

ESCUELA DE POSTGRADO
PROGRAMA DE MAGISTER EN
Cs. ANIMALES y VETERINARIAS



TESIS DE MAGISTER

**“ANTECEDENTES SOBRE EL ORIGEN Y PARÁSITOS DE *Tarentola mauritanica*, UN NUEVO
REPTIL EXÓTICO EN CHILE”**

Estudiante:

Cristóbal Emilio Arredondo Elias de Quiros

Profesor Guía:

Dr. Cristóbal Briceño Urzúa

Profesor Asistente

Departamento de Medicina

Preventiva Animal

SANTIAGO – CHILE

2016

*“Para vivir en este mundo
hay que poder
hacer tres cosas:
amar lo que es mortal
y sostenerlo
contra los huesos propios
a sabiendas de que tu propia
vida depende de ello;
y, cuando llegue el tiempo
de dejarlo ir,
dejarlo ir.”*

AGRADECIMIENTOS

Al final de esta etapa, solo queda agradecer a quienes estuvieron ahí...

Mi familia... mis primos, tíos, abuelos, hermanos... en especial a mis padres, que siempre saben estar, decir y callar, gracias por empujarme y guiarme.

Mis amigos del alma, porque la verdadera familia casi nunca crece bajo el mismo techo...

Al Dr. Fernando Fredes, gracias por la paciencia, los consejos y las risas.

Al Dr. Herman Núñez por mostrarme un mundo de posibilidades.

“Deni” Donoso y su gata Boni, porque me presentaron lo que sería la solución a todos mis problemas.

A Cristóbal Briceño por aparecer en el momento exacto y mostrarme que todo tiene una solución...

A Patricio Toro, ese amigo que siempre está para alegrarte los días...

Y finalmente a Catherine Dougnac, mi compañera del alma, sin tus consejos, guías, correcciones y retos, este trabajo no tendría un punto final.

1 Tabla de Contenidos

1	Tabla de Contenidos	1
2	Índice de Ayudas Ilustrativas	3
2.1	Figuras	3
2.2	Tablas	3
3	Resumen	5
4	Summary.....	6
5	Introducción.....	7
6	Revisión Bibliográfica.....	9
6.1	Especies invasoras.....	9
6.2	Reptiles.....	12
6.3	Un nuevo reptil invasor.....	14
6.3.1	<i>Tarentola mauritanica</i>	15
6.4	Identificación de especies.....	19
6.5	Consideraciones Generales.....	20
7	Hipótesis	21
8	Objetivo General.....	21
9	Objetivos Específicos	21
10	Material y métodos	22
11	Resultados	26
11.1	Análisis moleculares.....	26
11.2	Descripción parasitaria.....	29
12	Discusión.....	32
12.1	Confirmación de especie y determinación del origen	32

12.2	Fauna parasitaria.....	34
12.3	Nuevos antecedentes y perspectivas.....	36
13	Conclusiones.....	39
14	Bibliografía.....	40
15	Anexos	50
15.1	Anexo 1.....	50
15.2	Anexo 2.....	51

2 Índice de Ayudas Ilustrativas

2.1 Figuras

Figura 1. Fotografía de <i>Tarentola mauritanica</i> (César Muñoz V., 2015).....	16
Figura 2. Mapa de distribución europea y africana de <i>Tarentola mauritanica</i>	17
Figura 3. Sitio de muestreo, comuna de San Miguel, Santiago, Región Metropolitana, Chile (33° 30' S, 70° 39' O, 568 m.s.n.m.)	22
Figura 4. Fotografías de los geles de agarosa al 1,5% luego de la electroforesis del resultado de la PCR para la amplificación del <i>12S</i> y <i>16S ARNr</i> de <i>Tarentola mauritanica</i>	26
Figura 5. Árbol filogenético combinado utilizando el modelo heurístico de Maximum Likelihood y el modelo bayesiano, de secuencias concatenadas del <i>12S</i> y <i>16S ARNr</i> de <i>Tarentola mauritanica</i> , y utilizando a <i>Tarentola boehmei</i> como outgroup	28
Figura 6. Fotografías de ácaros trombicúlidos parasitando a <i>Tarentola mauritanica</i>	29
Figura 8. Fotografías obtenidas por lupa (aumento de 4x) de <i>Parapharyngodon</i> spp. encontradas en el intestino <i>Tarentola mauritanica</i>	30
Figura 7. Fotografías utilizadas para la identificación de <i>Geckobia</i> spp. encontradas en <i>Tarentola mauritanica</i>	30
Figura 9. Fotografías de microscopía óptica de las muestras de contenido gastrointestinal de <i>Tarentola mauritanica</i> analizadas mediante el exámen coproparasitario de flotación en solución saturada de NaCl	31
Figura 10. Fotografía de madriguera de <i>Tarentola mauritanica</i> encontrada por Raúl Díaz, Tahia Rannou y Paula Maldonado	37

2.2 Tablas

Tabla 1. Número de especies, especies endémicas y porcentaje de endemismo específico (porcentaje de especies presentes que tienen la condición de endémica) según género de escamosos presentes en Chile continental (fuente: CONAMA, 2008).	14
Tabla 2. Partidores utilizados en la PCR convencional para la amplificación del segmento <i>12S</i> y <i>16S ARNr</i> de <i>Tarentola mauritanica</i>	23

Tabla 3. Condiciones de amplificación utilizadas en la PCR para los partidores 12S y 16S. (Harris <i>et al.</i> , 1998)	24
Tabla 4. Parásitos encontrados en <i>Tarentola mauritanica</i> según muestra	31

3 Resumen

Las especies invasoras son actualmente la segunda mayor amenaza para la biodiversidad siendo un componente generalizado y significativo del cambio ambiental global causado por los seres humanos. Si bien durante las últimas décadas se describe una declinación de las poblaciones de reptiles y anfibios a nivel mundial, son cada vez más los registros de especies de estos grupos que se desplazan a nuevos hábitats muchas veces generando efectos negativos sobre estos ambientes. *Tarentola mauritanica* o salamanqueja común, es una especie de reptil que ha sido reportada como introducida en diferentes países incluyendo Chile, donde al parecer de manera accidental se transportaron individuos junto con materiales importados para el Metro de Santiago. Con el fin de confirmar molecularmente la presencia de esta especie, determinar su origen y describir su fauna parasitaria, en el presente estudio se capturó a individuos de la población encontrada en la ex Ciudad de Niño en la comuna de San Miguel, Región Metropolitana. Mediante la secuenciación de un segmento de *12S* y *16S ARNr* fue posible confirmar que *Tarentola mauritanica mauritanica* es la especie introducida en nuestro país. Asimismo, utilizando secuencias obtenidas de congéneres desde diferentes zonas de su distribución natural, se realizaron análisis filogenéticos para determinar la procedencia de este reptil. Dada la baja diversidad genética mitocondrial descrita para esta especie en el clado europeo, no fue posible obtener esta información. Finalmente, se observó que los individuos capturados presentaron menor diversidad y densidad parasitaria que lo descrito para la especie en su distribución natural, lo cual concuerda con lo reportado para diferentes especies introducidas a nivel mundial.

4 Summary

Nowadays invasive alien species are considered the second major threat to biodiversity and a significant component of the global environmental change induced by human population. Even though it has been described a declination of reptile and amphibian populations worldwide there is an increasing amount of reports from these animals moving to new habitats causing negative effects over the colonized environments.

Tarentola mauritanica (Moorish Gecko) is a reptile that has been reported as introduced in different countries around the world. Apparently, they arrived to Chile traveling together with imported materials for the Subway (Metro de Santiago). The aim of the present study was to confirm using molecular methods the presence of *T. mauritanica* in Chile, to determinate its origin and to describe its parasites. The samples were taken from the gecko population located in ex Ciudad de Niño (Comuna de San Miguel, Región Metropolitana, Chile).

Sequencing fragments from *12S* and *16S* rRNA it was confirmed that *Tarentola mauritanica mauritanica* is the alien introduced species in our country. Likewise, phylogenetic analysis were conducted comparing the obtained sequences with others from individuals within their natural distribution to determine the origin of this population. Nevertheless, it was not possible given the low mitochondrial genetic diversity of the European clade of this specie.

Regarding the parasitic burden, the sampled specimens showed a lower diversity and density of parasites when compared with individuals from population within their natural distribution. This finding was expected according to what has been reported to different introduced alien species around the world.

5 Introducción

Durante los últimos 500 años de globalización, el desplazamiento de especies hacia nuevas zonas geográficas debido a la acción humana ha adquirido gran importancia (Davis, 2003; CONAMA, 2008). La mayoría de las especies trasladadas no llega a establecerse, porque no encuentran las condiciones necesarias para ello. Sin embargo, se estima que el 1% de estos eventos resulta exitoso (CONAMA, 2008).

El impacto que pueden generar las especies exóticas es variado y complejo de evaluar, sin embargo, estas representan la segunda mayor amenaza para la biodiversidad, después de la destrucción de hábitat (Chivian y Bernstein, 2008). En nuestro país, existen alrededor de 600 especies de vertebrados terrestres, de los cuales 25 son especies introducidas (Arredondo y Nuñez, 2014; “Fauna Invasora Terrestre”, 2015).

En términos geográficos, Chile posee dos factores característicos estructurantes: un gradiente longitudinal que va desde los 18°S a los 56°S, y un gradiente altitudinal, que va desde fosas oceánicas de 8.000 metros de profundidad hasta los 7.000 metros de altitud en algunos puntos, lo que hace a Chile un país altamente heterogéneo en términos de condiciones ambientales que permiten sustentar su diversidad biológica (CONAMA, 2008). Esta biodiversidad está amenazada por la introducción y establecimiento de especies invasoras.

Los reptiles pueden presentar un alto potencial como especies exóticas invasoras. Si bien en nuestro país solamente se registra a la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta*) como tal, en el planeta son numerosos los casos donde reptiles introducidos representan una amenaza para la biodiversidad local (Pitt *et al.*, 2005; Ricciardi y Cohen, 2007).

Tarentola mauritanica es un pequeño reptil de la familia Phyllodactylidae, que se encuentra normalmente en el sur de Europa, el norte de África y algunas islas mediterráneas. Esta especie, ha logrado adaptarse muy bien a los diferentes lugares en los que ha sido introducida como EE.UU., Argentina y Uruguay (Vogrin *et al.*, 2009), dado que posee una dieta generalista y características sinantrópicas (Salvador, 2015).

Arredondo y Nuñez (2014) describen por primera la presencia de *Tarentola mauritanica*, en dependencias de la ex Ciudad del Niño, comuna de San Miguel, Región Metropolitana. Dado lo anterior, surge la necesidad de realizar el presente estudio, el cual busca la confirmación molecular de la especie, determinar su posible origen y describir su fauna parasitaria.

6 Revisión Bibliográfica

6.1 Especies invasoras

La globalización es un proceso antrópico que está transformando la flora y fauna, tanto de manera local como regional (Davis, 2003). Durante milenios, los seres humanos han transportado diferentes especies alrededor del mundo tales como plantas, semillas y animales domésticos, así como también microorganismos que causan enfermedades epidémicas, introduciéndolas a nuevos ambientes (Chivian y Bernstein, 2008).

El número y distancia de origen de estas introducciones se han incrementado de manera exponencial en la actualidad, junto con el aumento de los viajes y el comercio internacional (Chivian y Bernstein, 2008). Las rutas en que se transportan las especies invasoras son variadas y aumentan con el tiempo. Este rápido crecimiento de las redes de transporte global desplaza personas y productos a destinos remotos, homogeneizando la flora y fauna global (Mack *et al.*, 2000; Pitt *et al.*, 2005).

La mayoría de estos organismos exóticos, transportados de manera accidental como “hitch-hikers” (ej. transportados en ropa, neumáticos usados, pallets de madera o lastres de agua de las embarcaciones) o deliberadamente introducidos, no crean problemas en su nuevo ambiente (Chivian y Bernstein, 2008). Sin embargo, en algunos casos la introducción de especies puede significar daño económico o una amenaza directa para la salud humana y animal. Algunos ejemplos incluyen al escarabajo asiático de cuerno largo (*Anoplophora glabripennis*) y la pitón birmana (*Python molurus bivittatus*) en Estados Unidos o la serpiente arbórea café (*Boiga irregularis*) en Guam (Davis, 2003; Pitt *et al.*, 2005).

Así, las invasiones biológicas se consideran un componente generalizado y significativo del cambio ambiental global causado por los seres humanos (Vitousek *et al.*, 1997), donde la introducción intencional o accidental de nuevas especies tiene el potencial de modificar la composición y ecología de las comunidades biológicas, desde la más pequeña y remota isla, hasta un continente completo (Wilson, 2010).

Las especies introducidas pueden alterar ecosistemas amenazando la sobrevivencia de especies, muchas veces llevándolas a la extinción (Wilcove *et al.*, 1998; Chivian y Bernstein, 2008). Los principales mecanismos a través de los cuales amenazan a la fauna nativa son la depredación, parasitismo, transmisión de patógenos, modificación del hábitat, hibridación y competencia por recursos (Simberloff, 2003).

Se describe que el daño causado por las especies introducidas, muchas veces, se debe a las altas densidades poblacionales y al mayor tamaño corporal que alcanzan en sus nuevos ambientes (Vitousek, 1990; Torchin *et al.*, 2002). Se postula que esto podría tener relación con la salud de las poblaciones, dado que algunos parásitos pueden reducir la densidad poblacional de sus hospederos y disminuir su tamaño corporal (Crofton, 1971; Hudson *et al.*, 1998; Torchin *et al.*, 2001). Así, una especie introducida que deja a sus parásitos atrás y encuentra, en su nuevo ambiente, menor cantidad de parásitos aptos para infectarlo, podría experimentar una liberación demográfica y convertirse en una plaga (Dobson y May, 1986; Torchin *et al.*, 2002). Así mismo, en general, se ha determinado que las poblaciones introducidas pueden verse afectadas por cerca de la mitad del número de especies de parásitos que infectan a las poblaciones nativas (Torchin *et al.*, 2003).

