

ESTUDIO DE LA EVOLUCION Y MODOS DE
ESPECIACION EN LAS ESPECIES CHILENAS
DEL GENERO *BASILICHTHYS*
(PECES, *ATHERINIDAE*)

Tesis

entregada a la

Facultad de Ciencias Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al

grado de

Doctor en Ciencias con Mención en Biología

por

GONZALO GAJARDO GALVEZ

Director de Tesis: Dr. Hugo Campos C.

Instituto de Zoología

Universidad Austral de Chile

Dr. Ricardo Galleguillos G.

Departamento de Biotecmar

Pontificia Universidad Católica

Sede Regional Talcahuano

1985

STUDY ON THE EVOLUTION AND MODES OF
SPECIATION OF THE CHILEAN SPECIES OF THE GENUS
BASILICHTHYS
(PISCES, ATHERINIDAE)

AN ABSTRACT

of a dissertation submitted to the Faculty of Basic
Sciences of the University of Chile in partial fulfillment
of the requirements for the degree of Doctor en Ciencias
con Mencion en Biologia

by

GONZALO GAJARDO GALVEZ

Dissertation supervisor: Dr. Hugo Campos Cereceda

Dr. Ricardo Galleguillos Gonzalez

1985

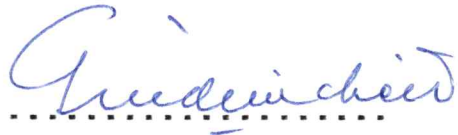
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la comisión de Doctorado de la Facultad de
Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el
candidato

GONZALO GAJARDO GALVEZ

ha sido aprobada por la comisión informante de Tesis como
requisito de Tesis para el grado de Doctor en Ciencias con
mención en Biología en el exámen de Defensa de Tesis
rendido el 23 de Diciembre de mil novecientos ochenta y
cinco.

Patrocinante de Tesis

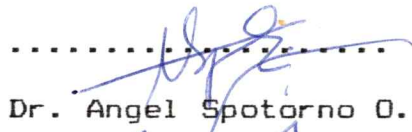


Dr. Guido Pincheira V.

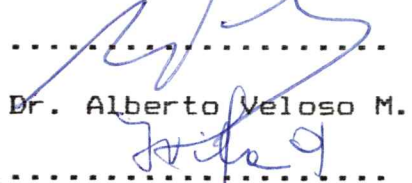
Comisión informante de Tesis



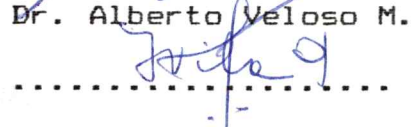
Dr. Danko Brncic J.



Dr. Angel Spotorno O.



Dr. Alberto Veloso M.


Dra. Irma Vila P.

A mis padres.
A Bárbara, Valentina y Consuelo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Ricardo Galleguillos la dirección de este trabajo, la posibilidad de realizar gran parte del análisis electroforético en su laboratorio, su generosa ayuda y amistad brindada. De la misma forma deseo agradecer al Dr. Hugo Campos C., director de esta Tesis, por las facilidades que me otorgó en su laboratorio y por sus valiosos comentarios.

Al Dr. Guido Pincheira, por el patrocinio de esta Tesis y por el permanente estímulo y apoyo que he recibido de su parte.

Mi interés por la Biología evolutiva se lo debo al Dr. Danko Brncic. Agradezco sus enseñanzas, sus valiosos consejos y su constante apoyo.

A Gloria Arratia debo el haber canalizado mi inquietud por los peces. Su generoso apoyo así como las constantes discusiones se mantienen, a pesar de la distancia.

A mis ex-colegas del Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina Norte y a mis colegas del Programa de Genética por las interesantes discusiones, tanto formales como informales. Especialmente deseo agradecer la generosa colaboración que me brindó Mónica Acuña con el análisis multivariado, como también las facilidades computacionales

otorgadas por Francisco Rothhmer.

Al Dr. Alberto Veloso debo apoyo logístico y valiosos consejos.

A Ciro Oyarzún por sus comentarios y por el apoyo bibliográfico y a Ricardo Guíñez por el programa para el cálculo de la distancia genética.

A la Prof. Irma Vila y a Laura Huaquín, por facilitarme material, por compartir colectas y discusiones.

Al Dr. Ronald Gebert, Decano de la Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, por las facilidades otorgadas para el desarrollo del trabajo fuera de la Universidad y para el posterior equipamiento de un laboratorio.

A mis colegas del Departamento de Ciencias Básicas que generosamente contribuyeron a aliviar mi carga docente mientras redactaba la Tesis.

Al personal de Mayordomía, de Seguridad y Nocheros de la Universidad de La Frontera por darme facilidades para mi trabajo en horarios y días no habituales.

A Rodolfo Jofré, Daisy Cabalín y Jaime Cortés por el trabajo fotográfico y confección de figuras. A Claudio Masson por su ayuda en la impresión final de la Tesis.

Sin la paciencia y generosidad de mi esposa Bárbara este trabajo no hubiera sido posible.

INDICE DE MATERIAS

	Pag.
A. PAGINAS PRELIMINARES	
Página de título	i
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Indice de Materias	v
Lista de tablas	ix
Lista de figuras	xiii
Resumen en español	xvi
Resumen en ingles	xx
 B. PAGINAS DE TEXTO	
 INTRODUCCION	
1. Especies y especiación	1
2. El modelo de especiación geográfica	3
3. Divergencia genética en el proceso de especiación.	4
4. Divergencia cariotípica en el proceso de especiación.	6
5. Diferenciación electroforética vs. diferencia-	

INDICE DE MATERIAS (CONT.)

ción morfológica.	7
6. El género <i>Basilichthys</i>	10
7. Objetivos del presente trabajo	12

MATERIAL Y METODOS

1. Comparación morfológica	16
1.1. Análisis discriminante	19
1.2. Análisis de conglomerados	20
1.3. Análisis de componentes principales	21
2. Analisis osteológico y de caracteres merísticos	22
3. Análisis cromosómico	23
4. Análisis electroforético	24

RESULTADOS

1. Análisis de la condición de especie de <i>B. microlepidotus</i> y <i>B. australis</i>	29
2. Análisis morfológico univariado. Escamas sobre la línea media del cuerpo.	34
3. Análisis morfométrico univariado	38
4. Análisis morfológico multivariado	45
4.1. Análisis discriminante	45
4.2. Análisis de conglomerados	49
4.3. Análisis de componentes principales	61

INDICE DE MATERIAS (CONT.)

5. Análisis osteológico	75
6. Análisis cromosómico	81
7. Variabilidad genética y distancia en <i>B. microlepidotus</i> y <i>B. australis</i>	83
7.1. Loci monomórficos	87
7.1.1. Lactato deshidrogenasa	87
7.1.2. L-Glicerofosfato	87
7.1.3. 6-Fosfogluconato deshidrogenasa	89
7.1.4. Isocitrato deshidrogenasa	90
7.1.5. Glutamato oxalato transaminasa	90
7.1.6. Fosfoglucomutasa	91
7.1.7. Oxidasa de tetrazolium	91
7.1.8. Creatina Kinasa	92
7.1.9. Xantina deshidrogenasa	92
7.2. Loci polimórficos	92
7.2.1. Esterasa	93
7.2.2. Fosfoglucosa isomerasa	93
7.2.3. Deshidrogenasa málica	95
7.2.4. Enzima málica	95
7.2.5. Alcohol deshidrogenasa	98
8. Diferenciación genética entre <i>B. australis</i> y <i>B. microlepidotus</i>	98
8.1. Análisis de la diferenciación genética por loci polimórfico.	99

INDICE DE MATERIAS (CONT.)

