

UCH-FC
MAG-B
N322

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y FARMACEUTICAS

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD MORFOLOGICA, CROMOSOMICA
Y BIOQUIMICA EN CINCO POBLACIONES DE *LIOLAEMUS*
(SQUAMATA-IGUANIDAE)

JOSE NAVARRO BARON

- 1983 -

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD MORFOLOGICA, CROMOSOMICA
Y BIOQUIMICA EN CINCO POBLACIONES DE *LIOLAEMUS*
(SQUAMATA-IGUANIDAE)

Tesis

entregada a la

Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

Magister en Ciencias Biológicas

con mención en Genética

por

JOSE NAVARRO BARON

Patrocinante de Tesis : Dr. Alberto Veloso Martínez

1983

FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y FARMACEUTICAS
UNIVERSIDAD DE CHILE


INFORME DE APROBACION
TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Comisión de Post-Grado de la Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magister presentada por el candidato

JOSE ALBERTO NAVARRO BARON

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito de Tesis para el Grado de Magister en Ciencias Biológicas con mención en Genética

Patrocinante de Tesis


.....
Dr. Alberto Veloso M.

Comisión Informante de Tesis


.....
Dra. Liliana Cardemil O.


.....
Dr. Lafayette Eaton H.


.....
Dr. Angel Spotorno O.

.....

A Alberto Veloso M. y
Patricia Iturra C.

A G R A D E C I M I E N T O S

A Daniel Frías y Raúl Godoy, por su constante estímulo.

A Nelson Díaz, Ricardo Galleguillos, Ricardo Guíñez y Carlos Valenzuela, por la discusión orientadora en algunos aspectos de esta tesis.

A mis compañeros de trabajo del Departamento de Biología Celular y Genética.

A Julia Palma por la transcripción de este manuscrito.

Esta tesis ha sido parcialmente financiada por el Proyecto N-922-8345 del Departamento de Desarrollo de la Investigación, Universidad de Chile del Dr. Alberto Veloso M.

I N D I C E D E M A T E R I A S

	PAG.
A. PAGINAS PRELIMINARES	
Página de título	i
Informe de aprobación	
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Indice de materias	iv
Lista de tablas	vii
Lista de figuras	ix
Resumen	x
B. PAGINAS DE TEXTO	
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	
Materiales	6
Métodos	7
1. Descripciones de los taxa	8
2. Análisis biométrico	10
3. Análisis citotaxonómico	14

INDICE DE MATERIAS (CONT.)

	PAG.
4. Análisis electroforético	18
5. Análisis de conjunto de los caracteres cualitativos	21
RESULTADOS	
1. Descripciones de los taxa	22
2. Análisis citotaxonómico	30
3. Análisis electroforético. Caracteres bioquímicos	33
4. Análisis de conjunto de los caracteres cualitativos	34
5. Variación intra e interpoblacional de caracteres cuantitativos	
5.1. Distancias fenéticas	35
5.2. Distancias genéticas	37
DISCUSION	63
1. Delimitación de entidades específicas y subespecíficas	
1.1. Caracteres de la morfología externa	64

INDICE DE MATERIAS (CONT.)

	PAG.
1.2. Caracteres cromosómicos	65
1.3. Caracteres bioquímicos	66
2. Agrupaciones de las poblaciones generadas por los caracteres cualitativos	67
3. Variación intra e interpoblacional de caracteres cuantitativos	
3.1. Distancias fenéticas	71
3.2. Distancias genéticas	74
CONCLUSIONES	80
ANEXO I	83
ANEXO II	96
BIBLIOGRAFIA	104

L I S T A D E T A B L A S

	PAG.
1. Valores de similitud (S) de caracteres cualitativos	40
2. Medidas cromosómicas de 3 especies de <i>Liolaemus</i>	41
3. Promedios, medidas de dispersión y variabilidad de los machos de 5 poblaciones de <i>Liolaemus</i>	42
4. Promedios, medidas de dispersión y variabilidad de las hembras de 5 poblaciones de <i>Liolaemus</i>	44
5. Comparaciones intrapoblacionales. Valores de Hotteling (T^2) y valores de F	46
6. Comparaciones interpoblacionales. Valores de Hotteling (T^2) y valores de F	47

	PAG.
7. Comparaciones interpoblacionales. Valores de distancia de Mahalanobis (D^2)	48
8. Frecuencias alélicas en 5 poblaciones de <i>Liolaemus</i>	49
9. Porcentaje de loci polimórficos y heterocigosidad poblacional promedio	51
10. Valores de identidad genética (I) y de distancia genética (D)	52
11. Valores de tiempo evolutivo	53
12. Correlación de los valores de similitud	53a
I-1. Caracteres morfológicos y estados del carácter	93
I-2. Caracteres cromosómicos y estados del carácter	94
I-3. Caracteres bioquímicos y estados del carácter	95

L I S T A D E F I G U R A S

	PAG.
1. Variables cuantitativas de la morfología externa de <i>Liolaemus</i>	12
2. Ejemplares de referencia de la descripción taxonómica. Población 1, 2 y 3	54
3. Ejemplares de referencia de la descripción taxonómica. Población 4 y 5	56
4. Dendrogramas de caracteres cualitativos	57
5. Cariotipos	59
6. Idiogramas	60
7. Dendrogramas de caracteres cuantitativos	62

R E S U M E N

El género *Liolaemus* tiene una alta diversidad. En él existen problemas taxonómicos, que tienen que ver con la delimitación de sus taxa, tanto especies como subespecies.

En esta tesis se aplica una metodología de análisis basada en el aporte taxonómico de caracteres cualitativos de la morfología externa, cromosómicos y bioquímicos, los que son examinados en 5 poblaciones. En estas poblaciones estarían representadas de acuerdo a estudios previos, especies, subespecies y además poblaciones locales.

Los distintos conjuntos de caracteres alcanzan por separado diferentes grados de resolución en la precisión de la diversidad representada por estas poblaciones. Se propone incorporar el conjunto de los caracteres a un análisis global, lo que permitiría reconocer en forma objetiva, especies, subespecies y poblaciones locales. Con los caracteres que comparten estas poblaciones es posible generar agrupaciones que representan las relaciones fenéticas existentes.

Un estudio comparativo, utilizando caracteres cuantitativos de la morfología externa, que consisten en mediciones realizadas en los ejemplares, permite determinar la variabilidad fenética intra e interpoblacional, que representa las diferencias fenéticas entre poblaciones. Este análisis es contrastado con un análisis genético, realizado a partir de la determinación de las frecuencias genéticas de proteínas e isoenzimas. De esta manera, se puede evaluar la correspondencia entre los niveles de diferenciación fenética y la representada por las diferencias genéticas en estas poblaciones.

El estudio fenético se efectuó mediante un análisis estadístico multivariado, que permite establecer el dimorfismo sexual y las diferencias entre poblaciones (Prueba de Hotelling, T^2), y determinar las distancias fenéticas interpoblacionales mediante la prueba de Mahalanobis (D^2). El análisis genético se realiza mediante la estimación de la identidad genética (I) y la distancia genética (D).

Las distancias fenéticas y genéticas entre poblaciones locales son menores que entre las subespecies. Estos mismos estimadores permiten también reconocer que las subespecies son más semejantes entre sí en su constitución morfológica y genética que las especies congénicas.

La inexistencia de evidencia paleontológica de especies del género *Lio'laemus*, hace necesario tener una medida cronológica, para establecer el tiempo de divergencia evolutiva entre los taxa. La distancia genética (D) entre poblaciones y una constante de proporcionalidad (c), hacen posible esta estimación.

I N T R O D U C C I O N

El establecimiento de la diversidad de un grupo zoológico es el reconocimiento de las especies que lo constituyen. Para ello se utilizan diversos criterios, los que además de permitir la identificación de las especies, generan un sistema jerárquico que deja en evidencia sus relaciones evolutivas.

En los estudios sistemáticos es posible reconocer una secuencia histórica de etapas; éstas se iniciaban con el reconocimiento y nominación de las especies, en base a descripciones de caracteres de la morfología externa. En esta etapa generalmente se señala también la distribución de las especies nominadas. Estudios posteriores consideran en el trabajo sistemático la variación poblacional. Esta etapa descriptiva es superada en la actualidad con la inclusión de avances teóricos provenientes de la biología de poblaciones y el aporte de análisis citogenéticos y bioquímicos, para precisar los mecanismos que originan la diversidad en un determinado taxon. Los nuevos aportes le permitirían al sistemático comprobar la validez de esquemas taxonómicos propuestos y entrar a una fase predictiva en sus estudios.

Uno de los géneros más numerosos y complejos de la Familia Iguanidae es *Liolaemus*, de distribución principalmente Andino-Patagónica. En Chile Continental, el área de distribución de sus especies comprende prácticamente todas las regiones bioclimáticas representadas tanto en sentido latitudinal como altitudinal (1). Las características distribucionales de *Liolaemus*, conjuntamente con su alto número de especies y la considerable variación morfológica que entre ellas se observa, hacen que este sea un conjunto adecuado de especies en donde comprobar hipótesis relacionadas con su filogenia y con los mecanismos que originan su diversidad.

Los caracteres más utilizados para establecer la diversidad de especies en *Liolaemus*, han sido los de la morfología externa incluido el patrón de coloración. Con estos caracteres en *Liolaemus* se reconocieron 34 especies y 33 subespecies (2,3,4,). Estudios posteriores basados en caracteres de esta misma naturaleza modifican esta situación. Se describen nuevas especies y se adscriben otras especies a *Liolaemus* (5,6,7). Otros enfoques se incorporan en la determinación del número de sus entidades, esto resulta en un mejor conocimiento de la variación intraespecífica mediante diversos análisis biométricos (8,9). El análisis

cromosómico también ha sido considerado y apoya algunas de las diagnósis específicas, al mismo tiempo, estos estudios citotaxonómicos han resultado orientadores en el establecimiento de grupos de afinidad cromosómica (10,11,12,13).

El conjunto de la información taxonómica disponible en la actualidad indicaría que el género estaría formado por 47 especies y 25 subespecies (14,15). Estas modificaciones experimentadas por *Liolaemus*, en la delimitación del número de sus especies y subespecies son indicativas que su sistemática se encuentra en estado de flujo.

Las diversas metodologías empleadas aún resultan insuficientes para dar cuenta de la diversidad de *Liolaemus*. Las descripciones morfológicas cuentan con pocos caracteres taxonómicos válidos para realizar diagnósis específicas; en la práctica, la confección de claves se ve dificultada al no contar con estos caracteres. Los análisis biométricos y cromosómicos, si bien en general permiten individualizar grupos de especies han sido sólo aplicados de manera parcial.

Una metodología que ha sido ampliamente utilizada (16,17) para poner en evidencia relaciones intra e interespecíficas, es la inclusión de técnicas electroforéti-

cas provenientes del campo de la bioquímica comparada (18). Con estos aportes, los análisis referidos a proteínas permiten contar en los estudios comparativos con nuevos caracteres taxonómicos, que son la presencia y/o ausencia de determinadas proteínas e isoenzimas. Un segundo aspecto que puede ser abordado utilizando caracteres bioquímicos, que son obtenidos mediante la técnica electroforética, es el reconocimiento de especies y de categorías infraespecíficas como son las subespecies y además las poblaciones locales. Esto se logra estimando a nivel poblacional las diferencias genéticas entre los distintos grupos que se comparan (19). Los avances teóricos en genética de poblaciones permiten expresar las diferencias genéticas entre poblaciones como estimadores de Identidad Genética (I) y de Distancia Genética (D), propuestos por Nei (20) y Rogers (21), a partir de las frecuencias genéticas encontradas.

Los antecedentes señalados hacen de un alto interés aplicar el método electroforético al estudio de la diversidad del género *Liolaemus*. Los resultados de estos análisis serán considerados y evaluados de conjunto con el aporte taxonómico de los caracteres cualitativos y cuantitativos de la morfología externa y los estudios cromosómicos.

Los objetivos de la presente tesis son:

1. Contribuir a precisar la diversidad de taxa representados en un conjunto de poblaciones de *Liolaemus*, utilizando caracteres de la morfología externa, citotaxonómicos y bioquímicos.
2. Estimar la variabilidad fenética y genética que presentan un conjunto de poblaciones de *Liolaemus*, entre las cuales, de acuerdo al sistema taxonómico formal, es posible reconocer especies y categorías infraespecíficas.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

†

MATERIALES

Se utilizaron 5 poblaciones de *Liolaemus* de la Zona Central de Chile, de la Costa y de la Cordillera frente a Santiago. Las localidades y número de ejemplares analizados son:

Población 1.

Localidad La Parva, Farellones, 2.800 m. snm. ($33^{\circ} 11.5'$ Lat. S. y $70^{\circ} 29'$ Long. W.), 49 ejemplares, 23 machos y 26 hembras.

Población 2.

Localidad El Embalse, Valle del Río San Francisco, 2.500 m. snm. ($33^{\circ} 10'$ Lat. S. y $70^{\circ} 20.6'$ Long. W.), 21 ejemplares, 15 machos y 6 hembras.

Población 3.

Localidad La Parva, Farellones, 2.800 m. snm. ($33^{\circ} 11.5'$ Lat. S. y $70^{\circ} 29'$ Long. W.), 23 ejemplares, 10 machos y 13 hembras.

Población 4.

Localidad Maitencillo 0 a 50 m. snm. ($32^{\circ} 32'$ Lat. S. y $71^{\circ} 26'$ Long. W.), 33 ejemplares, 18 machos y 15 hembras.

Población 5.

Localidad Zapallar, 0 a 50 m. snm. ($32^{\circ} 32'$ Lat. S. y $71^{\circ} 27'$ Long. W.), 20 ejemplares, 10 machos y 10 hembras.

Todos los ejemplares se encuentran depositados en la Colección Herpetológica del Departamento de Biología Celular y Genética de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile (DBGUCH).

METODOS

Se realizó un estudio taxonómico en 5 poblaciones de *Liolaemus*, mediante la utilización de caracteres morfológicos externos cualitativos, caracteres citotaxonómicos y caracteres bioquímicos. A los estudios taxonómicos siguen en un orden secuencial un estudio de la variabilidad fenética y genética intra e interpoblacional y un esquema de proposiciones basado en el conjunto de la información orientada a establecer las relaciones evolutivas entre los diferentes taxa representados.

1. DESCRIPCIONES DE LOS TAXA

La descripción se realiza mediante caracteres de la morfología externa, a partir de los cuales es posible extraer los caracteres de diagnosis específica, utilizando un ejemplar de referencia, que en cada población corresponde a un macho adulto. En éstos se realizó una descripción exhaustiva y secuencial de caracteres, que comprenden a) cabeza, b) tronco, c) extremidades anteriores y posteriores, y d) región anal y cola, todos por su parte dorsal y ventral. Se incluyó también una hembra adulta, lo que hace posible considerar los caracteres sexuales secundarios. Para completar la descripción se considera el patrón de coloración en fijación de ambos sexos.

En las descripciones son considerados 42 caracteres de la morfología externa, de tipo cualitativo, merístico y de proporciones relativas. Estos caracteres varían entre las poblaciones, de manera que pueden identificarse de 2 a 4 alternativas o estados del carácter (22). De cada población se tomaron a partir de una tabla de números aleatorios, dos machos y dos hembras, para constatar que los caracteres considerados no presentaban variación intrapoblacional. El conjunto de carac-

terres considerados son habitualmente usados en las descripciones de *Liolaemus* (2).

En el Anexo I se presenta un listado de estos caracteres y sus respectivos estados del carácter. En la Tabla I-1 del Anexo, la lectura de las columnas permite describir ordenadamente cada una de las poblaciones que comprenden el material utilizado. Con esta Tabla y el listado de caracteres pueden identificarse aquellos que constituyen la diagnosis específica (rectángulos, círculos y cuadrados); además se incluyen los caracteres sexuales secundarios y el patrón de coloración en fijación.

Otro análisis realizado (lectura de las filas), correspondió a la determinación del número de caracteres compartidos entre las poblaciones. El número de caracteres compartidos son utilizados para calcular valores de similitud S (S_{SM}) (23), con los cuales se genera un dendrograma mediante el "Método de Promedio de Pares" (UPGMA).

2. ANALISIS BIOMETRICO

Las variables cuantitativas de la morfología externa son 12 (Fig. 1).

