

# Evolución del ADN mitocondrial en lagartijas de las Islas Canarias

**JOSÉ JUAN PESTANO BRITO**

## RESUMEN

La reconstrucción de filogenias intra e interespecificas a partir de la variabilidad detectada en distintas secuencias del ADN mitocondrial (ADNmt), nos podrá permitir estimar con exactitud las variaciones debidas a la adaptación climática y ambiental. Para ello se ha establecido en el presente trabajo las condiciones para el estudio del ADNmt de *CHALCIDES SEXLINEATUS* y *CHALCIDES VIRIDANUS*, dos especies gemelas que presentan un patrón de distribución muy similar en cuanto a su morfología. Se ha purificado el ADN a partir de las colas de especímenes conservados de museo. Amplificandose las regiones de ADNmt 12S y Citocromo b. Con la aplicación del SSCP se identificaron los diferentes haplotipos presentes en las poblaciones.

## ABSTRACT

### *The Evolution of Mitochondrial DNA in Lizards in the Canary Islands*

*The reconstruction of intra and interspecific phylogenetics using the variability detected in various sequences of the mitochondrial DNA (mtDNA) allows us to calculate precisely which variations are due to adaptation to eliminate and environment in general. In the present piece of research, we studied the mtDNA in two species, the CHALCIDES SEXLINEATUS and the CHALCIDES VIRIDANUS, two species which evidence patterns of distribution similar as far as their morphology is concerned. The DNA was distilled from the tails of specimens preserved as museum-pieces. By amplifying the regions of mtDNA 12S and Cytochrome b via the application of SSCP, we could identify the various different haplotypes present in these communities of species.*

Uno de los temas centrales en la investigación biológica actual es el modo en que los organismos se adaptan a su medio ambiente. Las cuestiones sobre los niveles y especificidades de la adaptación a los cambios climáticos son de una importancia particular. Estos estudios, que en el pasado se habían realizado tan solo por la curiosidad intelectual del investigador que llevaba a cabo una investigación pura, han despertado recientemente un gran interés por su aplicación. El panorama de los cambios climáticos del Globo han demostrado la necesidad de realizar dichas investigaciones, que nos permita desarrollar modelos con los que podamos predecir la respuesta de los organismos a dichos cambios. Intentar realizar un modelo sobre el efecto de los cambios climáticos requiere estudiar organismos que están sujetos a considerables variaciones espaciales y climáticas. Los lagartos son un modelo ideal para estos estudios. Como ectotermos, dependen de la fuente de calor ambiental, y usan variaciones conductivas para controlar la temperatura de sus cuerpos, afectando a su comporta-



Figura.1.: Similitud en el patrón de variación geográfica dentro de las islas para el color de la cola de *Chalcides sexlineatus* (Gran Canaria) y *Chalcides viridanus* (Tenerife). Existe una correlación con la variación ecológica, Norte húmedo, Sur árido.

miento fisiológico y ecológico. Los factores microclimáticos imponen importantes contrastes temporales y espaciales sobre el patrón de la actividad de los lagartos, y puede en extremo influir sobre los procesos demográficos y de su distribución. Los lagartos también pueden exhibir una delicada y precisa evolución para adaptarse a las variaciones geográficas en distintas condiciones climáticas. Por ello pueden ser considerados como sensibles indicadores de la presión inducida por

cambios en las condiciones climáticas.

Los lagartos constituyen uno de los mayores grupos de vertebrados terrestres. Son abundantes en muchos ecosistemas de la Europa central y del sur, son importantes consumidores de invertebrados y son presas para muchos otros vertebrados. La predicción de su respuesta a cambios climáticos podría constituir una contribución importante hacia una síntesis, prediciendo cambios en