DISCUSION

1. Aporte del análisis morfológico a la distinción de *B. microlepidotus* y *B. australis*. 103
 - 1.1. Escamas sobre la línea media del cuerpo. 104
 - 1.2. Número de vértebras. 109
 - 1.3. Análisis morfométrico multivariado. 111
2. Divergencia cariotípica. 115
3. Diferenciación electroforética 117
4. Diferenciación electroforética vs. diferenciación morfológica. 119
 - 4.1. Genes estructurales y mecanismos reguladores 120
 - 4.2. Reloj molecular 124
 - 4.3. Cambios genéticos pequeños y su contrapartida morfológica. 126

BIBLIOGRAFIA 131

APENDICES 143

LISTA DE TABLAS

1. Tamaño de la muestra y localidades empleadas para el análisis morfológico en *Basilichthys*. 31
2. Sistemas enzimáticos ensayados y número de loci resueltos en *B. microlepidotus* y *B. australis* 33
3. Número de escamas sobre la línea media del cuerpo en poblaciones de *B. microlepidotus* y *B. australis*. 35
4. Datos morfométricos para *B. microlepidotus* y *B. australis*. 40
5. Análisis morfométrico en machos y hembras de *B. microlepidotus* y *B. australis*. 42
13. Valor de los coeficientes canónicos para las 5 funciones obtenidas en el análisis discriminante de 205 especímenes de *Basilichthys*. 47
14. Matriz de clasificación basada en el análisis discriminante de 205 especímenes de *Basilichthys* 48
15. Matriz con la distancia de Mahalanobis para el análisis morfológico de *B. microlepidotus* y de *B. australis* 50
16. Matriz con la distancia de Mahalanobis para el análisis morfológico de las hembras de *B. microlepidotus* y de *B. australis*. 53

LISTA DE TABLAS (CONT.)

17. Matriz con la distancia de Mahalanobis para el análisis morfológico de los machos de *B. microlepidotus* y de *B. australis*. 56
18. Vectores característicos para los tres primeros componentes principales (CP) obtenidos en el análisis de *B. microlepidotus* y *B. australis*. 62
19. Coeficientes de correlación para la comparación entre las variables originales y los componentes principales I y II 63
20. Vectores característicos para los tres primeros componentes (CP-I, CP-II, CP-III), separados por sexo 65
21. Caracteres merísticos en especies seleccionadas de la Familia *Atherinidae* 78
22. Distribución de los números cromosómicos observados en células del epitelio branquial de *B. microlepidotus* y de *B. australis* 86
23. Composición cromosómica de *B. microlepidotus* y *B. australis* 86
24. Frecuencias alélicas para los loci polimórficos en *B. microlepidotus* y *B. australis* 94
25. Frecuencias alélicas para el locus polimórfico PGI-2 100
26. Frecuencias alélicas para el locus polimórfico MDH-2 101

LISTA DE TABLAS (CONT.)

27. Frecuencias alélicas para el locus polimórfico
EST-3

102

APENDICES: tablas 6 a 12.

6. Matriz de correlación para las 19 variables utilizadas en el análisis morfológico de *B. microlepidotus* y *B. australis*. Considera el total de individuos sin distinción de sexo.
7. Matriz de correlación para las 19 variables utilizadas en el análisis morfológico de las hembras de *B. microlepidotus* y *B. australis*.
8. Matriz de correlación para las 19 variables utilizadas en el análisis morfológico de los machos (sexo 1) de *B. microlepidotus* y *B. australis*.
9. Matriz de correlación para las 19 variables utilizadas en el análisis morfológico de los individuos de sexo indeterminado (sexo 2) en *B. microlepidotus* y *B. australis*.
10. Matriz de correlación para las 19 variables utilizadas en el análisis morfológico de las hembras de la localidad de Elqui.
11. Matriz de correlación para las 19 variables utilizadas en el análisis morfológico de las

LISTA DE TABLAS (CONT.)

hembras de la localidad de Cautín.

12. Matriz de correlación para las 19 localidades utilizadas en el análisis morfológico de las hembras de la localidad de Imperial

LISTA DE FIGURAS

1. Esquema que señala el patrón seguido por la línea lateral (sensorial) en *Basilichthys*. 30
2. Distribución geográfica de *B. microlepidotus* y de *B. australis*. Los círculos numerados señalan los lugares de colecta de los especímenes utilizados en el análisis morfológico. 32
3. Variación en el número de escamas sobre la línea media en *B. microlepidotus* y *B. australis*. Las localidades aparecen de acuerdo a su latitud. El rango de variación es indicado por una línea vertical; la media por una línea horizontal; la zona ennegrecida indica una desviación estándar a cada lado del promedio. 36-37
4. A. *B. microlepidotus* (110 mm., LT) del río Choapa. B. *B. australis* (140 mm.) del río Cautín. 39
5. Proyección de los individuos de *B. microlepidotus* y *B. australis* sobre los ejes de las dos primeras funciones discriminantes. Cada número especifica un pez de la localidad correspondiente al número. Cada punto (*) representa un centroide. 46
6. Análisis de conglomerados en *B. microlepidotus* y *B. australis*. Considera el total de especí-

LISTA DE FIGURAS (CONT.)

- menes, sin distinción de sexo. 51
7. Análisis de conglomerados en *B. microlepidotus* y *B. australis* (Hembras). 54-55
8. Análisis de conglomerados en *B. microlepidotus* y *B. australis* (Machos). 54-55
9. Análisis de conglomerados en *B. microlepidotus* y *B. australis* (Machos y Hembras agrupados). 59
10. Proyección de los especímenes de *B. microlepidotus* y *B. australis* (sin distinción de sexo) en el análisis de componentes principales. (Componentes I y II). 67-68
11. Proyección de los especímenes de *B. microlepidotus* y *B. australis* (sin distinción de sexo) en el análisis de componentes principales. (Componentes I y III). 67-68
12. Proyección de las hembras en el análisis de componentes principales. (Componentes I y II). 69-70
13. Proyección de las hembras en el análisis de componentes principales. (Componentes I y III). 69-70
14. Proyección de los machos en el análisis de componentes principales. (Componentes I y II). 72-73
15. Proyección de los machos en el análisis de componentes principales. (Componentes I y III). 72-73
16. Proyección de los individuos de sexo indeterminado en el análisis de componentes principales

LISTA DE FIGURAS (CONT.)

Componentes I y II).	74
17. Distribución de frecuencias para el número de rayos en las aletas de <i>B. microlepidotus</i> y <i>B. australis</i> .	76-77
18. Serie orbital A) y aparato hioideo (B) en <i>Basilichthys</i> (ce, ceratohial; dsf, desmoesfenótico; ep, epihial; i, infraorbital; la, lagrimal.	80
19. Estructura de la aleta caudal. A: <i>B. microlepidotus</i> . B. <i>B. australis</i> (AN, arco neural; CPU, centrum pleural; E, epural; H, hipural; PH, placa hipural.	82
20. Cariotipo de <i>B. microlepidotus</i>	84
21. Cariotipo de <i>B. australis</i> .	85
22. Esquema con las migraciones electroforéticas relativas para los loci monomórficos.	88
23. Esquema con las migraciones relativas para los loci polimórficos. A. Fosfoglucosa isomerasa (PGI). B. Enzima Málica (ME).	96
24. Esquema con la migración electroforética relativa observado en los heterocigotos para la enzima Malato deshidrogenasa (MDH).	97

RESUMEN

Con el propósito de contribuir a la descripción sistemática y analizar el modelo de especiación geográfica aplicado a las especies endémicas *Basilichthys microlepidotus* y *Basilichthys australis*, se analizaron principalmente tres problemas:

1. Verificar la condición de especie de *B. microlepidotus* y *B. australis*.
2. Establecer si existe correspondencia entre la condición de especie de éstas y la disminución en los valores de identidad genética (Nei, 1972), de acuerdo a lo que se espera para especies alopátridas.
3. Establecer si las diferencias morfológicas tienen correspondencia con las diferencias genéticas esperadas.

La condición de especie de *Basilichthys microlepidotus* y de *Basilichthys australis* fue confirmada, en ausencia del criterio reproductivo, principalmente porque:

- A. Las poblaciones de ambas especies se pueden diferenciar por el carácter número de escamas sobre la línea media del cuerpo y por el número diploide de cromosomas.