1. Longitud hocico cloaca (HC): desde la punta del hocico hasta el pliegue anterior de la cloaca.
2. Ancho cabeza (AC): corresponde a la distancia inter-timpánica.
3. Longitud cabeza (LC): desde la punta del hocico hasta el borde posterior de las escamas parietales.
4. Alto cabeza (aC): medida a nivel de las escamas parietales.
5. Longitud de la extremidad anterior (EA): desde la inserción del brazo hasta la punta del dedo mayor.
6. Longitud de la mano (LM): desde el inicio de las escamas plantares hasta la punta del dedo mayor.
7. Ancho de la mano (AM): medida a nivel del nacimiento de los dedos externos.

8. Longitud de la extremidad posterior (EP): desde la inserción del muslo hasta la punta del dedo mayor.
9. Longitud de la pata (LP): desde el inicio de las es-
camas plantares hasta la punta del dedo mayor.
10. Ancho de la pata (AP): medida a nivel del nacimiento
de los dedos externos.
11. Longitud axila-ingle (AI): desde la inserción del
brazo hasta la inserción del muslo.
12. Ancho del cuerpo (ac): en la mitad de la longitud
axila-ingle.

Las mediciones se hicieron con un pie de metro con una precisión de 0.05 mm.

Estas variables cuantitativas son analizadas mediante estadística descriptiva y análisis multivariado.

Estadística Descriptiva

La estadística descriptiva se presenta en machos y hembras por separado y consiste en determinar:

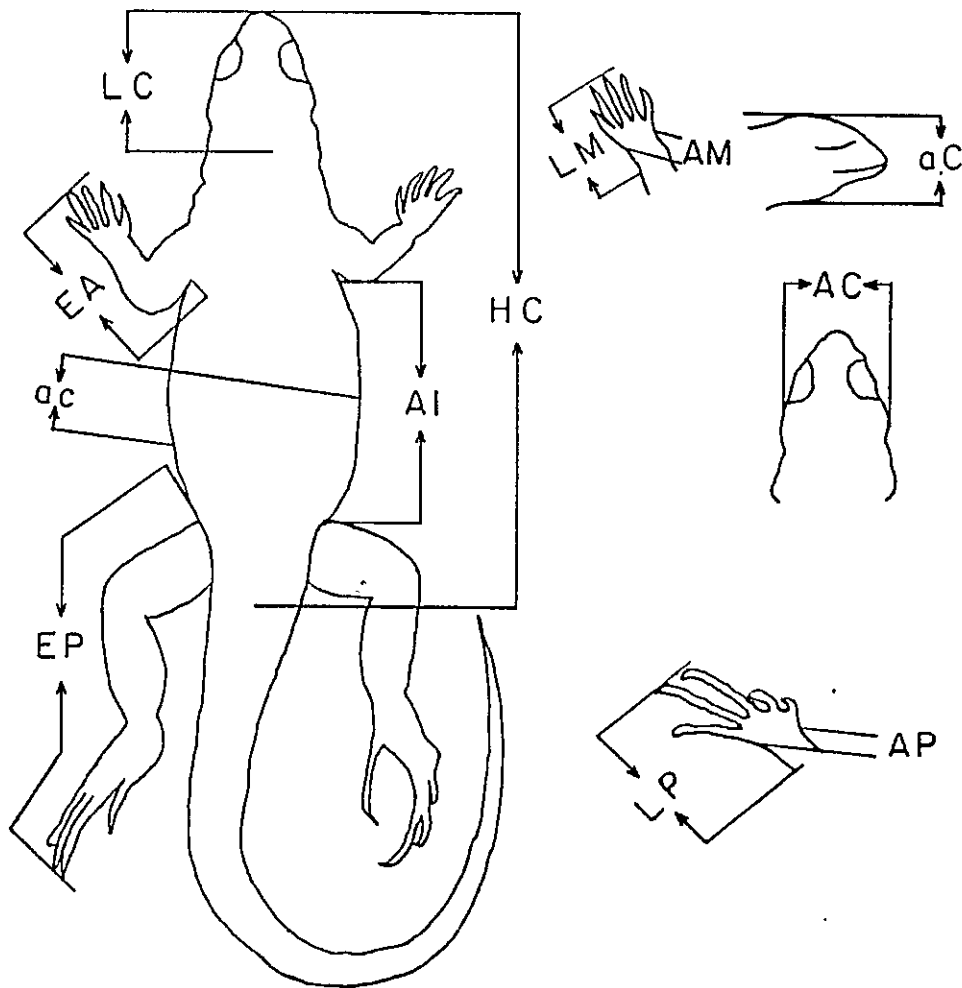


Figura 1: Variables cuantitativas de la morfología externa de *Liolaemus*.

HC = Longitud hocico cloaca. AC = Ancho cabeza.
 LC = Longitud cabeza. aC = Alto cabeza. EA = Ex-
 tremidad anterior. LM = Longitud de la mano. AM =
 Ancho de la mano. EP = Extremidad posterior. LP =
 Longitud de la pata. AP = Ancho de la pata. AI =
 Longitud axila-ingle. ac = Ancho del cuerpo.

valores de rango; promedios (\bar{X}); error estándar (ES) y el coeficiente de variación (C.V.)

Análisis Multivariado

Un análisis (24) se aplicó a ejemplares de ambos sexos por separado para establecer si existen diferencias significativas intra e interpoblacionales. Se utilizó la prueba de Hotteling (T^2) que permite determinar la validez de la hipótesis de igualdad de 2 vectores de promedios de 2 muestras independientes. El otro análisis fue establecer una medida de distancia fenética, se utilizó la distancia de Mahalanobis (D^2), que corresponde a una distancia generalizada, que maximiza las diferencias entre pares de promedios para aquellas comparaciones de caracteres con máxima varianza. Estos valores de distancia fenética se expresan gráficamente en un dendrograma generado mediante el método UPGMA.

Las siguientes fórmulas corresponden a las pruebas señaladas:

Prueba de Hotteling (T^2)

$$T^2 = \frac{N_i \quad N_j}{N_i + N_j} (X_i - X_j) S^{-1} (X_i - X_j)$$

Prueba de Mahalanobis (D^2)

$$D^2 = (\bar{X}_i - \bar{X}_j) S^{-1} (\bar{X}_i - \bar{X}_j)$$

N = tamaño de la muestra

i = iésima población

j = jésima población

X_i = vector de las variables para la iésima población

X_j = vector de las variables para la jésima población

S^{-1} = matriz de varianza-covarianza invertida.

3. ANALISIS CITOTAXONOMICO

El análisis citotaxonomico en las 5 poblaciones de *Liolaemus*, se realizó mediante el estudio de cariotipos, medidas cromosómicas e idiogramas, a partir de placas metafásicas. También se utilizó un conjunto de caracteres cromosómicos en los cuales es posible determinar estados del carácter.

Obtención de Placas Metafásicas

La obtención de placas metafásicas se realiza utilizando 3 machos y 3 hembras adultos de cada población. Los ejemplares se inyectan intraperitonealmente

con colchicina (Sigma) al 1% durante 8 a 12 horas. La dosis utilizada corresponde a 1.0 mg. de colchicina por gr. de peso.

Cromosomas Metafásicos Mitóticos

Su obtención se realizó a partir de:

a) Epitelio intestinal y bazo

Procedimiento: a) los trozos pequeños de intestino, fueron lavados y colocados en agua destilada fría (hipotonía) durante 15 min. Al utilizar muestras de bazo, el tiempo de hipotonía fue de 45 min.; b) la fijación se realizó en ácido acético durante 15 min.; c) el epitelio del intestino se raspó sobre un portaobjetos limpio colocándose un cubreobjetos sobre la muestra; d) una vez eliminadas las burbujas se afirmó el preparado con papel absorbente y se hizo presión con el pulgar; e) el preparado se colocó en un baño de alcohol con hielo seco por 10 min. y el cubreobjetos se desprendió con una hoja de afeitar.

b) Testículo

Procedimiento: a) el testículo se cortó con tijeras finas y se disgregó con bisturí y pipeta Pasteur en solución de T.C. Hanks (Difco) a temperatura ambien-

te; b) se centrifugó a 800 r.p.m. durante 5 min.; c) se eliminó el sobrenadante y se agregó KCl 0.075 M durante 20 min. (hipotonía); d) se centrifugó y luego se fijó en metanol acético (3:1) durante 20 min.; e) se hicieron dos o tres lavados en fijador; f) sobre portaobjetos limpios se confeccionaron las preparaciones por goteo y se dejaron secar al aire.

Tinción

La tinción utilizada fue el método de Giemsa: a) las preparaciones se tiñeron durante 10 min. en solución Giemsa (Merck) al 4% y pH 7.2 (94 ml. de H₂O destilada, 2 ml. de tampón fosfato: Na₂HPO₄ y KH₂PO₄ 0.06 M); b) se deshidrataron en acetona y xilol; c) se cubrieron con Histoclad.

Cariotipos

Los cariotipos se ordenaron a partir de reproducciones fotográficas de placas metafásicas, su número diploide se determinó al microscopio con aumento 1000 X y en las reproducciones fotográficas, sobre la base de un mínimo de 5 placas metafásicas por ejemplar.

Medidas Cromosómicas e Idiogramas

Las medidas cromosómicas que sirven para construir los idiogramas consistieron en las mediciones de los brazos cromosómicos estableciendo el cociente brazo largo/brazo corto (posición del centrómero). Las mediciones fueron hechas en 6 placas metafásicas de machos y 6 de hembras por población. La morfología cromosómica está referida a la nomenclatura propuesta por Levan y col. (25).

Caracteres Cromosómicos

Se obtiene un conjunto de caracteres cromosómicos y sus correspondientes estados del carácter. El número de caracteres compartidos se expresa en valores de similitud (S); con ellos se generó un dendrograma utilizando el método UPGMA.

4. ANALISIS ELECTROFORETICO

Las electroforesis son realizadas con muestras de machos y hembras adultos (ver Anexo II).

El número de ejemplares analizados en cada población es: *L. altissimus* 1 = 11; *L. altissimus* 2 = 14; *L. leopardinus* = 12; *L. n. kuhlmani* = 12 y *L. n. zapallarensis* = 12.

Los loci se numeran de acuerdo a su distancia de migración, designándose al alelo más común de cada sistema como marcador de referencia, asignándosele el valor de 1.0. Los otros alelos son referidos a la migración del alelo de referencia. Cada alelo queda entonces designado por su movilidad relativa. Los resultados electroforéticos son utilizados en un análisis taxonómico y en un análisis de la variabilidad genética intra e interpoblacional y de tiempo evolutivo.

Análisis Taxonómico

Este análisis se realizó a partir de los alelos de todos los loci identificados, tanto en geles para isoenzimas y para proteínas totales (incluidas las plasmáticas y de músculo). Esto permite realizar en las 5

poblaciones un análisis comparativo en el cual se calculan valores de similitud (S), con estos valores se construye un dendrograma, utilizando el método UPGMA.

Variabilidad Genética

La variabilidad genética es estimada a partir de las frecuencias génicas, expresadas en medidas intrapoblacionales: porcentaje de loci polimórficos (P) y heterocigosidad poblacional promedio (\bar{H}_L).

La variabilidad genética interpoblacional comprende medidas de identidad genética (I) y de distancia genética (D), según lo propuesto por Nei (20).

Cálculo de Identidad Genética (I)

En dos poblaciones diferentes X e Y, dado un locus K, la probabilidad normalizada que dos alelos de este locus sea idéntica en cada una de las poblaciones es:

$$I_K = \frac{\sum X_i Y_i}{(\sum X_i^2 + \sum Y_i^2)^{1/2}}$$

donde:

X_i = frecuencia del i ésimo alelo de la población X

Y_i = frecuencia del j ésimo alelo de la población Y

El índice de I para todos los loci estudiados se calcula a partir de:

$$I = \frac{I_{xy}}{(I_x I_y)^{1/2}}$$

donde:

I_x , I_y , I_{xy} corresponden a los promedios aritméticos sobre todos los loci de $\sum X_i^2$, $\sum Y_i^2$, $\sum X_i Y_i$ respectivamente. I varía entre 0 y 1.

Cálculo de Distancia Genética (D)

Si la sustitución de codones dentro de un locus es independiente de la sustitución de codones de otro locus, y el número de sustituciones alélicas por locus sigue una distribución de Poisson, la distancia genética puede ser interpretada como una medida del número promedio de sustituciones alélicas detectables electroforéticamente por locus. La distancia genética es estimada por:

$$D = -\log_e I$$

Con los valores de D se construye un dendrograma, utilizando el método UPGMA.

Tiempo Evolutivo

El tiempo evolutivo o tiempo de divergencia de los taxa, se calcula a partir de los valores de D, mediante la expresión:

$$t = c \times D$$

donde:

$$c = 5 \times 10^6 \text{ años (26,27).}$$

5. ANALISIS DE CONJUNTO DE LOS CARACTERES CUALITATIVOS

Con el conjunto de los caracteres cualitativos de la morfología externa, cromosómicos y bioquímicos se realiza un análisis taxonómico. Se determina el número total de caracteres compartidos, éstos se expresan en valores de similitud (S); con los que se construye un dendrograma mediante el método UPGMA.

R E S U L T A D O S

1. DESCRIPCIONES DE LOS TAXA

Diagnosis Específicas (Tabla I-1, Anexo I)

Población 1. Localidad La Parva (Fig. 2a)

El ejemplar de referencia DBGUCH macho 0319, presenta los siguientes caracteres de diagnosis: 3) 5 escamas supraoculares; 5) una escama sobresaliente en el borde anteroposterior del tímpano; 15) un máximo de 8 órganos sensoriales por escama en la punta de la cabeza, región orbital y temporal; 16) cuello de igual ancho que la región occipital; 21) pliegue antehumeral ausente; 26) escamas de la región dorsal del antebrazo triangulares; 28) escamas de la región ventral del antebrazo lisas.

Caracteres sexuales secundarios

Macho (HC = 74.7 mm.) más grande que la hembra (HC = 67.10 mm.) de referencia. Región temporal entre el oído y el ojo prominente. Patrón de coloración

dorsal menos melánico que el de la hembra. Dos poros anales en el borde posterior de la cloaca. Base de la cola con dos prominencias que corresponden a los hemipenes.

Coloración en fijador

Tanto los machos como las hembras presentan una notable variación en su patrón de coloración y diseño. Esta variación corresponde a: ejemplares melánicos en su superficie dorsal y plomo oscuro en su superficie ventral. Ejemplares de dorso gris moteado por la presencia de escamas con punta de color crema. Ejemplares con líneas transversales claras y oscuras desde la mitad del tronco hasta la base de la cola, en otros ejemplares estas líneas se disponen en forma de triángulo abierto, sobre las que se ubica una mancha de escamas café con contorno definido, dispuestas en una corrida intermitente sobre la región vertebral, y también a ambos costados se disponen un conjunto de escamas con este diseño. Algunos ejemplares presentan a lo largo de la cola una línea oscura continua y una discontinua lateral a cada lado de esta.

En esta población los machos y las hembras no presentan diferencias en el patrón de coloración y en el diseño.

Población 2. Localidad El Embalse (Fig. 2b)

El ejemplar de referencia DBGUCH macho 0359, presenta los mismos caracteres de diagnosis que el ejemplar de la población 1. Sus caracteres sexuales secundarios tampoco presentan diferencias. El color en fijador de los machos y las hembras es de color gris oscuro con leves insinuaciones de líneas transversales, a diferencia del color en fijador de los ejemplares de la población 1, con variaciones extremas correspondientes a ejemplares melánicos y otros con líneas claras y oscuras transversales nítidas.

Población 3. Localidad La Parva (Fig. 2c)

El ejemplar de referencia DBGUCH macho 0821, presenta los siguientes caracteres de diagnosis: 2) escamas supraoculares de menor tamaño que las de la roseta central; 5) sin escamas sobresalientes en el borde anteroposterior del tímpano; 9) seis escamas frontales;

10) escamas frontales dispuestas en dos filas longitudinales; 15) con un máximo de 10 órganos sensoriales por escamas en la punta de la cabeza, región orbital y temporal; 23) flancos con pliegue longitudinal presente; 24) escamas granulares en los flancos; 25) escamas de la región dorsal del brazo circulares; 26) escamas de la región dorsal del antebrazo circulares; 41) escamas dorsales de la cola cuadrangulares.

Caracteres sexuales secundarios

Macho (HC = 81.45 mm.) aproximadamente del mismo tamaño que la hembra (HC = 83.20 mm.). Los patrones de coloración de estos ejemplares son uniformes. Las únicas diferencias significativas con la hembra son: la prominencia en la base de la cola, que corresponde a los hemipenes y la presencia de 4 poros anales en el borde anterior de la cloaca.