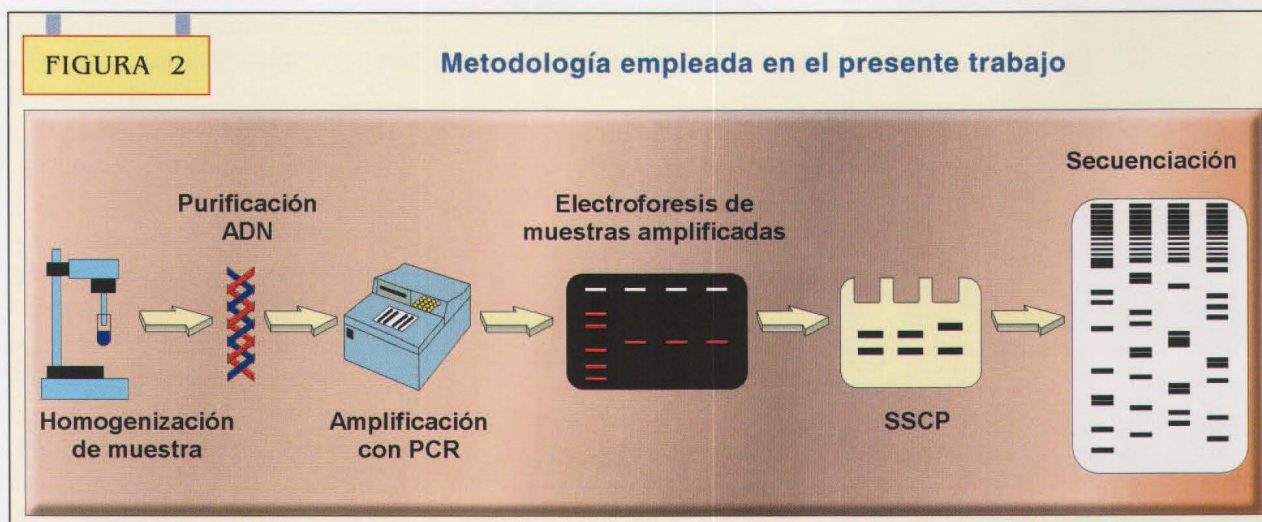


FIGURA 3



Figura 3: *Chalcides sexlineatus* del norte de la isla de Gran Canaria.

las interacciones bióticas en el ecosistema.

En las Islas Canarias se encuentran tres especies de «lagartijas» (Lacertilia: Scindidae); *Chalcides sexlineatus*, endémica de la isla de Gran Canaria, y *Chalcides viridanus* en las islas orientales de Tenerife, La Gomera y El Hierro; y *Chalcides simonyi* que se localiza en las zonas más húmedas de la parte central de la isla de Fuerteventura. *Chalcides sexlineatus* y *C.*

*viridanus* son muy similares morfológicamente y parecen ser especies hermanas.

La topografía de las islas produce marcadas diferencias climáticas dentro de ellas.

*Chalcides sexlineatus* muestra una pronunciada variación geográfica dentro de la isla para distintos caracteres morfológicos teniendo una gran correspondencia con la variación ecológica, llevando a conferir como causa

FIGURA 4



Figura 4: *Chalcides sexlineatus* del sur de la isla de Gran Canaria.

de esta correlación una selección diferencial entre hábitat.

La diferenciación morfológica que muestra *C. viridanus* es menor entre islas, indicando que ésta es una especie reciente. Así, una hipótesis alternativa es que *C. sexlineatus* ha experimentado un largo período de divergencia in situ.

Hasta el momento la mayoría de los trabajos realizados en lagartos, son estudios morfológicos y son prácticamente inexistentes los trabajos a nivel de la variación del ADN. Para poder estimar con exactitud las variaciones debidas a la adaptación climática y ambiental, es necesario realizar la reconstrucción de filogenias intra e interespecíficas a partir de la variabilidad que se detecta en distintas secuencias del ADNmt.

## ESPECÍMENES Y LOCALIDADES

Un total de 691 ejemplares de *Chalcides* pertenecientes a 47 localidades de Gran Canaria fueron estudiados para diferentes caracteres morfológicos. Las localidades estudiadas cubren toda la superficie de la isla. A partir de las colas de 235 ejemplares se purificó su ADN.