B. El análisis multivariado permite separar las localidades de ambas especies en dos grupos claramente definidos.

El análisis de la diferenciación genética se hizo mediante la comparación del número diploide de cromosomas y sobre la base de su morfología. Se compararon, además, las movilidades electroforéticas en el producto de 32 loci estructurales.

La diferenciación morfológica se estudió considerando el análisis de caracteres en forma individual y de manera multivariada. Esta última forma incluyó análisis discriminante, de conglomerados y de componentes principales.

El análisis de variación para el número de escamas confirmó su valor taxonómico, pues se pudo observar que las poblaciones de ambas especies son lo suficientemente homogéneas como para ser consideradas en dos grupos independientes y porque estos grupos se separan de manera coincidente con la distribución geográfica de las especies.

El número diploide de *B. microlepidotus* es 46 y el de *B. australis* es 48. Aunque la fórmula cromosómica difiere, en ambos casos el complemento cromosómico está constituido mayoritariamente por elementos subtelocéntricos y no se observaron cromosomas sexuales.

El número diploide de *B. australis* se puede considerar más primitivo que el de *B. microlepidotus*, el cual tendría entonces la condición de derivado. En esta última especie, la aparición de un cromosoma submetacéntrico de mayor tamaño, permitiría suponer que en la reducción del número diploide estaría probablemente involucrado un reordenamiento por medio de la fusión de dos cromosomas de menor tamaño.

El análisis de conglomerados permite separar de manera concordante a las localidades de cada especie en dos grupos bien definidos. De este análisis se puede concluir que:

i) Existe variación intraespecífica, concordante con la distribución geográfica de las localidades estudiadas, puesto que la divergencia morfológica aumenta hacia los extremos del rango de distribución de las especies.

ii) Existe consistencia entre los grupos derivados del análisis y los esperados de acuerdo a la hipótesis de la presencia de dos especies.

Como consecuencia del análisis discriminante y del análisis de componentes principales, se puede establecer que las diferencias entre ambas especies son producto del tamaño del pez, de la posición de la primera aleta dorsal, del largo de la cabeza y del diámetro del ojo.

La identidad genética (0.999923) y la distancia genética (0.000076) entre las especies no es concordante con la

divergencia morfológica, merística y cromosómica, ni con lo esperado para especies congénicas.

Las diferencias entre las especies estudiadas pueden ser consecuencia de sistemas coadaptados de genes, cuyos productos no son detectados por electroforesis, y que tienen gran impacto en la viabilidad. Es posible que una forma de proteger estos complejos sea el monomorfismo observado para el producto de los genes estructurales, mecanismo que se vería facilitado por la fijación en condición heterocigótica de reordenamientos cromosómicos (Althukov, 1982).

ABSTRACT

As a contribution to the systematic description and to the analysis of the geographic speciation model concerning the endemic species *Basilichthys microlepidotus* and *Basilichthys australis*, three major issues were analyzed:

1. To check the specific status of *B. microlepidotus* and *B. australis*.
2. To establish if there is correspondence between their species status and the decrease in values of Genetic identity (Nei, 1972), as expected for allopatric species.
3. To establish if morphologic differences between the two species bear any correspondence with expected genetic differences.

The condition of the species status for both *B. microlepidotus* and *B. australis*, in absence of the reproductive criteria, was mainly confirmed because:

- A. It was found that populations of both species can be differentiated by the character of the number of scales along the medial line of the body and by the diploid number of chromosomes.

B. Multivariate analysis allowed to separate the samples from different localities of both species in two clearly defined groups.

The analysis of the genetic differentiation was made by comparing diploid number of chromosomes and their morphology. In addition, the electrophoretic mobilities in the product of 32 structural loci were compared.

Morphological differentiation was studied by the use of univariate and multivariate analysis of traits. This last approach included discriminant, cluster and principal component analyses.

Analysis of variation for the number of scales confirmed its taxonomic value, since it could be observed that populations of both species are homogeneous enough as to be considered two independent groups and because they occur coincidentally with the geographic distribution of species.

Diploid number for *B. microlepidotus* is 46 while that for *B. australis* is 48. Although chromosome formulae differ in both cases, the set of chromosomes is mainly composed by subtelocentric elements and sexual chromosomes were not observed.

Diploid number for *B. australis* can be considered more primitive than that for *B. microlepidotus* which,

therefore, would have the condition of derivative. In this last species the occurrence of a larger submetacentric chromosome would suggest that in the reduction of diploid number a rearrangement through fusion of two shorter chromosomes could be involved.

Cluster analysis allowed to conclude that:

i) There is intraespecific variation concordant with geographic distribution of the localities sampled, since morphological differences increased to the limits of the range of distribution of two species.

ii) As expected, the hypothesis about the existence of two different species was confirmed by the data.

As a consequence of both discriminant analysis and principal component analysis, it can be established that differences between both species are consequence of size of the fish, insertion of first dorsal fin, head length and eye diameter.

Genetic identity (0.999923) and Genetic distance (0.000076) between species did not agree with morphological, meristic and chromosomic differences, nor with the expected values for congeneric species.

Differences between the two species studied species can be a consequence of co-adapted systems of genes, whose products are not detected by electrophoresis, and that have

strong impact in viability. It is possible therefore, that monomorphism in structural loci could be a mechanism to protect these complexes.

INTRODUCCION

1. ESPECIES Y ESPECIACION

Uno de los objetivos de la teoría evolutiva es comprender la naturaleza de las especies y los mecanismos involucrados en su formación. Para ello se requiere distinguirlas inequívocamente, de tal modo que, al aplicar el concepto de especie en la naturaleza, éste permita establecer una correlación estrecha entre el número de especies definidas y el número real de ellas. Reconocer una especie significa, entonces, aceptarla como una unidad discreta, de existencia real (Mayr, 1963; Hennig, 1966; Dobzhansky, 1970; Grant, 1971; White, 1978) y no como una imposición de la naturaleza (Darwin, 1859).

El concepto biológico de especie es el más aceptado en la actualidad y establece que los organismos de sexos separados y reproducción cruzada constituyen "grupos de poblaciones naturales intercruzables, aislados reproductivamente de otros grupos similares" (Mayr, 1963: 26).

En el proceso de especiación, dos poblaciones adquieren independencia genética como consecuencia de la multiplicación de una línea evolutiva ancestral (Cladogénesis). La observación de que la mayoría de los grupos, tanto vertebrados como invertebrados, son altamente diversificados (Para peces véase Nelson, 1976) pareciera justificar al proceso de cladogénesis, frente al modelo alternativo de anagénesis.

En la literatura actual, generalmente se describe una gran variedad de alternativas (véase Brncic, 1985) para explicar cómo subunidades poblacionales llegan a aislarse reproductivamente. Estas varían entre dos extremos: desde aquél en donde la independencia genética se logra mientras dos o más poblaciones están geográficamente separadas (modelo de especiación alopátrido) hasta aquél en donde la independencia se logra sin separación geográfica, por medio de separación ecológica o estacional (modelo de especiación simpátrido).

Los diferentes modelos de especiación formulados sólo describen las condiciones espaciales en las que tiene lugar el proceso de la formación de especies. Sin embargo, una explicación mecanística requiere centrar el interés en las distintas fuerzas y mecanismos genéticos que subyacen al surgimiento de las barreras reproductivas, mientras que los factores geográficos deben considerarse como factores

externos que determinan la mayor o menor probabilidad de que ocurra uno u otro mecanismo genético (Templeton, 1980; Carson y Templeton, 1984).

2. EL MODELO DE ESPECIACION GEOGRAFICA

El postulado básico del neo-darwinismo señala que si se apilan pequeñas diferencias genéticas eventualmente se puede obtener algo que es cuantitativamente diferente. De él se desprende que las especies se formarían como consecuencia de un proceso de adaptación continuo, impulsado por la sustitución de alelos en loci polimórficos. Este proceso conduciría a la divergencia gradual de las poblaciones separadas geográficamente (especiación geográfica), (Mayr, 1963).