Coloración en fijador

En esta población los machos y las hembras no presentan diferencias en el patrón de coloración y en el diseño. La línea vertebral negra es débil, en algunos ejemplares no se encuentra presente. Las manchas de es-

camas negras sobre fondo amarillo sólo varían en su tonalidad, presentándose difusas en algunos casos.

Población 4. Localidad Maitencillo (Fig. 3a)

El ejemplar de referencia DBGUCH macho 0298, presenta los siguientes caracteres de diagnosis: 5) tres escamas en el borde anteroposterior del tímpano, de mayor tamaño que todas las que rodean al tímpano; 14) órganos sensoriales presentes en región dorsal de la punta de la cabeza y región orbital; 15) con un máximo de 8 órganos sensoriales por escamas en la punta de la cabeza y región orbital.

Caracteres sexuales secundarios

Macho (HC = 80.22 mm.) más grande que la hembra (HC = 68.10 mm.) de referencia. Dos poros anales en el borde anterior de la cloaca. Base de la cola con dos prominencias que corresponden a los hemipenes. El patrón de coloración y el diseño del macho es igual al de la hembra.

Coloración en fijador

En la serie de ejemplares analizados, la línea vertebral de escamas oscuras y claras y cada una de las líneas paralelas a estas, dispuestas sobre fondo café presentan diferentes grados de nitidez. Algunos ejemplares tienen una coloración negra de fondo.

Los machos y las hembras no muestran diferencias en el patrón de coloración y en el diseño.

Población 5. Localidad Zapallar (Fig. 3b)

El ejemplar de referencia DBGUCH macho 0383, presenta los siguientes caracteres de diagnosis: 5) más de tres escamas en el borde anteroposterior del tímpano; 14) órganos sensoriales presentes en región dorsal de la punta de la cabeza; 15) con un máximo de seis órganos sensoriales por escamas, en la región dorsal de la punta de la cabeza.

Caracteres sexuales secundarios del macho

Macho (HC = 91.2 mm.) más grande que la hembra (HC = 82.4 mm.) de referencia. La región temporal

entre el oído y el ojo es prominente. La hembra presenta el mismo patrón de coloración que el macho, a excepción de una pigmentación azul más intensa y escamas amarillas que este presenta en la parte lateral de la cabeza y posterior del oído. Se distinguen tres poros anales en el borde posterior de la cloaca y dos prominencias que corresponden a los hemipenes en la base de la cola.

Coloración en fijador

En esta población los machos y las hembras presentan leves diferencias de coloración. Los ejemplares de la serie analizada tienen a lo largo del dorso escamas blanquecinas que forman dos líneas nítidas ubicadas hacia el borde con escamas en los flancos de color azulino. El sector posterior lateral de la mandíbula y del cuello hacia el oído es de color azul intenso y más leve en las hembras. El dorso de estas últimas es de color café con distribución más homogénea de escamas con puntas de color crema.

Identificación Taxonómica de las Poblaciones

De acuerdo a las descripciones, los caracteres de diagnosis y el patrón de coloración realizadas en este trabajo, conjuntamente con las asignaciones taxonómicas dadas en trabajos anteriores (2,3,4), las poblaciones corresponden a:

- Población 1 y 2 *Liolaemus altissimus* Muller y Hellmich, 1933.
- Población 3 *Liolaemus leopardinus* Muller y Hellmich, 1932.
- Población 4 *Liolaemus nigromaculatus kuhlmani* Muller y Hellmich, 1933.
- Población 5 *Liolaemus nigromaculatus zapallarensis* Muller y Hellmich, 1933.

Para estas 5 poblaciones identificadas taxonómicamente se determinan sus valores de similitud morfológica (Sm) (Tabla 1) a partir del número de caracteres compartidos de la morfología externa (Tabla I - 1, Anexo I). El dendrograma resultante de la aplicación del método UPGMA se muestra en la Figura 4a. Las poblaciones locales de *L. altissimus* (1 y 2) presentan un

$S_m = 100$ y no se diferencian morfológicamente entre sí. Las subespecies de *L. nigromaculatus* (4-5) muestran una $S_m = 92.85$ y forman un grupo con las poblaciones de *L. altissimus* a un valor de $S_m = 76.19$ (1-2 / 4-5). *L. leopardinus*, representa un extremo de la diferenciación morfológica de este grupo de poblaciones, separándose de las anteriores a un valor de $S_m = 66.82$ (1-2 / 4-5 / 3).

2. ANALISIS CITOTAXONOMICO

Los resultados del estudio cromosómico en las 5 poblaciones de *Liolaemus* son presentados en cariotipos, medidas cromosómicas, idiogramas y dendrograma.

Cariotipos (Fig. 5a, b, c)

El cariotipo de *L. altissimus* 1, tiene un número diploide ($2n$) de 32 cromosomas con 6 pares de macrocromosomas (M) y 10 pares de microcromosomas (m) y un Número Fundamental (NF) de 44 brazos cromosómicos. Los pares 1,3,4,5 y 6 de macrocromosomas son de morfología metacéntrica, el par 2 es submetacéntrico y presenta una constricción secundaria subtelomérica en ambos homólogos del brazo largo. Los microcromosomas disminuyen

gradualmente de tamaño, siendo el primer par telocéntrico, los 9 pares restantes son puntiformes.

El cariotipo de *L. altissimus* 2, no presenta diferencias cromosómicas con el cariotipo de *L. altissimus* 1.

El cariotipo de *L. leopardinus*, tiene un $2n = 30$ y un $NF = 42$, con 6 pares de macrocromosomas y 9 pares de microcromosomas. Todos los macrocromosomas y el primer par de microcromosomas presentan las mismas características que los cariotipos de *L. altissimus*. Los 8 restantes pares de microcromosomas son puntiformes.

Los cariotipos de *L. nigromaculatus kuhlmani* y *L. n. zapallarensis*, presentan un $2n = 40$ y un $NF = 52$, con 11 pares de macrocromosomas y 9 pares de microcromosomas. Los pares 1 y 2 de macrocromosomas no se diferencian en su morfología de los pares respectivos determinados en los 3 cariotipos anteriormente descritos. Los pares 3 al 6 son subtelocéntricos y los pares 7 al 11 telocéntricos y de menor tamaño que los dos primeros. Los 9 pares de microcromosomas son puntiformes. Ninguna de las 5 poblaciones presentan pares cromosómi-

cos heteromórficos, ni asociados al sexo.

Medidas Cromosómicas (Tabla 2) e Idiogramas

Con las medidas de los cromosomas de las 5 poblaciones, se confeccionan los idiogramas que se muestran en la Figura 6.

Los cariotipos de las dos poblaciones de *L. altissimus* y el de la población de *L. leopardinus* no muestran diferencias en las mediciones de sus macrocromosomas. Sin embargo, el cariotipo de *L. leopardinus* con un par menos de microcromosomas tiene una longitud total mayor de su sector de microcromosomas (21.17%). En ambas poblaciones de *L. altissimus*, las mediciones corresponden a 18.96% y 19.78% respectivamente.

El conjunto de macrocromosomas de *L. n. kuhlmani* y *L. n. zapallarensis* presenta una longitud relativa similar. La longitud del primero y segundo par de macrocromosomas al igual que en los otros cariotipos analizados, representa una medida relativa del set haploide que es constante en todas estas poblaciones. El resto de los macrocromosomas representa un sector más variable del cariotipo. Los microcromosomas en los ca-

riotipos de *L. nigromaculatus* representan en relación al set haploide un sector de menor tamaño relativo que el determinado en las otras poblaciones analizadas.

A partir del análisis citotaxonomico se determina un conjunto de caracteres cromosómicos (Tabla I-2, Anexo I), para los cuales se determinan sus valores de similitud cromosómica (Sc) (Tabla 1). El dendrograma resultante de la aplicación del método UPGMA se muestra en la Figura 4b. Las poblaciones locales de *L. altissimus* (1-2) tienen una Sc = 100, este valor también lo presentan las subespecies de *L. nigromaculatus* (4-5). Las poblaciones locales de *L. altissimus* y *L. leopardinus* forman una agrupación a una Sc = 62.5 (1-2 / 3), de este grupo se separan las subespecies de *L. nigromaculatus* a un valor de Sc = 25.0 (1-2 / 3 / 4-5).

3. ANÁLISIS ELECTROFORETICO. CARACTERES BIOQUIMICOS

Mediante el análisis electroforético se identifican 27 loci y sus respectivos alelos (Tabla I - 3, Anexo I). A partir del número de caracteres compartidos en las 5 poblaciones se establecen los valores de similitud bioquímica (Sb) (Tabla 1). Con estos valores se

Tabla 3 (Continuación)

	Variables	Rango		\bar{X}	ES	C.V.
D	HC	59.9	80.2	68.5	1.67	10.34
	AC	11.0	16.4	13.6	0.38	12.04
	LC	13.4	18.5	15.8	0.40	10.74
	aC	8.3	12.5	10.0	0.28	12.20
	EA	21.0	28.4	24.8	0.46	8.04
	LM	9.4	12.1	10.9	0.20	7.98
	AM	3.4	5.1	4.1	0.12	13.47
	EP	34.4	44.8	39.7	0.67	7.24
	LP	16.5	21.5	19.0	0.37	8.32
	AP	3.8	6.4	4.8	0.14	12.95
	AI	25.4	36.2	30.5	0.70	9.84
	ac	14.5	23.1	17.6	0.55	13.30

	Variables	Rango		\bar{X}	ES	C.V.
E	HC	70.2	94.5	81.6	2.93	11.34
	AC	14.1	20.7	16.9	0.78	14.39
	LC	12.4	23.9	19.5	1.23	20.05
	aC	9.2	13.8	11.6	0.42	11.54
	EA	25.2	36.7	32.6	1.24	12.05
	LM	9.9	16.4	14.2	0.65	14.69
	AM	4.5	6.1	5.5	0.18	10.44
	EP	39.4	56.7	50.0	1.73	10.95
	LP	19.1	26.4	23.9	0.23	9.84
	AP	4.8	7.2	6.4	0.25	12.68
	AI	33.0	45.5	38.0	1.24	10.32
	ac	18.1	30.0	23.4	1.42	19.15

A = *L. altissimus* 1 (n = 23); B = *L. altissimus* 2 (n = 15);
 C = *L. leopardinus* (n = 10); D = *L. n. kuhlmani* (n = 18);
 E = *L. n. zapallarensis* (n = 10).

\bar{X} = promedio (mm); ES = error estandard; C.V. = coeficiente de variación.

Las variables corresponden a las señaladas en Materiales y Métodos (página 10, 11 y figura 1).

T A B L A 4

Promedios, medidas de dispersión y variabilidad de las hembras de 5 poblaciones de *Liolaemus*

	Variables	Rango		\bar{X}	ES	C.V.
A	HC	56.4	75.1	66.2	0.99	7.66
	AC	10.7	14.7	12.3	0.17	7.37
	LC	11.3	16.0	13.7	0.21	8.06
	aC	6.2	9.1	7.9	0.13	8.61
	EA	21.1	27.5	24.9	0.37	7.31
	LM	8.4	13.0	11.1	0.22	10.22
	AM	3.3	4.8	4.0	0.07	10.01
	EP	31.2	42.0	37.3	0.54	7.38
	LP	16.4	21.1	18.4	0.30	8.48
	AP	3.8	5.0	4.4	0.06	7.80
	AI	25.1	40.0	33.6	0.69	10.48
	ac	14.2	24.6	18.8	0.50	13.51
B	HC	56.9	70.0	61.0	1.93	7.77
	AC	10.6	12.9	11.6	0.34	7.27
	LC	12.6	14.5	13.4	0.28	5.19
	aC	6.5	8.8	7.4	0.31	10.49
	EA	20.9	26.3	23.5	0.86	8.98
	LM	10.0	12.1	10.7	0.34	7.87
	AM	3.3	4.2	3.6	0.14	9.53
	EP	33.6	41.0	37.0	1.25	8.28
	LP	16.8	21.2	18.3	0.64	8.61
	AP	3.4	5.0	4.3	0.22	12.81
	AI	26.1	40.2	29.8	2.18	17.88
	ac	13.4	18.1	15.8	0.75	11.60
C	HC	65.8	89.2	81.6	1.77	7.84
	AC	13.0	18.1	16.0	0.40	9.01
	LC	14.0	19.9	17.5	0.39	8.04
	aC	7.6	11.1	9.8	2.58	9.48
	EA	29.7	35.7	32.9	0.52	5.79
	LM	13.4	15.3	14.3	0.16	4.15
	AM	4.5	5.8	5.1	0.12	8.63
	EP	45.4	53.5	50.2	0.58	4.23
	LP	20.8	25.8	24.2	0.36	5.46
	AP	4.9	6.5	5.8	0.15	9.57
	AI	28.6	41.7	38.0	1.07	10.16
	ac	16.1	30.5	23.5	0.99	15.28

Tabla 4 (Continuación)

	Variables	Rango		\bar{X}	ES	C.V.
D	HC	52.3	71.9	61.8	1.48	9.27
	AC	8.9	14.1	11.0	0.37	13.22
	LC	12.4	15.2	13.6	0.24	6.99
	aC	6.8	9.6	8.0	0.20	10.23
	EA	20.0	25.5	23.1	0.44	7.46
	LM	8.8	11.6	10.1	0.20	7.76
	AM	2.9	4.9	3.5	0.12	14.27
	EP	30.0	39.5	34.5	0.74	8.37
	LP	11.6	19.1	16.3	0.45	10.94
	AP	3.2	5.1	4.1	0.13	13.28
	AI	26.6	36.9	29.9	0.85	11.87
	ac	11.8	22.7	15.9	0.91	22.15

	Variables	Rango		\bar{X}	ES	C.V.
E	HC	68.9	99.8	80.9	2.73	10.70
	AC	11.4	16.9	14.9	0.52	11.15
	LC	15.2	19.0	17.1	0.48	8.88
	aC	8.7	16.6	11.1	0.72	20.58
	EA	28.9	35.1	31.5	0.56	5.60
	LM	11.7	16.2	13.5	0.40	9.44
	AM	4.7	6.3	5.1	0.15	9.51
	EP	44.0	50.7	47.3	0.81	5.47
	LP	20.0	24.1	22.0	0.38	5.54
	AP	5.2	6.6	6.1	0.15	8.01
	AI	32.7	46.8	39.6	1.57	12.57
	ac	17.8	27.0	23.5	1.03	13.90

A = *L. altissimus* 1 (n = 26); B = *L. altissimus* 2 (n = 6);
 C = *L. leopardinus* (n = 13); D = *L. n. kuhlmani* (n = 15);
 E = *L. n. zapallarensis* (n = 10).

\bar{X} = promedio (mm); ES = error estandard; C.V. = coeficiente de variación.

Las variables corresponden a las señaladas en Materiales y Métodos (página 10, 11 y figura 1).

T A B L A 5
 Comparaciones Intrapoblacionales.
 Valores de Hotteling (T^2) y
 Valores de F

Pares Macho-Hembra	T^2	F
1	252.8	16.14*
2	47.0	1.56
3	106.9	4.24*
4	96.6	5.28*
5	52.8	1.57

* Valores de F significativos para $p < 0.05$.

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2;
 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*;
 5 = *L. n. zapallarensis*.

T A B L A 6
 Comparaciones interpoblacionales. Valores de
 Hotteling (T^2) y Valores de F

Pares Poblacionales	Machos		Hembras	
	T^2	F	T^2	F
1 - 2	135.3	7.83	29.5	1.56*
1 - 3	328.7	17.24	483.8	28.69
1 - 4	367.8	23.84	96.5	5.80
1 - 5	151.5	8.14	273.8	15.43
2 - 3	286.5	8.95	366.4	10.78
2 - 4	184.9	9.94	57.9	2.03*
2 - 5	496.5	15.51	276.1	4.93
3 - 4	980.2	44.72	809.6	38.92
3 - 5	261.0	8.46	57.3	2.27*
4 - 5	141.8	6.79	242.6	10.53

* Los valores de F no son significativos para $p < 0.01$.

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

T A B L A 7

Comparaciones interpoblacionales. Valores de
Distancia de Mahalanobis (D^2)

	1	2	3	4	5
1		14.9	46.0	36.4	21.7
2	6.1		47.7	22.6	82.2
3	56.5	89.2		152.5	52.2
4	10.2	13.5	116.3		22.1
5	37.9	73.6	10.1	48.4	

Sobre la diagonal comparaciones entre machos.

