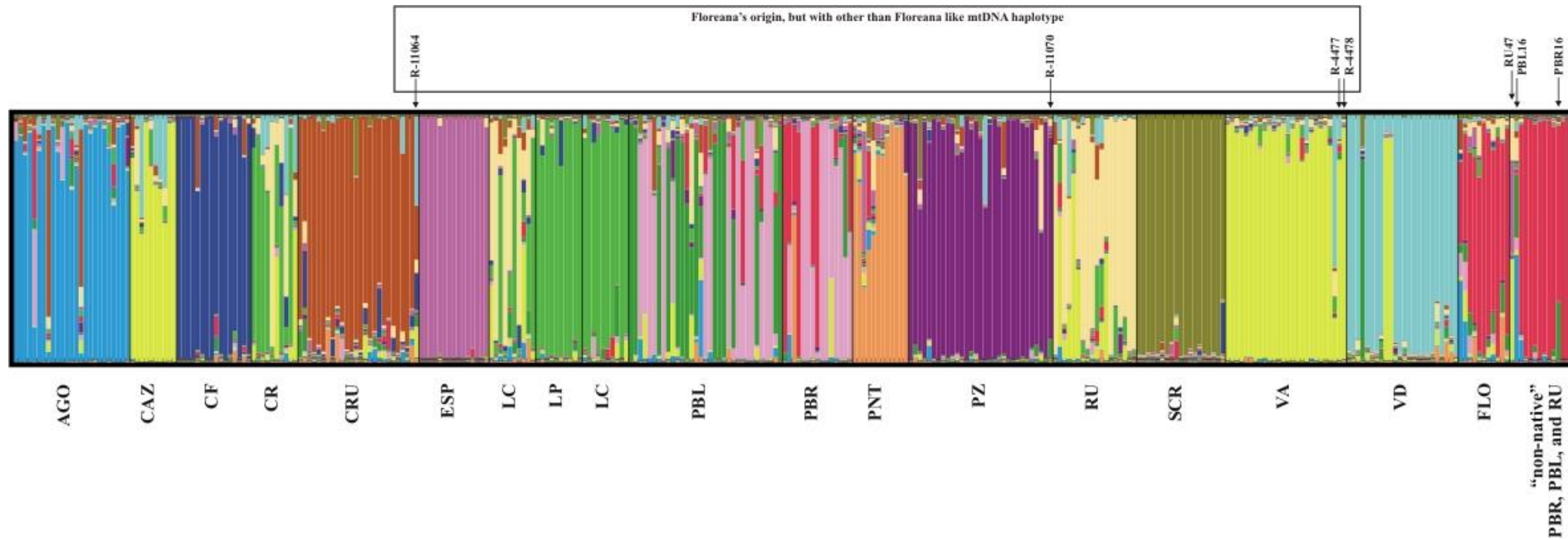
Δεδομένα nDNA

Περαιτέρω διερεύνηση της εξελικτικής ιστορίας της Floreana και των αλλόθρονων (“non-native”) ατόμων μέσω της ανάλυσης της ποικιλότητας 10 ειδικών για το είδος μικροδορυφορικών τόπων.

Σύγκριση με γενετική βάση που περιλαμβάνει 336 άτομα όλων των αρτίγονων πληθυσμών των γιγάντιων χελωνών των Galápagos.



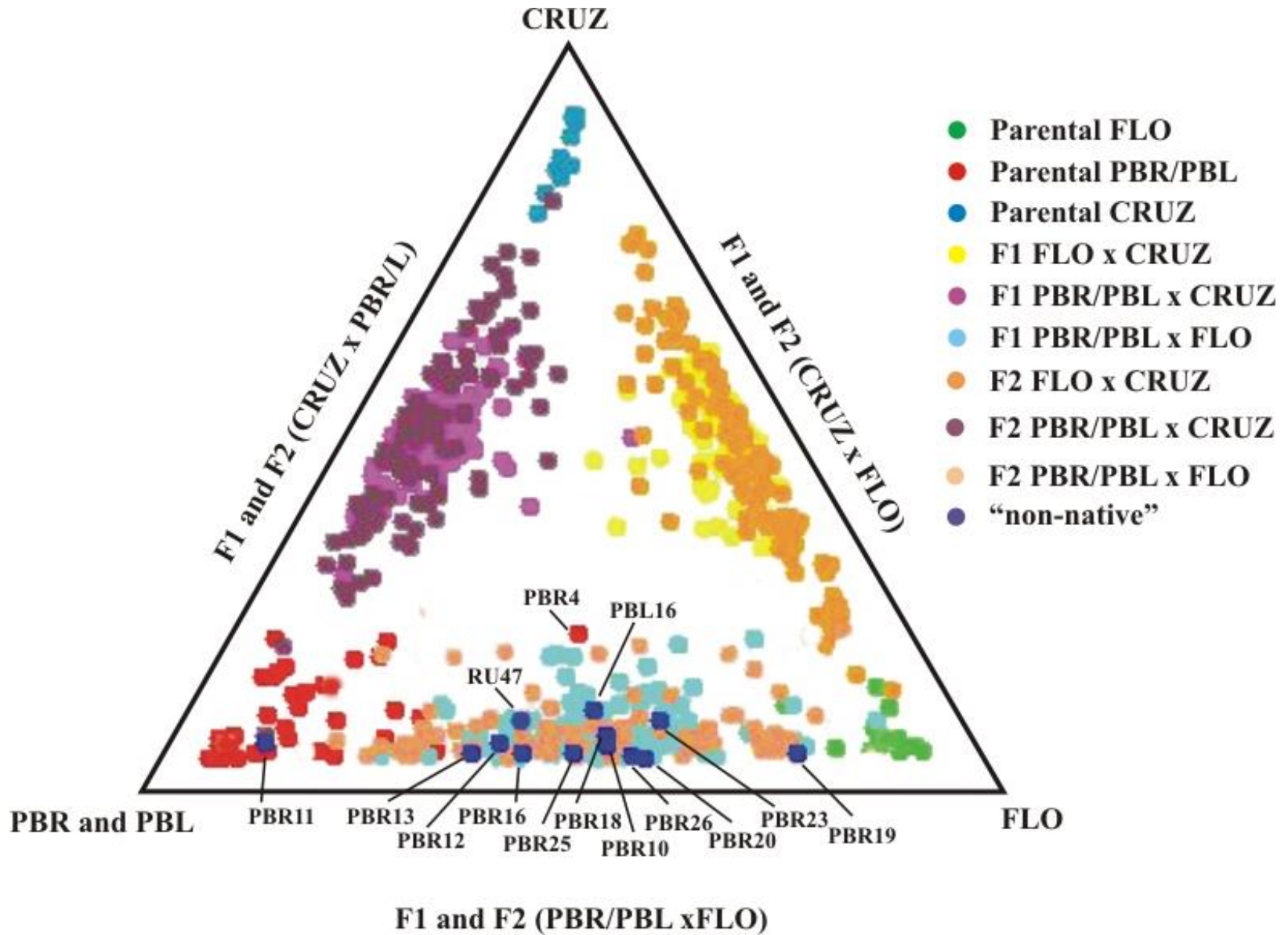
Bayesian ανάλυση συνάθροισης (STRUCTURE) αποκάλυψε K=14
ως τον «αληθινό» αριθμό ομάδων



11 από τα 13 αλλόχθονα
άτομα της Isabela δείχνουν
ισχυρή συσχέτιση με τα
άτομα της Floreana

παράμετρος q (συντελεστής συμμετοχής,
membership coefficient) = 0.706-0.967

Δεδομένα nDNA



Μιτοχονδριακό και πυρηνικό DNA

Τα δεδομένα του μιτοχονδριακού και πυρηνικού DNA εισηγούνται την υβριδική προέλευση των αλλόχθονων ατόμων της Isabela.