En el modelo geográfico, la diferenciación genética debe entenderse entonces en términos de la cantidad de diferencias acumuladas. Más aún, siendo una de las premisas básicas del modelo que el acervo de genes es co-adaptado, se espera que gran parte de él esté comprometido en la formación de nuevas especies ("Revolución genética").

El aislamiento espacial es, de acuerdo al modelo geográfico, la única situación mediante la cual un acervo de genes puede reconstruirse genéticamente por completo (con referencia a una población parental), de manera que

todos sus elementos permanezcan co-adaptados.

3. DIVERGENCIA GENETICA EN EL PROCESO DE ESPECIACION

La aplicación de la técnica de electroforesis al análisis de la variabilidad en poblaciones naturales (Lewontin y Hubby, 1966; Harris, 1966; Allendorf y Utter, 1979), ha permitido demostrar que en las poblaciones naturales existen grandes reservorios de variabilidad genética (Powell, 1975; Ayala, 1976; Nevo, 1983), lo que en los peces significa que alrededor de un 7.8% de los loci analizados son polimórficos. La técnica ha permitido, además, someter a prueba una de las premisas centrales del modelo geográfico como es que el proceso de especiación ocurre con grandes cambios genómicos. Estos se manifiestan en una disminución importante de los valores de los estimadores de similaridad genética (Nei, 1972; Rogers, 1972) cuando se comparan dos buenas especies. Por ejemplo, para especies crípticas del género *Drosophila*, el valor de I es 0.563, mientras que para especies morfológicamente diferentes es de 0.532 (Ayala, 1975). En los peces de la familia *Centrarchidae*, las buenas especies exhiben una identidad de 0.54 (Avice y Smith, 1974).

Thorpe (1983) ha reunido una gran cantidad de información (Valores de I , Nei, 1972) con el propósito de examinar las

distribuciones empíricas de los valores de identidad en vertebrados, invertebrados y plantas. Sus datos incluyen 7000 estimaciones de poblaciones conespecíficas, 900 de especies congénicas y 160 para géneros intrafamiliares, y señalan que aproximadamente un 2% de las estimaciones de I para poblaciones conespecíficas están bajo valores de 0.90. La misma proporción de estimaciones sobrepasa valores de 0.85, en el caso de especies congénicas. Un 15% en el caso de las especies congénicas y casi un 80% de las estimaciones para géneros confamiliares se ubican bajo valores de 0.35.

Estos datos resumen gran parte de los resultados aparecidos en los últimos 20 años y parecen demostrar que: 1. La formación de especies ocurriría con una baja sustancial en los valores de identidad genética. 2. Bajo el nivel de especie, la diferenciación genética es significativamente menor. 3. La distancia genética es proporcional a la divergencia taxonómica. 4. Las diferencias genéticas observadas para los diferentes niveles taxonómicos son similares tanto para vertebrados, invertebrados como para plantas. De esta última observación se desprende la conclusión de que todas las especies tendrían un modelo de evolución semejante, de no ser por sus particulares estrategias reproductivas, historias de vida, estructura poblacional o de condiciones fisiológicas específicas

impuestas por el medio (Thorpe, 1983).

4. DIVERGENCIA CARIOTIPICA EN EL PROCESO DE ESPECIACION

Debido a que en los organismos eucarióticos virtualmente todo el material genético se encuentra en los cromosomas, no existen dudas de que éstos son importantes en el proceso de especiación (White, 1978; Mayr, 1982).

Las diferencias cromosómicas han sido interpretadas como el nexo funcional entre éstas y el desarrollo de mecanismos de aislamiento reproductivo (White, 1978; Kornfield, 1984). Esto se debe a la observación de que el proceso de especiación es a menudo acompañado por rearrreglos cromosómicos, en una o en ambas de las especies involucradas (White, 1968, 1978; Capanna, 1980) y a que la fijación de mutaciones cromosómicas (especialmente fusiones y fisiones, que determinan variación en el número diploide) representan un mecanismo rápido mediante el cual se puede lograr aislamiento reproductivo, como consecuencia de la inestabilidad de los estadios intermedios (Heterosis negativa).

En estos casos se observa que las especies involucradas se forman con mínimas diferencias electroforéticas, como demostraron Nevo y Cleve (1978) en el complejo *Spalax ehrenbergi*, un grupo de ratas fosoriales de activa

especiación en Israel. En un estudio de 17 loci de proteínas tisulares y de 8 loci de proteínas sanguíneas, se demostró que los cariotipos correspondientes a cada una de las especies estudiadas ($2n = 52, 54, 58, 60$) presentaban una identidad genética (Nei, 1972) muy alta (promedio 0.966, rango: 0.931 - 0.988).

Observaciones similares han sido descritas en las subespecies de murciélagos *Urodesma bilobatum convexum* ($2n = 38$) y *U.b.davisi* ($2n = 44$), las cuales presentan una zona de intergradación, con considerable flujo cromosómico entre ambos citotipos, que se extiende desde Guatemala hasta Nicaragua. El análisis de 22 loci indicó que el pasaje de alelos a ambos lados de la zona de contacto está restringido, lo que se deduce de la observación de valores de similaridad genética (Rogers, 1972) muy bajas y distancias genéticas (Nei y Chakraborty, 1973) correspondientemente altas (Greenbaum, 1981).

5. DIFERENCIACION ELECTROFORETICA VS DIFERENCIACION MORFOLOGICA.

¿Han evolucionado de manera concordante los caracteres morfológicos y los aloenzimáticos?

La evidencia empírica señala que existe una buena correlación entre la divergencia aloenzimática y la

divergencia taxonómica (Lewontin, 1974; Avise, 1974). Por ejemplo, Ferguson y col. (1981), en un estudio en las especies *Nocomis biguttatus* y *Nocomis micropogon*, encontraron que como consecuencia de un análisis morfológico era posible identificar correctamente ambas especies con una probabilidad de 0.8665, probabilidad que incrementaba a un 100% cuando se usaban alozimas para la distinción.

En otros casos los resultados han sido divergentes. Por una parte, especies morfológicamente similares aparecen con proteínas diferentes, como ocurre en las especies gemelas de *Drosophila*. Por otra parte, especies diferenciadas morfológicamente presentan muy poca diferenciación aloenzimática, siendo el caso más dramático la comparación entre el hombre y el Chimpancé (King y Wilson, 1975).

En Norteamérica, en un estudio de 5 especies relacionadas de peces Ciprínidos, las que diferían en morfología, conducta y ecología, Turner (1974) encontró que éstas eran genéticamente tan similares como poblaciones conespecíficas ($I=0.894$). Similares observaciones (Gould y col., 1974; Maxson y Wilson, 1974, 1975; Johnson, 1974, 1975; Kornfield y Koehn, 1975; Avise y col., 1975; Carson, 1976; Kornfield, 1978; Kirkpatrick y Selander, 1979; Turner y Grosse, 1980; Templeton, 1980; Phelps y Allendorf, 1983; Busack y col., 1985) parecerían demostrar que, aparentemente, la

congruencia sólo existe en el modelo de diferenciación y no en el grado de diferenciación y que, por lo tanto, a pesar de que la formación de especies puede ocurrir con grados variables de diferenciación morfológica, la diferenciación genética que acompaña el proceso— medida por electroforesis— puede ser mínima. Esto se observa especialmente en enjambres de especies, como por ejemplo, en las especies del género *Haplochromis* en el lago Victoria (Greenwood, 1974); en el grupo *Cichlasoma minckleyi* del sistema "cuatro ciénagas" en el norte de México (Sage y Selander, 1975); en el género *Coregonus* (Kirkpatrick y Selander, 1979); en el género *Ilyodon* de México Central (Turner y Grosse, 1980).

Estos datos sugieren que las diferencias genéticas entre dos especies podrían ser sólo una indicación gruesa del tiempo de divergencia entre ambas (Mayr, 1984), de manera que los taxa de reciente especiación compartirían mayores similitudes que aquellos más antiguos.