Bajo la diagonal comparaciones entre hembras.

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

T A B L A 8

Frecuencias alélicas en 5 poblaciones de *Liolaemus*

Locus	alelo	Poblaciones				
		1	2	3	4	5
Hb-2	1.00	-	-	-	1.00	1.00
Hb-1	1.00	1.00 ^a	1.00	- ^b	-	-
Hb-3	1.00	-	-	1.00	-	-
EST-1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
EST-2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ME-1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ME-2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
LDH-A	1.00 1.56	- 1.00	- 1.00	1.00 -	1.00 -	1.00 -
LDH-B	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
TO-1	1.00	1.00	1.00	-	1.00	1.00
TO-2	1.00 1.08	- -	- -	- 1.00	1.00 -	1.00 -
TO-3	-1.00 ^c	-	-	1.00	1.00	1.00
MDH-1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
MDH-2	-1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
GPD-1	-1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
GOT-1	-1.00 -0.57	1.00 -	1.00 -	0.92 0.08	0.67 0.33	1.00 -

Tabla 8 (continuación)

Locus	alelo	Poblaciones				
		1	2	3	4	5
Ppt-1 ^d	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Ppt-2	1.00	1.00	1.00	1.00	0.92	0.92
	0.94	-	-	-	0.08	0.08
Ppt-3	1.00	0.73	1.00	1.00	1.00	1.00
	0.88	0.27	-	-	-	-
Ppt-4	1.00	-	-	1.00	-	1.00
Ppt-5	0.95	-	-	-	-	0.92
	1.00	1.00	0.89	0.95	0.96	0.08
	1.04	-	0.11	0.05	0.04	-
Pm-1 ^e	1.00	1.00	1.00	1.00	-	-
Pm-2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Pm-3	1.00	1.00	1.00	1.00	-	-
Pm-4	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Pm-5	1.00	-	-	1.00	1.00	1.00
	0.66	1.00	1.00	-	-	-
Pm-6	-1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

a = el alelo está presente en todos los ejemplares de la población; b = el alelo no está presente; c = movilidad catódica; d = proteína plasmática; e = proteína en músculo.

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

T A B L A 9

Porcentaje de loci polimórficos (P) y heterocigosidad poblacional promedio (\bar{H}_L)

Poblaciones	P	\bar{H}_L
<i>L. altissimus 1</i>	0.055	0.017
<i>L. altissimus 2</i>	0.044	0.010
<i>L. leopardinus</i>	0.042	0.011
<i>L. n. kuhlmani</i>	0.091	0.011
<i>L. n. zapallarensis</i>	0.087	0.014

Se considera un locus polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común es ≤ 0.95 .

T A B L A 10

Valores de Identidad Genética (I) y Distancia Genética (D)

	1	2	3	4	5
1		0.991	0.767	0.713	0.722
2	0.004		0.776	0.722	0.731
3	0.264	0.253		0.814	0.784
4	0.338	0.324	0.205		0.907
5	0.325	0.312	0.242	0.097	

Sobre la diagonal : Identidad Genética.

Bajo la diagonal : Distancia Genética.

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

genera el dendrograma que se muestra en la Figura 4c. Las poblaciones locales de *L. altissimus* se diferencian entre si a una $S_b = 94.28$ (1-2). Las subespecies de *L. nigromaculatus* presentan una $S_b = 88.57$ (4-5) y forman un grupo con *L. leopardinus* a un valor de $S_b = 71.48$ (3 / 4-5). Este grupo se separa de las poblaciones locales de *L. altissimus* a un valor de $S_b = 62.85$ (1-2 / 3 / 4-5).

4. ANALISIS DE CONJUNTO DE LOS CARACTERES CUALITATIVOS

Utilizando toda la información taxonómica (Tabla I-1, I-2 y I-3, Anexo I) se determinan los valores de similitud total (St) (Tabla 1). El dendrograma resultante se muestra en la Figura 4d. Las poblaciones locales de *L. altissimus* se diferencian entre si a un valor de $St = 97.64$. Las subespecies de *L. nigromaculatus* tienen valores de $S = 91.76$. Las agrupaciones que se muestran en el dendrograma están formadas por las poblaciones locales de *L. altissimus* y *L. leopardinus* ($St = 65.87$), estas poblaciones se separan de las subespecies de *L. nigromaculatus* a un valor de $St = 64.69$.

5. VARIACION INTRA E INTERPOBLACIONAL DE CARACTERES CUANTITATIVOS

5.1. Distancias Fenéticas

La Tabla 3 muestra las mediciones realizadas en los machos. El CV para todas las medidas del conjunto de ejemplares utilizados alcanza valores entre 4.92% y 14.69%, con excepción del largo de la cabeza (CV = 20.05%) y ancho del cuerpo (CV=19.15%) de *L. n. zapallarensis*, que presentan valores extremos.

La Tabla 4 presenta las mediciones y los mismos estadígrafos para las hembras. Los CV muestran que las mediciones son más variables que en los machos. Las hembras de *L. altissimus* 2 presentan para la distancia axila-ingle un CV = 17.38%. En las hembras de *L. leopardinus* y de *L. n. kuhlmani* el ancho del cuerpo tiene un CV de 15.28% y 22.15% respectivamente. Las hembras de *L. n. zapallarensis* presentan para el alto de la cabeza un CV de 20.58%. El resto de los CV fluctúan entre 5.19% y 13.90%.

Las comparaciones intrapoblacionales entre machos y hembras (Tabla 5) de *L. altissimus 1*, *L. leopardinus* y *L. n. kuhlmani* muestran valores de F significativos ($p < 0.05$), indicando dimorfismo sexual. En cambio, las poblaciones de *L. altissimus 2* y *L. n. zapallarensis* no presentan dimorfismo sexual.

El Test de Hotteling en las comparaciones interpoblacionales se realizó para machos y hembras por separado. Los resultados de los machos muestran que todos sus F (Tabla 6) son significativos ($p < 0.01$). Las hembras presentan diferencias significativas ($p < 0.01$), para los pares 1-3, 1-4, 1-5, 2-3, 2-5, 3-4 y 4-5. No presentan diferencias significativas los pares correspondientes a *L. altissimus 1* con *L. altissimus 2*; *L. altissimus 2* con *L. n. kuhlmani* y *L. leopardinus* con *L. n. zapallarensis*.

Distancia de Mahalanobis (D^2) y Dendrograma

Las Distancias de Mahalanobis (Tabla 7) considerando por separado los machos y las hembras son empleadas en la construcción de dendrogramas (Fig.

7a y b). Se destacan las diferentes agrupaciones de los machos y de las hembras. En los machos un grupo está formado por las poblaciones de *L. altissimus*, otro grupo lo forman las subespecies de *L. nigromaculatus* y se separa de estos *L. leopardinus*. En las hembras se agrupan las poblaciones de *L. altissimus* con *L. n. kuhlmani* y *L. n. zapallarensis* se une a *L. leopardinus*.

5.2. Distancias Genéticas

El análisis de las frecuencias génicas se realiza con un total de 16 enzimas y 11 proteínas (5 plasmáticas y 6 en músculo), codificadas por 35 alelos presuntivos, que corresponden a 27 loci.

Las determinaciones de movilidad relativa y las frecuencias alélicas para los 27 loci se muestran en la Tabla 8. Los sistemas TO-3, MDH-2, GPD, GOT, y Pm-6 son de movilidad catódica, los restantes sistemas son anódicos. Presentan polimorfismos los sistemas GOT en las poblaciones de *L. leopardinus* y *L.n. kuhlmani*; la Ppt-2 en las poblaciones de *L.n. kuhlmani* y *L.n. zapallarensis*; la Ppt-3 en la

población de *L. altissimus 1* y la Ppt-5 en las poblaciones de *L. altissimus 2*, *L. leopardinus*, *L. n. kuhlmani* y *L. n. zapallarensis*.

Variabilidad Genética Intrapoblacional

En la Tabla 9, se presentan los valores de P y \bar{H}_L . El porcentaje de loci polimórficos más alto lo presentan las subespecies de *L. nigromaculatus*. La heterocigosidad poblacional promedio presenta distintos valores. *L. leopardinus* y *L. n. kuhlmani* presentan los mismos valores de \bar{H}_L .

Variabilidad Genética Interpoblacional

Los valores de I y de D se presentan en la Tabla 10. Los valores de I más altos se observan entre las poblaciones locales de *L. altissimus* (0.991); las subespecies de *L. nigromaculatus* presentan valores ligeramente menores (0.907); valores intermedios lo presentan las poblaciones alopátricas de *L. leopardinus* y *L. n. zapallarensis* (0.815), y los menores valores se presentan entre las poblaciones simpátricas de *L. altissimus 1* y *L.*

leopardinus (0.767).

Con los valores de D, se confecciona el dendrograma que se muestra en la Figura 7c, el cual resume la variabilidad genética interpoblacional.

Tiempo Evolutivo

Sobre los nodos del dendrograma que representan las agrupaciones de las distintas poblaciones (Fig. 7c), se indica el tiempo evolutivo o tiempo de divergencia calculados entre poblaciones. Estos valores (Tabla 11) corresponden al tiempo necesario para que se acumulen las diferencias genéticas, de acuerdo con los supuestos utilizados en el cálculo de D y su constante de proporcionalidad (c) (26, 27).

Estos valores para las poblaciones locales de *L. altissimus* son de 20.000 años; para el par de subespecies de *L. nigromaculatus* de 488.000 años; para el par de poblaciones alopátridas de *L. leopardinus* con *L. n. kuhlmani* de 1.025.000 años y para el par de especies simpátridas de *L. altissimus* 1 con *L. leopardinus* de 1.224.000 años.

T A B L A 1

Valores de Similitud (S) de caracteres cualitativos

Pares Poblacionales	Similitud morfológica (Sm)	Similitud cromosómica (Sc)	Similitud bioquímica (Sb)	Similitud total (St)
1 - 2	100.0	100.0	94.28	97.64
1 - 3	66.60	62.50	62.85	64.70
1 - 4	76.19	25.00	60.00	63.52
1 - 5	76.19	25.00	55.50	62.35
2 - 3	66.60	62.50	68.57	67.05
2 - 4	76.19	25.00	65.71	65.88
2 - 5	76.19	25.00	55.50	62.35
3 - 4	69.04	25.00	74.08	67.05
3 - 5	69.04	25.00	71.48	64.70
4 - 5	92.85	100.00	85.71	91.76

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*;
 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

T A B L A 2
Medidas cromosómicas de 3 especies de *Liolaemus*

Par Cromosómico	<i>L. altissimus</i>			<i>L. leopardinus</i>			<i>L. n. kukulkaní</i>		
	r ± ES	%	MC	r ± ES	%	MC	r ± ES	%	MC
1	1.12 ± 0.023	19.31	m	1.17 ± 0.031	19.78	m	1.10 ± 0.029	19.10	m
2	2.67 ± 0.064	18.00	sm	2.61 ± 0.083	18.15	sm	2.62 ± 0.040	18.35	sm
3	1.18 ± 0.040	14.05	m	1.20 ± 0.064	13.15	m	5.20 ± 0.391	8.43	st
4	1.12 ± 0.028	12.64	m	1.18 ± 0.050	12.09	m	5.02 ± 0.244	6.97	st
5	1.17 ± 0.038	10.19	m	1.20 ± 0.022	9.62	m	5.42 ± 0.183	6.19	st
6	1.28 ± 0.068	6.46	m	1.20 ± 0.079	6.25	m	5.48 ± 0.227	5.55	st
7	-	-	-	-	-	-	∞	5.01	t
8	-	-	-	-	-	-	∞	4.12	t
9	-	-	-	-	-	-	∞	3.51	t
10	-	-	-	-	-	-	∞	3.10	t
11	-	-	-	-	-	-	∞	2.63	t
(m) 7 - 15	-	-	-	-	21.17	-	-	-	-
(m) 7 - 16	-	18.96	-	-	-	-	-	-	-
(m) 12 - 20	-	-	-	-	-	-	-	16.63	-

r = radio centromérico; ES = error estandar; (m) = microcromosomas; MC = morfología cromosómica; m = metacéntrico; sm = submetacéntrico; st = subtelocéntrico; t = telocéntrico. El tamaño de cada par cromosómico está expresado como porcentaje (%) del set haploide.

T A B L A 3

Promedios, medidas de dispersión y variabilidad de los machos de 5 poblaciones de *Liolaemus*

	Variables		Rango	\bar{X}	ES	C.V.
A	HC	60.9	82.1	71.2	1.18	7.95
	AC	11.4	16.2	13.8	0.25	8.86
	LC	12.8	17.0	14.9	0.24	7.75
	aC	7.7	10.2	8.7	0.15	8.46
	EA	21.6	31.3	26.9	0.55	9.85
	LM	10.5	14.5	12.5	0.21	8.39
	AM	3.5	5.7	4.3	0.08	9.44
	EP	35.9	47.2	41.9	0.59	6.85
	LP	17.7	23.6	20.4	0.26	6.20
	AP	4.3	6.0	4.9	0.10	9.35
	AI	25.4	38.7	32.6	0.74	10.93
	ac	15.7	22.4	18.5	0.37	9.67

	Variables		Rango	\bar{X}	ES	C.V.
B	HC	58.5	78.0	66.2	1.25	7.37
	AC	11.6	16.0	13.2	0.32	9.53
	LC	13.5	19.4	15.6	0.41	10.29
	aC	7.2	9.9	8.5	0.22	10.23
	EA	22.0	30.1	26.4	0.50	7.35
	LM	10.4	13.8	11.8	0.22	7.30
	AM	3.5	5.0	4.1	0.09	9.23
	EP	35.4	44.9	39.4	0.63	6.19
	LP	18.3	21.6	19.4	0.24	4.92
	AP	3.8	5.5	4.7	0.10	8.55
	AI	24.5	37.6	30.2	0.82	10.59
	ac	12.3	20.9	17.0	0.59	13.57

	Variables		Rango	\bar{X}	ES	C.V.
C	HC	68.6	89.3	84.4	2.06	7.74
	AC	13.0	17.4	16.1	0.38	7.54
	LC	16.7	20.2	18.3	0.31	5.36
	aC	8.3	10.7	10.1	0.23	7.40
	EA	29.8	34.4	32.4	0.51	5.05
	LM	13.1	15.9	14.7	0.26	5.79
	AM	4.5	6.0	5.3	0.13	8.42
	EP	46.0	57.8	53.2	1.01	6.05
	LP	22.8	27.3	25.1	0.43	5.54
	AP	5.1	6.3	5.8	0.12	6.73
	AI	29.0	40.4	36.4	1.08	9.42
	ac	17.9	24.7	21.5	0.66	9.75

T A B L A 11
 Valores de Tiempo Evolutivo
 (miles de años)

	1	2	3	4	5
1	-	20	1320	1690	1625
2	-	-	1265	1620	1560
3	-	-	-	1025	1210
4	-	-	-	-	488
5	-	-	-	-	-

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

T A B L A 12
Correlación de los Valores
de Similitud

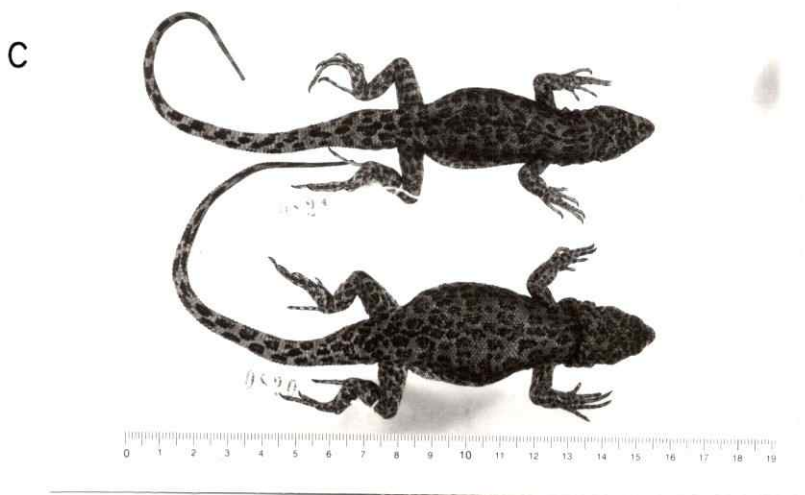
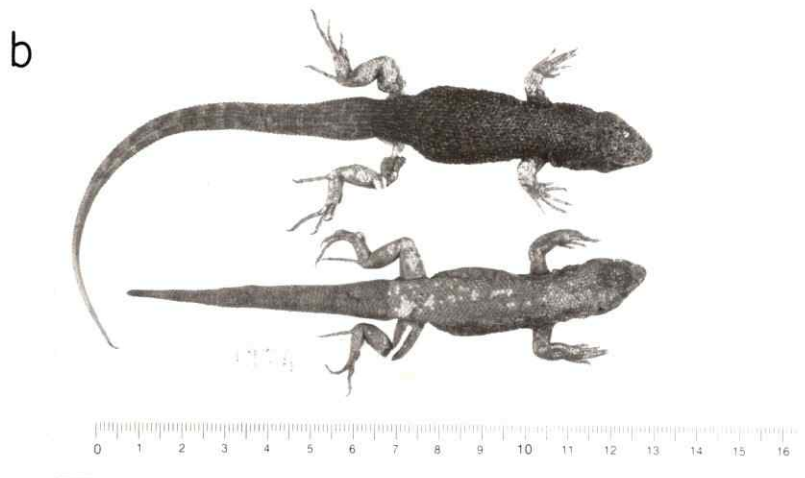
	Sm	Sc	Sb	St
Sm	-	0.678	0.695	0.893
Sc	-	-	0.782	0.886
Sb	-	-	-	0.918
St	-	-	-	-

Todos los valores son significativos para $p < 0.05$.