Durante los últimos años, el término “invasivo” se ha utilizado de manera inconsistente en el estudio y manejo de las invasiones biológicas. Este término describe “cualquier especie introducida no nativa”, “especies introducidas que se diseminan rápidamente” y, finalmente, “especies introducidas que tienen impactos ambientales dañinos, en especial sobre las especies nativas” (Ricciardi y Cohen, 2007). La segunda definición es la comúnmente utilizada por ecólogos, mientras que la tercera definición por políticos y legisladores. Dada esta diversidad de definiciones, se hace necesario consensuar los términos para referirse a las especies introducidas, con el fin de prevenir errores conceptuales o malas interpretaciones.

En nuestro país, el Ministerio del Medio Ambiente (MMA), se ha preocupado de definir el concepto de *especie exótica* como “aquella especie foránea que ha sido introducida fuera de su distribución natural”, es decir, corresponden a las especies cuyo

origen natural ha tenido lugar en otra parte del mundo y que por razones antrópicas han sido transportadas a otro sitio (voluntaria o involuntariamente). De igual modo, una especie exótica es “aquella, que aunque sea nativa del mismo país, ha sido introducida en una zona del país donde no tiene distribución natural”; es el caso del zorro chilla (*Pseudalopex griseus*) que se considera exótico en Tierra del Fuego, introducido durante la década de 1950 (Ministerio del Medio Ambiente, 2015). Algunas de estas especies exóticas, tienen el potencial de transformarse en *invasoras* y se definen como “animales, plantas u otros organismos biológicos introducidos por el ser humano (de manera directa o indirecta) en zonas fuera de su área de distribución natural, donde se establecen y se dispersan, provocando un impacto negativo en el ecosistema y especies locales, amenazando la diversidad biológica originaria del lugar donde fue liberada”. Esta definición proviene del Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) (IUCN, 2010; Ministerio del Medio Ambiente, 2015; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2005).

Actualmente, las tres principales amenazas para la biodiversidad son, en importancia decreciente: la destrucción del hábitat, las especies exóticas invasoras y la sobreexplotación (Chivian y Bernstein, 2008). No obstante, se considera que en islas biogeográficas las especies exóticas invasoras corresponden a la principal causa de extinción de especies (IUCN, 2010).

Un rasgo distintivo de Chile es la insularidad, fenómeno resultante de las barreras naturales propias de su geografía. Por el extremo norte existe una zona desértica que se ubica entre las Regiones de Tarapacá y Atacama, al oriente la cordillera de los Andes, y finalmente el Océano Pacífico que se distribuye por el poniente y sur del continente (CONAMA, 2008). Debido a este fenómeno de aislamiento biogeográfico que presenta la mayor parte del territorio chileno continental y a su reducida diversidad biológica en comparación a otros países sudamericanos, es común observar un alto porcentaje de éxito en la introducción (voluntaria o fortuita) y asilvestramiento de especies exóticas en ecosistemas naturales (Iriarte, 2008).

Chile central o el ecosistema Mediterráneo chileno (entre los 25°S y 47°S) es considerado uno de los 25 “hotspot” o “puntos calientes” de biodiversidad con prioridad de conservación (Myers *et al.*, 2000). Estas zonas se definen como regiones donde se concentra un mínimo de 1.500 plantas vasculares endémicas (equivalente al 0,5% del total de plantas vasculares del mundo), una alta proporción de vertebrados endémicos y donde el hábitat original ha sido fuertemente impactado por las acciones del ser humano (Myers *et al.*, 2000; CONAMA, 2008) . Si bien la diversidad de especies del hotspot Mediterráneo chileno es comparativamente baja respecto a otros, su endemismo puede ser notablemente alto. Particularmente se destacan los anfibios que presentan un 67% de especies endémicas en esta zona y los reptiles con un 66% (Simonetti, 1999; CONAMA, 2008).

Existen alrededor de 600 especies de vertebrados terrestres en Chile, de las cuales, 25 son introducidas. De ellas, 14 son mamíferos, ocho son aves, dos reptiles y un anfibio (Arredondo y Nuñez, 2014; “Fauna Invasora Terrestre,” 2015). Si bien a primera vista el número de especies introducidas es pequeño, sus impactos pueden ser significativos. Tal es el caso del castor americano (*Castor canadensis*), responsable de la destrucción de los bosques de lenga (*Nothofagus pumilio*) en Tierra del Fuego, o el caso del visón (*Mustela vison*), especie de carnívoro indicado como el responsable de la disminución de diversas poblaciones de aves acuáticas (“Fauna Invasora Terrestre,” 2015).

6.2 Reptiles

Los reptiles son vertebrados mandibulados, terrestres o acuáticos, de piel seca casi desprovista de glándulas y cuerpo recubierto de escamas epidérmicas queratinizadas, a veces superpuestas o con osificaciones dérmicas. Presentan un solo cóndilo occipital y su mandíbula está compuesta de varios huesos. Pueden ser desde tetrápodos con cinco dedos, hasta ápodos, en distintos grados; entre otras muchas características (CONAMA, 2008).

El orden Squamata (serpientes y lagartijas) se caracteriza por: poseer el cuerpo cubierto por escamas, la pérdida del arco temporal y la presencia de órganos copuladores

pares (hemipenes) en los machos (Dowling y Duellman, 1978). En general, este grupo de reptiles presenta un modo reproductivo ovíparo, con unas cuantas especies vivíparas u ovovivíparas (Vidal, 2004). Además, presentan un amplio espectro trófico que incluye a especies herbívoras, carnívoras y omnívoras (Dowling y Duellman, 1978).

Chile es uno de los países de mayor extensión longitudinal del planeta, abarcando desde los 17°S a los 56°S, incluyendo desde ambientes desérticos hasta patagónicos esteparios. En esta abundante diversidad de ambientes, los reptiles han proliferado adoptando singulares adaptaciones tales como: viviparí y omnivoría en medios adversos, estrategias conductuales para eludir los rigores invernales o colores singulares para adaptarse a ambientes desérticos (CONAMA, 2008).

Así, esta particularidad que tiene Chile de ser isla biogeográfica redonda en altos niveles de endemismo en su biota (Simonetti, 1999; CONAMA, 2008). En el caso de reptiles escamosos (orden Squamata), se han documentado 12 géneros aunque aparentemente ninguno es endémico, siendo el número total de especies de este orden 107, sin embargo, el número de especies endémicas alcanza a 67, lo que significa un 62,6% de especies exclusivas para Chile (tabla 1) (CONAMA, 2008).

En los últimos 20 años, la declinación mundial de anfibios y reptiles ha sido bien documentada (Pitt *et al.*, 2005). Pero un número creciente de especies pertenecientes a estos grupos han invadido nuevos hábitats, incluso alcanzando tamaños poblacionales que han tenido consecuencias negativas en la flora y fauna nativa, agricultura y economía local (Mooney y Hobbs, 2000).

Los reptiles invasores generalmente poseen una alta tasa reproductiva, lo que facilita un rápido crecimiento poblacional y recuperación frente a eventos estocásticos. Además, poseen dietas generalistas, lo que permite que utilicen eficientemente cualquier recurso abundante. Por otro lado, normalmente los invasores exitosos son pequeños y/o sigilosos, lo que les permite pasar desapercibidos en las redes de transporte. Estos comportamientos crípticos también permiten el desarrollo de poblaciones incipientes, que son difíciles de detectar hasta que los animales se encuentran bien establecidos. Las

especies que presentan todos estos atributos, tienden a ser más exitosas al colonizar nuevos ambientes (Pitt *et al.*, 2005).

Tabla 1. Número de especies, especies endémicas y porcentaje de endemismo específico (porcentaje de especies presentes que tienen la condición de endémica) según género de escamosos presentes en Chile continental (fuente: CONAMA, 2008).

Género	N° de especies	N° de especies endémicas	Porcentaje de endemismo específico
<i>Callopietes</i> ; Iguanas	1	1	100
<i>Diplolaemus</i> , Cabezones	3		0
<i>Homonota</i> , Salamanejas	2	2	100
<i>Liolaemus</i> ; lagartos de cuello liso	76	43	56,6
<i>Microlophus</i> , Corredores	6	5	83
<i>Phrynosaura</i> , Lagartos dragón	5	4	80
<i>Phyllodactylus</i> , Salamanejas	2	2	100
<i>Phymaturus</i> ; Matuastos	2	2	100
<i>Vilcunia</i> , Lagartija patagónica	1	1	100
<i>Pristydactylus</i> , Gruñidores	4	4	100
<i>Philodryas</i> , Culebras de cola larga	3	2	67
<i>Tachymenis</i> , Culebras de cola corta	2	1	50

En Chile se describe oficialmente una especie de reptil exótico invasor que corresponde a la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta*), especie originaria del Estado de Florida, EE.UU. y que ha sido importada al país de manera masiva para su venta como mascota (Iriarte *et al.*, 2005).

6.3 Un nuevo reptil invasor

En el año 2005, un empleado de las “cocheras” de Metro S.A. ubicadas en la estación Lo Ovalle (comuna de San Miguel, Región Metropolitana), encontró un pequeño reptil en las dependencias de su lugar de trabajo. El ejemplar fue enviado al Museo Nacional de Historia Natural para su identificación. En este lugar, Herman Núñez, herpetólogo y Jefe de

Zoología del Museo, identificó este animal como un reptil no nativo (especie exótica), al parecer *Tarentola mauritanica*. Puesto que no se volvió a reportar su presencia, el hallazgo fue catalogado como accidental y no permanente (H. Núñez, comunicación personal).

Durante el año 2013, la presencia de un reptil desconocido fue reportado de manera informal por vecinos en sitios habitados cercanos a la estación de Metro Lo Ovalle en Santiago (Denisse Donoso Valverde, comunicación personal), colindantes a un terreno donde se localiza la ex Ciudad del Niño, propiedad del Consejo de Defensa del Niño (CODENI). Este sitio presenta múltiples acúmulos de escombros y construcciones abandonadas. En el año 2014, Arredondo y Nuñez describen por primera vez en nuestro país la presencia de *T. mauritanica* en este lugar.

6.3.1 *Tarentola mauritanica*

Los geos del género *Tarentola* son miembros de la Familia Phyllodactylidae (Gamble *et al.*, 2008), e incluyen a 21 especies diferentes (Baha El Din, 1997; Sprackland y Swinney, 1998; Rato *et al.*, 2012).

Tarentola mauritanica, salamanesa común o gecko Mediterráneo (Figura 1), es una especie robusta y de gran tamaño, cuya longitud de cabeza hasta el inicio de la cola puede alcanzar 86 mm y su longitud total unos 190 mm (González de la Vega, 1988). La cabeza, el cuerpo y la base de la cola están comprimidos dorsoventralmente. Posee en la parte superior de la cabeza pequeñas escamas poligonales. Presenta de 10 a 14 hileras de grandes tubérculos aquillados en el dorso, los cuales se encuentran rodeados de otros tubérculos menores también aquillados. Posee dedos ensanchados lateralmente, sobre todo en su porción distal y comprimidos dorsoventralmente, con unas 12 laminillas subdigitales adhesivas no divididas por el centro. También posee uñas visibles en el tercer y cuarto dedo en machos y en todos los dedos en hembras (Martínez-Rica, 1974; Rieppel, 1981; Salvador, 2015).

En cuanto a su color, dorsalmente es pardo o gris, con cuatro o cinco bandas transversales oscuras de forma irregular y ventralmente es de color blanquecino o

amarillento. La coloración general tiende a ser muy oscura durante el día y muy clara durante la noche. Presenta una pupila vertical y un iris de color grisáceo. (Salvador, 2015)



Figura 1. Fotografía de *Tarentola mauritanica* (César Muñoz V., 2015).

Hasta la fecha se describen cuatro subespecies para la salamanquesa común, estas son: *T. mauritanica mauritanica* (Linnaeus, 1758), *T. mauritanica fascicularis* (Daudin, 1802), *T. mauritanica juliae* (Joger, 1984) y *T. mauritanica pallida* (Geniez, 1999).

En relación a su distribución original, *T. mauritanica* se extiende por la Región Mediterránea, incluyendo el sur de Europa (Península Ibérica, Francia, Italia, Los Balcanes y Grecia), la mayoría de las islas mediterráneas y el norte de África (Marruecos, Argelia, Túnez, Libia y Egipto) (Salvador, 2015)(Figura 2). Esta especie ha sido reportada como introducida en Uruguay (Achaval y Gudynas, 1983), Argentina, California y Florida en EE.UU. (Vogrin *et al.*, 2009), Tenerife, la isla de Madeira (Rieppel, 1981), Azores (Barreiros *et al.*, 2010) y más recientemente en Chile (Arredondo y Nuñez, 2014).

En lo que se refiere a la selección de hábitat, se ha observado que este gecko prefiere rocas de gran tamaño o acúmulos de rocas pequeñas con grandes espacios entre ellas, en donde puede desplazarse con facilidad y por todo tipo de superficies gracias a las laminillas adhesivas de sus dedos. Además, pueden vivir en troncos de árboles y matorrales (Salvador,

2015). En España, se han realizado observaciones invernales de individuos activos en cajas nido situadas en árboles de 5 a 10 m de altura (Cerdeira i Ribot, 2006). Se ha constatado que, a pesar de disponer de abundantes muros, piedras y edificios, la especie se encuentra en algarrobos (*Ceratonia siliqua*), con hasta 14 individuos en un solo árbol (Martínez-Rica, 1974). Aunque utiliza las rocas como refugio, también se desplaza por el suelo de los alrededores (Salvador, 2015).