Parte de las razones que explican el aparente desacoplamiento entre la evolución a nivel morfológico y bioquímico se pueden resumir de acuerdo a Ferguson (1980) en: 1. La información disponible es insuficiente o ha sido incorrectamente utilizada. Aún existen relativamente pocos estudios que involucren comparaciones interespecíficas, cuantitativas y objetivas, entre diferencias morfológicas y

diferencias macromoleculares. Esto puede atribuirse parcialmente a problemas metodológicos en la cuantificación de las diferencias morfológicas (Mickevich y Johnson, 1976). 2. Existe evolución convergente que puede llevar a condiciones de similitud de caracteres particulares en taxa relacionados. 3. Los caracteres morfológicos y protéicos pueden evolucionar de manera independiente.

6. EL GENERO BASILICHTHYS

Los *Atherinidae* son un grupo representado desde el eoceno. Su diversificación es grande y se conocen alrededor de 46 géneros y 220 especies (Nelson, 1976), las que se distribuyen en los cinco continentes, tanto en aguas dulces, saladas, como en ambientes tropicales o templados (Lauser y Liem, 1983). La condición de grupo monofilético, sugerida por Rosen y Parenti (1981) está en discusión (White y col., 1983; Parenti, 1984).

La información disponible sobre Atherínidos en Sudamérica es abundante; sin embargo, su taxonomía es controvertida. Campos (1984) ha revisado los géneros de Atherínidos del Sur de Sudamérica encontrando que, a pesar de las similitudes en sistemática y distribución geográfica, no representarían un grupo monofilético. Campos propone la presencia de los siguientes géneros para ambientes

dulceacuícolas y marinos: *Basilichthys* (Chile, Perú);
Cauque (Chile); *Odontesthes* (Argentina, Uruguay);
Patagonina (Argentina); *Kronia* (Brasil, Uruguay);
Austromenidia (Chile, Argentina, Uruguay) y
Notocheirus (Chile, Argentina).

Los estudios del género *Basilichthys* se remontan a su creación por Girard (1854) con el propósito de ubicar en él a la especie *Atherina microlepidota* Jenyns (1842). Girard (1854) clasificó a los miembros de este grupo por su estructura bucal de tipo protractil. Sin embargo, este criterio fue mal interpretado, generándose una gran confusión la que sólo fue resuelta cuando Eigenmann (1927) dejó claramente establecido que la condición de protractibilidad es propia del género *Cauque* y no de *Basilichthys*.

Eigenmann (1927) describió a *B. australis*, una nueva especie, y la comparó con *B. microlepidotus*, estableciendo como carácter importante en el diagnóstico de ambas especies el número de escamas sobre la línea lateral. Fowler (1945) y Duarte y col., (1977) han reconocido a este carácter como importante para el diagnóstico de ambas especies.

B. microlepidotus y *B. australis* pertenecen a un conjunto de 4 especies diferenciadas desde Lima, Perú hasta Puerto Montt, Chile. Los datos de recolección de Eigenmann

(1927), revisados por Arratia (1981) señalan que estas especies endémicas se distribuyen de manera alopátrida. *B. microlepidotus* se restringe a la zona norte del país, desde La Serena (río Elqui) hasta el río Aconcagua. *B. australis* se extiende desde el río Aconcagua hasta Puerto Montt.

El río Aconcagua representaría la zona en donde probablemente ambas especies sobreponen su área de distribución y en donde serían alotópicas (Arratia, com. pers.).

7. OBJETIVOS DEL PRESENTE TRABAJO.

Sin duda el modo de especiación prevalente, al menos en los animales, es el alopátrido. De acuerdo a éste, la formación de dos especies ocurre con un compromiso genómico importante (Revolución genética de Mayr, 1963 y Dobzhansky, 1970).

Las técnicas de análisis molecular, especialmente las de electroforesis, han permitido cuantificar la cantidad de diferenciación genética requerida en el proceso de especiación, demostrando que éste se manifiesta en una disminución significativa de la identidad genética (véase Thorpe, 1983). Sin embargo, un número cada vez creciente de trabajos sugiere que las diferencias entre especies podrían

no depender de las diferencias a nivel de genes estructurales, que son los principalmente revelados por la técnica. Incluso se ha llegado a señalar que son marcadores insensibles al proceso de especiación (Templeton, 1980)

Lejos está aún la posibilidad de establecer un modelo armónico para explicar el fenómeno de especiación. Esto puede deberse a dos razones interrelacionadas. La primera es que los resultados obtenidos a nivel morfológico, cromosómico, genético y otros, en muchos casos, no han sido evaluados en conjunto. La segunda razón es que el estudio de la especiación ha sido enfrentado con el criterio taxonómico clásico de establecer que las diferencias genómicas se logran exclusivamente como consecuencia de la situación geográfica de las especies y no como producto de los cambios genéticos y otros que puedan determinar cambio en la situación geográfica y en el estatus reproductivo de los organismos interactuantes (Templeton, 1980).

El hecho de que un gran número de especies gemelas de peces, de distribución simpátrica, sólo muestren pequeñas diferencias aloenzimáticas, demuestra, como recientemente ha sugerido Mayr (1984) que "se requieren cuidadosas comparaciones de especies, estrechamente relacionadas, tanto alopátricas como simpátricas, para determinar la cantidad de diferencias alozímicas promedio entre estos dos grupos de especies".



El propósito de esta Tesis es contribuir al problema con el análisis de dos especies de peces del género *Basilichthys*, estrechamente emparentadas y de distribución alopátrica. El primer objetivo es establecer los elementos que permitan distinguir a las especies endémicas *Basilichthys microlepidotus* y *Basilichthys australis* y responder entonces la pregunta de si son éstas buenas especies, considerando antecedentes de distribución geográfica, de análisis morfológico, cromosómico y electroforético.

El segundo objetivo es medir el grado de divergencia en genes estructurales y verificar si la formación de ambas especies ha ocurrido con una disminución sustancial en los valores de identidad genética (Nei, 1972), de acuerdo a lo que se espera para especies alopátricas. Es decir, se espera comprobar si existe concordancia con la evidencia empírica (Las grandes revoluciones genómicas postuladas por Mayr, 1963 y Dobzhansky, 1970) al realizar un muestreo aleatorio de un número importante de loci estructurales.

Por último, interesa establecer si existe concordancia entre las diferencias genéticas y las morfológicas.

Las comparaciones anatómicas de tipo cuantitativo han tenido un rol importante en la biología sistemática. Sin embargo, el problema de establecer cuánta divergencia anatómica ha ocurrido entre las especies no ha sido

activamente investigado, probablemente por problemas metodológicos (Mickeych y Johnson, 1976). Además, el proceso de especiación es esencialmente genético y para muchas características morfológicas aún no es claro el modo de herencia.

Si los genes estructurales analizados son insensibles al proceso, ¿cuál es la hipótesis alternativa que mejor explica los resultados? Es probable que las diferencias entre las especies estudiadas sean consecuencia de la acción de unos pocos genes fuertemente regulados (o co-adaptados), con efectos pleiotrópicos de fuerte impacto en la viabilidad.

MATERIAL Y METODOS

1. COMPARACION MORFOLOGICA.

Un total de 456 individuos (Tabla 1) de las especies *B. microlepidotus* y *B. australis* fueron utilizados para el análisis morfométrico. En la muestra se incluyen especímenes de boca protractil (*Cauque sauleanu*), colectados en la localidad de Nehuentúe (IX Región), los cuales fueron utilizados con fines comparativos, como referencia de una especie no congénérica.