Sm = similitud morfológica; Sc = similitud cromosómica; Sb = similitud bioquímica; St = similitud total.

Figura 2: Ejemplares de referencia de la descripción taxonómica.

- a) Población 1. Localidad La Parva. Ejemplar 0319 macho y 0809 hembra.
- b) Población 2. Localidad El Embalse. Ejemplar 0359 macho y 0376 hembra.
- c) Población 3. Localidad La Parva. Ejemplar 0821 macho y 0820 hembra.



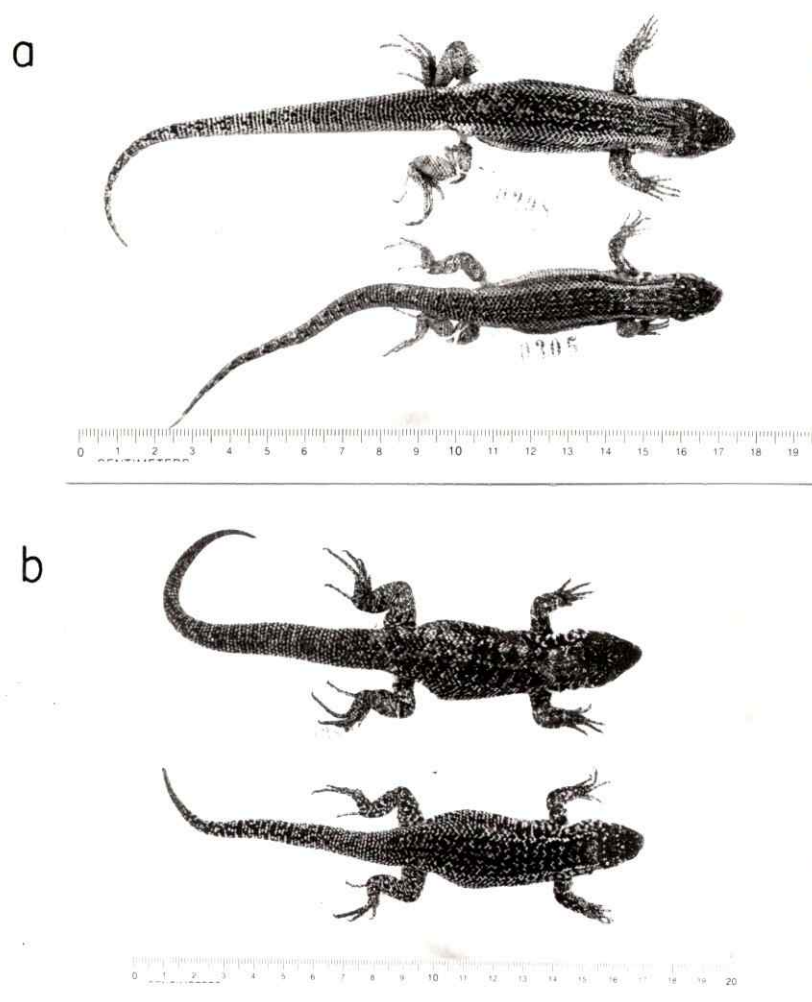


Figura 3: Ejemplares de referencia de la descripción taxonómica.

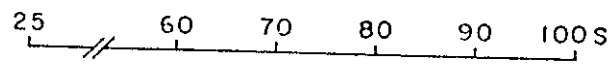
a) Población 4. Localidad Maitencillo. Ejemplar 0298 macho y 0305 hembra.

b) Población 5. Localidad Zapallar. Ejemplar 0383 macho y 0841 hembra.

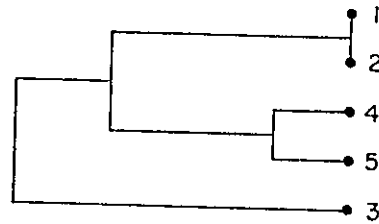
Figura 4: Dendrogramas de caracteres cualitativos.

- S = similitud
- a) Sm = similitud morfológica
 - b) Sc = similitud cromosómica
 - c) Sb = similitud bioquímica
 - d) St = similitud total

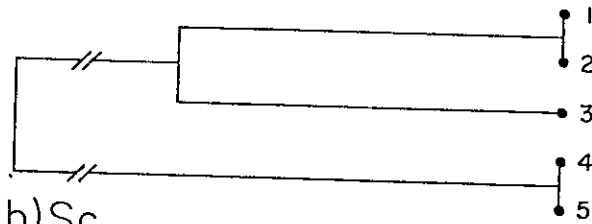
1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.



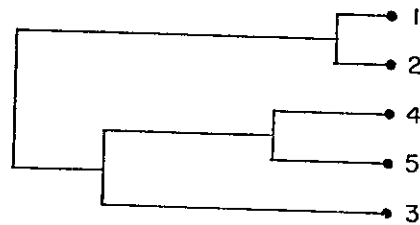
a)Sm



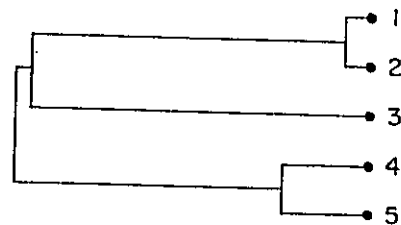
b)Sc



c)Sb



d)St



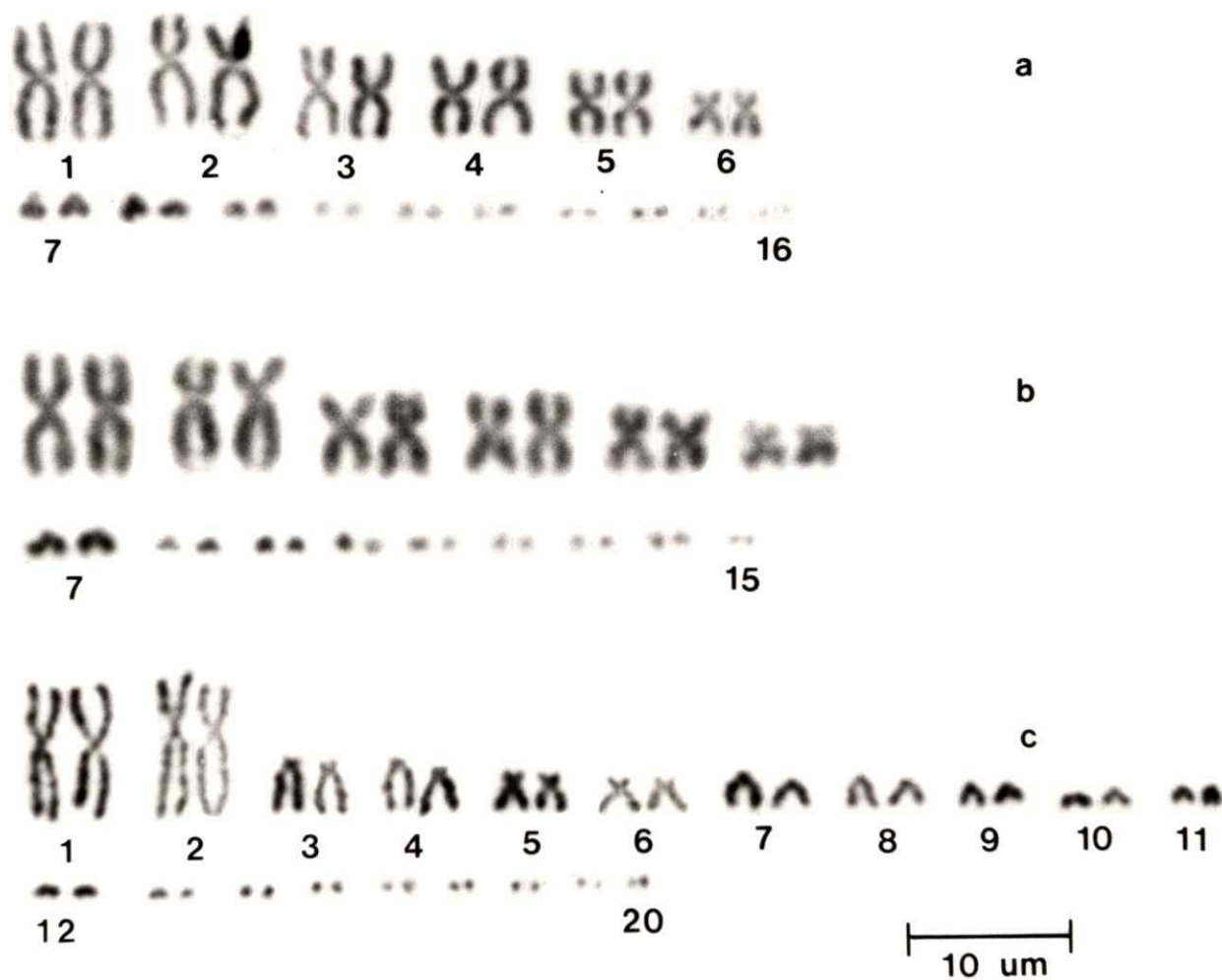


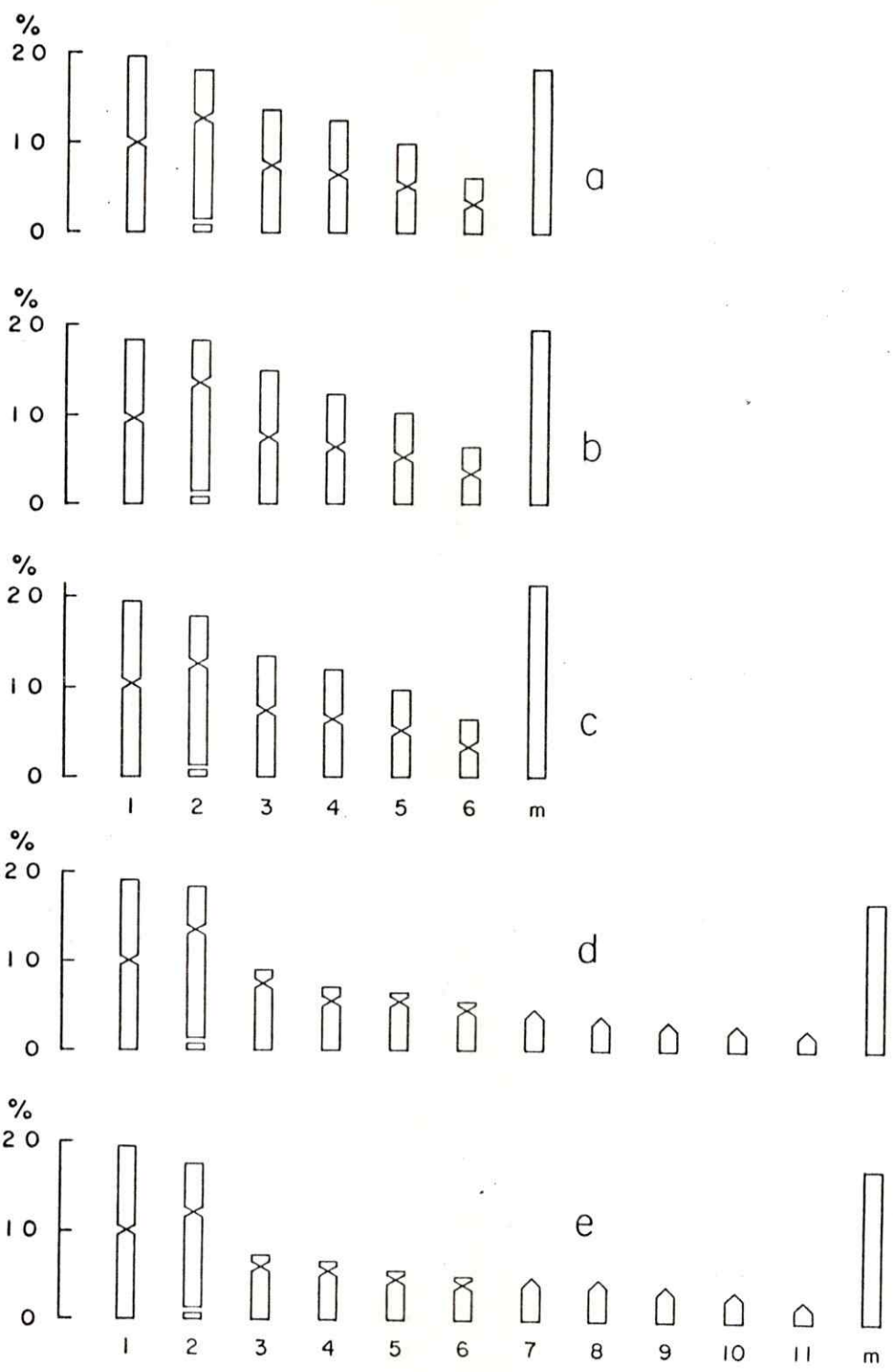
Figura 5: Cariotipos.

a) *L. altissimus* DBGUCH 0376 macho; b) *L. leopardinus* DBGUCH 0240 macho; c) *L. n. kuhlmani* DBGUCH 0381 macho.

Figura 6: Idiogramas.

m = microcromosomas

a) *L. altissimus* 1; b) *L. altissimus* 2; c) *L. leopardinus*; d) *L. n. kuhlmani*; e) *L. n. zapallarensis*.



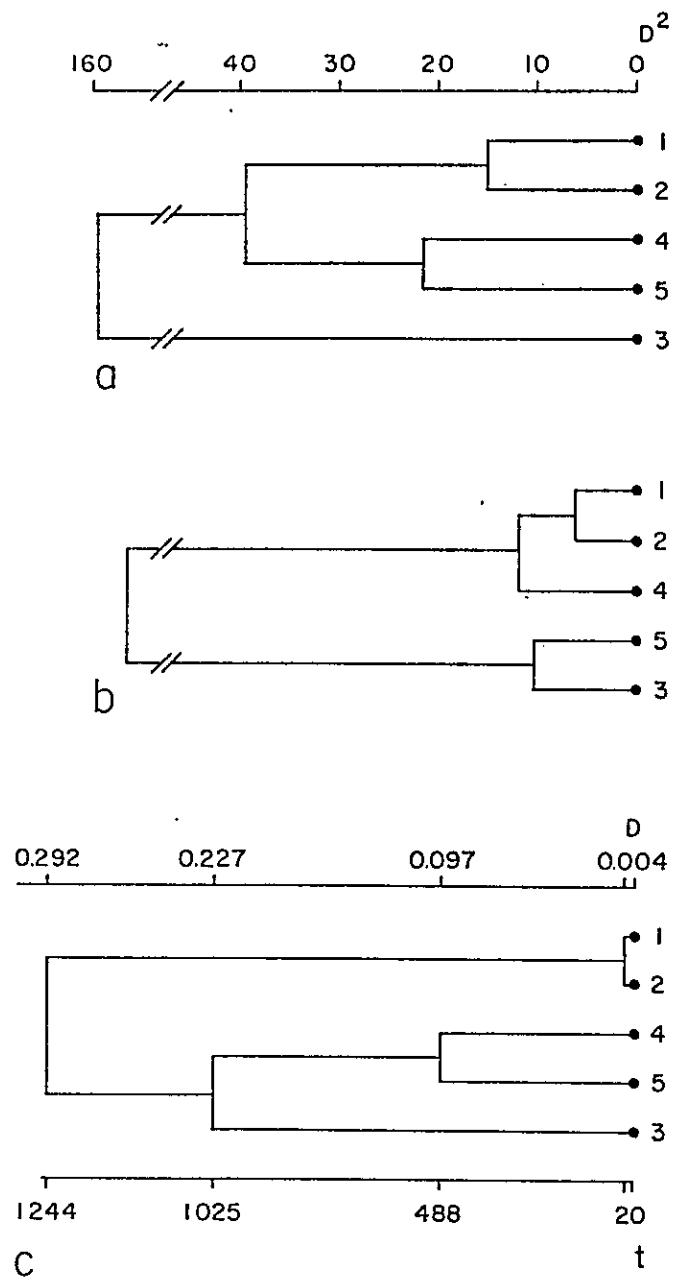


Figura 7: Dendrogramas de caracteres cuantitativos.
Distancia Fenética (D^2) : a) machos; b) hembras..
Distancia Genética (D) : c
t = miles de años

D I S C U S I O N

En la Familia Iguanidae están incluidos más de 50 géneros. De estos, tres son altamente diversificados, *Anolis* cuenta con más de 200 especies, *Sceloporus* con más de 70 y *Liolaemus* de acuerdo con estimaciones, podría estar constituido por unas 100 especies (28). El resto corresponde a géneros poco diversificados, ninguno con más de 10 especies, excepto *Tropidurus* en el cual se reconocen 20 (4, 28).