Figura 2. Mapa de distribución europea y africana de *Tarentola mauritanica*. Se destaca en amarillo las zonas donde se considera nativa y en púrpura, introducida (Fuente: Vogrin *et al.*, 2009)

Esta especie es sinantrópica, encontrándose en construcciones humanas (muros de separación de fincas, edificios, albercas, cisternas, etc.) incluso en pueblos y ciudades, a condición de que cuente con refugios donde ocultarse (Valverde, 1967; Martínez-Rica, 1974; Mellado *et al.*, 1975; Lizana *et al.*, 1992; Salvador, 2015). Su relación cercana a los humanos, ha favorecido introducciones accidentales a nuevos lugares (Rato *et al.*, 2010), tal como fue reportado por Arredondo y Nuñez (2014) para nuestro país, en donde se plantea la hipótesis de un posible origen europeo, específicamente Francia, dado que el primer avistamiento fue hecho en bodegas con materiales importados desde dicho país por el Metro de Santiago.

Su categoría de conservación, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN en inglés) es de Preocupación Menor (LC), debido a que sus poblaciones se encuentran estables, siendo común en muchas zonas de su distribución. Sumado a esto, es probable que sus poblaciones continúen aumentando debido al incremento de la urbanización (Vogrin *et al.*, 2009).

En lo que respecta a su genoma, esta especie se caracteriza por poseer una variabilidad genética mitocondrial extremadamente alta en las poblaciones de África del Norte, lo que lleva a la hipótesis de que este taxón podría ser un complejo de especies. En contraste, las poblaciones europeas de la salamanguera común poseen una muy baja diversidad genética mitocondrial, que inicialmente se atribuía a su reciente introducción, probablemente mediada por seres humanos. Sin embargo, nuevos estudios han demostrado que la baja variabilidad del ADN mitocondrial (ADNmt) que caracteriza a las poblaciones europeas de *T. mauritanica*, puede ser el resultado de un “hitchhiking” genético, y no solamente a eventos de colonización recientes (Rato *et al.*, 2012). Este fenómeno, llamado también arrastre por ligamiento, consiste en que cuando ocurre una mutación que aumenta la eficacia biológica de un organismo frente a congéneres de la misma población, la selección natural favorecerá a aquellos individuos con la mayor aptitud y, con el transcurso de las generaciones, el nuevo alelo mutante incrementará su frecuencia en la población. Al mismo tiempo, todos los genes neutrales o casi neutrales que se hallan ligados a la nueva mutación también incrementarán su frecuencia en la población (Barton, 2000; Maynard Smith y Haigh, 2007).

Estudios filogenéticos, enfocados a los genes 12S y 16S ribosomales (parte del ADNmt) de *T. mauritanica*, han demostrado que a lo largo de su distribución se identifican claramente cinco linajes (A, B, C, D y E). El primer linaje (A) abarca poblaciones europeas, marroquíes y tunecinas; el segundo (B) incluye a las poblaciones de la Península Ibérica; el tercer linaje (C) las del centro y sur de Marruecos; el cuarto (D) comprende poblaciones del noreste de Marruecos y España; y finalmente, el quinto linaje (E) corresponde a Libia y las islas Italianas de Lampedusa y Conigli (Rato *et al.*, 2010).

En cuanto a los agentes infecciosos transmisibles descritos en *T. mauritanica*, respecto a la fauna parasitaria, se registran tanto endo como ectoparásitos, entre ellos:

- Ácaros: *Hirstiella insignis*, *Geckobia latastiei*, *Geckobia loricata* (Gil-Collado *et al.*, 1985; Haitlinger, 2004) y *Geckobia estherae* (Bertrand *et al.*, 2012).
- Protozoos: Coccidias (Alvarez-Calvo, 1977) y *Eimeria Tarentolae* (Cordero del Campillo *et al.*, 1994).
- Trematoda: *Paradistomum mutabile* (Roca, 1993), *Plagiorchis mentulatum* y *Sonsinotrema tacapense* (Roca *et al.*, 1984; Roca, 1993).
- Cestoda: *Nematotaenia Tarentolae*, *Diplopylidium acantotetra*, *Diplopylidium nolleri*, *Joyeuxiella pasqualei* (Roca *et al.*, 1985) y *Diplopylidium quinquecoronatum* (Cordero del Campillo *et al.*, 1994).
- Nematoda: *Pharyngodon auziensis*, *Pharyngodon neyrai*, *Spauligodon auzensis*, *Spauligodon mascomai*, *Spauligodon tectipennis*, *Skrjabinodon mascomai*, *Parapharyngodon echinatus*, *Parapharyngodon bulbosus*, *Parapharyngodon micipsae*, *Acuaria* spp. y *Spiurida* spp. (Roca, 1985, 1993; Cordero del Campillo *et al.*, 1994).

6.4 Identificación de especies

El método clásico para estimar relaciones taxonómicas entre especies es mediante comparación de características morfológicas, usando claves taxonómicas. Sin embargo, el aumento en el acceso a información molecular, como son las secuencias nucleotídicas o aminoácídicas, y fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs), ha tomado protagonismos en los últimos años como herramienta para inferir relaciones filogenéticas (Lemey *et al.*, 2009).

Durante los último años, el ADNmt ha sido ampliamente usado como una herramienta en la investigación de relaciones filogenéticas, sistemática y estructura de poblaciones en diversas especies animales (Avice, 2000; Le *et al.*, 2000a, 2000b, 2002; Zhao *et al.*, 2009; Bernt *et al.*, 2013). Lo anterior, favorecido por el origen materno de las mitocondrias, sus tasas de mutación generalmente mayores que en genes nucleares, la

ausencia de recombinación, la disponibilidad de partidores universales y la mayor cantidad de repeticiones de genes comparado con el ADN nuclear (McGuire *et al.*, 2007; Haag-Liautard *et al.*, 2008; van Oven y Kayser, 2009). La mayoría de los animales poseen un ADNmt circular y compacto, cuyo tamaño varía entre los 14 a 20 Kb (Li *et al.*, 2010). Este contiene 37 genes, todos esenciales para una función mitocondrial normal, donde 13 de ellos producen enzimas involucradas en la fosforilación oxidativa. Los otros genes codifican moléculas llamadas ácidos ribonucleicos de transferencia (ARNt) y ácidos nucleicos ribosomales (ARNr) (Taanman, 1999).

El ARNr es ampliamente utilizado como marcador molecular. Estas moléculas son componentes esenciales funcionales y estructurales de los ribosomas, la unidad celular encargada de la síntesis de proteínas (Nič *et al.*, 2009). En comparación con los genes que codifican proteínas, la tasa de evolución de los genes 12S y 16S del ARNr mitocondrial es baja y a menudo se utilizan para analizar las relaciones filogenéticas a niveles taxonómicos superiores (Hay *et al.*, 1995; Li *et al.*, 2010).

6.5 Consideraciones Generales

El presente estudio busca confirmar la presencia de *T. mauritanica* en Chile mediante técnicas moleculares, comprobar su supuesto origen europeo y finalmente, describir la fauna parasitaria de estos individuos la cual pudiese ser una amenaza para la herpetofauna nacional.

Confirmar la presencia y origen de esta especie exótica en nuestro país, sería evidencia de su introducción a través de la importación de materiales provenientes de Europa, dados los antecedentes presentados. Esto permitiría exigir mayores medidas de fiscalización sobre el ingreso de productos a nuestro país, para evitar la introducción accidental de especies.

7 Hipótesis

Dado que:

- *Tarentola mauritanica* es un reptil exótico para Chile
- El primer reporte de una población de esta especie en nuestro país se encontró en un recinto colindante con terrenos de la estación Lo Ovalle de Metro de Santiago en la ex Ciudad del Niño
- Esta empresa importa materiales desde Europa y,
- Este gecko posee una distribución mediterránea

Se propone la siguiente hipótesis de trabajo:

La población de *Tarentola mauritanica* encontrada en Chile tiene un origen europeo y presenta una menor diversidad parasitaria respecto a lo descrito para la especie en su distribución nativa.

8 Objetivo General

Analizar ejemplares de *Tarentola mauritanica* con el fin de confirmar la especie a través de marcadores moleculares, determinar su potencial origen europeo y describir su fauna parasitaria.

9 Objetivos Específicos

1. Confirmar genotípicamente la presencia de *Tarentola mauritanica* en Chile.
2. Determinar el potencial origen de este reptil.
3. Describir su fauna parasitaria comparando con la comunicada para la especie.

10 Material y métodos

En este estudio se capturaron individuos de *Tarentola mauritanica* de la población encontrada en el recinto de la ex Ciudad del Niño, comuna de San Miguel, Santiago, Región Metropolitana, Chile ($33^{\circ} 30' S$, $70^{\circ} 39' O$, 568 m.s.n.m.). El lugar es un sector urbano abandonado de aproximadamente 5,2 ha (Figura 3), el cual presenta escombros, basura y se encuentra rodeado por un sector de condiciones similares. Este sitio pertenece al Consejo de Defensa del Niño (CODENI), al cual se le solicitó el apoyo y autorización para poder hacer ingreso. Los individuos fueron capturados manualmente y conservados en bolsas de tela para su traslado al laboratorio de biología molecular de la Unidad de Parasitología de la Facultad de Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias de la Universidad de Chile (FAVET). El presente estudio contó con la autorización del Comité de Bioética de FAVET para la captura y utilización de animales (anexo 1).

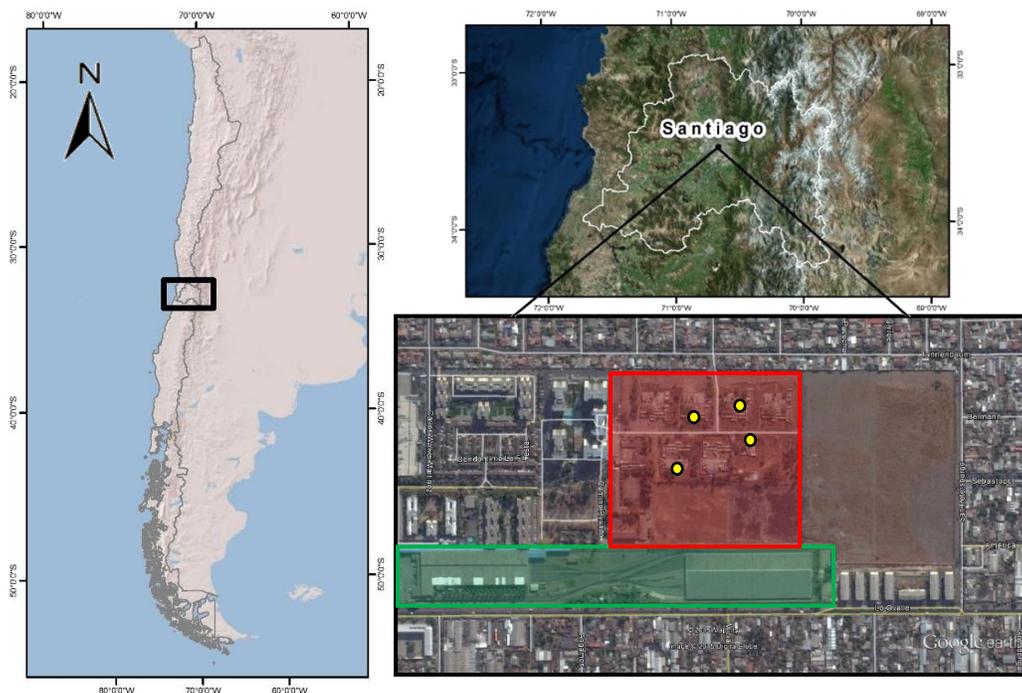


Figura 3. Sitio de muestreo, comuna de San Miguel, Santiago, Región Metropolitana, Chile ($33^{\circ} 30' S$, $70^{\circ} 39' O$, 568 m.s.n.m.). En rojo: ex “Ciudad del Niño”, puntos amarillos: sitios donde se logró capturar individuos, en verde: cocheras Metro S.A., estación Lo Ovalle.

Los ejemplares fueron sacrificados utilizando Tiopental Sódico (Richmond S.A.) al 1% por vía intracardiaca, con una jeringa de 5 cc y aguja de 26G. Luego de esto, se realizó una necropsia de cada individuo, se sexaron mediante visualización directa de ovarios, huevos o testículos, y se extrajo una muestra de tejido hepático (25 mg) para realizar la identificación genotípica de la especie y determinar su potencial origen a través de análisis filogenéticos.

Para la extracción y purificación del ADN, se utilizó el sistema High Pure PCR Template Preparation Kit® (Roche) siguiendo las indicaciones del fabricante, el cual fue complementado con una disrupción mecánica de las células utilizando el equipo Mini-BeadBeater 16® previo al uso del Kit.

Una vez extraído y purificado el ADN, las muestras fueron sometidas a una reacción de la polimerasa en cadena (PCR) convencional, para amplificar los segmentos ribosomales (ARNr) 12S (partidores 12Sa y 12Sbs; Kocher *et al.*, 1989), y 16S (partidores 16S SAR y 16S SBR; Palumbi, 1996) (tabla 2) en duplicado para cada individuo. Las condiciones de amplificación fueron programadas según lo utilizado y descrito por Harris *et al.* (1998) (tabla 3).