Los especímenes fueron colectados por el autor del presente trabajo y colaboradores, en las siguientes localidades: río Elqui, camino a Montepatria (Lat. $30^{\circ} 06' S$; Long. $70^{\circ} 05'$); río Limarí, en Ovalle (Lat. $30^{\circ} 38'$; $71^{\circ} 31'$); río Choapa, en Illapel ($31^{\circ} 31'$; $70^{\circ} 13'$); río Petorca, en Petorca ($32^{\circ} 07'$; $70^{\circ} 48'$); río Aconcagua en Llay Llay ($32^{\circ} 57'$; $71^{\circ} 07'$); río Angostura, en Angostura ($32^{\circ} 59'$; $70^{\circ} 44'$); río Copequén, en Copequén ($34^{\circ} 15'$; $70^{\circ} 56'$); río Cautín, en Lautaro y Temuco ($38^{\circ} 42'$; $72^{\circ} 31'$); río Imperial, en Nehuentúe y Pto.

Saavedra (38° 09'; 73° 05').

Para la colecta se emplearon 2 redes de forma cónica (80 cm de diámetro), confeccionadas con un nylon fino, y ocasionalmente se utilizó un equipo de pesca eléctrica. Ambos sistemas permiten disponer de una muestra aleatoria, con la limitación de que con la red el rendimiento en la captura (expresado en número de especímenes/tiempo) es menor.

Además de la categoría de Hembras y de Machos, se consideró la de sexo indeterminado, a la cual se asignaron aquellos individuos en los cuales no se pudo establecer el sexo con certeza. Los intervalos de tamaño de los especímenes utilizados en cada una de estas categorías están señalados en la Tabla 1.

El análisis se realizó en base de 18 mediciones corporales (Tabla 5) y en base a los caracteres merísticos, número de escamas sobre la línea media del cuerpo, número de rayos en las aletas y número de vertebras.

Las mediciones se realizaron con un pie de metro de precisión 0.1 mm, de acuerdo al procedimiento general descrito para peces por Hubbs y Lagler (1947: 13-15, figs. 3-5), excepto para el largo de la cabeza y el número de escamas. En el primer caso no se incluye la membrana opercular, y para el conteo de escamas se siguió la primera corrida en el extremo superior de la línea media del

cuerpo. No se utilizó el procedimiento habitual, sobre la línea lateral, dado a que en las especies consideradas, ésta no sigue una línea recta, sino que lo hace a través de caminos alternativos, como se señala en la Figura 1.

Las medidas que fueron tomadas son las siguientes: Longitud standard (LS); longitud predorsal 1 (LPD1); longitud predorsal 2 (LPD2); longitud prepélvica (LPP); longitud preanal (LPA); longitud de la cabeza (LC); longitud de la aleta dorsal 1 (LAD1); longitud de la aleta dorsal 2 (LAD2); longitud de la aleta pectoral (LAP); longitud preorbital (LPO); ancho de la cabeza (AC); ancho del hocico (AH); ancho interorbital (AIO); ancho máximo del cuerpo (AM); diámetro horizontal del ojo (DO); altura máxima del cuerpo (HM); altura de la cabeza (HC); altura del pedúnculo caudal (HP).

El análisis estadístico de los datos se realizó con las variables transformadas logarítmicamente, para reducir la heterogeneidad de la varianza debido a la variación en tamaño y la información fue arreglada en una matriz de correlación para cada sexo y localidad.

Del mismo modo, con el propósito de eliminar el problema del tamaño y con fines comparativos, ya que este procedimiento se utiliza usualmente para el análisis morfológico (Humphries y col., 1981), las variables fueron transformadas en relaciones corporales.

Se utilizaron tres tipos de análisis multivariados con el propósito de describir y cuantificar la magnitud de la diferenciación morfológica entre ambas especies y establecer el sentido que ésta tiene. 1. *Análisis discriminante*. 2. *Análisis de conglomerados*. 3. *Análisis de componentes principales*.

1.1. ANALISIS DISCRIMINANTE.

Se realizó un análisis discriminante, en una muestra de 205 individuos provenientes de las localidades de Elqui, Limarí, Choapa, Petorca (*B. microlepidotus*) y de Angostura y Copequén (*B. australis*), con el propósito de probar si es correcta la asignación "a priori" de poblaciones a ambas especies, de acuerdo a la información taxonómica disponible.

La técnica permite separar las poblaciones designadas "a priori", produciendo nuevos ejes de datos que minimizan la variación dentro de los grupos designados y maximizan la variación entre éstos. La hipótesis nula para el análisis es que no existen diferencias significativas entre los centroides de las poblaciones locales (Wiley, 1981). Si dos especies están presentes en el conjunto de localidades, se espera que del análisis emerjan dos grupos de poblaciones con poca o ninguna sobreposición entre estos dos grandes

grupos, pero sí con gran sobreposición entre las poblaciones dentro de cada grupo.

Para los cálculos se utilizó el programa para análisis discriminante SPSS-10/KI de la Universidad de Pittsburg, disponible en la Universidad Austral de Chile. El programa estandariza las variables y calcula la distancia generalizada de Mahalanobis (D^2) entre los centroides de los grupos.

1.2. ANALISIS DE CONGLOMERADOS.

El análisis se realizó con una muestra incrementada, la que incluye las localidades de Aconcagua (*B. microlepidotus*), Cautín, Lautaro e Imperial (*B. australis*) y Nehuentúe (Cauque), además de las consideradas en el análisis discriminante.

El análisis está basado también en la distancia de Mahalanobis (D^2) y tiene por finalidad encontrar las agrupaciones y conglomerados posibles en un conjunto de individuos caracterizados por n variables. Para el análisis no se prefijó el número de conglomerados y se utilizó como criterio de asociación el del vecino más cercano (distancia mínima, D.M.). El procedimiento de asociación es de tipo jerárquico (se asume una configuración tipo "árbol") y para el análisis se consideró la disimilitud en D^2 . Trabajar con

la matriz de disimilitud es un procedimiento recomendado, puesto que de esta forma los datos pueden tomar cualquier valor positivo, mientras que las medidas de similitud sólo varían entre 0 y 1.

La significación estadística de las distancias se obtuvo según la fórmula:

$$\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - p - 1) D^2}{n_1 + n_2 (n_1 + n_2 - 2) p}$$

donde:

n_1 = número de individuos en la población 1

n_2 = número de individuos en la población 2

p = número de variables.

Los valores obtenidos se distribuyen según:

$F (P, n_1 + n_2 - p - 1)$ con $(n_1 + n_2 - p - 1)$ grados de libertad.

Para analizar si existe correlación entre D^2 y la distancia geográfica, se utilizó el cálculo no paramétrico de comparación de rangos de Spearman, descrito por Lehman (1975).

1.3. ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA).

Para este análisis se consideraron las 11 localidades empleadas en el análisis de conglomerados y la hipótesis nula sometida a prueba fue la de que no existen diferencias

entre los individuos considerados. Es decir, en este caso, a diferencia del análisis discriminante, no se consideraron grupos "a priori".

El análisis permite clarificar la relación entre dos o más caracteres, puesto que divide la varianza total de los caracteres en un número equivalente de nuevas variables (componentes), las cuales no están correlacionadas. Este hecho permite que éstas se puedan interpretar independientemente. De esta forma, la variación total de una población puede ser fragmentada en unos pocos componentes, cada uno de los cuales proporciona información sobre el tamaño, la forma y otros aspectos de la morfología.

Las variables morfométricas, transformadas logarítmicamente (\log_{10}), fueron consideradas en una matriz de correlación para el análisis.

2. ANALISIS OSTEOLOGICO Y DE CARACTERES MERISTICOS.

La descripción osteológica y el conteo de caracteres merísticos, así como el número de vértebras y número de rayos en las aletas, se hizo en especímenes transparentados y teñidos, preparados de acuerdo a la técnica descrita por Hollister (1934). De acuerdo a esta técnica, los especímenes se decoloran en agua oxigenada (48 horas),

luego son puestos en glicerina y posteriormente teñidos con Alizarina.

3. ANALISIS CROMOSOMICO

Para el análisis se consideraron 10 especímenes (5 machos y 5 hembras) de la especie *B. microlepidotus*, colectados en las localidades de Elqui, Limarí y Petorca y un número similar de especímenes de la especie *B. australis* colectados en las localidades de Angostura, Copequén y Cautín.