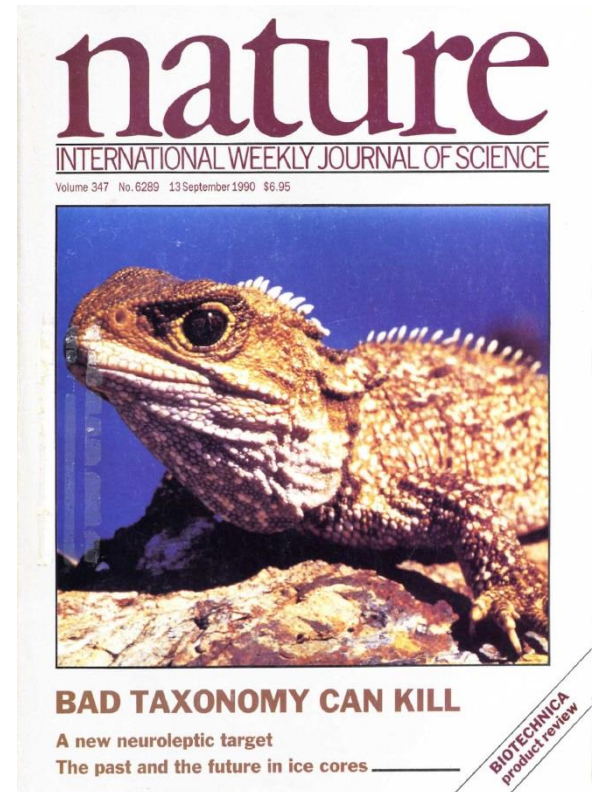
Απόγονοι ενός γεγονότος υβριδισμού μεταξύ αυτόχθονων ατόμων της Floreana και της Isabela.

Πληθυσμοί PBR και PBL

- Διατηρούν μορφολογία saddlebacked
- 40% του PBR έχουν μικτή γενεαλογία
- εκτιμώμενο πληθυσμιακό μέγεθος (1000-2000)

Σημαντική πηγή ατόμων σε ένα πρόγραμμα διασταυρώσεων, όπου επιλεγμένες διασταυρώσεις μπορεί να συμβάλουν στην «επαναφορά» της γενετικής ακεραιότητας του εξαφανισμένου πληθυσμού της Floreana

Ο πληθυσμός PBR απαιτεί επανεξέταση της ταξινομικής του κατάστασης και άμεση διαχειριστική προσοχή, αφού η τρέχουσα ταξινομική είναι λάθος και αν βασιστούμε σε αυτή μπορεί να οδηγήσουμε σε ολοκληρωτική εξαφάνιση της γενεαλογίας της Floreana. Με άλλα λόγια...**Η ΛΑΝΘΑΣΜΕΝΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΣΚΟΤΩΝΕΙ!!!**



DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

Μπορεί να υπάρχει μια καθολικά εφαρμόσιμη μέθοδος με τη χρήση γενετικών δεικτών για την αναγνώριση ειδών;



[Hebert et al. 2003 Proc R Soc London 270(1512), 313-321 (07)]

[Hebert et al. 2003 Proc R Soc London 270, S96-S99 (08)]

 THE ROYAL
SOCIETY

Received 29 July 2002
Accepted 30 September 2002
Published online 8 January 2003

Biological identifications through DNA barcodes

Paul D. N. Hebert*, Alina Cywinska, Shelley L. Ball
and Jeremy R. deWaard

Department of Zoology, University of Guelph, Guelph, Ontario N1G 2W1, Canada



THE ROYAL
SOCIETY

biology
letters

Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species

Paul D. N. Hebert*, Sujeewan Ratnasingham
and Jeremy R. deWaard

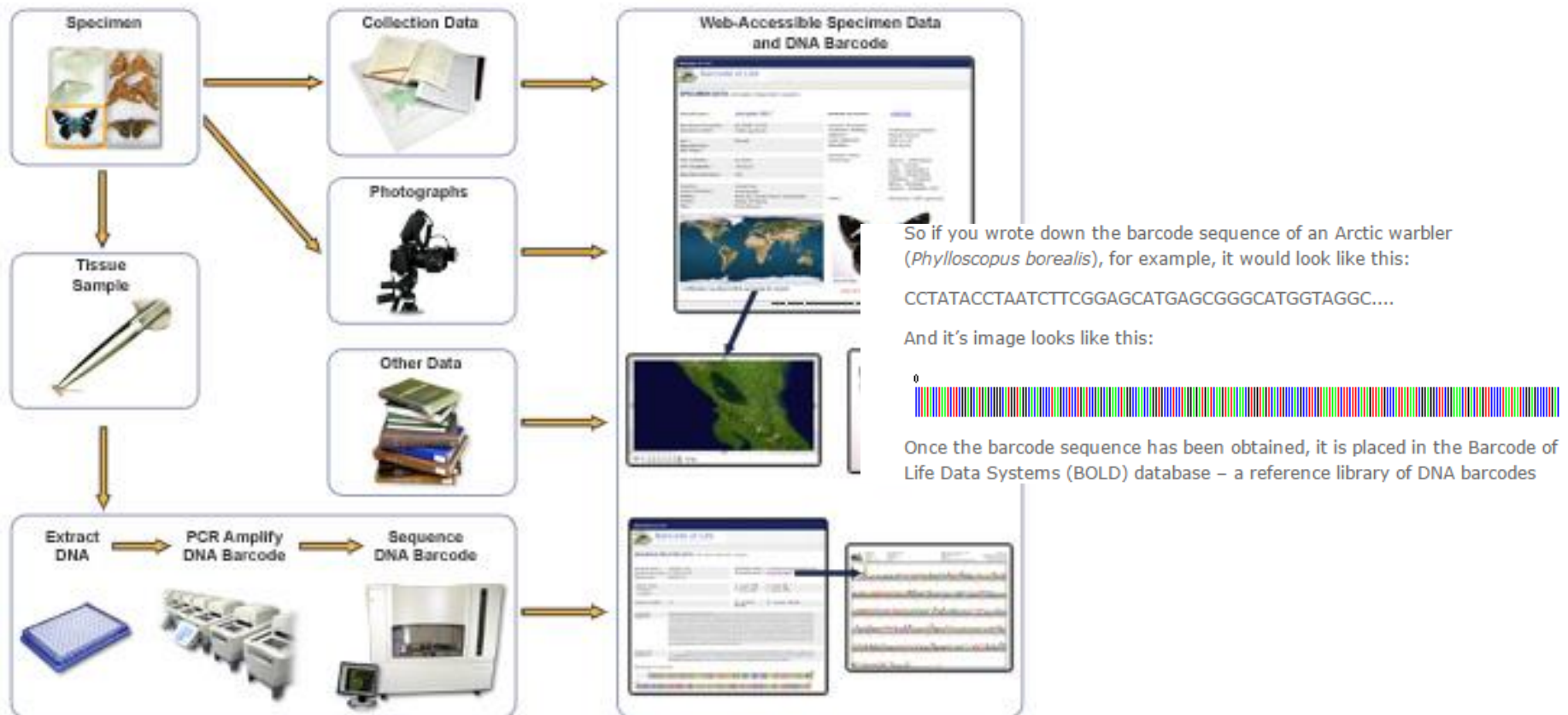
*Department of Zoology, University of Guelph, Guelph,
Ontario N1G 2W1, Canada*

* Author for correspondence (phebert@uoguelph.ca).

DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

Η διεθνής σύμβαση «Barcoding Life» προτείνει την αλληλούχιση 648 ζευγών βάσεων του μιτοχονδριακού γονιδίου της κυτοχρωμικής οξειδάσης I (COI) για κάθε είδος και υποστηρίζει πως αυτές οι αλληλουχίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση των ειδών.

(<http://www.barcodeoflife.org/>)



DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

<http://www.barcodeoflife.org/>

Barcode of Life

Identifying Species with DNA Barcoding

[About](#) [Community](#) [Resources](#) [Events](#) [Partners](#) [News](#)



New to DNA Barcoding?