Tabla 2. Partidores utilizados en la PCR convencional para la amplificación del segmento 12S y 16S ARNr de *Tarentola mauritanica*.

Nombre	Secuencia	Fuente
12Sa	5'-AAAAAGCTTCAAAGTGGGATTAGATACCCCACTAT-3'	Kocher <i>et al.</i> , 1989
12Sbs	5'-TGACTGCAGAGGGTGACGGGCGGTGTGT-3'	
16S SAR	5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'	Palumbi, 1996
16S SBR	5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'	

Posteriormente los productos de la PCR fueron purificados utilizando el sistema Wizard® SV Clean-Up System (Promega®), de acuerdo a las indicaciones del fabricante, y enviados a Macrogen DNA Sequencing Inc. (Seúl, Corea) para su secuenciación automática en duplicado, utilizando partidores directos y reversos. Los electroferogramas obtenidos fueron analizados con el software ProSeq3® (Filatov, 2009) comparando los resultados

otorgados en sentido directo y reverso, para generar secuencias de consenso para cada individuo. Estas fueron posteriormente analizadas mediante el software DnaSP 5.10.01® (Librado y Rozas, 2009) para la identificación de los haplotipos presentes.

Tabla 3. Condiciones de amplificación utilizadas en la PCR para los partidores 12S y 16S. (Harris *et al.*, 1998)

Ciclos	Temperatura	Tiempo
30	93 °C	30 seg.
	55 °C	1 min.
	72 °C	1 min.
1	72 °C	10 min.

La determinación genotípica de la especie se realizó mediante una comparación de las secuencias obtenidas con las disponibles en la base de datos pública del National Center for Biotechnology Information (NCBI), donde se buscaron similitudes nucleotídicas utilizando la herramienta BLAST del NCBI, identificando secuencias altamente similares (Megablast) (objetivo específico 1).

Para realizar los análisis filogenéticos, con el objetivo de determinar el origen de los individuos, se obtuvieron secuencias de *Tarentola mauritanica* desde la base de datos del NCBI y desde una base de datos compartida por Catarina Rato, investigadora post-doctoral en el CIBIO-InBIO, Universidad de Porto, Campus de Vairão, Portugal.

Todas las secuencias obtenidas fueron alineadas en concatenado, es decir, ubicando las secuencias del 12S y 16S *ARNr* de manera continua como si fuesen una sola de mayor longitud. Esto se realizó utilizando el programa ClustalX 2.0.11® (Larkin *et al.*, 2007). Luego con el software DnaSP 5.10.01®, se identificaron todos los haplotipos presentes, y posteriormente, a través del Programa JModelTest 2.1.4® (Darriba *et al.*, 2012) se obtuvo el modelo de sustitución nucleotídica más adecuado para los datos obtenidos.

Los análisis filogenéticos se realizaron utilizando primero un modelo heurístico, el método de “Maximum likelihood” (ML; 1.000 repeticiones), mediante el Software Mega6® (Tamura *et al.*, 2013). Este análisis se complementó con un análisis bayesiano utilizando el

software MrBayes 3.2.2[®] (Ronquist *et al.*, 2012). El outgroup utilizado para este proceso fue una secuencia 12S y 16S ribosomal de *Tarentola boehmei* (código de acceso gene bank 12S: AF363569, 16S: JQ300779; Carranza *et al.*, 2002; Rato *et al.*, 2010, 2012) Finalmente, los árboles filogenéticos fueron presentados utilizando el programa FigTree v1.4.2[®] (Rambaut, 2015). (objetivo específico 2).

Por otro lado, con el fin de describir la fauna parasitaria presente en los individuos de *T. mauritanica* capturados, se realizó primero una búsqueda externa de ectoparásitos, los que fueron conservados en etanol 70% para su identificación utilizando claves taxonómicas. Posteriormente, se procedió a extraer todo el contenido gastrointestinal durante la necropsia para la búsqueda de estructuras parasitarias mediante visualización directa y técnicas coproparasitarias de flotación en solución saturada de NaCl y de sedimentación (objetivo específico 3).

11 Resultados

11.1 Análisis moleculares

Se capturaron cuatro individuos adultos de *T. mauritanica*, dos machos y dos hembras.

Luego de realizar las PCR en duplicado (dos por muestra), se obtuvieron fragmentos amplificados de alrededor de 450 y 550 pares de bases (pb) para el 12S y 16S ARNr respectivamente (Figura 4).

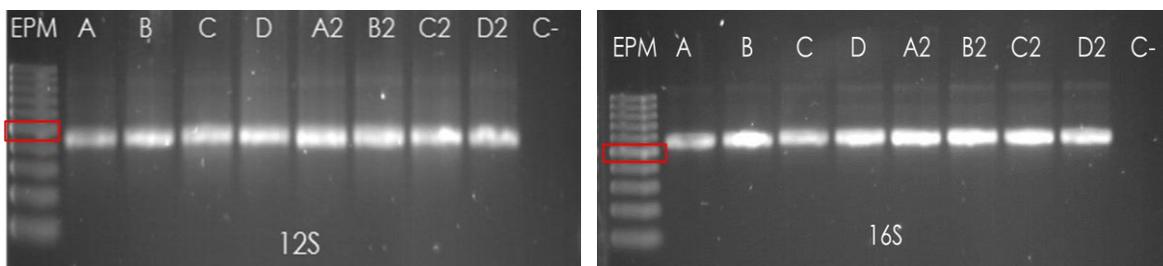


Figura 4. Fotografías de los geles de agarosa al 1,5% luego de la electroforesis del resultado de la PCR para la amplificación del 12S y 16S ARNr de *Tarentola mauritanica*. En rojo se destaca la banda de 500 pares de bases del estándar de peso molecular (EPM: estándar de peso; A, B, C, D: muestras de individuos capturados; A2, B2, C2, D2: duplicado de las muestras; C-: control negativo de amplificación).

Al analizar los electroferogramas obtenidos a partir de la secuenciación, se obtuvo una secuencia de trabajo de 346 y 462 pb para el ARNr 12S y 16S respectivamente. Estas secuencias fueron analizadas con el software DnaSP® y se determinó que los individuos presentaban un mismo haplotipo para cada gen analizado.

Mediante BLAST (megablast) se determinó que las secuencias pertenecían a individuos de *Tarentola mauritanica mauritanica*, al presentar un 100% de identidad con secuencias de dicha subespecie disponibles en la base de datos del NCBI.

Se obtuvieron secuencias para cada gen (12S y 16S) de un total de 117 individuos de *T. mauritanica* de diferentes zonas geográficas (anexo 2, tabla con las secuencias utilizadas en el presente estudio), las que junto a las secuencias obtenidas de los individuos capturados y a las secuencias de *Tarentola boehmei* (12S y 16S; outgroup) fueron alineadas

en concatenado. Esto permitió realizar los análisis filogenéticos con una secuencia de final de 808 pb de longitud (con 187 sitios variables). Se identificaron 53 haplotipos diferentes. El mejor modelo de sustitución nucleotídica para las secuencias obtenidas fue el de Hasegawa, Kishino y Yano (Hasegawa *et al.*, 1985), considerando sitios invariables y una distribución gamma (HKY+I+G). Ambos métodos (ML y bayesiano) entregaron árboles con topologías idénticas (Figura 5).

El árbol resultante puede ser descrito identificando seis clados o linajes evolutivos diferentes, cinco de los cuales han sido descritos con anterioridad (Rato *et al.*, 2010):

1. Clado A, con individuos de Europa, Marruecos y Túnez. En este clado se encuentra un haplotipo denominado por Rato *et al.* en el 2010, “haplotipo europeo común”, que incluye 39 secuencias de individuos de diferentes zonas de Europa, el norte de África y las encontradas en Chile.
2. Clado B, que incluye individuos de España y Portugal, relacionadas a la Península Ibérica.
3. Clado C, con individuos del centro y sur de Marruecos.
4. Clado D, individuos de las Islas Canarias.
5. Clado E, contiene individuos del noreste de Marruecos, Argelia y España
6. Clado F, con individuos de las islas italianas de Lampedusa y Conigli.

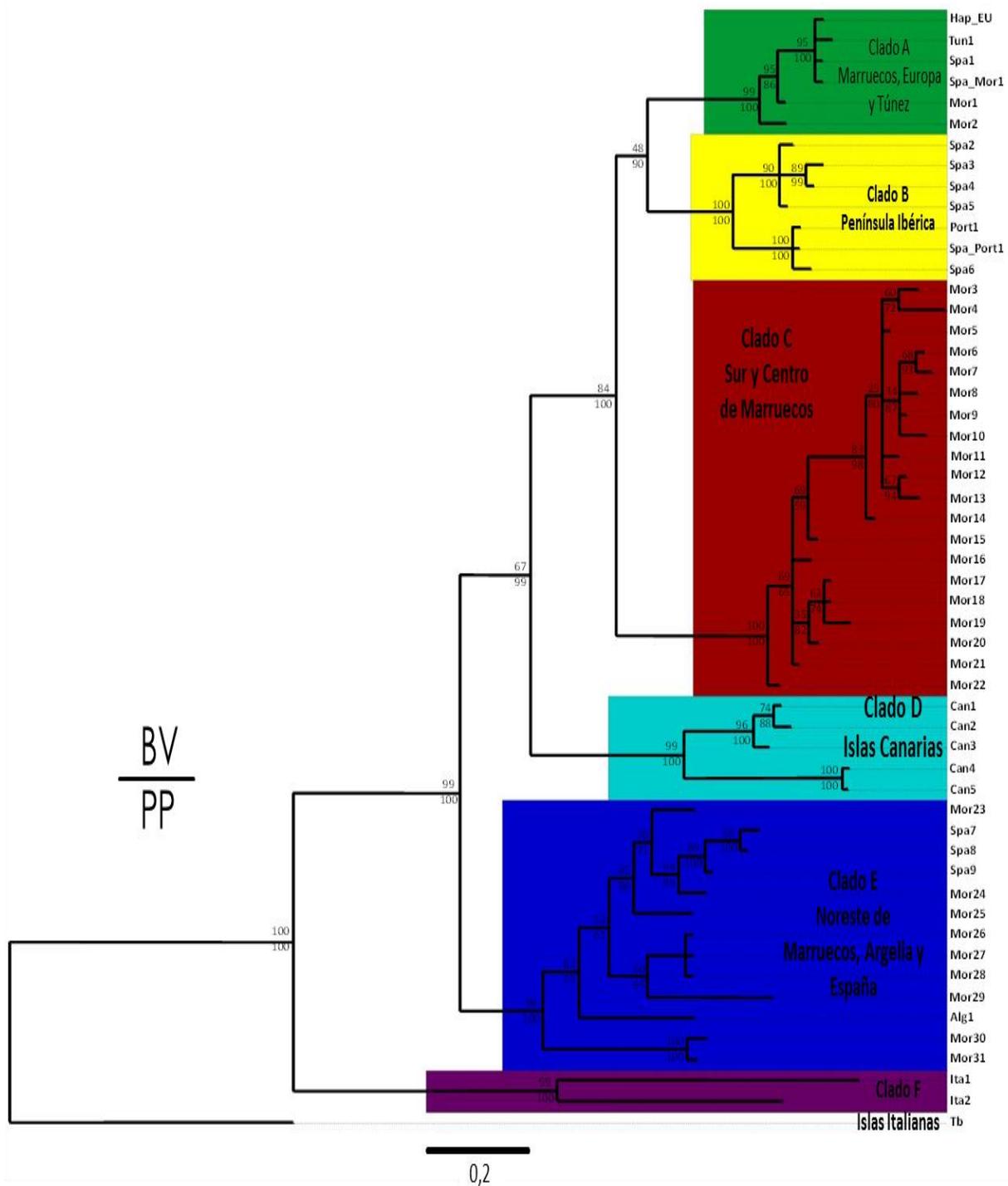


Figura 5. Árbol filogenético combinado utilizando el modelo heurístico de Maximum Likelihood y el modelo bayesiano, de secuencias concatenadas del 12S y 16S ARNr de *Tarentola mauritanica*, y utilizando a *Tarentola boehmei* como outgroup. Valores sobre los nodos representan el “bootstrap value” (BV) y los valores bajo éstos las “posterior probabilities” (PP). Los individuos contenidos en cada haplotipo, así como su lugar de origen se detallan en el Anexo 2.

11.2 Descripción parasitaria.

Como resultado de la búsqueda de ectoparásitos, se encontraron abundantes estructuras entre las escamas de la zona interdigital, periorcular, axilar e inguinal (Figura 6). Dichas estructuras fueron clasificadas como ácaros trombicúlidos mediante observación por microscopía óptica. Estos fueron posteriormente enviados al Dr. Daniel González Acuña (especialista en ectoparásitos) en Universidad de Concepción para su identificación, donde luego de obtener imágenes de microscopía óptica y electrónica (Figura 8), fueron clasificados en el género *Geckobia* (Acari: Raphignathoidea: Pterygosomatidae), sin embargo no fue posible la determinación de la especie.