Se obtuvieron placas metafásicas del epitelio branquial de acuerdo a la técnica de aplastado descrita por MacPhail y Jones (1966), la cual consiste en lo siguiente:

3.1. Se inyecta intraperitonealmente una solución acuosa de colchicina (0.1- 0.2%) en la proporción de 1ml./100 grs. de peso del animal.

3.2. Se deja el pez en un acuario bien oxigenado por un período que fluctúa entre 1.5 a 3 horas. Después de este tiempo, el animal es sacrificado y se le retiran las branquias.

3.3. Las branquias se lavan en agua bidestilada y se mantienen en hipotonía por 20 minutos.

3.4. El material se transfiere a cubetas con ácido acético 75%.

3.5. Sobre el portaobjeto, al cual se le ha agregado una gota de ácido acético (75%) se separan las células del epitelio branquial.

3.6. Las células se aplastan con un cubreobjetos.

3.7. Los cubreobjetos sobre las células aplastadas se remueven sumergiendo el vidrio en hielo seco con alcohol absoluto. Luego se retira el cubreobjetos con una hoja de afeitar.

3.8. Las preparaciones se secan al aire y luego se deshidratan por 10 minutos en metanol - acético 3:1 y se dejan secar a temperatura ambiente.

3.9. Las preparaciones se tiñen en una batería que incluye: Giemsa 4%, preparado en buffer Sörensen pH 7.2 (10'); Acetona (1'); Acetona - xilol, 1:1 (5'); Xilol (5').

Los cromosomas se clasificaron de acuerdo a la posición del centrómero, la que se determinó, estableciendo la relación entre la longitud del brazo largo y la del brazo corto, siguiendo la proposición de Levan y col., (1964). El número diploide se determinó modalmente y no se intentó aparear los cromosomas homólogos, ya que en este tipo de cromosomas ésto puede resultar una práctica subjetiva.

4. ANALISIS ELECTROFORETICO

Los animales fueron colectados en 10 localidades a lo largo

del rango de distribución de ambas especies utilizadas. Estas son: 1. Elqui (N=20). 2. Limarí (20). 3. Huentelauquén (20). 4. Recoleta (20). 5. Illapel (20). 6. Salamanca (40). 7. La Ligua (36). 8. Aconcagua (40). 9. Angostura (40). 10. Rapel (20). 11. Copequén (20). 12. Cautín (20). 13. Riñihue (20).

La comparación interespecífica se hizo entre las localidades de Choapa y de Angostura. Esto es válido, pues al interior de una especie la mayoría de los individuos posee el acervo de genes de ésta, como lo demuestran los valores de Identidad genética al comparar poblaciones de una misma especie. Sin embargo, la distribución bimodal observada para la similaridad genética hace más necesario utilizar un gran número de loci que un gran número de individuos (Ferguson, 1980).

En el momento de la colecta los animales fueron puestos en hielo seco y, posteriormente, mantenidos en el laboratorio a -30°C por un tiempo no superior a los 60 días.

Se extrajeron las proteínas solubles de músculo esquelético, corazón e hígado, homogeneizando cada órgano en agua destilada. También se utilizó fluido de ojo sin diluir. Los mejores resultados se obtuvieron en músculo, y es por ello que la mayoría de las proteínas analizadas son de este tejido, a no ser que se especifique lo contrario.

Se utilizó el método horizontal de migración en geles de

almidón (Sigma Chemical Co.) en una concentración de 12.5%. Los buffers utilizados fueron los siguientes: I. Tris cítrico, pH 8.0; ii. Poulik, pH 8.0; iii. Tris Versene Borate, pH 8.0; Tris maleic EDTA, pH 7.4. Estos permitieron una buena resolución para 38 loci (Tabla 2), siguiendo los protocolos de tinción descritos por Shaw y Prasad (1970) y Harris y col. (1976), con algunas modificaciones (Ward y Beardmore, 1977). Sin embargo, por razones de precisión, sólo se consideran 33 loci.

Para los loci y los alelos se sigue la nomenclatura de Allendorf y Utter (1976). De acuerdo a estos autores, los loci que codifican proteínas de funcionalidad similar se designan numéricamente, empezando por el extremo catódico del gel. Los alelos en cada locus se designan por sus movilidades electroforéticas relativas a la movilidad del alelo más común, el cual se designa por 100.

Las bases genéticas de las variantes electroforéticas observadas en el presente trabajo no fueron establecidas. Se consideró como criterio suficiente: 1. Si los datos eran concordantes con modelos de herencia mendeliana simple. 2. Si las variantes observadas eran equivalentes (u homólogas) a variantes observadas en especies relacionadas para las cuales existen datos de cruzamientos. 3. Si los heterocigotos mostraban un modelo de bandeo consistente, en la misma proteína, con aquél observado en otras especies.

4. Si el modelo de bandeo coincidía con lo observado en otro órgano en el mismo animal o si concordaba con lo esperado de acuerdo a la estructura cuaternaria de la proteína (dimérica, etc.).

Distancia genética. Para estudiar la similaridad o la divergencia genética, los estadísticos utilizados fueron (Nei, 1972): **Identidad genética (I)**, la cual estima la proporción de genes que han permanecido idénticos en dos poblaciones o dos especies. La identidad genética se calcula de acuerdo a la fórmula (Ferguson, 1980: 165):

$$I = \frac{\sum (x_i y_i)}{\sqrt{\sum x_i^2 \sum y_i^2}}$$

en donde x_i y y_i representan la frecuencia del alelo i ésimo, en la población x e y , respectivamente.

La **distancia genética (D)**, la cual estima la proporción de sustituciones génicas que han tenido lugar en la evolución de dos poblaciones o especies, se obtiene de acuerdo a $D = -\ln I$.

El análisis fue posible gracias al programa *Distancia genética*, creado por Ricardo Guíñez, disponible en el laboratorio de genética de organismos marinos, Universidad Católica, Sede Regional Talcahuano.

La heterocigosidad calculada por locus (H_1) se obtuvo de acuerdo a Ferguson (1980) de la siguiente forma:

$$H_1 = 1 - \sum x_i^2, \text{ siendo } x_i \text{ la frecuencia del}$$

alelo i ésimo en un locus determinado.

La heterocigosidad promedio por locus (\bar{H}_l) es la suma de H_l sobre todos los loci (incluyendo a aquellos monomórficos en donde $H_l = 0$), dividida por el número total de loci examinados.

No se calculó la heterogeneidad interpoblacional para las frecuencias genotípicas, puesto que es innecesario para comparaciones interespecíficas (Ferguson, 1980: 100).

RESULTADOS

1. ANALISIS DE LA CONDICION DE ESPECIE DE *Basilichthys microlepidotus* y *Basilichthys australis*.

CONSIDERACIONES MORFOLOGICAS.

Debido a que muchas especies emparentadas son frecuentemente alopátridas (Humphries, 1984: 129) el análisis crítico del status específico se debe realizar, en muchas ocasiones, sin la ayuda del criterio de aislamiento reproductivo. Teniendo en consideración que *B. microlepidotus* y *B. australis* son especies estrechamente emparentadas y de distribución alopátrica (Fig. 2) y en ausencia del criterio reproductivo, se ha seguido el criterio de Wiley (1981: 65-67) para confirmar su calidad de especies: 1. Poblaciones de ambas especies pueden ser claramente diferenciables por un carácter o combinación de caracteres (escamas, número diploide de