En la isla de Tenerife se estudiaron un total de 18 localidades, todas las localidades muestreadas están por debajo de los 950 m, ya que por encima de los 1.100 m no se encontraron especímenes. Se estudió un total de 271 ejemplares para distintos caracteres mor-

fológicos. Se purificó el ADN de 90 especímenes.

En las islas de La Gomera y El Hierro se estudiaron 4 localidades en cada una de ellas, y se purificó el ADN a partir de 40 individuos.

## AMPLIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE ADNmt

**S**e amplificaron mediante PCR las regiones 12S y 16S rRNA utilizando para ello primers universales. Esta técnica nos permite amplificar, es decir conseguir una gran cantidad de una secuencia específica a partir de pequeñas cantidades de ADN.

La obtención de las condiciones óptimas para la amplificación de las distintas regiones fue francamente difícil, ya que la calidad del ADN que se obtiene a partir de muestras conservadas en formol y etanol es muy baja. Sin embargo después de muchos ensayos se consiguió amplificar como se puede observar en la figura 5.

## IDENTIFICACIÓN DE LOS DISTINTOS HAPLOTIPOS

**E**l estudio de un gran número de especímenes presenta una gran dificultad si bien no de tipo técnico, si desde el punto de vista económico. Con el propósito de llevar a cabo el estu-



dio, hemos puesto a punto la técnica del SSCP, que nos permite identificar la presencia de mutaciones en las regiones estudiadas de una forma rápida y

muy económica. El SSCP consiste en una electroforesis de muestras amplificadas que previamente han sido desnaturalizadas, y al someterlas a un campo

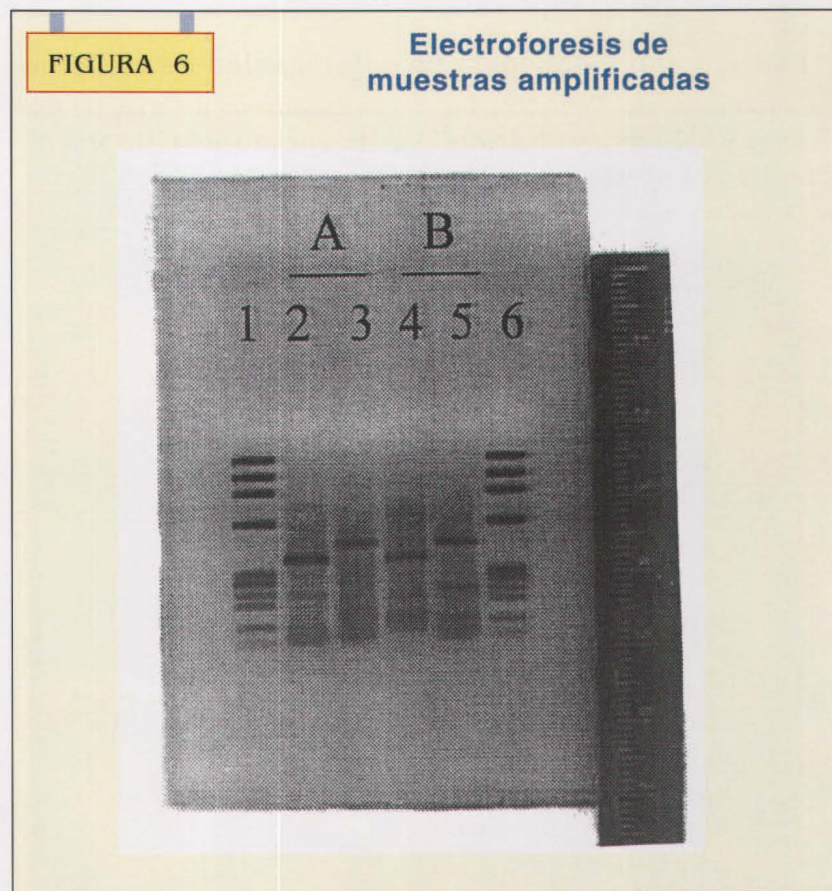


Figura 6: Electroforesis de muestras amplificadas. 1 y 6 marcadores de peso molecular; A y B muestras amplificadas: 2 y 4 región citocromo b; 3 y 5 región 12S rRNA.