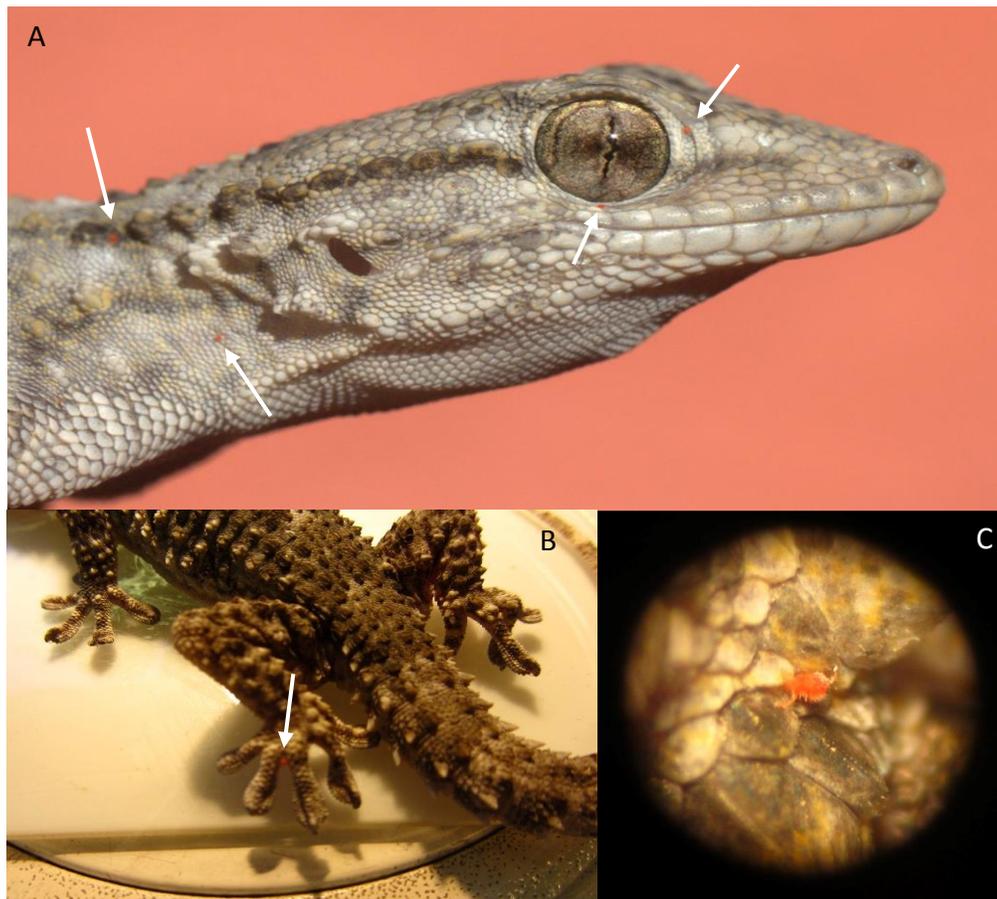


Figura 6. Fotografías de ácaros trombicúlidos parasitando a *Tarentola mauritanica*. A: *T. mauritanica* en dependencias del Museo Nacional de Historia Natural con presencia de ácaros en la zona del cuello y periorcular (fotografía por Juan Carlos Torres). B: Individuo de *T. mauritanica* con presencia de parásitos en la zona interdigital. C: Ácaro entre las escamas de la zona interdigital de *T. mauritanica* (aumento de 4x).

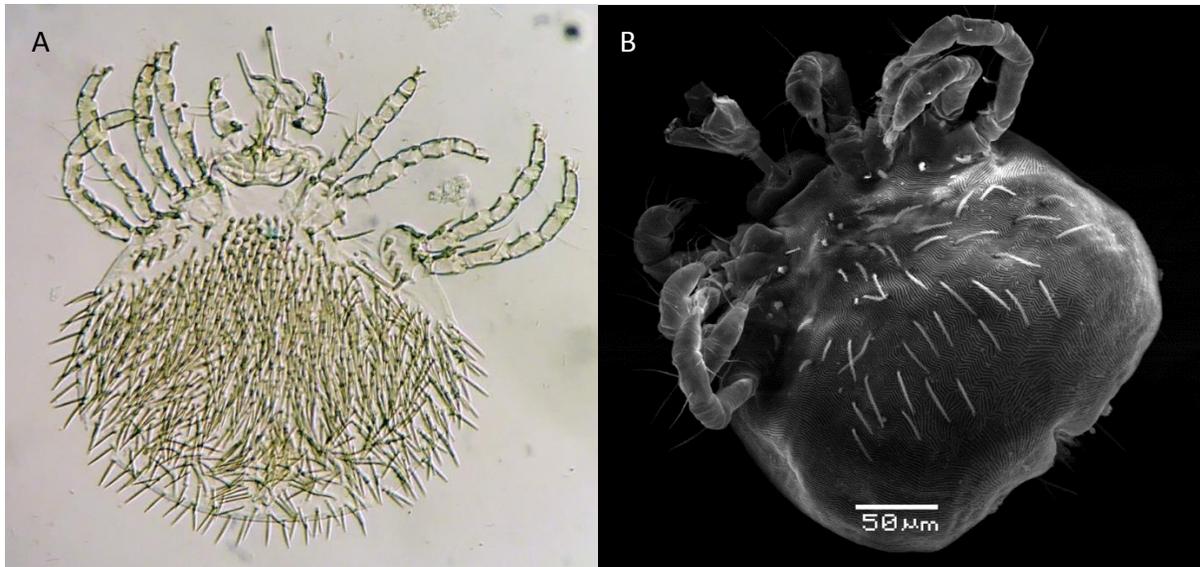


Figura 8. Fotografías utilizadas para la identificación de *Geckobia* spp. encontradas en *Tarentola mauritanica*. A: Fotografía en microscopía óptica de ácaro *Geckobia* spp. B: Fotografía en microscopía electrónica de barrido de la zona ventral de *Geckobia* spp. (Fotografías de Dr. Daniel González Acuña).

En la búsqueda macroscópica de endoparásitos se encontró, en tres de los cuatro de los individuos estudiados, abundante presencia de estructuras parasitarias en la zona del intestino, las que mediante claves taxonómicas, fueron identificadas como “oxiuros” del género *Parapharyngodon* (Oxyuroidea: Pharyngodonidae), sin llegar a determinar la especie (Figura 7).



Figura 7. Fotografías obtenidas por lupa (aumento de 4x) de *Parapharyngodon* spp. encontradas en el intestino *Tarentola mauritanica*. A: extremo anterior. B: extremo posterior.

El examen coproparasitario de sedimentación fue negativo en las cuatro muestras de los individuos estudiados. Por otra parte, el examen coproparasitario de flotación en solución saturada de NaCl entregó resultados positivos en tres de ellas. Se identificó la presencia de abundantes huevos de forma oval, cuyo diámetro mayor fue de aproximadamente 200 μm (Figura 9), compatibles con huevos de oxiuros, probablemente del genero *Parapharyngodon* dado el hallazgo de individuos adultos en el intestino de los reptiles en estudio. Asimismo, en una de las muestras fue posible encontrar un huevo de unos 30 μm de diámetro, compatible con huevos de cestodo. El detalle de las estructuras parasitarias encontradas se resume en la Tabla 4.

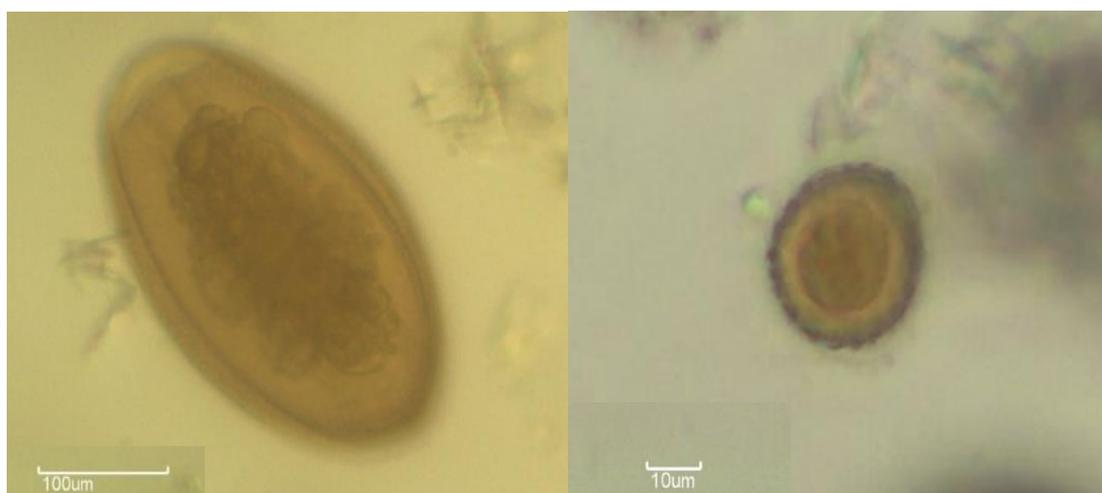


Figura 9. Fotografías de microscopia óptica de las muestras de contenido gastrointestinal de *Tarentola mauritanica* analizadas mediante el exámen coproparasitario de flotación en solución saturada de NaCl. A: Huevo de *Parapharyngodon* spp. (objetivo de 40x). B: Huevo de Cestoda (aumento de 40x).

Tabla 4. Parásitos encontrados en *Tarentola mauritanica* según muestra (+ presente; - ausente).

Muestras	<i>Geckobia</i> spp.	<i>Parapharyngodon</i> spp.	Cestoda
A	+	+	-
B	+	+	-
C	+	-	-
D	+	+	+

12 Discusión

12.1 Confirmación de especie y determinación del origen

En el presente estudio se consideró la relación filogenética basada en segmentos de ADN ribosomal como la clasificación más certera para ordenar la taxonomía, y de esta manera, identificar parentesco y origen. Sin embargo, se reconoce que el uso exclusivo de la genética y del concepto filogenético de especie están sujetos a sesgos y pueden conducir a errores. Considerando lo anterior, este trabajo, logró confirmar, mediante biología molecular, la presencia de *Tarentola mauritanica mauritanica* en Chile. Esta determinación se realizó mediante la secuenciación de dos genes ampliamente utilizados, el *12S* y *16S* ARNr (Brito *et al.*, 2007; D. Harris *et al.*, 2004b; Hay *et al.*, 1995; Li *et al.*, 2010; Rato *et al.*, 2010, Rato *et al.*, 2012), y complementa lo expuesto por Arredondo y Nuñez (2014), donde se identificó a individuos de la misma población dentro del complejo *T. mauritanica*, en la subespecie *mauritanica*, dadas sus características morfológicas y el color presentado por ejemplares vivos.

Es importante destacar que los procesos de diversificación no son proporcionales al tiempo de separación entre poblaciones, ya que muchas de las diferencias que definen la diversidad de especies morfológicas, tuvieron origen en una nueva manera de acoplarse con su entorno físico, químico o biológico y no al tiempo de separación con la forma ancestral anterior (Demangel, 2016).

Una de las principales problemáticas en la definición del concepto de especie, subyace en el hecho de que en la naturaleza no existen tales especies, muchas veces están sustentadas en criterios subjetivos y distintos para cada grupo taxonómico. Lo que existe son poblaciones con distinto grado de parentesco, de similitud y diferencia morfológica, y también, con distinta potencialidad para volver a tener reproducción cruzada (Demangel, 2016).

Desde principios del siglo XXI, ya se reconocen más de una treintena de conceptos de especie, cada uno con diferentes alcances y limitaciones propias. Es así como una *especie*

biológica hace hincapié en la capacidad de reproducción y en el aislamiento reproductivo de los individuos, reconociendo que individuos de la misma especie pueden intercambiar genes, mientras que individuos de especies diferentes normalmente no pueden (Dobzhansky *et al.*, 1977; Frankham *et al.*, 2004; Mayr, 1963; Simpson, 1961). Asimismo, una *especie morfológica* enfatiza los aspectos morfológicos y geográficos, y por lo tanto, medibles o verificables, dejando de lado los rasgos análogos y sustentado en la morfología, busca estandarizar los criterios para definir especies. Por otra parte una *especie desde el concepto filogenético*, se basa en la historia de parentesco de los individuos, poniendo en algunos casos, una excesiva valoración del tiempo de separación de las poblaciones. Mientras que una *especie evolutiva* considera no solamente la historia de parentesco, si no que incluye la situación presente y la tendencia de las poblaciones, ya que la evolución de los seres vivos es enormemente más rica y compleja que una relación de parentesco (Demangel, 2016; Frankham *et al.*, 2004).

Para la determinación del origen de los individuos, se utilizó la metodología empleada por Rato *et al.* en el 2010, con una base de datos similar a la de dicho estudio. Ya en el análisis de los haplotipos se pudo evidenciar que los individuos encontrados en nuestro país pertenecen al llamado “linaje europeo común”, que se distribuye ampliamente por Europa y se encuentra presente además en Túnez y Marruecos (Harris *et al.*, 2004a, 2004b; Perera and Harris, 2008; Rato *et al.*, 2010). De por sí, esta información no ayuda a dilucidar el origen de los individuos introducidos en nuestro país, sin embargo, si tomamos en consideración los antecedentes descritos por Arredondo y Nuñez en 2014, respecto a la supuesta procedencia europea de los individuos, específicamente Francés, dado el origen de los materiales importados por Metro de Santiago para la línea 2, podríamos concluir que efectivamente podría atribuirse un origen en dicho continente, al considerar ambos antecedentes.

Este linaje europeo común se describe como un haplotipo ampliamente distribuido (Europa, Túnez y Marruecos), pero que presenta una variabilidad genética mitocondrial extremadamente baja, lo que lleva a pensar, inicialmente, en recientes eventos de colonización de origen antrópico (Harris *et al.*, 2004a, 2004b; Perera y Harris, 2008). Sin

embargo, nuevos estudios que incluyen el análisis de genes nucleares, indican la posibilidad de que esta falta de variabilidad genética mitocondrial podría deberse a un “hitchhiking” genético y no a recientes eventos de colonización (Rato *et al.*, 2012).