Get an introductory overview here.

1 of 4

PUBLICATIONS

OBSERVATIONS ON AN IRRUPTION EVENT OF THE MOTH ACHAEA CATOICALOIDES (LEPIDOPTERA: EREBIDAE) AT KAKAMEGA FOREST, KENYA
Martins, D.J.; Miller, S.E.; Cords, M.; Hirschauer, M.T. and Goodale, C.B., 103(1): 31–38, Apr 6 2014, *Journal of East African Natural History*

The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy
Guillou L, Bachar D, Audic S, Bass D, Berney C, Bittner L, Boutte C, Burgaud G, de Vargas C, Decelle J, Del Campo J, Dolan JR, Dunthorn M, Edvardsen B, Hotzmann M, Koolstra WH, Lara E, Le Becoq N, Logares R, Mahé F, Massana R, Montresor M, Morard R, Not F, Pawlowski J, Probert I, Sauvadel AL, Siano R, Stoeck T, Vaulot D, Zimmermann P, Christen R., 40 (2), Nov 27 2012, *Nucleic Acids Research*

The Chaperonin-60 Universal Target Is a Barcode for Bacteria That Enables De Novo Assembly of Metagenomic Sequence Data
Links MG, Dumonceaux TJ, Hemmings SM, Hill JE, 7(1):e49755, Nov 26 2012, *PLoS One*

[VIEW ALL](#)

UPCOMING EVENTS

There are no upcoming events. Revisit [past events](#) here.

[VIEW ALL](#)

RECENT ACTIVITY


Dirk Steinke posted blog posts [Barcode blog: Discoveries of the week #26Barcode blog: From hickory to walnut](#)
19 hours ago

Dirk Steinke posted a blog post [Barcode blog: LEGO® in the lab http://dna-barcoding.blogspot.ca/2015/02/lego-in-lab.html?see=More](#)
3 days ago

Dirk Steinke posted blog posts [Barcode blog: Herbal supplements under suspicionBlog: Handheld sensor for fish identificationBarcode blog: Discoveries of the week #25](#)
5 days ago

[VIEW ALL](#)

<http://ibol.org/>



The screenshot shows the IBOL website with a green header and a navigation menu. The main content area features a large image of white flowers and a section titled "What is DNA Barcoding?" with a sub-heading "How DNA Barcoding Works and What it Will Do". Below this, there is a detailed article about DNA barcoding, including a section on "The Barcode Production Pipeline". A sidebar on the right contains "News", "Events", "Features", and "For Enthusiasts" sections, each with a "Read more" button.

What is DNA Barcoding?

How DNA Barcoding Works and What it Will Do

What is DNA Barcoding?
DNA barcoding first came to the attention of the scientific community in 2003 when Paul Hebert's research group at the University of Guelph published a paper titled "Biological identifications through DNA barcodes". In it, they proposed a new system of species identification and discovery using a short section of DNA from a standardized region of the genome. That DNA sequence can be used to identify different species, in the same way a supermarket scanner uses the familiar black stripes of the UPC barcode to identify your purchases.

The gene region that is being used for almost all animal groups, a 648 base-pair region in the mitochondrial cytochrome c oxidase 1 gene ("CO1"), is proving highly effective in identifying birds, butterflies, fish, flies and many other animal groups. The advantage of using COI is that it is short enough to be sequenced quickly and cheaply yet long enough to identify variations among species.

The COI barcode is not effective for identifying plants because it evolves too slowly, but two gene regions in the chloroplast, *matK* and *rbcL*, have been approved as the barcode regions for land plants.

The Barcode Production Pipeline
Species identification using DNA barcodes starts with the specimen. Barcoding projects obtain specimens from a variety of sources. Some are collected in the field, others come from the vast collections housed in natural history museums, zoos, botanical gardens and seed banks to name a few.

In the laboratory, technicians use a tiny piece of tissue from the specimen to extract its DNA. The barcode region is isolated, replicated using a process...

News
Changes announced at IBOL: Governance streamlined; cost recovery for sequencing Recent ... [Read more](#)

Enviro Outreach 2012 targets invasive species
Toyota expedition's third barcode blitz in South Africa... [Read more](#)

Events

Features
For Scientists
Darwin's butterflies? [Read more](#)

For Enthusiasts
Beauty on the front porch [Read more](#)

DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

Sus scrofa breed Swedish wild boar mitochondrion, partial genome

GenBank: AF304203.1

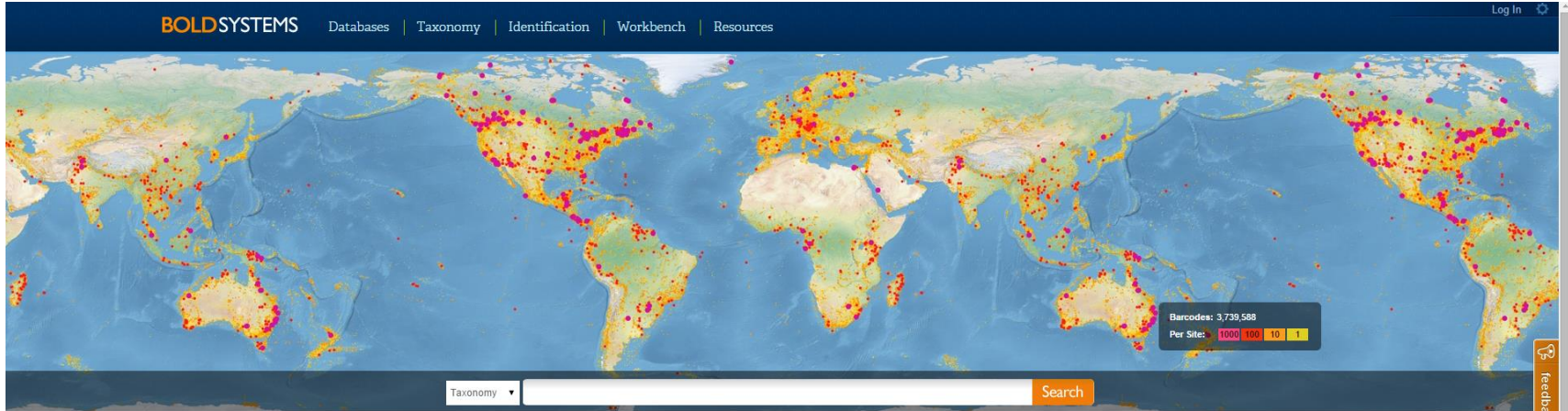
GenBank Graphics

>gb|AF304203.1|:5269-6813 *Sus scrofa* breed Swedish wild boar mitochondrion, partial genome

```
ATGTTTCGTAAATCGTTGACTATACTCAACAAACCACAAAGACATCGGCACCCTGTACCTACTATTTGGTGCCTGAGCAGGAATAGTGGGCACTGCCT
TGAGCCTACTAATTCGCGCTGAAGTACAGTCCGCGGAAACCCTACTTGGCGATGATCAAATCTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCCTTTGTAAT
AATCTTCTTTATAGTAATACCCATTATGATTGGGGGTTTTGGTAACTGACTCGTACCGCTAATAATCGGAGCTCCCGATATGGCCTTTCCACGTATA
AACAAACATAAGTTTCTGACTACTTCCACCATCCTTCCTATTACTTCTGGCATCCTCAATAGTAGAAGCCGGAGCGGGTACTGGATGAACTGTATACC
CACCTTTAGCTGGAAACTTAGCCCATGCAGGGGCTTCAGTTGATTTAACAAATTTTCTCCCTACACCTTGCAGGTGTATCATCAATCCTAGGGGCTAT
TAATTTCAATTACCACAATTATTAACATAAAAACCCCCGCAATGTCTCAATACCAAACACCCCTGTTTGTCTGATCAGTACTAATCACAGCCGTACTA
CTTCTACTATCCCTGCCAGTTCTAGCAGCTGGCATTACTATACTACTGACAGACCGCAACCTGAACACAACCTTTTTTTGATCCAGCAGGTGGTGGAG
ACCCTATCCTTTATCAACACTTGTCTGATTTTTCGGACACCCAGAAGTATACATTCTCATCTTACCAGGATTCGGAATAATCTCCCACATTGTAAC
CTACTATTCAGGTAAGAAAGAACCAATTTGGATATATAGGCATAGTATGAGCCATAATGTCCATTGGATTCTTAGGTTTTATTGTATGGGCTCACCAC
ATATTCACCGTAGGAATAGACGTAGATACCCGAGCATACTTTACATCTGCTACAATAATCATTGCTATTCCCCTGGAGTAAAGTATTTAGTTGAT
TAGCTACCCTGCACGGCGGCAATATTAATGATCACCCGCAATACTATGAGCTCTGGGCTTCATCTTCCTATTCCCGTAGGAGGTCTAACGGGCAT
TGTACTAGCTAATTCCTCCCTAGACATTGTATTACATGATACATATTATGTAGTCGCACACTTCCACTATGTCTTATCTATAGGAGCAGTGTTCGCC
ATTATAGGGGGCTTTGTTCACTGATTCCCCCTATTCTCCGGGTACACACTCAACCAAGCATGAGCAAAAATTCACCTTTGTAATCATATTCGTAGGAG
TAAATATAACATTCCTTCCACAACACTTTCTAGGACTATCCGGAATACCTCGACGATACTCCGATTATCCTGACGCATACACAGCATGAAATACTAT
TTCCTCAATAGGCTCATTTCATCTCACTAACAGCAGTGATATTAATAATCTTCATTATCTGAGAAGCATTTCGCATCAAAACGAGAAGTATCTGCAGTA
GAACTGACAAGCACAAACCTAGAATGACTACACGGATGTCTCCTCCCTATCACACATTTGAAGAACCAACATATATCAACCTAAAATAA
```

DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

<http://www.barcodinglife.org/>



Public Data Portal:

A data retrieval interface that allows for searching over 1.7M public records in BOLD using multiple search criteria including, but not limited to, geography, taxonomy, and depository.



Barcode Index Numbers:

A searchable database of Barcode Index Numbers (BINs), sequence clusters that closely approximate species.



DNA Barcode Education Portal:

A custom platform for educators and students to explore barcode data and contribute novel barcodes to the BOLD database.



Workbench:

An integrated data collection and analysis environment that securely supports the assembly and validation of DNA barcodes and ancillary sequences.

The Barcode of Life Data Systems is designed to support the generation and application of DNA barcode data. The platform consists of four main modules: a data portal, a database of barcode clusters, an educational portal, and a data collection workbench.

DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

[Ball et al. 2005 *J. N. Am. Benthol. Soc.* 24(3), 508–524 (09)]

J. N. Am. Benthol. Soc., 2005, 24(3):508–524
© 2005 by The North American Benthological Society

Biological identifications of mayflies (Ephemeroptera) using DNA barcodes

SHELLEY L. BALL¹ AND PAUL D. N. HEBERT²

Department of Zoology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada N1G 2W1

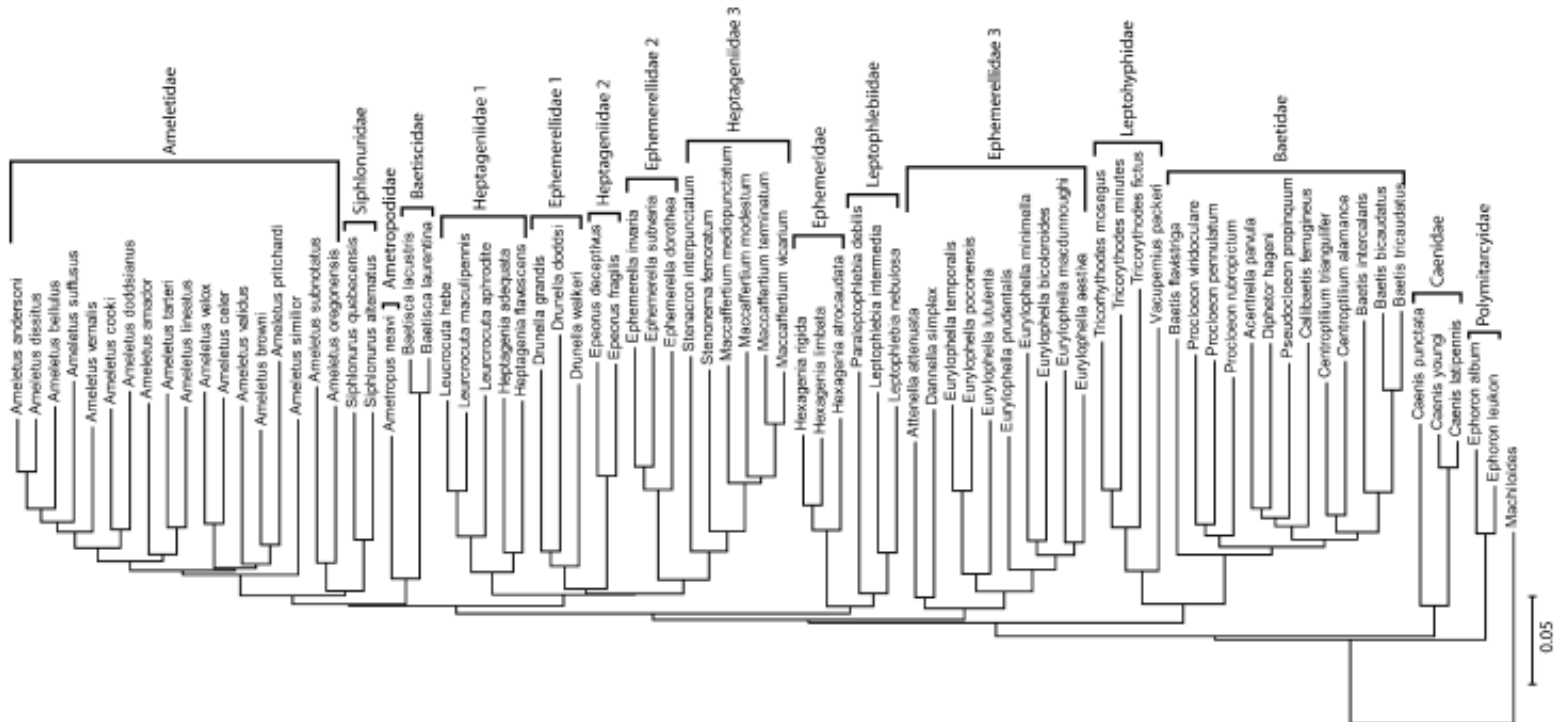
STEVEN K. BURIAN³

Department of Biology, Southern Connecticut State University, New Haven, Connecticut 06515 USA

JEFFREY M. WEBB⁴

Department of Entomology, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47907-2089 USA

Η αξία του DNA barcode φάνηκε στη περίπτωση των μυγών, για τις οποίες η αναγνώριση ακόμα και σε ενήλικο στάδιο είναι πολύ δύσκολη (απαιτεί εξαιρετικά έμπειρους και ειδικούς εντομολόγους)



DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

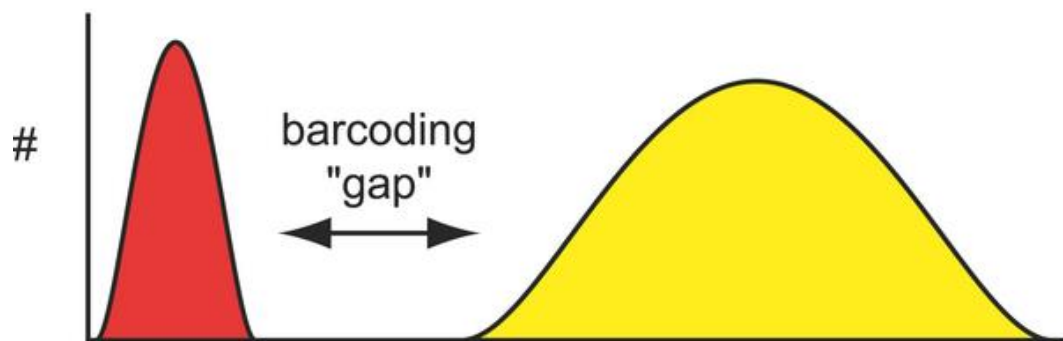
Βασική προϋπόθεση είναι για το δείκτη(ες) που έχει(ουν) επιλεγεί, η διαειδική διαφοροποίηση να είναι πάντα μεγαλύτερη από την αντίστοιχη ενδοειδική!!