Las especies de los géneros *Anolis* y *Sceloporus* son bastante conocidas desde el punto de vista distribucional, de su osteología, cromosomas, comportamiento, ecología y genética, lo que ha permitido establecer, mediante un análisis combinado de esta información, su diversidad y proponer hipótesis sobre su origen y poblamiento (29,30,31,32). Si a estos datos se agregan estudios geológicos y de registro paleontológico, es posible dimensionar temporalmente la ocurrencia de estos acontecimientos evolutivos. Algunos de estos trabajos son orientadores en el estudio de la diversidad y procesos evolutivos en *Liolaemus*.

1. DELIMITACION DE ENTIDADES ESPECIFICAS Y SUBESPECIFICAS

1.1. Caracteres de la Morfología Externa

El conjunto de caracteres cualitativos de la morfología externa con los que se han descrito y comparado las poblaciones, muestran que estos son resolutivos en la delimitación de especies y subespecies.

El presente trabajo significa un avance metodológico, en relación a aquellos realizados por Donoso-Barros (2). Se propone realizar descripciones ordenadas utilizando un mismo conjunto de caracteres para cada taxón, identificar sin ambigüedad caracteres de diagnosis distintiva y considerar el patrón de coloración. Además, el método propuesto permite establecer comparaciones entre especies y subespecies utilizando valores de similitud (S), que representados gráficamente (dendrogramas) señalan las relaciones fenéticas establecidas para los taxa identificados.

1.2. Caracteres Cromosómicos

El conjunto de caracteres cromosómicos confirman las delimitaciones de estas especies, realizadas mediante el uso de caracteres de la morfología externa.

Un total de 6 revisiones de la información cromosómica en Iguanidae han sido realizadas, y recientemente puestas al día por Peccinini-Seale (33, 34). El nivel Beta (35) de análisis cromosómico que considera el número, morfología, longitud de los cromosomas, y la identificación de cromosomas sexuales, muestra que los cariotipos aquí considerados no difieren de los más representativos de esta Familia.

De acuerdo con la evidencia disponible en *Liolaemus*, un alto número de sus especies tienen cariotipos con 12 macrocromosomas de morfología meta y submetacéntrica y con un conjunto variable de microcromosomas. Algunas especies presentan variaciones del número y de la morfología de estos macrocromosomas (12,13), y se conoce un solo caso en el cual se presenta variación intraespecífica (36).

El uso de este nivel de análisis cromosómico ha resultado orientador en el estudio de la diversidad de este grupo de especies.

La incorporación del nivel Gamma (35), que considera entre otros análisis las técnicas de bandeo C, heterocromatina constitutiva y bandeo G, Giemsa-tripsina podría aumentar la resolutivez de los análisis cromosómicos, agregando nuevos elementos de la estructura cromosómica para el análisis comparativo.

1.3. Caracteres Bioquímicos

Los caracteres bioquímicos, proteínas e isoenzimas, permiten delimitar especies y subespecies, y además proporcionan marcadores genéticos con los cuales pueden reconocerse las poblaciones locales de *L. altissimus*. Diferencias entre estas poblaciones no se evidencian con los análisis de la morfología externa y cromosómicos.

El único estudio electroforético realizado recientemente es el de Ortiz, en el "grupo *nigrumaculatus*" (37). Quien mediante el método UPGMA

agrupa las especies utilizando valores de similitud (S). Sus resultados indican que *L. n. kuhlmani* y *L. n. zapallarensis* tienen un valor de $S = 0.700$, lo que junto a datos de la biometría y ecología de estas taxa, le permiten proponer que se trataría de especies diferentes.

En nuestro trabajo el valor de S obtenido por el mismo método de análisis en estas subespecies es de 0.857. Si se considera el valor de identidad genética (I), que corresponde a 0.907, este nuevo antecedente permite discutir la proposición de Ortiz (37), ya que las diferencias genéticas encontradas no son suficientes por sí solas, para justificar rango de especies para estos taxones (19).

2. AGRUPACIONES DE POBLACIONES GENERADAS POR LOS CARACTERES CUALITATIVOS

Varios métodos han sido desarrollados para representar gráficamente las relaciones entre taxa a partir de uno o varios conjuntos de caracteres (38,39). Estos difieren en la clase y cantidad de información que llevan y en cuanto a que permiten o no inferir relacio-

nes filogenéticas.

La representación aquí usada son dendrogramas y las agrupaciones generadas se basan en la similitud fenética entre poblaciones. Al someter a una prueba de correlación los valores de similitud (Tabla 1) obtenidos en forma independiente a partir de los datos de la morfología externa, de los cromosomas y de las proteínas e isoenzimas, ella da una correlación positiva (Tabla 12). Esto significa que en forma independiente al conjunto de caracteres que se considere, las poblaciones se ordenan en forma similar de acuerdo a sus valores de similitud, las que están en correspondencia con la jerarquía taxonómica; es decir, tanto a nivel de la morfología, cromosomas y proteínas e isoenzimas, el par de poblaciones locales presenta una mayor similitud fenética que el par de subespecies y éstas a su vez que las especies. Sin embargo, las agrupaciones de poblaciones representadas gráficamente en los dendrogramas no son las mismas según el sistema biológico que se analice. Estas agrupaciones representan relaciones entre taxa, y las diferencias que se establecen, además, pueden estar relacionadas con el hecho que valores de S ligeramente diferentes entre poblaciones pueden generar agrupaciones distintas, ya

que los puntos a partir de los cuales se generan las ramas del dendrograma respectivo son, por razones de métodos, muy sensibles al tratamiento computacional (40).

Al considerar de conjunto los caracteres de la morfología externa, cromosómicos y bioquímicos en un análisis global, utilizando el método UPGMA, se observa una correlación positiva (Tabla 12) con los valores particulares de cada conjunto de caracteres. En el dendrograma total, se mantiene la correspondencia con las asignaciones taxonómicas.

Al realizar este análisis global se supone que los caracteres fenotípicos son equivalentes, es decir, que tienen igual peso y representarían una muestra al azar de los diversos genotipos considerados. Al incluir un mayor número de caracteres fenotípicos resultaría una representación con un mayor contenido de información que si se considera cada uno de los sistemas biológicos por separados (22,23).

En relación con las agrupaciones de especies, la topología del dendrograma global, es similar a la obtenida mediante los caracteres cromosómicos (Fig. 7d).

Este hecho puede constituir un aporte significativo para establecer la filogenia de *Liolaemus* y sus relaciones en Iguanidae, ya que existe una información sobre número y morfología cromosómica para un conjunto importante de especies del género (30%), lo que permitiría determinar cual ha sido la secuencia de eventos que han caracterizado su evolución cariológica (28,41). Establecido este proceso se puede determinar también el sentido de cambio de los caracteres de la morfología externa y bioquímicos aquí considerados.

De acuerdo con la información disponible en la literatura los cariotipos de las 5 poblaciones de *Liolaemus* aquí presentados serían derivados, y han resultado de reordenamientos a partir de un $2n = 36$ primitivo, formado por 12 macrocromosomas de morfología meta y submetacéntrica y 24 microcromosomas (10,28).

Las especies de *L. altissimus* y *L. leopardinus* presentan estos 12 macrocromosomas, la disminución en el número de sus microcromosomas puede explicarse por fusión o delección de estos (10,12,13,28,33). Los cariotipos de los *L. nigromaculatus* que presentan una notable variación en la morfología y tamaño de los pares 3 al 11 de sus macrocromosomas, sugieren la participación de fi-

siones céntricas como mecanismo responsable de la formación de los macrocromosomas telocéntricos y fisiones con inversiones para los subtelocéntricos. Los antecedentes señalados son bastante consistentes para postular la existencia de por lo menos dos grupos en estas poblaciones de *Liolaemus*. Un grupo está formado por especies con bajo número cromosómico y de morfología meta y submetacéntrica y otro grupo con altos números y de variada morfología.

3. VARIACION INTRA E INTERPOBLACIONAL DE CARACTERES CUANTITATIVOS

3.1. Distancias Fenéticas

El análisis de los caracteres cuantitativos de la morfología externa, está orientado a precisar la existencia de subconjuntos de poblaciones que conforman las diferentes entidades específicas. La muestra que está formada por individuos adultos, hace necesario recurrir a un análisis por separado de machos y hembras, ya que podría existir una variación independiente de proporciones corporales o particularidades anatómicas que esté relacionada

con el sexo. Los resultados de la estadística descriptiva de la muestra, en especial el CV y la determinación de dimorfismo sexual constituyen etapas previas para que las comparaciones interpoblacionales queden validadas, al reconocer conjuntos homogéneos de machos y hembras.

Consideraciones sobre este aspecto han sido hechas por Veloso y col. (9), para un grupo de *Lio-laemus* del Norte de Chile, en que se demuestra que las agrupaciones entre especies con dimorfismo sexual dan resultados diferentes según se comparen machos o hembras por separado.

3.1.1. Comparaciones Intrapoblacionales

La variabilidad de las medidas corporales estimadas por el CV (Tabla 3 y 4) son del mismo orden de magnitud, con valores máximos de 22.15%, correspondiente al ancho del cuerpo (ac) en *L. n. kuhlmani*. Esto permite evaluar a priori la calidad de las variables que se incluirán en estudios posteriores. En este caso particular, el ac en las hembras puede ser muy variable cuando en la muestra hay hembras grávidas.

El dimorfismo sexual en las poblaciones consideradas es evidente en *L. altissimus 1*, *L. leopardinus* y *L. n. kuhlmani* (Tabla 5). En las restantes poblaciones las comparaciones biométricas no muestran diferencias significativas entre machos y hembras. Las hembras de la población de *L. altissimus 2* son sólo 6, las cuales probablemente son una muestra parcial comparadas con las 26 hembras de la población 1. Otro aspecto a considerar en esta población es su patrón de coloración, que es homogéneo, sin que estén representadas las variaciones extremas de coloración y diseño presentes en los ejemplares de *L. altissimus 1*. En *L. n. zapallarensis*, tanto las variables morfológicas consideradas como el patrón de coloración no dejan en evidencia el dimorfismo sexual, por lo que las comparaciones pueden quedar indistintamente referidas a los machos, hembras o a la totalidad de la muestra de ejemplares adultos.

3.1.2. Comparaciones Interpoblacionales

Las comparaciones interpoblacionales entre los machos muestran que estos difieren más en sus

proporciones corporales que las hembras respectivas (Tabla 6). Los machos son entonces más adecuados para establecer diferencias entre entidades específicas y subespecíficas, como lo señalan los resultados del presente trabajo. El análisis de conjunto con machos y hembras hace necesario recurrir a un factor de corrección para las diferencias sexuales (42). En efecto, la construcción de los dendrogramas con los valores de D^2 en forma separada para machos y hembras presentan diferencias en las agrupaciones de poblaciones. En relación con las variables consideradas es interesante destacar que el conjunto de las hembras son más homogéneas entre si, esto puede tener relación con factores reguladores extrínsecos, lo que incidiría en los tamaños corporales y patrón de coloración de las hembras en las poblaciones naturales.

3.2. Distancias Genéticas

Para la realización de estudios que dejen en evidencia la existencia de relaciones evolutivas en un conjunto de taxa, el conocimiento de la varia-

ción genética se constituye en una herramienta fundamental. La estimación de esta variación genética puede realizarse mediante el análisis electroforético de las frecuencias genéticas de proteínas e isoenzimas, a partir de las cuales se obtienen diversos estimadores que den cuenta de la diferenciación de las poblaciones (P , \bar{H}_L , I , D).

La estimación de la variabilidad genética es una medida que permite precisar el estado evolutivo de las poblaciones consideradas. La utilización de estos parámetros permite además, expresar en términos de distancia evolutiva la variabilidad genética existente y examinar la relación que se establece entre el grado de divergencia fenética y el de divergencia genética entre especies, subespecies y poblaciones locales que están representadas en la muestra analizada (Fig. 7). Además, la transformación de los valores de distancia genética interpoplacional (D), mediante una constante de proporcionalidad (c) permitiría a su vez dimensionar temporalmente el proceso de divergencia fenética y genética entre estos diversos taxa.

3.2.1. Comparaciones Intra e Interpoblacionales

Los estimadores de la variación genética intra e interpoblacional corresponden a distintas formas de expresar las frecuencias génicas.

La variabilidad genética intrapoblacional es- timada mediante el porcentaje de loci polimórfi- cos (F) y la heterocigosidad poblacional promedio (\bar{H}_L) en las 5 poblaciones de *Liolaemus* es $P=0.062$ (rango 0.042 - 0.091) y $\bar{H}_L = 0.013$ (rango 0.010 - 0.017) (Tabla 9). Estos valores son menores de 2 a 7 veces para los obtenidos en otros géneros de Iguanidae, así como también a los valores prome- dios de Vertebrados (43). La variabilidad gené- tica interpoblacional determinada por la identi- dad genética (I) y la distancia genética (D), co- rresponden igualmente a valores más bajos (Tabla 10) que lo esperado en la definición tanto de es- pecies como entidades subespecíficas. Los valo- res de I entre poblaciones locales y subespecies se sobreponen, lo que no permite contar con cri- terios genéticos para distinguir entre estas ca- tegorías subespecíficas. Altos valores de I en- tre especies y categorías subespecíficas simila-

res a los aquí encontrados han sido también señalados por otros autores (30,31).

La comparación de la variabilidad genética encontrada en *Liolaemus* en relación a otros grupos de Iguanidae debe ser considerada de carácter preliminar. En estos otros grupos de Iguanidae los estudios genéticos se han realizado con diferentes números de loci y con diferentes sistemas de proteínas e isoenzimas. Además, los números de ejemplares considerados en estos estudios también son diferentes (43).

Otra consideración que reafirma el carácter preliminar de las comparaciones genéticas realizadas en el presente trabajo, es el reducido número de especies que se conoce genéticamente en *Liolaemus*.

No obstante las limitaciones antes señaladas, desde el punto de vista metodológico el análisis electroforético se perfila de gran utilidad para el estudio de sus relaciones intraespecíficas.

En el análisis proyectado de la revisión del género *Liolaemus* que es la perspectiva en la cual se inscribe el presente aporte metodológico, será de especial interés la búsqueda de los factores extrínsecos e intrínsecos a las poblaciones que dan cuenta de su variación genética.

3.2.3. Tiempo de Divergencia de los Taxa

La estimación del tiempo de divergencia evolutiva entre taxa, es calculado por Nei en base a una constante de proporcionalidad "c", la cual se estima que corresponde a 5.0 millones de años (26,46).

Una objeción importante para la utilización de "c" como medida de divergencia evolutiva se sustenta en el hecho de que las proteínas e isoenzimas consideradas para su cálculo pueden exhibir diferentes tasas de sustitución de sus aminoácidos constituyentes (45). Según el tipo de proteínas e isoenzimas sobre las cuales se base el cálculo de "c", el valor de esta constante podría aumentar hasta en un orden de magnitud. Con

el objeto de que las medidas de tiempo de divergencia resulten validadas en diferentes grupos, es necesario calibrar las determinaciones de tiempo evolutivo y buscar antecedentes geológicos o paleontológicos, que sirvan para determinar el momento de la ocurrencia de una separación entre taxa, a partir del cual se reconstruya su filogenia.