Es por lo anterior que no se puede establecer con certeza un origen Francés y por lo tanto, considerando todos los antecedentes, lo mejor sería realizar estudios complementarios, incluyendo genes nucleares o estudios de genómica mitocondrial, de manera de tener una mejor comprensión de la procedencia de estos individuos.

Por otra parte, el haber encontrado solamente un haplotipo para la población estudiada, pudiese ser un indicador de un único evento de colonización, con un número indeterminado de individuos, más que una serie de eventos a los largo de un periodo de tiempo, donde se esperaría encontrar una mayor diversidad genética. Cabe destacar que *T. mauritanica* posee un rango de hogar bastante reducido, que oscila entre los 3,5 a 10 m² (Martínez-Rica, 1974; Salvador, 2015), lo que es un indicador que los individuos capturados no se encontraban directamente emparentados, ya que todos se localizaron separados por distancias mayores dentro de la zona de muestreo.

12.2 Fauna parasitaria

En los individuos capturados fue posible determinar la presencia de tres tipos parasitarios, un ácaro ectoparásito del género *Geckobia* y dos endoparásitos adultos, además de huevos de nematodos del género *Parapharyngodon* y huevos platelmintos de la clase Cestoda.

Para *Tarentola mauritanica*, se han descrito tanto parásitos externos como internos, los que abarcan cinco grupos diferentes (ácaros, protozoos, trematodos, cestodos y nematodos) con alrededor de 25 especies. El hallazgo de solamente tres tipos de parásitos indica que, en los individuos capturados, se encontró una menor diversidad y una menor densidad parasitaria, lo que concuerda con lo descrito por Torchin *et al.* (2003), donde se describe que una población de hospederos posee alrededor 16 especies de parásitos en su ambiente natural, de los cuales solamente, en promedio, tres acompañaron a su

hospedador al ser introducido a un nuevo ambiente. Sin embargo, también se describe que esta especie introducida, en promedio adquirirá cuatro nuevos parásitos en su nuevo ambiente (Torchin *et al.*, 2003), situación que aparentemente no se cumple en los individuos estudiados. Sin embargo, hay que tener presente el fenómeno de “overdispersion” o sobredispersión parasitaria, concepto que indica que dado que los parásitos infectan aleatoriamente a sus hospederos y sus tiempos de vida son variables, las cargas parasitarias dentro de los individuos de una población no siguen una distribución predecible (ej. Poisson) (Barbour y Kafetzaki, 1991), por lo tanto, es importante aclarar que estos resultados no son extrapolables a la población estudiada, y que son solo una aproximación a unos pocos individuos.

La posibilidad del establecimiento y diseminación de nuevos agentes parasitarios transportados por especies exóticas es bastante baja, ya que generalmente los parásitos poseen ciclos de vida bastante complejos, los que muchas veces implican la presencia de hospederos intermediarios, que en caso de estar ausentes, imposibilitan el establecimiento de estos (Torchin *et al.*, 2003).

Uno de los agentes encontrados en *T. mauritanica* en nuestro país es un ácaro del género *Geckobia* spp. Dicho género parasitario ya ha sido descrito en nuestro país, sin embargo se destaca que los estudios identificados por el Dr. Daniel González Acuña, solo fueron confirmados a nivel de género y luego de ser comparadas con las especies encontradas en la distribución original del hospedero (Daniel González A., comunicación personal). Esto puede significar que nos encontramos ante la presencia de una especie no descrita con anterioridad, la que incluso podría tener su origen en Chile, donde el conocimiento sobre este grupo es bastante incipiente. Por este motivo, la realización de estudios complementarios para poder determinar la especie de este agente cobra relevancia.

12.3 Nuevos antecedentes y perspectivas

Hasta comienzos del 2016, solo se describía la presencia de *T. mauritanica* en recintos de la ex Ciudad del Niño, en la comuna de San Miguel, Región Metropolitana (Arredondo y Nuñez, 2014). Sin embargo, ya existen registros en Peñalolén (Región Metropolitana) y Limache (Región de Valparaíso) sobre la presencia de esta especie (Demangel, 2016), señal de que esta especie podría estar ampliando su distribución e instalándose como una nueva especie en Chile. Una explicación para este fenómeno es que según información obtenida durante el primer reporte de la especie (Arredondo y Nuñez, 2014), se determinó de que se estaban extrayendo individuos de esta población de manera sistemática para su venta como mascotas en el comercio ilegal, incrementando la posibilidad de que otros individuos sean dispersados a nuevas áreas de distribución.

Esto cobra relevancia al reconocer que *T. mauritanica* es una especie con características sinantrópicas (Salvador, 2015) y que, como todo su género, presenta una gran capacidad colonizadora, demostrando tolerancia a ser transportadas a lugares lejanos de su distribución original (Tejado y Potes, 2011). Adaptándose particularmente bien al hábitat antropizado (Salvador, 2015), donde la presencia de asentamientos humanos facilitaría el establecimiento de nuevas poblaciones. Esta situación podría permitir su dispersión en el medio natural, como ha sucedido en España (Gosá *et al.*, 2011; Serrano, 2011) en la cual se ha registrado ocupando zonas rocosas y arbustivas, matorrales y troncos de árboles (Hódar, 2002; Salvador, 2015).

Si bien no existen hasta la fecha publicaciones sobre la ecología de la (o las) población(es) de *T. mauritanica* en nuestro país, comunicaciones personales con un equipo de investigadores (Raúl Díaz, Tahia Rannou y Paula Maldonado), quienes realizaron un estudio aún no publicado enfocado en obtener datos de la ecología de la población de San Miguel, indican que ésta presentaría un tamaño poblacional de aproximadamente 260 individuos, con una densidad de alrededor de 50 individuos por hectárea, cifra que supera ampliamente a lo descrito por Martínez-Rica (1974) en Mallorca (España) de 3,89 individuos por hectárea. Esto se puede deber a que la abundancia de la especie se relaciona con la

disponibilidad de refugios (Seva, 1988), los cuáles se presentan en gran cantidad en el área de estudio debido a su condición (sector urbano abandonado), asimismo, observaciones realizadas en este sitio, indican abundante presencia de tijeretas (*Forficula auricularia*), insecto dermáptero que al parecer podría estar siendo la principal fuente de alimentación para este geco. En este contexto, se cree que la población presente en el área, podría estar actuando como una población fuente, propiciando la dispersión de la especie a zonas aledañas. Observaciones complementarias, permiten afirmar que “la reproducción de los ejemplares en el área de estudio es efectiva, ya que el 52% de los ejemplares capturados en dicho estudio se categorizaron como recién nacidos” (Raúl Díaz, Tahia Rannou y Paula Maldonado, comunicación personal). Asimismo, rastros como huevos eclosionados, fueron encontrados en madrigueras (Figura 10) (Raúl Díaz, Tahia Rannou y Paula Maldonado, comunicación personal). Estas se encontraron cubiertas por escombros de gran tamaño, y los huevos estaban dispuestos sobre tierra mezclada con restos de pastizal, hallazgo que coincide con lo expuesto por Salvador (2015), quien describe que los huevos se depositan bajo piedras y son enterrados en el suelo.



Figura 10. Fotografía de madriguera de *Tarentola mauritanica* encontrada por Raúl Díaz, Tahia Rannou y Paula Maldonado. Se destaca la presencia de huevos eclosionados y muda de piel. Comuna de San Miguel, Santiago, Región Metropolitana. (Fotografía de Tahia Rannou, 2016).

Finalmente, es importante remarcar que bajo la definición del MMA, *T. mauritanica* se clasifica como una especie exótica en nuestro país. Sin embargo, la posibilidad de que pueda además clasificarse como invasora no puede descartarse, por lo que es relevante generar más información sobre esta especie en Chile. Esto dado principalmente por la falta de datos sobre la población establecida en San Miguel, los nuevos antecedentes de distribución descritos recientemente y el desconocimiento sobre el impacto que genera la presencia de esta especie de reptil en Chile, ya que a pesar de lo mencionado por Arredondo y Nuñez (2014), respecto de que *T. mauritanica* no se ha reportado como un invasor peligroso en ninguno de los países en los que se ha registrado su presencia, es importante mencionar que en su distribución original sí se ha descrito depredación de esta especie sobre lagartos de mediano tamaño (*Podarcis lilfordi*, *P. hispánica*), salamandras (*Hemidactylus turcicus*) y ejemplares jóvenes de su misma especie (González de la Vega, 1988; Salvador, 2015). Esta situación podría replicarse con *Liolaemus tenuis* o *L. lemniscatus*, especies registradas en el área de estudio, lo que podría presentar algún grado de incertidumbre respecto a su inocuidad.

13 Conclusiones

En vista de los antecedentes de la primera descripción de este reptil en nuestro país y de los análisis moleculares realizados en el presente estudio, podemos concluir que los individuos encontrados en recintos de la ex Ciudad del Niño en la comuna de San Miguel, se identifican como *Tarentola mauritanica mauritanica*, especie no presente de manera natural en nuestro país.

Respecto de la determinación del origen, los análisis filogenéticos realizados en este trabajo no permiten confirmar la hipótesis planteada por Arredondo y Nuñez (2014) respecto del origen francés de *T. mauritanica* en Chile, recomendándose la realización de estudios complementarios, utilizando a la vez genes nucleares para complementar los análisis realizados o realizar la secuenciación completa del ADN mitocondrial, para esclarecer de manera definitiva la procedencia de esta especie.

El estudio parasitológico determinó la presencia de tres tipos de parásitos presentes en los individuos capturados. Un ácaro del género *Geckobia*, huevos y adultos del género *Parapharingodon*, y un huevo de cestodo. Tal como se planteó en la hipótesis, se concluye que estos individuos presentaron una menor diversidad parasitaria respecto a lo descrito para la especie en su ambiente natural, así también una menor densidad parasitaria.

14 Bibliografía

- Achaval, F., Gudynas, E., 1983. Hallazgo de *Tarentola mauritanica* (L., 1758) (Lacertilia, Gekkonidae), en el Uruguay. Boletín la Soc. Zoológica del Uruguay 1, 7–11.
- Alvarez-Calvo, J.A., 1977. Biological studies on blood inhabiting coccidian with observation on its classification. Mediterr. Conf. Parasitol. 1, 14–15.
- Arredondo, C., Nuñez, H., 2014. *Tarentola mauritanica* (Linnaeus , 1758), A New Species Of Lizard For Chile (Reptilia , Phyllodactylidae). Boletín del Mus. Nac. Hist. Nat. Chile 63, 73–76.
- Avise, J.C., 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press.
- Baha El Din, S.M., 1997. A new species of *Tarentola* (Squamata: Gekkonidae) from the Western Desert of Egypt. African J. Herpetol. 46, 30–35.
- Barbour, A.D., Kafetzaki, M., 1991. Modeling the overdispersion of parasite loads. Math. Biosci. 107, 249–253.
- Barreiros, J.P., Elias, R.B., Lourenco, J., Dias, E., Borges, P., 2010. First records of *Tarentola mauritanica* (Linnaeus, 1758) (Reptilia; Gekkonidae) in the Azores. Arquipel. Life Mar. Sci. 27, 73–75.
- Barton, N.H., 2000. Genetic hitchhiking. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 355, 1553–1562.
- Bernt, M., Braband, A., Schierwater, B., Stadler, P.F., 2013. Genetic aspects of mitochondrial genome evolution. Mol. Phylogenet. Evol. 69, 328–38.
- Bertrand, M., Pfliegler, W.P., Sciberras, A., 2012. Does the African native host explain the African origin of the parasite? The Maltese *Geckobia estherae* n. sp. parasitic on *Tarentola mauritanica* (Acari: Raphignathoidea: Pterygosomatidae). Acarologia 52, 353–366.

- Brito, J., Vaconcelos, R., Harris, D.J., 2007. Genetic variation within African spiny-tailed lizards (Agamidae: Uromastyx) estimated using mitochondrial DNA sequences. *Amphibia-Reptilia* 28, 1–6.
- Carranza, S., Arnold, E., Mateo, J., Geniez, P., 2002. Relationships and evolution of the North African geckos, *Geckonia* and *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), based on mitochondrial and nuclear DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 23, 244–256.
- Cerdeira i Ribot, J., 2006. Localización de *Tarentola mauritanica* (Linné, 1758) en cajas nido para pájaros: ¿Un indicador de elevada actividad arborícola estacional? *Bol. Asoc. Herpetol. Esp.* 17, 38–41.
- Chivian, E., Bernstein, A. (Eds.), 2008. *Sustaining Life: How Human Health Depends on Biodiversity*. Oxford University Press, New York, NY.
- CONAMA, 2008. *Biodiversidad de Chile, Patrimonio y Desafíos*, Tercera ed. Santiago de Chile.
- Cordero del Campillo, M., Castañón-Ordóñez, L., Reguera-Feo, A., 1994. Índice- catálogo de zooparásitos ibéricos, Segunda ed. Secretariado de publicaciones, Universidad de León.
- Crofton, H.D., 1971. A model of host–parasite relationships. *Parasitology* 63, 343–364.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D., 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods* 9, 772.
- Davis, M.A., 2003. *Biotic Globalization: Does Competition from Introduced Species Threaten Biodiversity?* Bioscience.
- Demangel, D., 2016. *Reptiles en Chile*, Primera ed. Fauna Nativa Ediciones.
- Dobson, A.P., May, R.M., 1986. *Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii*. Springer, New York.