Ισχύει όμως;

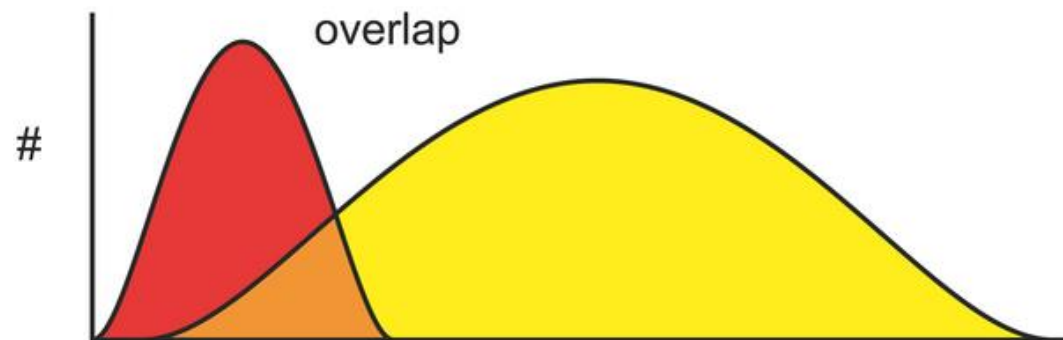
DNA barcoding: προς μια καταγραφή της ζωής

Βασική προϋπόθεση είναι για το δείκτη(ες) που έχουν επιλεγεί, η διαειδική διαφοροποίηση να είναι πάντα μεγαλύτερη από την αντίστοιχη ενδοειδική!!

■ intraspecific/
coalescent ■ interspecific/
speciation



A.



B.

Απεικόνιση του barcoding gap. Η ενδοειδική ποικιλομορφία εμφανίζεται με κόκκινο και η διαειδική με κίτρινο. (A) Ιδανικό μοντέλο για barcoding με διακριτές κατανομές και όχι επικάλυψη.

(B) Εναλλακτικό μοντέλο με σημαντική επικάλυψη χωρίς κενό (gap)

genetic distance

Mayer & Paulay 2005

eDNA barcoding & metabarcoding



eDNA barcoding & metabarcoding

Το DNA metabarcoding είναι μία ταχύτατα αναπτυσσόμενη μεθοδολογία για την εκτίμηση της βιοποικιλότητας σε περιβαλλοντικό DNA και σε συνονθύλευμα δειγμάτων.

Εφαρμογές:

- παρακολούθηση της βιοποικιλότητας
- καθορισμός διαιτολογίου ζωικών ειδών
- αναπαράσταση παλαιο-κοινωνιών
- Ιατρική

Το DNA metabarcoding χρησιμοποιεί μοριακές τεχνικές (PCR και next generation sequencing), και τις ενσωματώνει μέσω βιοπληροφορικής με κλασσικά δεδομένα οικολογίας.

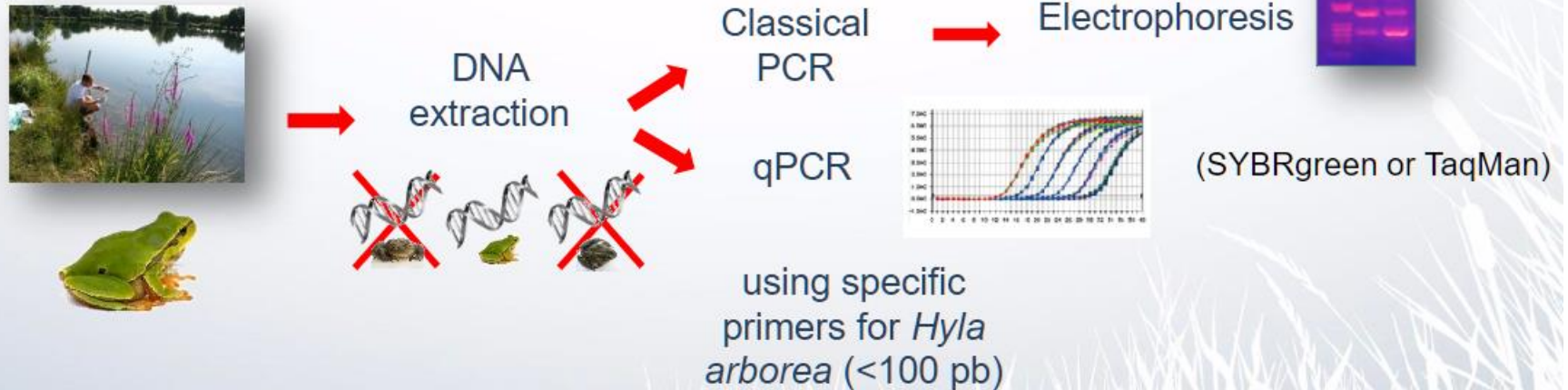
Στόχος η εκτίμηση της β-ποικιλότητας (comparative studies of different treatments, ecological factors, etc.) ή μια αδρή εκτίμηση της ποικιλότητας σε ένα δείγμα (π.χ. στήλη νερού).

eDNA barcoding & metabarcoding

DNA Barcoding



eDNA Barcoding



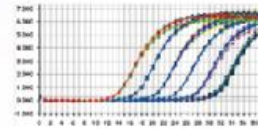
eDNA barcoding & metabarcoding

eDNA Barcoding



Classical PCR

qPCR



using specific primers for *Hyla arborea* (<100 pb)

Electrophoresis



(SYBRgreen or TaqMan)

eDNA Metabarcoding



Amplification using **amphibian** primers < 100 pb

Next Generation Sequencing

```
ATCGGTTTCTGAAACAAACAGGCTTCGCGAA  
ATTCGTTTTCGAAACAAACAGGAAAGTTTCG  
ATTCGTTTTCGAAACAAACAGGCTTCGCGAA  
ATCGGTTTTCGAAACAAACAGGCTTCGCGAA  
ATTCGTTTTCGAAACAAACAGGCTTCGCGAA  
ATTCGTTTTCGAAACAAACAGGCTTCGCGAA  
ATTCGTTTTCGAAACAAACAGGCTTCGCGAA  
ATTCGTTTTCGAAACAAACAGGCTTCGCGAA  
ATTCGTTTTCGAAACAAACAGGCTTCGCGAA
```



Comparison with reference databases



Le laboratoire

Recherche

Moyens techniques

Formation

Sciences pour tous

Annuaire

Contact et accès

Rechercher



Laboratoire membre de :



eDNA

par Webmaster - 11 février 2015

Personnel involved :

- ▶ Pierre Taberlet, Scientist
- ▶ Eric Coissac, Scientist
- ▶ Frédéric Boyer, Scientist
- ▶ Christian Miquel, Research Engineer
- ▶ Delphine Rioux, Technician

This technical platform has been set up to allow ecologists to perform large-scale analysis of environmental DNA via a metabarcoding approach. DNA metabarcoding refers to high throughput DNA-based identification of multiple species from environmental DNA. The main applications consist in diet analysis from feces, in biodiversity assessment using soil or water samples, and in palaeo-environment reconstruction using lake sediments and permafrost samples.