FIGURA 7

SSCP de distintas muestras amplificadas



eléctrico migraran a lo largo de un gel o soporte, de tal forma que dos muestras que presenten igual secuencia presentaran idéntico patrón, es decir migraran sin mostrar diferen-

cias, sin embargo dos muestras que se diferencian en al menos un nucleótido presentaran diferente patrón de migración, permitiéndonos identificar a los individuos portadores de esas

FIGURA 8

Secuencia de colonización de las islas



diferencias. Los diferentes haplotipos que se identifican con esta técnica son posteriormente secuenciados, permitiéndonos el estudio de la variabilidad existentes en las distintas poblaciones.

CONCLUSIONES

Se ha aislado el ADN de 235 especímenes de *Chalcides sexlineatus* de la isla de Gran Canaria y 130 especímenes de *Chalcides viridanus* de las Isla de Tenerife, La Gomera y El Hierro.

Se amplificaron las regiones 12S y 16S del ADNmt a partir del ADN aislado, mediante la técnica de PCR.

Utilizándose la técnica del SSCP se identificaron los diferentes haplotipos.

El análisis de los resultados obtenidos nos ha permitido elaborar una secuencia en la colonización de las islas (Figura.8) La dispersión ha ocurrido a partir de la isla de la Gomera o de Tenerife hace aproximadamente 4 m.a. En la Figura. 8 a La Gomera es el origen, las islas de Gran Canaria y Tenerife fueron colonizadas directamente hace 3.5 y 4 m.a. respectivamente, el Hierro lo fue mucho más tarde. Un escenario alternativo es el que vemos en la Figura 8b, donde Tenerife fue colonizado primero, mientras que la colonización de Gran Canaria se realizó desde Tenerife vía Gran Canaria.

(\*) Es coautor de este trabajo el Dr. Richard Brown de la Universidad John Moore de Liverpool.

## BIBLIOGRAFÍA

ARNHEIM, N., AND ERLICH, H. 1992: Annu. Rev. Biochem. 61:131-156

HAYASHI, K. 1991: PCR Methods Appl. 1:34-38

KOCHER, T.D. & COL. 1989: Proc. Natl. Acad. Sci. Usa. 86: 6196-6200.

ORITA, M.; SUZUKI, Y.; SEKIYA, T.; HAYASHI, K. 1989: Genomics 5:874-879

## GLOSARIO

- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico. Doble cadena de nucleótidos enlazados; materia fundamental de la que están compuestos los genes
- **ADN mitocondrial:** Ácido desoxirribonucleico de las mitocondrias. Su herencia es vía materna.
- **Electroforesis:** Técnica para separar dentro de un gel, mediante un campo eléctrico, los distintos componentes de una mezcla de moléculas (proteínas o moléculas de ADN o ARN)
- **Filogenias intraespecíficas:** Historia evolutiva de un organismo.
- **Filogenias interespecíficas:** Historia evolutiva de un grupo taxonómico.
- **PCR:** polymerase chain reaction. Técnica que permite amplificar secuencias de ADN utilizando unos cebadores adecuados.
- **Secuenciación:** Técnica electroforética que permite determinar la secuencia de un fragmento de ADN.
- **SSCP:** single-stranded conformation polymorphism. Técnica que permite identificar dos secuencias que se diferencian en al menos un nucleótido.

## BIOGRAFÍA

### José Juan Pestano Brito

Licenciado en Ciencias Biológicas por la Universidad de La Laguna, Doctor en Ciencias Biológicas por la misma Universidad. Es Profesor Asociado de Genética de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC desde el curso 1988-89, y actualmente es el responsable del Servicio.

Dirección:  
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Fisiología, Inmunología y Genética  
Facultad de Ciencias de La Salud  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria  
Apartado: 550  
Teléfono: 451450

*Este trabajo ha sido patrocinado por:*

**UNIÓN ELÉCTRICA DE CANARIAS, S.A. (UNELCO)**