No obstante las objeciones al cálculo de "c", si se aplica la constante de proporcionalidad de 5.0 millones de años a especies de *Liolaemus*, los valores obtenidos entregan para este grupo un tiempo de divergencia de 1.7 millones de años para un $D = 0.338$, calculado entre *L. altissimus* y *L. n. kuhlmani*, y de 20.000 para un $D = 0.004$ para las poblaciones locales de *L. altissimus*.

Estas estimaciones de tiempo de divergencia estarían en correspondencia con la datación de eventos geológicos que habrían incidido en los procesos de colonización y diversificación de estas poblaciones componentes de la biota andina a partir del Pleistoceno (46,47,48,49).

C O N C L U S I O N E S

1. La utilización de caracteres cualitativos de la morfología externa, cromosómicos y bioquímicos sirven para alcanzar diferentes grados de resolución en la delimitación de estas taxa de *Liolaemus*. El criterio de caracteres compartidos expresados en valores de similitud (S) permite generar representaciones gráficas (dendrogramas) que agrupan las poblaciones.
2. Los caracteres cualitativos de la morfología externa utilizados y sus estados del carácter, seleccionados según su reconocimiento inambiguo, posibilitan una descripción ordenada de los ejemplares de *Liolaemus* y el reconocimiento de caracteres distintivos. Estos caracteres permiten delimitar las especies y subespecies estudiadas.
3. Los caracteres citotaxonómicos son de utilidad en la delimitación de estas especies de *Liolaemus*, al mismo tiempo que permiten reconocer la existencia de grupos en estas poblaciones.

4. Los caracteres bioquímicos representados por proteínas plasmáticas y en músculo y diversos sistemas de isoenzimas, permiten reconocer diferencias entre las poblaciones locales, las que no son detectadas por los otros caracteres. Las proteínas e isoenzimas constituyen un nuevo conjunto de caracteres que se incorporan a la sistemática de *Liolaemus*.
5. Los dendrogramas generados independientemente por los caracteres morfológicos, cromosómicos y bioquímicos ordenan a las poblaciones en forma generalmente similar, en correspondencia con la jerarquía taxonómica previamente asignada.
6. Las relaciones entre poblaciones, representadas en un dendrograma único, resultante del análisis de conjunto de caracteres de la morfología externa, cromosómicos y bioquímicos, constituye una sumatoria de la información proveniente de los diferentes sistemas biológicos considerados.
7. La variabilidad de las medidas corporales estimadas por el coeficiente de variación (CV) permite evaluar a priori la calidad de las variables que se incluirán en

estudios posteriores, lo que junto con la determinación del dimorfismo sexual constituyen etapas previas necesarias para validar las comparaciones de distancias fenéticas interpoblacionales.

8. Las distancias fenéticas (D^2) son mayores entre especies que entre categorías subespecíficas. A su vez, las distancias genéticas (D), muestran esta misma tendencia de variación.
9. La variabilidad genética intrapoblacional estimada mediante el porcentaje de loci polimórficos (P) y la heterocigosidad poblacional promedio (\bar{H}_L), es de 2 a 7 veces menor que las obtenidas en otros géneros de Iguanidae.
10. Las poblaciones locales y las subespecies examinadas sobreponen sus valores de distancia genética. Las especies, en cambio, presentan valores de distancia genética que las diferencian de las entidades subespecíficas.
11. Al no existir registro paleontológico en *Lioalaemus*, la utilización de D y su constante de proporcionalidad (c), permitiría dimensionar en el tiempo la historia evolutiva del grupo de sus especies constituyentes.

A N E X O I

A) CARACTERES DE LA MORFOLOGIA EXTERNA

1. Proporción de la cabeza: más ancha que larga (1); más larga que ancha (2).
2. Tamaño de las escamas supraoculares en relación a las de la roseta nasal: mayores (1); iguales (2); menores (3).
3. Número de escamas supraoculares: hasta 5 escamas (1); entre 6 y 9 escamas (2); 10 ó más escamas (3).
4. Posición de la narina: lateral (1); frontal (2); dorsolateral (3).
5. Número de escamas sobresalientes en el borde antero-posterior del tímpano: 0 escama (1); 1 escama (2); 3 escamas (3); más de 3 escamas (4).
6. Número de lados de la escama rostral: heptagonal (1); octogonal (2).

7. Número de escamas del complejo de la roseta nasal: hasta 6 escamas (1); más de 6 escamas (2).
8. Número de escamas parietales: hasta 5 escamas (1); más de 5 escamas (2).
9. Número de escamas frontales: hasta 5 escamas (1); más de 5 escamas (2).
10. Disposición de las escamas frontales: en dos filas longitudinales (1); en disposición triangular (2).
11. Forma de la escama interparietal: triangular (1); pentagonal (2).
12. Tamaño del ojo pineal / tamaño de la escama interparietal: 1/7 pequeño (1); 1/5 mediano (2); 1/3 grande (3).
13. Escamas de la región temporal: lisas (1); quilladas (2).

14. Organos sensoriales presentes en región dorsal de la cabeza: punta de la cabeza (1); punta de la cabeza y región orbital (2); punta de la cabeza, región orbital y región temporal (3).
15. Número máximo de órganos sensoriales por escamas: 6 por escamas (1); 8 por escamas (2); 9 por escamas (3); 10 por escamas (4).
16. Ancho del cuello / región occipital: igual (1); menor (2); mayor (3).
17. Forma de la escama sinfisial: pentagonal (1); semi-circular (2).
18. Pliegue gular: presente (1); ausente (2).
19. Organos sensoriales en escamas infralabiales: presentes (1); ausentes (2).
20. Cuello con pliegue lateral longitudinal: presente (1); ausente (2).
21. Pliegue antehumeral: presente (1); ausente (2).

22. Escamas dorsales del tronco quilladas: presentes (1); ausentes (2).
23. Flancos con pliegue longitudinal: presente (1); ausente (2).
24. Escamas granulares de los flancos: presentes (1); ausentes (2).
25. Escamas de la región dorsal del brazo: circulares (1); triangulares (2); lanceoladas (3).
26. Escamas de la región dorsal del antebrazo: circulares (1); triangulares (2); lanceoladas (3).
27. Escamas de la región dorsal de la mano: circulares (1); triangulares (2).
28. Escamas de la región ventral del antebrazo: lisas (1); quilladas (2).
29. Forma de las escamas de la región dorsal del muslo: granulares (1); triangulares (2).

30. Superficie de las escamas triangulares de la región dorsal del muslo: lisas (1); quilladas (2).
31. Forma de las escamas de la región dorsal de la pierna: granulares (1); triangulares (2).
32. Superficie de las escamas triangulares de la región dorsal de la pierna: lisas (1); quilladas (2).
33. Superficie de las escamas triangulares de la región dorsal del pie: lisas (1); quilladas (2).
34. Escamas de la región ventral del muslo: circulares (1); triangulares (2).
35. Escamas de la región ventral de la pierna: circulares (1); triangulares (2).
36. Superficie de las escamas plantares: lisas (1); carenadas (2).
37. Longitud de la cola en relación al largo del cuerpo: más larga que el cuerpo (1); más corta que el cuerpo (2).

38. Poros anales: presentes (1); ausentes (2).
39. Sección transversal de la cola: circular (1); semi-circular (2).
40. Región vertebral de la cola: con escamas prominentes (1); sin escamas prominentes (2).
41. Escamas dorsales de la cola: lanceoladas (1); triangulares (2); cuadrangulares (3).
42. Escamas vertebrales de la cola: lanceoladas (1); triangulares (2).

El número entre paréntesis (), indica el estado del carácter.

B) CARACTERES CROMOSOMICOS

1. Número cromosómico diploide (2n): 30 (1); 32 (2); 40 (3).
2. Número fundamental de brazos cromosómicos (NF): 42 (1); 44 (2); 52 (3).

3. Morfología cromosómica: m-sm (1); m-sm-st-t (2).
4. Presencia de cromosomas sexuales; presente (1); ausente (2).
5. Presencia de constricción secundaria (CS); presente (1); ausente (2).
6. Disminución del tamaño de los macrocromosomas: gradual (1); no gradual (2).
7. Comparación del tamaño relativo del conjunto de los microcromosomas: grandes (1); intermedios (2); pequeños (3).
8. Morfología del primer par de microcromosomas: metacéntrico (1); telocéntrico (2); puntiforme (3).

C) CARACTERES BIOQUIMICOS

Cada uno de los 35 alelos considerados se identifican por su movilidad relativa. Entre paréntesis se señala la movilidad absoluta (cm).

1. Hemoglobina-1, alelo 1.00 (1.75).

2. Hemoglobina-2, alelo 1.00 (1.25)
3. Hemoglobina-3, alelo 1.00 (0.62)
4. Esterasa-1, alelo 1.00 (5.2)
5. Esterasa-2, alelo 1.00 (1.8)
6. Enzima málica-1, alelo 1.00 (2.8)
7. Enzima málica-2, alelo 1.00 (2.0)
8. Lactato deshidrogenasa-A, alelo 1.00 (4.7)
9. Lactato deshidrogenasa-A, alelo 1.56 (3.0)
10. Lactato deshidrogenasa-B, alelo 1.00 (0.8)
11. Tetrasolium oxidasa-1, alelo 1.00 (1.5)
12. Tetrasolium oxidasa-2, alelo 1.00 (2.6)
13. Tetrasolium oxidasa-2, alelo 1.08 (2.4)
14. Tetrasolium oxidasa-3, alelo -1.00 (0.3)
15. Malato deshidrogenasa-1, alelo 1.00 (1.5)
16. Malato deshidrogenasa-2, alelo 1.00 (0.2)
17. Glicerofosfato deshidrogenasa-1, alelo -1.00 (0.3)

18. Glutámico oxalacetato transaminasa-1, alelo -1.00 (1.4)
19. Glutámico oxalacetato transaminasa-1, alelo -0.57 (0.8)
20. Proteína plasmática-1, alelo 1.00 (5.0)
21. Proteína plasmática-2, alelo 1.00 (3.8)
22. Proteína plasmática-2, alelo 0.94 (3.6)
23. Proteína plasmática-3, alelo 1.00 (3.3)
24. Proteína plasmática-3, alelo 0.88 (3.1)
25. Proteína plasmática-4, alelo 1.00 (2.7)
26. Proteína plasmática-5, alelo 0.95 (2.2)
27. Proteína plasmática-5, alelo 1.00 (2.1)
28. Proteína plasmática-5, alelo 1.04 (2.0)
29. Proteína en músculo-1, alelo 1.00 (5.3)
30. Proteína en músculo-2, alelo 1.00 (4.8)
31. Proteína en músculo-3, alelo 1.00 (3.4)
32. Proteína en músculo-4, alelo 1.00 (1.6)
33. Proteína en músculo-5, alelo 1.00 (0.6)

34. Proteína en músculo-5, alelo 0.66 (0.4)

35. Proteína en músculo-6, alelo 1.00 (0.8)

T A B L A I-1
Caracteres morfológicos (1-42) y estados
del carácter (1-4)

Carácter	Poblaciones						Poblaciones				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
1	2	2	2	2	2	22	1	1	1	1	1
2	2	2	③	2	2	23	2	2	①	2	2
3	2	2	3	3	3	24	1	1	②	1	1
4	1	1	1	1	1	25	2	2	①	2	2
5	2	2	①	3	4	26	2	2	①	3	3
6	1	1	1	1	1	27	1	1	1	1	1
7	2	2	2	2	2	28	1	1	2	2	2
8	2	2	2	2	2	29	2	2	2	2	2
9	1	1	②	1	1	30	2	2	2	2	2
10	2	2	①	2	2	31	2	2	2	2	2
11	2	2	2	2	2	32	2	2	2	2	2
12	2	2	2	2	2	33	2	2	2	2	2
13	1	1	1	1	1	34	1	1	1	1	1
14	3	3	3	2	1	35	1	1	1	1	1
15	2	2	④	3	1	36	2	2	2	2	2
16	1	1	3	3	3	37	1	1	1	1	1
17	1	1	1	1	1	38	1	1	1	1	1
18	1	1	1	1	1	39	1	1	1	2	2
19	1	1	1	1	1	40	1	1	1	1	1
20	1	1	1	1	1	41	2	2	③	2	2
21	2	2	1	1	1	42	1	1	1	2	2

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

Rectángulos, círculos y cuadrados = caracteres de diagnosis.

T A B L A I-2
Caracteres cromosómicos (1-8) y estados
del carácter (1-3)

Carácter	Población				
	1	2	3	4	5
1	2 2	①	3 3		
2	2 2	①	3 3		
3	1	1	1	2	2
4	2	2	2	2	2
5	1	1	1	1	1
6	1	1	1	2	2
7	2 2	①	3 3		
8	2	2	2	3	3

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

Rectángulos y círculos = caracteres de diagnosis.

T A B L A I-3
 Caracteres bioquímicos (1-35) y estados del carácter
 (1 = presente; 2 = ausente)

Carácter	Poblaciones						Poblaciones				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
1	1	1	2	2	2	19	2	2	1	1	2
2	2	2	2	1	1	20	1	1	1	1	1
3	2	2	1	2	2	21	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1	22	2	2	2	1	1
5	1	1	1	1	1	23	1	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	24	①	2	2	2	2
7	1	1	1	1	1	25	2	2	1	2	1
8	2	2	1	1	1	26	2	2	2	2	①
9	1	1	2	2	2	27	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	28	2	1	1	1	2
11	1	1	②	1	1	29	1	1	1	2	2
12	2	2	2	1	1	30	1	1	1	1	1
13	2	2	1	2	2	31	1	1	1	2	2
14	2	2	1	1	1	32	1	1	1	1	1
15	1	1	1	1	1	33	2	2	1	1	1
16	1	1	1	1	1	34	1	1	2	2	2
17	1	1	1	1	1	35	1	1	1	1	1
18	1	1	1	1	1						

1 = *L. altissimus* 1; 2 = *L. altissimus* 2; 3 = *L. leopardinus*; 4 = *L. n. kuhlmani*; 5 = *L. n. zapallarensis*.

Círculos = caracteres de diagnosis.

A N E X O I I
ELECTROFORESIS

Se utilizan ejemplares adultos de la población de *L. altissimus 1*, para evidenciar diversos sistemas enzimáticos y proteínas totales, lo que permitirá realizar un análisis electroforético comparativo. La técnica electroforética empleada es tomada de Ayala y col. (50) y de Selander y col. (51) con modificaciones.

Los tejidos utilizados son: hígado, riñón y músculo esquelético, los que se guardan en un tubo con solución salina de NaCl al 0.9%. La sangre se obtiene por punción cardíaca, recibiendo directamente en tubos heparinizados de 50 y 100 ul., la sangre se centrifuga a 1.500 r.p.m. durante 5 min.; separándose el plasma de los glóbulos rojos. Las muestras se guardan a -80°C.

Muestras de los tejidos de la población de *L. altissimus 1*, se utilizan como control de movilidad durante las electroforesis de las otras poblaciones.

Electroforesis

Las electroforesis se realizan en un aparato horizontal para geles usando como base almidón (Sigma) al 12%. El gel mide 18.5 x 13.0 x 1.0 cm.

Preparación de las muestras: a) los glóbulos rojos se lisan agregando dos volúmenes de agua destilada. El hemolizado se obtiene por centrifugación a 3.000 r.p.m. durante 5 min.; b) las muestras de hígado, riñón y músculo esquelético se homogeneizan en el mismo tampón en que se prepara el gel (ver más adelante); c) el hemolizado, plasma y las muestras homogeneizadas se absorben con una pieza de papel Whatman N° 3 de 0.9 x 0.5 cm., para ser puestas en el gel.

Procedimiento electroforético: a) las muestras se colocan en un corte realizado en el gel a 3.5 cm. del cátodo; b) en cada extremo de las muestras se coloca una pieza de papel filtro con solución de Azul de Bromo Fenol al 1.0%, como marcador de movilidad; c) las electroforesis se corren dentro de un refrigerador a 4°C; sobre el gel se sobrepone hielo en una cubeta de acrílico para mantenerlo frío; d) terminada la electroforesis se cortan rebanadas de 2 mm. de espesor, las que se colocan en una cubeta con la solución de tinción específica.