The eDNA platform is composed of three pre-PCR extraction rooms dedicated to feces, soil, and ancient DNA, and to several post-PCR rooms dedicated to the purification and the titration of PCR products. The next generation sequencing on Illumina platforms (HiSeq or MiSeq) is outsourced.

Beside the basic equipment (centrifuges, vortex, etc.), the eDNA platform is equipped with a 96 pipetting head (see pictures below) and two PCR machines with each two 384 heads. This allows the set up, the amplification, and the purification of more than 4500 PCR per day.

When carrying out large-scale sampling (soil or feces), the eDNA platform possesses all the equipment that can be transported and installed in the field to allow DNA extraction straight after the sampling, and to bring back the DNA on the extraction columns (see pictures below). Using this approach, large-scale extractions have been carried out in French Guiana, in China, and in South Africa.

The personnel involved in the eDNA platform has all the competences in designing new metabarcodes and testing them in silico, in designing the experiments (how many samples, how many sequence reads, how many positive and negative controls, how to produce a reference database, etc.), in carrying out the experiments at the bench, and in analyzing the output of the next generation sequencers (using a collection of program developed within the eDNA platform, and specifically dedicated to DNA metabarcoding ; <http://metabarcoding.org/obitools>).

- Examples of paper published using data produced in the eDNA platform :

Biener R, de Danielli S, Miquel C, Coissac E, Poillot C, Brun JJ, Taberlet P (2012) Tracking earthworm communities from soil DNA. *Molecular Ecology*, 21, 2017-2030.

Da Barba M, Miquel C, Boyer F, Rioux D, Coissac E, Taberlet P (2014) DNA metabarcoding multiplexing for omnivorous diet analysis and



eDNA barcoding & metabarcoding

Brown bear (*Ursus arctos*) and golden marmot (*Marmota caudata*) plant diets in the Himalayan environment.



Deosai National Park, Pakistan

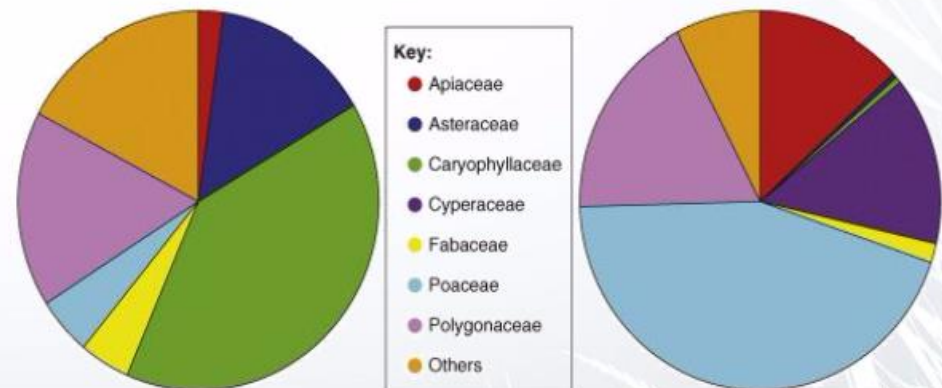


Golden marmot



Brown bear

- 12 feces from each species
- Universal plant primers
- 454 sequencing



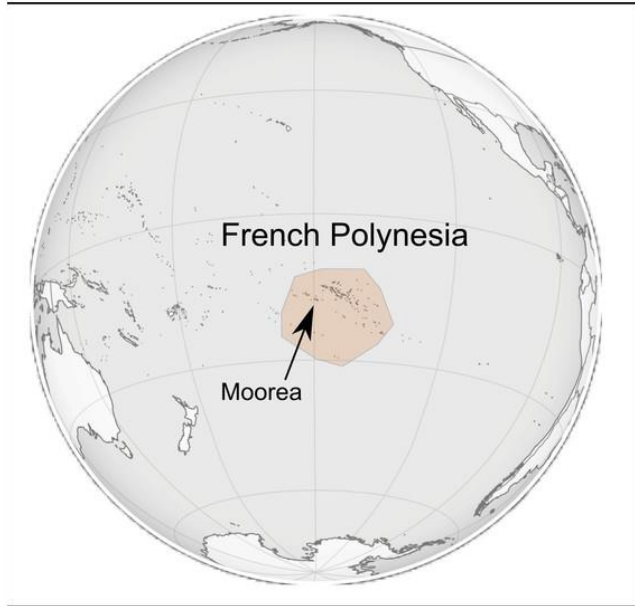
TRENDS in Ecology & Evolution

→ Different diets of the 2 species: bears prefer *Poaceae*, whereas marmots prefer *Caryophyllaceae*

Valentini et al. 2009

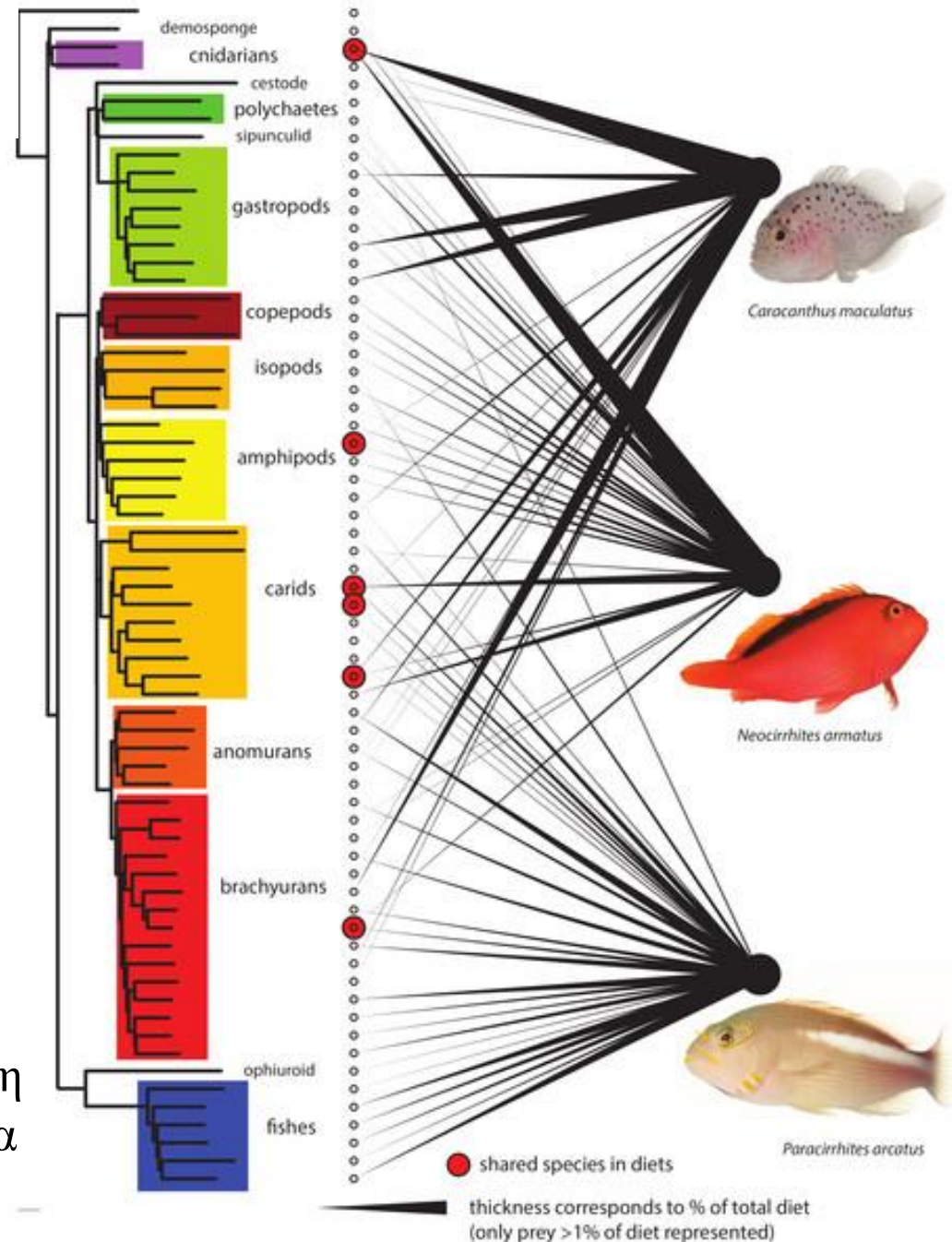
Metabarcoding dietary analysis of coral dwelling predatory fish demonstrates the minor contribution of coral mutualists to their highly partitioned, generalist diet