- Dobzhansky, T., Ayala, F.J., Stebbins, G.L., Valentine, J.W., 1977. Evolution. W. H. Freeman, San Francisco, CA.
- Dowling, H.G., Duellman, W.E., 1978. Systematic Herpetology: A Synopsis of Families and Higher Categories, Publications in herpetology. Hiss Publications.
- Fauna Invasora Terrestre [Online], 2015. GEF 83266 Fortalec. los Marcos Nac. para la Gob. las Especies Exóticas Invasoras Proy. Pilot. en el Arch. Juan Fernández. URL <http://www.proyectogefeei.cl/que-son-las-especies-exoticas-invasoras/fauna-invasora-terrestre/> (accessed 9.8.16).
- Filatov, D.A., 2009. Processing and population genetic analysis of multigenic datasets with ProSeq3 software. *Bioinformatics* 25, 3189–90.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A., 2004. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, MA.
- Gamble, T., Bauer, A.M., Greenbaum, E., Jackman, T.R., 2008. Out of the blue: a novel, trans-Atlantic clade of geckos (Gekkota, Squamata). *Zool. Scr.* 37, 355–366.
- Gil-Collado, J., Rivas-López, L.I., Zapatero-Ramos, L.M., 1985. Pterigosomidae (Acari; Actinedida) parásitos de Geckonidae de la Península Ibérica. *Actas II Congr. Iber. Entomol.* 1, 379–388.
- González de la Vega, J.P.P., 1988. Anfibios y reptiles de la provincia de Huelva. Ertisa, Huelva.
- Gosá, A., Laza-Martínez, A., Crespo-Díaz, A., Sanz-Azkue, I., Valdeón, A., Rubio, X., Laza-Martínez, A., Crespo-Díaz, A., Sanz-Azkue, I., Valdeón, A., Rubio, X., 2011. Reproducción de *Tarentola mauritanica* (L., 1758) en la costa vasca. *Munibe Ciencias Nat.* 59, 95–101.
- Haag-Liautard, C., Coffey, N., Houle, D., Lynch, M., Charlesworth, B., Keightley, P.D., 2008. Direct Estimation of the Mitochondrial DNA Mutation Rate in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.* 6, e204.

- Haitlinger, R., 2004. *Geckobia latasti* Megnin, 1878 and *G. loricata* Berlese, 1892 (Acari: Prostigmata: Pterygosomatidae), new mite species to the fauna of Balearic Islands, Spain. *Bolleti la Soc. d'Historia Nat. les Balear.* 47, 23–24.
- Harris, D., Batista, V., Carretero, M., Ferrand, N., 2004a. Genetic variation in *Tarentola mauritanica* (Reptilia: Gekkonidae) across the Strait of Gibraltar derived from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Amphibia-Reptilia* 25, 451–459.
- Harris, D., Batista, V., Lymberakis, P., Carretero, M., 2004b. Complex estimates of evolutionary relationships in *Tarentola mauritanica* (Reptilia: Gekkonidae) derived from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 30, 855–9.
- Harris, D.J., Arnold, E.N., Thomas, R.H., 1998. Relationships of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *R. Soc.* 265, 1939–1948.
- Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T., 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 22, 160–174.
- Hay, J., Ruvinsky, I., Hedges, S., Maxson, L., 1995. Phylogenetic relationships of amphibian families inferred from DNA sequences of mitochondrial 12S and 16S ribosomal RNA genes. *Mol. Biol. Evol.* 12, 928–937.
- Hódar, J.A., 2002. *Tarentola mauritanica*, in: Pleguezuelos, J.M., Márquez, R., Lizana, M. (Eds.), *Atlas Y Libro Rojo de Los Anfibios Y Reptiles de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza – Asociación Herpetológica Española, pp. 188–190.
- Hudson, P.J., Dobson, A.P., Newborn, D., 1998. Prevention of population cycles by parasite removal. *Science* (80). 282, 2256–2258.
- Iriarte, A., 2008. *Mamíferos de Chile*. Barcelona, España.
- Iriarte, J.A., Lobos, G.A., Jaksik, F.M., 2005. Invasive vertebrate species in Chile and their control and monitoring by governmental agencies. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 78, 143–154.

IUCN, 2010. IUCN - Especies invasoras [Online]. URL https://iucn.org/es/sobre/union/secretaria/oficinas/med/programa_uicn_med/especies/especies_invasoras/ (accessed 19.9.16).

Kocher, T.D., Wilson, A.C., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S. V, Pääbo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C., 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 86, 6196–200.

Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G., 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23, 2947–8.

Le, T.H., Blair, D., Agatsuma, T., Humair, P.-F., Campbell, N.J.H., Iwagami, M., Littlewood, D.T.J., Peacock, B., Johnston, D.A., Bartley, J., Rollinson, D., Herniou, E.A., Zarlenga, D.S., McManus, D.P., 2000a. Phylogenies Inferred from Mitochondrial Gene Orders--A Cautionary Tale from the Parasitic Flatworms. *Mol. Biol. Evol.* 17, 1123–1125.

Le, T.H., Blair, D., McManus, D.P., 2002. Mitochondrial genomes of parasitic flatworms. *Trends Parasitol.* 18, 206–13.

Le, T.H., Blair, D., McManus, D.P., 2000b. Mitochondrial DNA sequences of human schistosomes: the current status. *Int. J. Parasitol.* 30, 283–290.

Lemey, P., Salemi, M., Vandamme, A.-M. (Eds.), 2009. *The Phylogenetic Handbook A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*, Second ed. Cambridge University Press, New York.

Li, J., Zhao, G.H., Zou, F.C., Mo, X.H., Yuan, Z.G., Ai, L., Li, H.L., Weng, Y.B., Lin, R.Q., Zhu, X.Q., 2010. Combined mitochondrial 16S and 12S rDNA sequences: an effective genetic marker for inter-species phylogenetic analysis of zoonotic trematodes. *Parasitol. Res.* 107, 561–9.

- Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451–2.
- Lizana, M., Ciudad, M.J., Gil, M., Guerrero, F., Pérez-Mellado, V., Martín-Sánchez, R., 1992. Nuevos datos sobre la distribución de anfibios y reptiles en el macizo central de la Sierra de Gredos. *Rev. Esp. Herpetol.* 6, 61–80.
- Mack, R.N., Simberloff, W.M., Lonsdale, H., Evans, M.C., Bazzaz, F., 2000. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecol. Appl.* 10, 689–710.
- Martínez-Rica, J.P., 1974. Contribución al estudio de la biología de los gecónidos ibéricos (Rept., Sauria).
- Maynard Smith, J., Haigh, J., 2007. The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genet. Res.* 89, 391–403.
- Mayr, E., 1963. *Animal Species and Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, MA.
- McGuire, J.A., Linkem, C.W., Koo, M.S., Hutchison, D.W., Lappin, A.K., Orange, D.I., Lemos-Espinal, J., Riddle, B.R., Jaeger, J.R., 2007. Mitochondrial Introgression And Incomplete Lineage Sorting Through Space And Time: Phylogenetics Of Crotaphytid Lizards. *Evolution* (N. Y). 61, 2879–2897.
- Mellado, J., Amores, F., Parreño, F., Hiraldo, F., 1975. The structure of a Mediterranean lizard community. *Acta Vertebr.* 2, 145–160.
- Ministerio del Medio Ambiente, 2015. ESPECIES EXÓTICAS [Online]. URL <http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/pagina.aspx?id=90> (accessed 31.8.16).
- Mooney, H.A., Hobbs, R.J. (Eds.), 2000. *Invasive species in a changing world*. Island Press, Washington, D.C., USA.

- Myers, N., Mittermeyer, R. a, Mittermeyer, C.G., da Fonseca, G. a B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- Nič, M., Jirát, J., Košata, B., Jenkins, A., McNaught, A. (Eds.), 2009. IUPAC Compendium of Chemical Terminology. IUPAC, Research Triangle Park, NC.
- Palumbi, S., 1996. Nucleic Acids II: Polymerase Chain Reaction, in: Hillis, D., Moritz, C., Mable, B. (Eds.), *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, pp. 205–247.
- Perera, A., Harris, D.J., 2008. Genetic diversity in the gecko *Tarentola mauritanica* within the Iberian Peninsula. *Amphibia-Reptilia* 29, 583–588.
- Pitt, W., Vice, D., Pitzler, M., 2005. Challenges of Invasive Reptiles and Amphibians, in: *Wildlife Damage Management Conferences -- Proceedings*. pp. 112–119.
- Rambaut, A., 2015. FigTree v1.4.2: Tree Figure Drawing Tool [Online]. URL <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (accessed 19.8.16).
- Rato, C., Carranza, S., Harris, D., 2012. Evolutionary history of the genus *Tarentola* (Gekkota: Phyllodactylidae) from the Mediterranean Basin, estimated using multilocus sequence data. *BMC Evol. Biol.* 12, 14.
- Rato, C., Carranza, S., Perera, A., Carretero, M. a, Harris, D.J., 2010. Conflicting patterns of nucleotide diversity between mtDNA and nDNA in the Moorish gecko, *Tarentola mauritanica*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56, 962–71.
- Ricciardi, A., Cohen, J., 2007. The invasiveness of an introduced species does not predict its impact. *Biol. Invasions* 9, 309–315.
- Rieppel, O., 1981. *Tarentola mauritanica* (Linnaeus, 1758) - Mauergecko, in: Boehme, W. (Ed.), *Handbuch Der Reptilien Und Amphibien Europas*. Vol. 1. Echsen (Sauria) I. Akademische Verlag, Wiesbaden, pp. 119–133.

- Roca, V., 1993. The helminth fauna of the saurians, in: Alcover, J.A., Ballesteros, E., Fornos, J.J. (Eds.), *Historia Natural de l'Arxipelag de Cabrera*. Editorial Moll, Mallorca, pp. 273–292.
- Roca, V., 1985. *Skrjabinodon mascomai* n. sp. (Nematoda: Pharyngodonidae), parasite of *Tarentola mauritanica* (Linnaeus, 1758) Gray, 1845 (Reptilia: Geckonidae) in Valencia (Spain). *Riv. Parassitol.* 46, 27–31.
- Roca, V., Lluch, J., Mas-Coma, S., 1985. Contribución al conocimiento de la helmintofauna de los lagartos ibéricos.IV. Parásitos de *Tarentola mauritanica* (L., 1758) Gray, 1845 y *Hemidactylus turcicus* (L., 1758) Boettger, 1876 (Reptilia: Gekkonidae). *Circ. Farm.* 289, 277–294.
- Roca, V., Lluch, J., Navarro, P., 1984. Sur la presence en Espagne de *Sonsinotrema tacapense* (Sonsino, 1894) Balozet et Callot, 1938 (Trematoda: Lecithodendriidae) parasite d'amphibiens et de reptiles. *Vie Milieu* 33, 177–179.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P., 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.* 61, 539–42.
- Salvador, A., 2015. Salamanca común – *Tarentola mauritanica* (Linnaeus, 1758). *Encicl. Virtual los Vertebr. Españoles*.
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2005. *Handbook Of The Convention On Biological Diversity Including Its Cartagena Protocol On Biosafety*, Tercera ed. Montreal, Canada.
- Serrano, F., 2011. *Tarentola mauritanica*: aproximación a su distribución. *Bol. Asoc. Herpetol. Esp.* 22, 116–119.

- Seva, E., 1988. Densidad, distribución y reparto de recursos entre dos especies de saurios de la isla Plana (Alicante, España). *Bull. d'écologie* 19, 357–362.
- Simberloff, D., 2003. Confronting introduced species: A form of xenophobia? *Biol. Invasions* 5, 179–192.
- Simonetti, J.A., 1999. Diversity and conservation of terrestrial vertebrates in mediterranean Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 72, 493–500.
- Simpson, G.G., 1961. *Principles of Animal Taxonomy*. Columbia University Press, New York.
- Sprackland, R.G., Swinney, G.N., 1998. A new species of giant gecko of the genus *Tarentola* (Reptilia: Squamata: Gekkonidae) from Jamaica. *J Zool London* 245, 73–78.
- Taanman, J.-W., 1999. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1410, 103–123.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725–2729.
- Tejado, C., Potes, M.E., 2011. Primeros registros de *Tarentola mauritanica* (L. 1758) para el centro y norte de Alava. *Munibe Ciencias Nat.* 59, 87–93.
- Torchin, M.E., Lafferty, K.D., Dobson, A.P., McKenzie, V.J., Kuris, A.M., 2003. Introduced species and their missing parasites. *Nature* 421, 628–30.
- Torchin, M.E., Lafferty, K.D., Kuris, A.M., 2002. Parasites and marine invasions. *Parasitology* 124, S137–S151.
- Torchin, M.E., Lafferty, K.D., Kuris, A.M., 2001. Release from parasites as natural enemies: Increased performance of a globally introduced marine crab. *Biol. Invas.* 3, 333–345.
- Valverde, J.A., 1967. Estructura de una comunidad mediterránea de vertebrados terrestres.

- van Oven, M., Kayser, M., 2009. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum. Mutat.* 30, E386–E394.
- Vidal, M., 2004. Reptiles terrestres de Chile. Guías de Identificación y Biodiversidad Fauna Chilena. Iquique, Chile.
- Vitousek, P.M., 1990. Biological invasions and ecosystem processes: Towards an integration of population biology and ecosystem studies. *Oikos* 57, 7–13.
- Vitousek, P.M., D'Antonio, C.M., Loope, L.L., Rejmánek, M., Westbrooks, R., 1997. Introduced species: A significant component of human-caused global change. *N. Z. J. Ecol.* 21, 1–16.
- Vogrin, M., Corti, C., Pérez-Mellado, V., Sá-Sousa, P., Cheylan, M., Pleguezuelos, J., Baha El Din, S., Martínez-Solano, I., 2009. *Tarentola mauritanica* [Online]. IUCN Red List Threat. Species. URL <http://www.iucnredlist.org/details/summary/61578/0> (accessed 27.8.16).
- Wilcove, D.S., Rothstein, D., Dubow, J., Phillips, A., Losos, E., 1998. Quantifying Threats to Imperiled Species in the United States. *Bioscience* 48, 607–615.
- Wilson, E.O., 2010. *The Diversity of Life*. Belknap Press.
- Zhao, G.-H., Li, J., Zou, F.-C., Mo, X.-H., Yuan, Z.-G., Lin, R.-Q., Weng, Y.-B., Zhu, X.-Q., 2009. ISSR, an effective molecular approach for studying genetic variability among *Schistosoma japonicum* isolates from different provinces in mainland China. *Infect. Genet. Evol.* 9, 903–7.