Preparación de tampones de gel y de electrodos

El gel para hemolizado se prepara en tampón Tris Borato EDTA pH 9.0, el que también se usa en las cubetas de electrodos. El tampón contiene: 10.54 gr. de Tris, 0.54 gr. de Ac. bórico y 0.41 gr. de EDTA, se completa a un litro con agua deionizada. La electroforesis se realiza a 20 mA durante 10 a 12 horas hasta que la hemoglobina migra 12.5 mm.

El gel para plasma, hígado, riñón y músculo se prepara en tampón Poulik (Tris citrato pH 8.65): 9.3 gr. de Tris y 1.15 gr. de Ac. cítrico, se completa a un litro de agua deionizada. Las cubetas de electrodos llevan tampón Poulik (Acido bórico NaOH pH 8.1): 18.2 gr. de Ac. bórico y 2.5 gr. de NaOH, se completa a un litro de agua deionizada. La electroforesis se realiza a 20 mA durante 10 a 12 horas hasta que el marcador de Azul de Bromo Fenol migre 65 mm.

Tampones de Tinción

1. Tampón Tris borato EDTA pH 9.0.
2. Tampón Tris-Cl 0.5 M pH 7.1: 60.55 gr. de Tris, se completa a un litro de agua deionizada, se ajusta el pH con HCl concentrado.

3. Tampón Tris-Cl 0.1 M pH 7.1: dilución de 20 ml. de tampón 2 + 80 ml. de agua deionizada.
4. Tampón Tris-Cl 0.5 M pH 8.5: 60.55 gr. de Tris, se completa a un litro de agua deionizada, se ajusta el pH con HCl concentrado.
5. Tampón fosfato esterases pH 6.9.
Solución 1: 27.8 gr. de NaH_2PO_4 .
Solución 2: 71.5 gr. de Na_2HPO_4 .

Se utilizan 45 ml. de solución 1 + 55 ml. de solución 2.

Tinciones Específicas

Proteínas totales de plasma (Ppt) y de músculo esquelético (Pm), se tiñen durante una hora con Coomassie Blue R: 60 mg. de Coomassie Blue R en 100 ml. de mezcla de fijación (1 parte de ácido acético, 5 partes de metanol y 5 partes de agua destilada). El exceso de tinción se remueve con mezcla de fijación.

Hb. Hemoglobina (Hemolizado)

Se tiñe con Coomassie Blue R o Benzidina: 100 mg. de Benzidina, 0.45 ml. de H_2O_2 , 9.0 ml. de ácido acético y 80.55 ml. de agua destilada.

PGM. Fosfoglucomutasa (E.C. 2.7.5.1.) (Hemolizado)

Se tiñe en una solución que contiene: 20 mg. NBT, 10 mg. NADP⁺, 200 mg. MgCl₂, 600 mg. de Glucosa-1-P, 80 unidades de Glucosa-6-P deshidrogenasa en 100 ml. de tampón Tris-Cl 0.1 M pH 7.1.

EST. Esterasas (E.C. 3.1.1.1.) (Plasma)

La rebanada de gel se trata previamente a la tinción con ácido bórico 0.5 M durante 15 minutos. La solución de tinción contiene: 60 mg. de Sal Fast Garnet GBC, 1.5 ml. de Naftil acetato al 1% (2 gr. de Naftil acetato en 100 ml. de agua destilada y 100 ml. de acetona) y 98.5 ml. de tampón Fosfato Esterasas pH 6.9.

GPD. Glicerofosfato deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.8) (Hígado)

Se tiñe en una solución que contiene: 20 mg. de NBT, 25 mg. de NAD⁺, 180 mg. de EDTA, 800 mg. de Glicerofosfato en 100 ml. de tampón Tris Borato EDTA pH 9.0.

GOT. Glutámico oxalacetato transaminasa (E.C. 2.6.1.1.) (Hígado).

Se tiñe en una solución que contiene: 150 mg. de Sal Fast Blue BB, 10 mg. de Piridoxal 5'-P, 200 mg. de ácido aspárti-

co, 100 mg. de ácido cetoglutárico en 100 ml. de tampón Tris-Cl 0.5 M pH 8.5.

ME. Enzima málica (E.C. 1.1.1.37.) (Riñón)

Se tiñe en una solución que contiene: 20 mg. de NBT, 20 mg. de NADP⁺, 25 mg. de MgCl₂, 50 mg. de ácido L-málico en 100 ml. de tampón Tris Borato EDTA pH 9.0.

LDH. Lactato deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.27.) (Riñón)

Se tiñe en una solución que contiene: 25 mg. de NAD⁺, 20 mg. de NBT, 960 mg. de Lactato de litio en 100 ml. de tampón Tris-Cl 0.5 M pH 7.1.

TO. Tetrasolium oxidasa (Riñón)

La actividad de esta enzima se detecta durante la tinción de ME. La reducción del NBT a Formazan ennegrece el gel, menos en la zona donde se encuentra la enzima TO, donde aparecen sitios blancos. La prueba de la actividad sobre el tetrasolium se obtienen tiñendo en una solución que contiene: 20 mg. de NBT en 100 ml. de tampón Tris Borato EDTA pH 9.0.

MDH. Malato deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.37.) (Músculo esquelético)

Se tiñe en una solución que contiene: 20 mg. de NBT, 25 mg. de NAD⁺, 50 mg. de ácido L-málico en 100 ml. de Tris Borato EDTA pH 9.0.

La enzima GOT, se incuba durante 1 hora a 37°C, luego se agrega la Sal Fast Blue BB: 150 mg. de Sal Fast Blue BB en tampón Tris-Cl 0.5 M pH 8.5.

Las enzimas GPD, ME, LDH, MDH y PGM, se incuban en sus soluciones de tinción durante una hora a 37°C, después se agregan 5 mg. de PMS.

Las hemoglobinas y esterases son de rápida resolución y no necesitan ser incubadas.

Abreviaturas:

Las abreviaturas correspondientes a reactivos de geles, tampones y soluciones de tinción son:

TRIS : Tris(hidroximetil)aminometano

EDTA : Etilenodiamino tetracético

NADP⁺ : Nicotinamida adenindinucleótido fosfato

NAD⁺ : Nicotinamida adenindinucleótido

NBT : Nitro Azul de tetrasolium

PMS : Fenazina metasulfato

B I B L I O G R A F I A

- (1). Di Castri, F. (1968). Esquisse écologique du Chile.
En: Biologie de L' Amerique Australe. Ed. De-
lamare Deboutteville et E. Rapaport. Tome IV
CNRS. París, 60 págs.
- (2). Donoso-Barros, R. (1966). Reptiles de Chile. Ed.
Universidad de Chile. 448 págs.
- (3). Donoso-Barros, R. (1970). Catálogo Herpetológico
Chileno. Bol. Mus. Nac. Hist. Nat. 31: 49-124.
- (4). Peters, J.A. and Donoso-Barros, R. (1970). Catalogue
of the Neotropical Squamata. Part II. Lizard
and Amphisbaenians. U.S. Nat. Mus. Bull. 297.
Smithsonian Institutions Press City of Washing-
ton. 293 págs.
- (5). Donoso-Barros, R. (1974). Nuevos reptiles y anfibios
de Chile. Bol. Soc. Biol. Concepción. Tomo
XLVIII: 217 - 229.

- (6). Ortiz, J.C. (1975). Una nueva especie de lagartija chilena, *Liolaemus donosoí* sp. nov. (Squamata-Iguanidae). An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso. 8: 62 - 65.
- (7). Cei, J.M. (1979). A reassessment of the *Ctenoblepharis* (Reptilia, Sauria, Iguanidae), with a description of a new subspecies of *Liolaemus multimaculatus* from Western Argentina. J. of Herp. 13 (3): 297 - 302.
- (8). Valencia, J., Veloso, A., Sallaberry, M. (1979). Análisis biométrico y cromosómico en poblaciones de *Liolaemus nigroviridis* Muller y Hellmich (Squamata-Iguanidae). Arch. Biol. Med. Exp. 12 (1): 209 - 220.
- (9). Veloso, A., Sallaberry, M., Navarro, J., Iturra, P., Valencia, J., Penna, M., Díaz, N. (1982). Contribución sistemática al conocimiento de la Herpetofauna del Extremo Norte. En: Eds. A. Veloso y E. Bustos. Vol. I. La vegetación y los Vertebrados inferiores de los pisos altitudinales entre Arica y el Lago Chungará. 135 - 265. UNESCO - Montevideo.

- (10). Gorman, G.C., Attkins, L. and Holzinger, T. (1967).
New karyotypic data on 15 genera of lizards in
the family Iguanidae, with a discussion of
taxonomic and cytological implications. *Cyto-*
genetics. 6: 286 - 299.
- (11). Espinoza, N.D. and Formas, J.R. (1976). Karyological
patterns of two Chilean lizards of the genus
Liolaemus (Sauria-Iguanidae). *Experientia*. 32:
299 - 300.
- (12). Lamborot, M., Espinoza, A. and Alvarez, E. (1979).
Karyotypic variation in Chilean lizard of the
genus *Liolaemus* (Iguanidae). *Experientia*. 35
(5): 593 - 594.
- (13). Navarro, J., Sallaberry, M., Veloso, A., Valencia, J.
(1981). Diversidad cromosómica en lagartos
(Sauria-Iguanidae). I. Avances citotaxonómicos.
Perspectivas de estudios evolutivos en
Iguanidae. *Medio Ambiente*. 5 (1-2): 28 - 38.

- (14). Valencia, J., Veloso, A. (1981). Zoogeografía de los Saurios de Chile. Proposiciones para un esquema ecológico de distribución. Medio Ambiente. 5 (1-2): 5 - 14.
- (15). Díaz, N., Navarro, J. (1982). Visión retrospectiva de la investigación sobre Reptiles chilenos entre 1966-1981. Resúmenes. II Reunión Chilena de Herpetología. Museo Nacional de Historia Natural. Santiago. pág. 37.
- (16). Hubby, J.L. and Lewontin, R.C. (1966). A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. Genetics. 54: 577 - 594.
- (17). Lewontin, R.C. and Hubby, J.L. (1966). A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics. 54: 595 - 609.

- (18). Guttman, S.I. (1973). Biochemical techniques and problems in Anuran evolution. En: Evolutionary Biology of the Anurans. Ed. J.L. Vial. 183 - 213. University of Missouri Press Columbia.
- (19). Ayala, F.J. (1975). Genetic differentiation during the speciation process. In: Evolutionary Biology. Eds. T. Dobzhansky, M. Hecht, W. Steere. Vol. 8 : 1 - 75. Plenum Press. New York and London.
- (20). Nei, M. (1972). Genetic distances between populations. Amer. Nat. 106: 283 - 291.
- (21). Rogers, J.S. (1972). Measure of genetic distance. En: Studies in Genetics VII. Ed. M.R. Wheeler. 7213: 145 - 153. Univ. Texas Publ.
- (22). Michener, C.D. and Sokal, R.R. (1957). A quantitative approach to a problem in classification evolution. 11: 130 - 162.
- (23). Sokal, R.R. and Sneath, P.H.A. (1963). Principles of numerical taxonomy. W.H. Freeman and Company. San Francisco and London. 359 págs.

- (24). Morrison, D.F. (1967). Multivariate statistical methods. Mc Graw-Hill series in probability and statistics. 338 págs.
- (25). Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas*. 52: 201 - 220.
- (26). Nei, M. (1971). Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity. *Am. Nat.* 105 (945): 385 - 397.
- (27). Nei, M. (1975). Molecular population genetics and evolution. Chapter 7: Differentiation of population and speciation. 175 - 205. Amsterdam, North Hollan Publishing Co.
- (28). Paull, D., Williams, E.E. and Hall, W.P. (1976). Lizards karyotypes from the Galapagos Islands: Chromosomes in Phylogeny and Evolution. *Breviora*. 441: 1 - 31.

- (29). Webster, T.P., Selander, R.K. and Yang, S.Y. (1973). Genetic variability and similarity in the *Anolis* lizard of Bimini. *Evolution*. 26: 523 - 535.
- (30). Yang, S.Y., Soule, M. and Gorman, G.C. (1974). *Anolis* lizards of the eastern Caribbean: A case study in evolution. I. Genetic relationships, phylogeny, and colonization sequence of the *roquet* group. *Syst. Zool.* 23: 387 - 399.
- (31). Gorman, G.C. and Kim, Y.J. (1976). *Anolis* lizards of the Eastern Caribbean: A case study in evolution. II. Genetic relationships and genetic variation of the *bimaculatus* group. *Syst. Zool.* 25: 62 - 77.
- (32). Hall, W.P. and Selander, R.K. (1973). Hybridization of karyotypically differentiated populations in the *Sceloporus grammicus* complex (Iguanidae). *Evolution*. 27: 226 - 242.
- (33). Gorman, G.C. (1973). The chromosomes of the Reptilia, a cytotaxonomic interpretation. En: A.B. Chiarelli and E. Capanna Eds., *Cytotaxonomic and Vertebrate Evolution*. pp. 349 - 424. Academic Press, New York.

- (34). Peccinini-Seale, D. (1981). New developments in vertebrate cytotaxonomy. IV. Cytogenetic studies in reptiles. *Genética*. 56: 123 - 148.
- (35). White, M.J.D. (1979). Modes of Speciation. Ed. Cedric, I. Davern. W.H. Freeman and Company. San Francisco. 455 págs.
- (36). Lamborot, M., Alvarez, E., Campos, I., Espinoza, A. (1981). Karyotypic characterization of three Chilean subspecies of *Liolaemus monticola*. *The J. Heredity*. 72: 328 - 334.
- (37). Ortiz, J.C. (1981). Revision taxonomique et biologie des *Liolaemus* du groupe *nigromaculatus* (Squamata-Iguanidae). These de Doctorat d'Etat. En: Sciences Naturelles présentée a l'Universite Paris VII.
- (38). Mayr, E. (1965). Numerical phenetics and taxonomy theory. *Syst. Zool.* 14: 73 - 97.
- (39). Mayr, E. (1969). Principles of systematic zoology. Mc Graw-Hill Book Company. 428 págs.

- (40). Minkoff, R.L. (1965). The effects on classification of slight alterations in numerical technique. *Syst. Zool.* 14: 196 - 213.
- (41). Morescalchi, A. (1973). Amphibia. En: A.B. Chiarelli and E. Capanna Eds., *Cytotaxonomic and Vertebrate evolution.* pp. 433 - 348. Academic Press, New York.
- (42). Sokal, R.R. and Rohlf, F.I. (1969). *Biometry.* W. H. Freeman and Company. San Francisco. 776 págs.
- (43). Powell, J.R. (1975). Protein variation in natural populations of animals. In: *Evolutionary Biology.* Vol. 8. Eds. T. Doszhansky, H.K. Hecht, W.C. Steere. pp. 79 - 119. Plenum Press. New York and London.
- (44). Nei, M. (1981). Genetic distance and molecular taxonomy. In: *Proceedings of the XIV International Congress of Genetics.* Vol. II, Book One. pp. 7 - 22. Mir Publishers, Moscow.

- (45). Sarich, M.V. (1977). Rates, samples sizes and the neutrality hypothesis for electrophoresis in evolutionary studies. *Nature*. 265: 24 - 28.
- (46). Duellman, W.E. and Veloso, A.M. (1977). Phylogeny of *Pleurodema* (Anura-Leptodactylidae): A biogeographic model. Occasional papers of the Museum of Natural History. The University of Kansas. N° 64: 1 - 46.
- (47). Vuillemier, B.S. (1971). Pleistocene changes in the fauna and flora of South America. *Science*. 173: 771 - 780.
- (48). Simpson, B.B. (1979). Quaternary biogeography of the high montane regions of South America. In: *The South American Herpetofauna: Its origin, evolution and dispersal*. Ed. W.E. Duellman. Museum of Natural History. The University of Kansas. Monograph. N° 8.
- (49). Fuentes, E.R., Jaksic, F.M. (1979). Lizard and rodents: An explanation for their relative species diversity in Chile. *Arch. Biol. Med. Exp.* 12 (1): 179 - 190.

- (50). Ayala, F.J., Powell, J.R., Tracey, M.L., Mourao, C.A. and Pérez-Salas, S. (1972). Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group IV. Genetic variation in natural population of *Drosophila willistoni*. *Genetics*. 70: 113 - 139.
- (51). Selander, R.K., Smith, M.H., Young, S.Y., Johnson, W. E. and Gentry, J.B. (1971). Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). *Studies in Genetic VI*. University of Texas Publ. 7103: 49 - 90.