Matthieu Leray^{1,2,3}, Christopher P. Meyer³ and Suzanne C. Mills^{1,2}



Η διαίτα 3 θηρευτών ψαριών στη Moorea. Αριστερά: φυλογενετικό δέντρο των θηραμάτων των ψαριών (66 OTUs). Το πάχος των γραμμών δείχνει τη σχετική αναλογία αυτών στη διαίτα του κάθε ψαριού. Έξι θηράματα είναι κοινά και για τα τρία είδη.

eDNA barcoding & metabarcoding



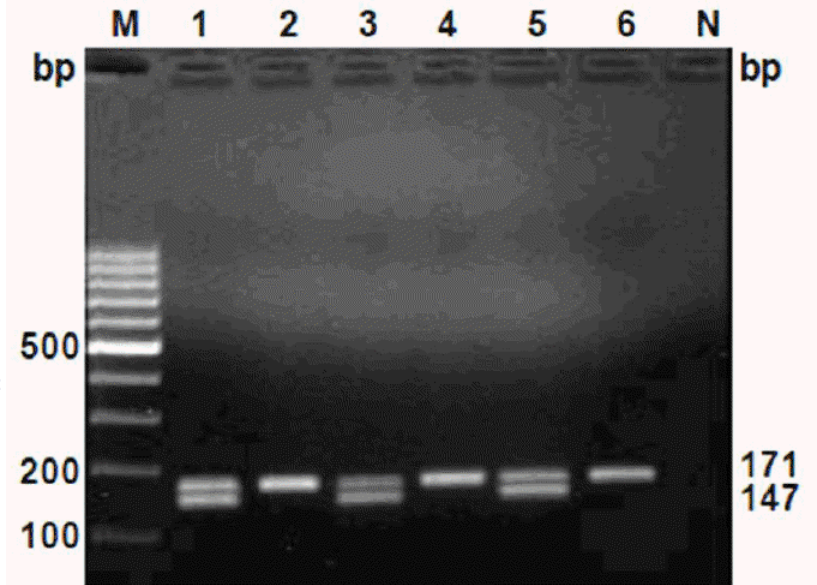
Αναγνώριση φύλου (sex)

Σε ορισμένες περιπτώσεις είναι σημαντικό να γνωρίζουμε το φύλο ενός ατόμου (π.χ. για πληθυσμιακή δομή, ηθολογία, κατανομή), όμως είναι πολύ δύσκολο αυτό να επιτευχθεί απλά κοιτάζοντάς το.

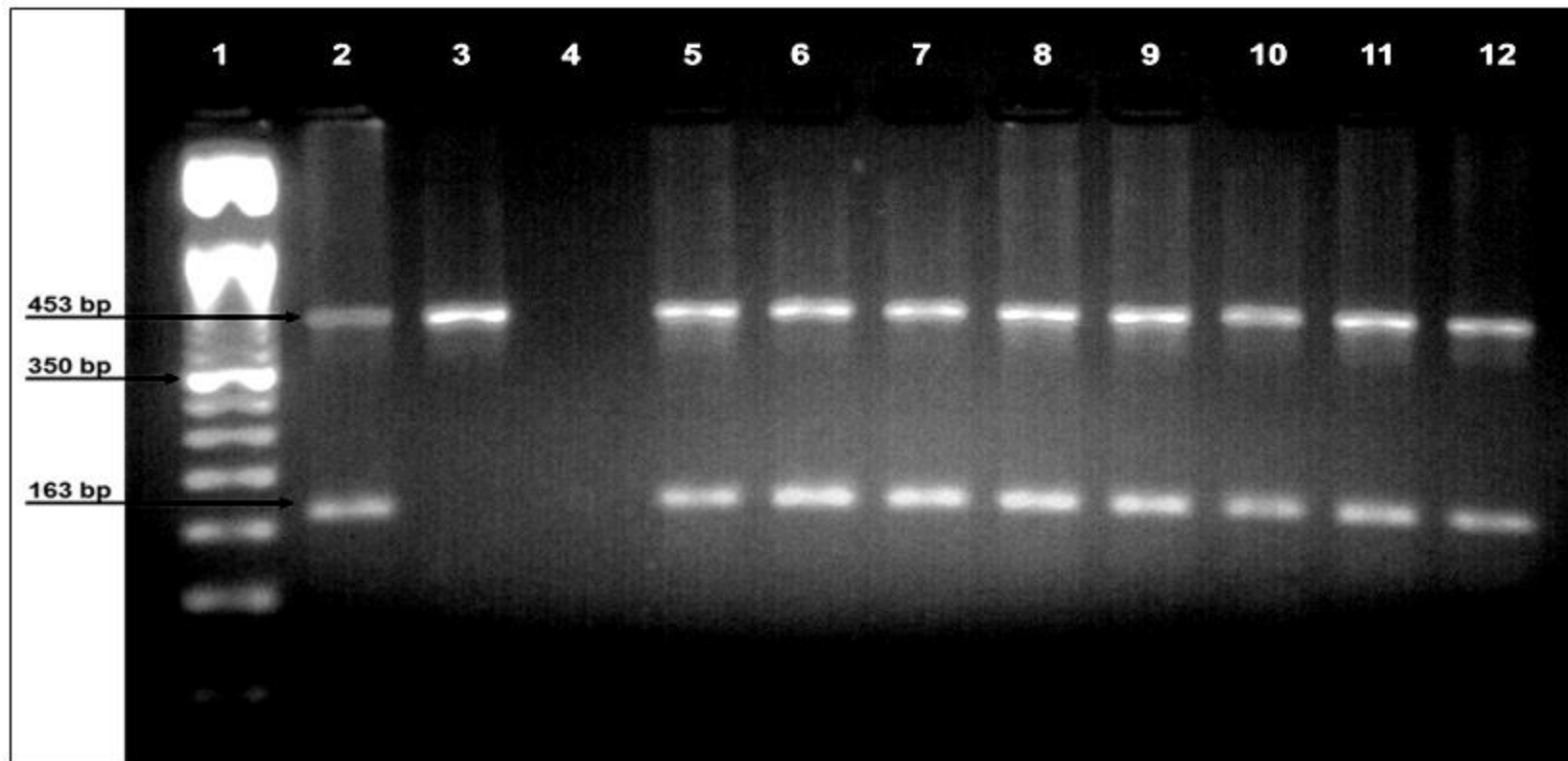
π.χ. ανώριμα άτομα, μη ανεπτυγμένοι δευτερογενείς χαρακτήρες του φύλου

Γονίδιο SRY στα θηλαστικά. Πρόκειται για το γονίδιο που διαμορφώνει τους όρχεις και βρίσκεται στο Y χρωμόσωμα. Συνεπώς το SRY είναι male-specific στα θηλαστικά.

Δείγματα: αρσενικά (Lanes 1, 3 & 5) και θηλυκά (Lanes 2, 4 & 6). M-Marker 100-bp ladder (O'Gene Ruler, Fermentas), N = Non-template control.