15 Anexos

15.1 Anexo 1.

Certificado de Comité de Bioética de FAVET



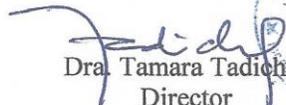
UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias
Comité de Bioética Animal

Santiago, 25 de mayo de 2015

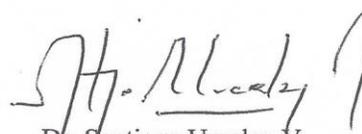
CERTIFICADO N° 11-2015

En relación con los procedimientos propuestos para el uso de animales experimentales, tenida a la vista la metodología del Proyecto: **“Descripción, origen y ectoparásitos en *Tarentola mauritanica*, una nueva especie invasora en nuestro país”**. Dicho proyecto corresponde a un Proyecto de Tesis de Magíster del Sr. **Cristóbal Arredondo Elias de Quiros** donde el Investigador Responsable será el **Dr. Cristóbal Briceño Urzúa**, y sus detalles contenidos en el Formulario para obtención de certificado de Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, este Comité certifica que el Proyecto satisface lo estipulado en la guía de principios directrices internacionales para el uso de animales en investigación biomédica, elaborada por el Consejo para las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Biomédicas, adecuada y adoptada por este Comité, y se ajusta a la legislación chilena vigente sobre la materia, incluida la Norma NCh 324-2011.

A este respecto este Comité entiende que el Investigador Responsable trabajará con un máximo de 30 individuos de la especie invasora *Tarentola mauritanica*. Todos los individuos serán capturados y sacrificados de acuerdo al protocolo entregado en el formulario adjunto.


Dra. Tamara Tadić G.
Director
Comité de Bioética Animal




Dr. Santiago Urcelay V.
Presidente
Comité de Bioética Animal

15.2 Anexo 2.

Tabla con secuencias de *Tarentola mauritanica* utilizadas en este estudio, indicando su haplotipo, clado, lugar de origen, código de acceso de GeneBank y cita para cada secuencia. Las secuencias de los individuos colectados en Chile no se encuentran publicadas actualmente. Secuencias sin código de acceso no se encuentran disponibles en el NCBI, y fueron enviadas por Catarina Rato, investigadora post-doctoral en el CIBIO-InBIO, Universidad de Porto, Campus de Vairão, Portugal.

Código	Haplotipo	Clado	Origen	Código acceso NCBI 12S	Código acceso NCBI 16S	Fuente
A	Hap_EU	A	Chile	-	-	-
B	Hap_EU	A	Chile	-	-	-
C	Hap_EU	A	Chile	-	-	-
D	Hap_EU	A	Chile	-	-	-
DB1246	Hap_EU	A	España	JQ300720	JQ300816	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB156	Hap_EU	A	Portugal	-	-	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB177	Hap_EU	A	España	HM014476	HM014533	Rato <i>et al.</i> 2010
DB214	Hap_EU	A	Túnez	HM014478	HM014535	Rato <i>et al.</i> 2010
DB215	Hap_EU	A	Túnez	HM014479	HM014536	Rato <i>et al.</i> 2010
DB218	Hap_EU	A	Túnez	HM014481	HM014538	Rato <i>et al.</i> 2010
DB267	Hap_EU	A	España	HM014483	HM014540	Rato <i>et al.</i> 2010
DB270	Hap_EU	A	España	HM014484	HM014541	Rato <i>et al.</i> 2010
DB272	Hap_EU	A	España	HM014485	HM014542	Rato <i>et al.</i> 2010
DB273	Hap_EU	A	España	HM014486	HM014543	Rato <i>et al.</i> 2010
DB292	Hap_EU	A	España	HM014487	HM014544	Rato <i>et al.</i> 2010
DB3145	Hap_EU	A	Italia	JQ300728	JQ300895	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB3176	Hap_EU	A	Italia	JQ300731	JQ300881	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB323	Hap_EU	A	Marruecos	HM014495	HM014552	Rato <i>et al.</i> 2010
DB3235	Hap_EU	A	Croacia	JQ300740	JQ300888	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB365	Hap_EU	A	España	HM014499	HM014556	Rato <i>et al.</i> 2010
DB369	Hap_EU	A	España	HM014502	HM014559	Rato <i>et al.</i> 2010
DB394	Hap_EU	A	España	HM014508	HM014565	Rato <i>et al.</i> 2010
DB395	Hap_EU	A	España	HM014509	HM014566	Rato <i>et al.</i> 2010
DB402	Hap_EU	A	España	HM014512	HM014569	Rato <i>et al.</i> 2010
DB403	Hap_EU	A	España	HM014513	HM014570	Rato <i>et al.</i> 2010
DB404	Hap_EU	A	España	HM014514	HM014571	Rato <i>et al.</i> 2010
DB405	Hap_EU	A	Portugal	HM014515	HM014572	Rato <i>et al.</i> 2010
DB406	Hap_EU	A	España	HM014516	HM014573	Rato <i>et al.</i> 2010

DB408	Hap_EU	A	España	HM014518	HM014575	Rato <i>et al.</i> 2010
DB409	Hap_EU	A	España	HM014519	HM014576	Rato <i>et al.</i> 2010
DB410	Hap_EU	A	España	HM014520	HM014577	Rato <i>et al.</i> 2010
DB420	Hap_EU	A	España	HM014528	HM014585	Rato <i>et al.</i> 2010
DB423	Hap_EU	A	Túnez	HM014529	HM014586	Rato <i>et al.</i> 2010
DB424	Hap_EU	A	Túnez	HM014530	HM014587	Rato <i>et al.</i> 2010
DB425	Hap_EU	A	Túnez	HM014531	HM014588	Rato <i>et al.</i> 2010
DB426	Hap_EU	A	Túnez	HM014532	HM014589	Rato <i>et al.</i> 2010
DB496	Hap_EU	A	Algeria	JQ300660	JQ300901	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB720	Hap_EU	A	Italia	JQ300719	JQ300796	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB724	Hap_EU	A	Italia	JQ300627	JQ300833	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB311	Mor1	A	Marruecos	HM014490	HM014547	Rato <i>et al.</i> 2010
DB317	Mor2	A	Marruecos	HM014491	HM014548	Rato <i>et al.</i> 2010
DB328	Mor2	A	Marruecos	HM014496	HM014553	Rato <i>et al.</i> 2010
Tm30	Spa_Mor1	A	España	AY828460	AY828485	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm58	Spa_Mor1	A	Marruecos	AY828457	AY828482	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm27	Spa1	A	España	AY828458	AY828483	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm29	Spa1	A	España	AY828459	AY828484	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB216	Tun1	A	Túnez	HM014480	HM014537	Rato <i>et al.</i> 2010
DB265	Port1	B	Portugal	HM014482	HM014539	Rato <i>et al.</i> 2010
DB367	Spa_Port1	B	España	HM014500	HM014557	Rato <i>et al.</i> 2010
DB368	Spa_Port1	B	España	HM014501	HM014558	Rato <i>et al.</i> 2010
DB377	Spa_Port1	B	España	HM014505	HM014562	Rato <i>et al.</i> 2010
DB381	Spa_Port1	B	España	HM014507	HM014564	Rato <i>et al.</i> 2010
DB407	Spa_Port1	B	España	HM014517	HM014574	Rato <i>et al.</i> 2010
DB411	Spa_Port1	B	España	HM014521	HM014578	Rato <i>et al.</i> 2010
DB413	Spa_Port1	B	España	HM014523	HM014580	Rato <i>et al.</i> 2010
DB414	Spa_Port1	B	España	HM014524	HM014581	Rato <i>et al.</i> 2010
DB415	Spa_Port1	B	España	HM014525	HM014582	Rato <i>et al.</i> 2010
DB416	Spa_Port1	B	Portugal	HM014526	HM014583	Rato <i>et al.</i> 2010
DB1880	Spa2	B	España	JQ300569	JQ300798	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB3834	Spa3	B	España	JQ300561	JQ300812	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB3844	Spa3	B	España	JQ300715	JQ300810	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB3838	Spa4	B	España	JQ300739	JQ300972	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB417	Spa5	B	España	HM014527	HM014584	Rato <i>et al.</i> 2010
DB412	Spa6	B	España	HM014522	HM014579	Rato <i>et al.</i> 2010
Tm34	Mor10	C	Marruecos	AY828463	AY828487	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB321	Mor11	C	Marruecos	HM014494	HM014551	Rato <i>et al.</i> 2010

Tm36	Mor12	C	Marruecos	AY828461	AY828488	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm37	Mor12	C	Marruecos	AY828448	AY828489	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm39	Mor13	C	Marruecos	AY828450	AY828474	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB1448	Mor14	C	Marruecos	JQ300690	JQ300940	Rato <i>et al.</i> , 2012
Tm45	Mor15	C	Marruecos	AY828454	AY828478	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB192	Mor16	C	Marruecos	-	-	Harris <i>et al.</i> 2004 ^b
Tm43	Mor16	C	Marruecos	AY828452	AY828476	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB198	Mor17	C	Marruecos	-	-	Harris <i>et al.</i> 2004 ^b
Tm49	Mor18	C	Marruecos	AY828466	AY828492	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm53	Mor19	C	Marruecos	AY828468	AY828494	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm48	Mor20	C	Marruecos	AY828456	AY828480	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm46	Mor21	C	Marruecos	AY828455	AY828479	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB190	Mor22	C	Marruecos	HM014477	HM014534	Rato <i>et al.</i> 2010
DB11004	Mor3	C	Marruecos	JQ300597	JQ300914	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB11042	Mor3	C	Marruecos	JQ300686	JQ300854	Rato <i>et al.</i> , 2012
Tm44	Mor4	C	Marruecos	AY828453	AY828477	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB11022	Mor5	C	Marruecos	JQ300541	JQ300860	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB2545	Mor5	C	Marruecos	JQ300560	JQ300960	Rato <i>et al.</i> , 2012
Tm40	Mor5	C	Marruecos	AY828451	AY828475	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB11035	Mor6	C	Marruecos	JQ300636	JQ300871	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB199	Mor6	C	Marruecos	-	-	Harris <i>et al.</i> 2004 ^b
DB398	Mor6	C	Marruecos	HM014510	HM014567	Rato <i>et al.</i> 2010
Tm38	Mor6	C	Marruecos	AY828449	AY828490	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm50	Mor6	C	Marruecos	AY828467	AY828493	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB320	Mor7	C	Marruecos	HM014493	HM014550	Rato <i>et al.</i> 2010
DB2635	Mor8	C	Marruecos	JQ300657	JQ300821	Rato <i>et al.</i> , 2012
Tm33	Mor9	C	Marruecos	AY828462	AY828486	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
Tm54	Mor9	C	Marruecos	AY828464	AY828481	Harris <i>et al.</i> 2004 ^a
DB1334	Can1	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1402	Can1	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1358	Can2	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1353	Can3	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1469	Can3	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1340	Can4	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1354	Can4	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1373	Can4	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1374	Can4	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB1365	Can5	D	I. Canarias	-	-	Rato <i>et al.</i> , 2012

DB474	Alg1	E	Algeria	JQ300558	JQ300783	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB159	Mor23	E	Marruecos	-	-	Harris <i>et al.</i> 2004a
DB374	Mor24	E	Marruecos	HM014504	HM014561	Rato <i>et al.</i> 2010
DB373	Mor25	E	Marruecos	HM014503	HM014560	Rato <i>et al.</i> 2010
DB165	Mor26	E	Marruecos	-	-	Harris <i>et al.</i> 2004a
Tm57	Mor26	E	Marruecos	AY828469	AY828495	Harris <i>et al.</i> 2004a
DB205	Mor27	E	Marruecos	-	-	Harris <i>et al.</i> 2004b
Tm56	Mor28	E	Marruecos	AY828470	AY828496	Harris <i>et al.</i> 2004b
DB5113	Mor29	E	Marruecos	JQ300585	JQ300954	Rato <i>et al.</i> , 2012
DB318	Mor30	E	Marruecos	HM014492	HM014549	Rato <i>et al.</i> 2010
DB329	Mor31	E	Marruecos	HM014497	HM014554	Rato <i>et al.</i> 2010
DB296	Spa7	E	España	-	-	Perera y Harris, 2008
DB379	Spa8	E	España	HM014506	HM014563	Rato <i>et al.</i> 2010
DB401	Spa9	E	España	HM014511	HM014568	Rato <i>et al.</i> 2010
DB303	Ita1	F	Italia	HM014488	HM014545	Rato <i>et al.</i> 2010
DB354	Ita1	F	Italia	HM014498	HM014555	Rato <i>et al.</i> 2010
DB304	Ita2	F	Italia	HM014489	HM014546	Rato <i>et al.</i> 2010
Tb	Tb	Outgroup	-	AF363569	JQ300779	Carranza <i>et al.</i> 2002; Rato <i>et al.</i> 2012