Αναγνώριση φύλου (sex)



Agarose gel electrophoretic analysis of multiplex PCR of different samples of bovine DNA with amplification of the Sry (163 bp) and K-casein genes (453 bp); Lane 1, molecular marker (50 bp Life Technologies®); lane 2, male control; lane 3, female control; lane 4, negative control; lanes 5 to 12, freemartin females

Μη επεμβατική συλλογή δειγμάτων (non-invasive sampling)

Πολλοί οργανισμοί αφήνουν ορατά και εύκολο να βρεθούν σημάδια από το πέρασμά τους, ακόμα και αν είναι σπάνιοι ή για τον οποιονδήποτε λόγο δύσκολο να εντοπιστούν.

Δέρμα, τρίχες, φτερά είναι εύκολο να βρεθούν στο πεδίο ως υπολείμματα ερπετών, θηλαστικών και πουλιών αντίστοιχα, όπως επίσης και περιττώματα.



Researcher Jack Hopkins used barbed-wire snares to collect hair samples from bears in Yosemite National Park. Analysis of isotope ratios in hair samples showed how much of the bears' diets came from human food.



Περιττώματα

Μη επεμβατική συλλογή δειγμάτων (non-invasive sampling)

- Προσδιορισμός ατόμων
- Καθορισμός χωροκράτειας (εύρεση περιττωμάτων και ανάκτηση DNA για προσδιορισμό του είδους από το οποίο προέρχεται)
- Δημογραφικές μελέτες (πληθυσμιακό μέγεθος, αναλογία φύλου, μετακινήσεις ατόμων, αναπαραγωγική επιτυχία)

[Kohn et al. 1999 Proc R Soc London 266, 657-663 (10)]



Estimating population size by genotyping faeces

**Michael H. Kohn^{1*}, Eric C. York², Denise A. Kamradt², Gary Haught²,
Raymond M. Sauvajot² and Robert K. Wayne¹**

¹Department of Biology, University of California, 621 Circle Drive South, Los Angeles, CA 90095-1606, USA

²US National Park Service, 401 West Hilcrest Drive, Thousand Oaks, CA 91360, USA

Μη επεμβατική συλλογή δειγμάτων (non-invasive sampling) [Kohn et al. 1999 Proc R Soc London 266, 657-663 (10)]

Δεδομένα

- Κογιότ (*Canis latrans*) – Β Αμερική
- Συλλογή 651 περιττωμάτων από 381 θέσεις σε μια περιοχή 5 km²
- Ανάλυση 238 εξ αυτών (τυχαία επιλεγμένα)
- Πέψη και PCR σε mtDNA για επιβεβαίωση είδους
- SRY για εύρεση φύλου
- Ανάλυση 3 μικροδορυφορικών τόπων

Αποτελέσματα

- ✓ Από τα 238, 188 προέρχονταν από κογιότ (79%)
- ✓ Θηλυκά : Αρσενικά = 1:1.14
- ✓ Πληθυσμιακό μέγεθος 38 άτομα (95% CI, 36-40).

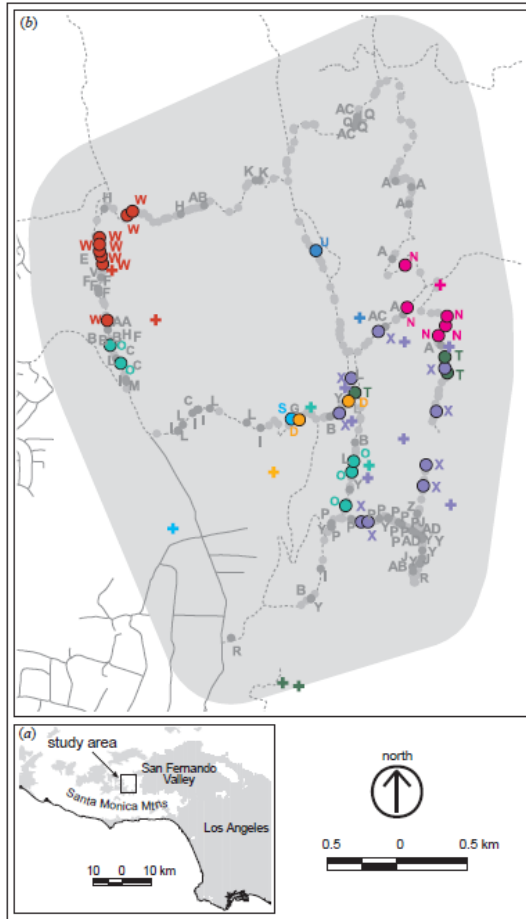
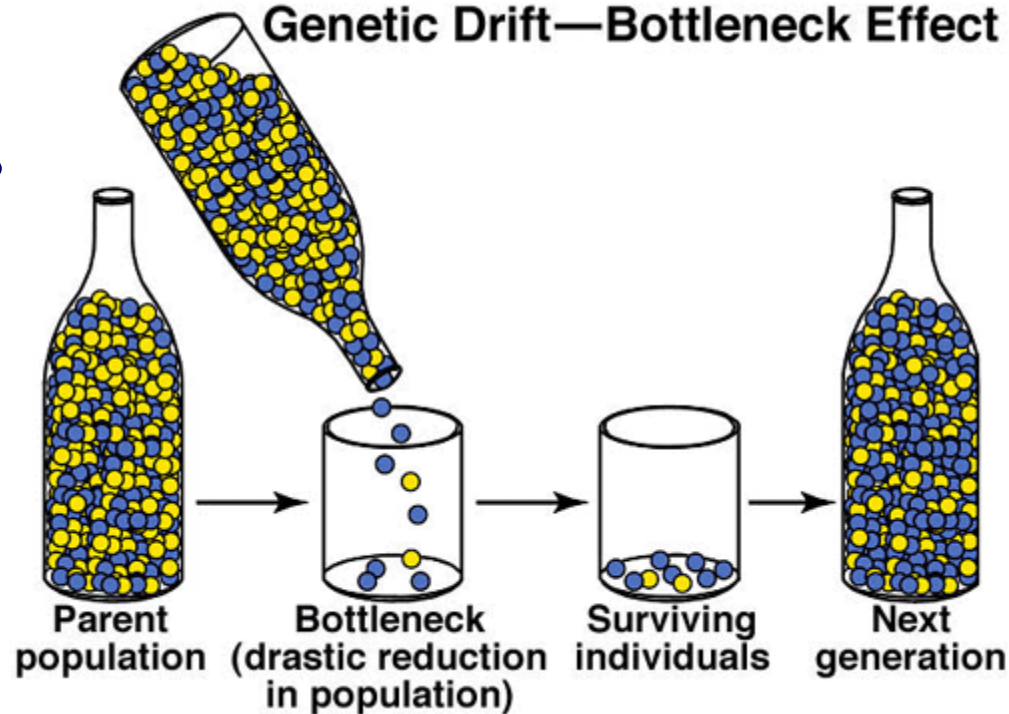


Figure 1. Location of coyotes deduced by faecal genotyping and radiotelemetry. (a) Location of the study area (box) in the Santa Monica Mountains in Southern California, USA. (b) The 15 km² study area including the 500 m perimeter (shaded) where faeces were collected. Multilocus faecal genotypes that matched those of captured coyotes and their nearest telemetry locations are presented as coloured circles identified with letters and matching colour symbols, respectively. Dark-grey circles represent faeces with genotypes that did not match any of the captured coyotes. Light-grey circles represent the remaining sites where faeces were collected. Sex and estimated $P_{\text{assignment}}$ values for genotypes are as follows: A ♂, B ♂, C ♀, D ♀, F ♂, H ♀, I ♀, J ♀, K ♂, L ♂, N ♀, O ♀, P ♂, Q ♀, R ♀, T ♂, W ♂, X ♂, Y ♀, AB ♂, AC ♂, and AD ♂, $P_{\text{assignment}} \leq 0.00001$; and for E ♀, G ♀, M ♂, S ♂, U ♀, V ♀, Z ♀, and AA ♀, $P_{\text{assignment}} = 0.0082$.

Genetic Drift—Bottleneck Effect

Στο επόμενο



Πληθυσμιακή γενετική