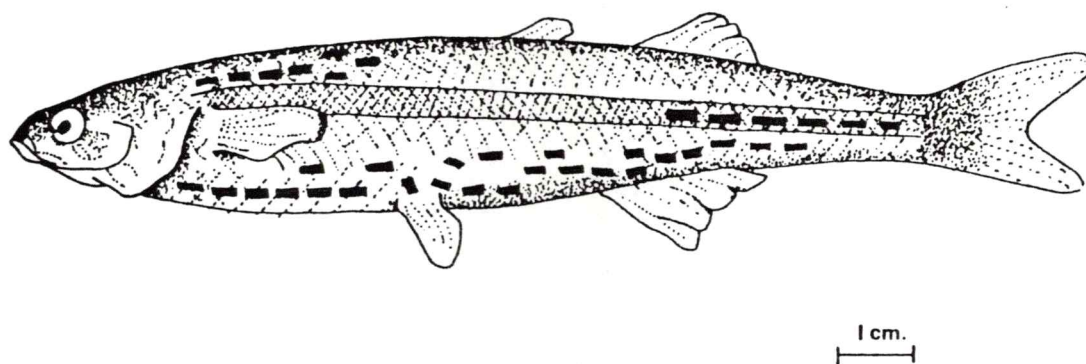
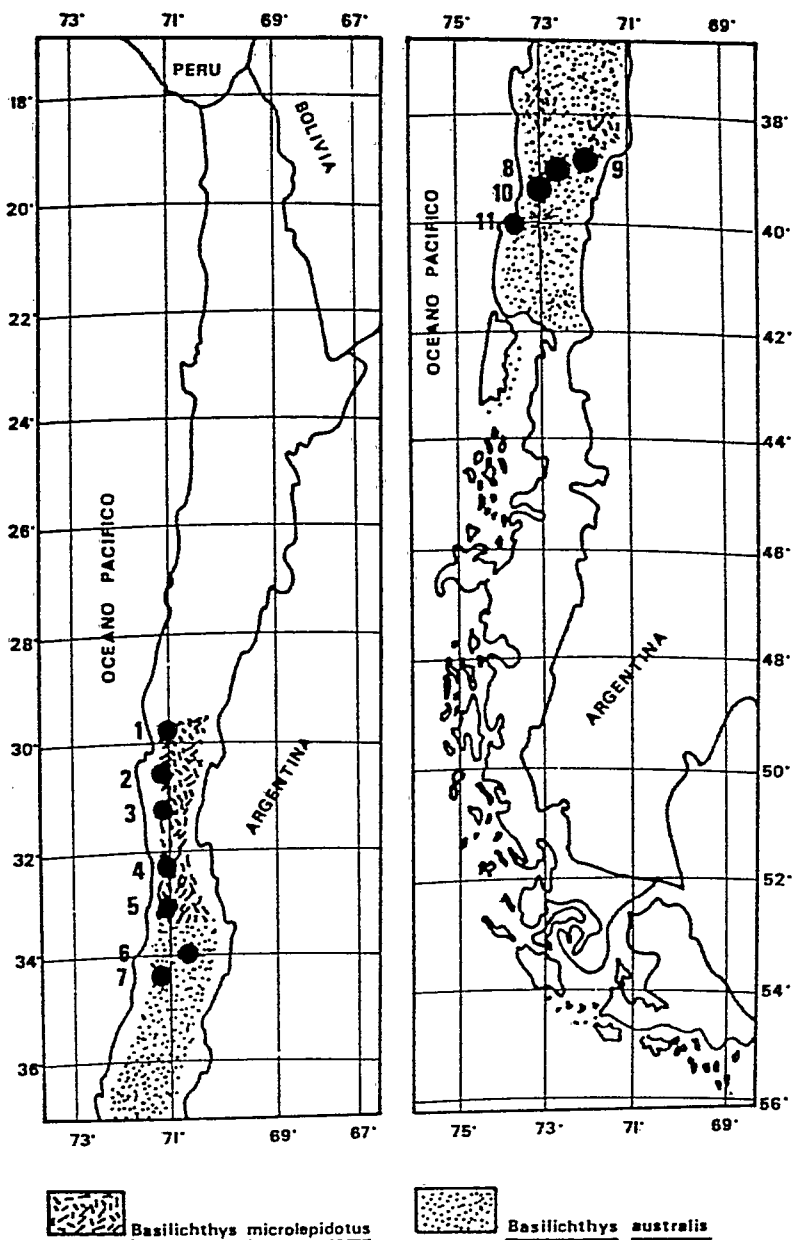


Figura 1. Esquema que señala la distribución observada para la línea lateral (sensorial) en *Basilichthys*.

TABLA 1
 TAMAÑO DE LA MUESTRA Y LOCALIDADES EMPLEADAS PARA EL ANÁLISIS MORFOLOGICO
 EN *BASILICHHTYS*.*

LOCALIDAD	HEMBRAS	MACHOS	INDETERMINADO	TOTAL
1. ELQUI	4 (47.9- 55.7)	19 (44.4- 74.4)	12 (46.1- 62.7)	35
2. LIMARI	5 (59.2-101.2)	8 (51.9- 84.9)	18 (52.1-105.8)	31
3. CHOAPA	21 (67.7-122.2)	6 (76.9-127.6)	9 (64.1- 85.8)	36
4. PETORCA	13 (61.2- 98.0)	12 (42.1- 87.9)	25 (44.3- 99.9)	50
5. ACONCAGUA	20 (58.1- 94.4)	14 (62.2-117.4)	7 (38.3- 90.4)	41
6. ANGOSTURA	10 (69.4-176.0)	35 (55.7-128.5)	5 (67.9-129.2)	50
7. COPEQUEN	13 (85.7-142.7)	8 (77.7-137.7)	0	21
8. CAUTIN	9 (70.0-113.4)	17 (68.0-124.3)	11 (58.8-109.0)	37
9. LAUTARO	5 (62.4- 98.8)	1 (67.9-----)	42 (72.3-227.0)	48
10. IMPERIAL	12 (209.0-279.0)	15 (197.0-248.0)	43 (165.0-219.0)	70
11. NEHUENTUE	27 (156.0-232.0)	10 (166.5-225.0)	--	37
TOTAL	139	145	172	456

* En paréntesis los intervalos de tamaño.



ESC: 1:45.000000

Figura 2. Distribución geográfica de *Basilichthys microlepidotus* y de *Basilichthys australis*. Los círculos numerados señalan los lugares de colecta de los especímenes utilizados en el análisis morfológico.

TABLA 2

SISTEMAS ENZIMATICOS ENSAYADOS Y NUMERO DE LOCI RESUELTOS EN *B. microlepidotas* Y *B. australis*.

PROTEINA (NUMERO E.C.)	ABREVIACION	N DE LOCI	BUFFER *
ALCOHOL DESHIDROGENASA (1.1.1.1)	ADH	3	I
L-GLICEROFOSFATO DESHIDROGENASA (1.1.1.8)	L-GPDH	1	IV
LACTATO DESHIDROGENASA (1.1.1.27)	LDH	2	I
MALATO DESHIDROGENASA (1.1.1.37)	MDH	2	I
ENZIMA MALICA (1.1.1.40)	ME	3	I
ISOCITRATO DESHIDROGENASA (1.1.1.42)	IDH	2	I
6-FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA (1.1.1.43)	6-PGDH	1	I
XANTINA DESHIDROGENASA (1.2.3.2)	XDH	3	III
TETRAZOLIUM OXIDASA (1.15.1.1)	TO	2	II
GLUTAMATO-OXALOACETATO AMINO TRANSFERASA (2.6.1.1)	GOT	2	IV
CREATINA KINASA (2.7.3.2)	CK	2	II
FOSFOGLUCOMUTASA (2.7.5.1)	PGM	2	I
ESTERASA (3.1.1.2)	EST	4	IV
AMINOPEPTIDASA (3.4.11)	AP	3	IV
FUMARASA (4.2.1.2)	FUM	2	IV
GLIOXALASA (4.4.1.5)	GLY	1	II
FOSFOGLUCOISOMERASA (5.3.1.9)	PFI	3	I

* VEASE MATERIAL Y METODOS.

cromosomas y otros). 2. En un análisis de discriminación múltiple, poblaciones de ambas especies pueden ser segregadas como entidades independientes.

2. ANALISIS MORFOLOGICO UNIVARIADO. ESCAMAS SOBRE LA LINEA MEDIA DEL CUERPO.

El reconocimiento de dos fenotipos diferentes respecto de un carácter determinado en dos poblaciones disjuntas, es evidencia no concluyente de que existen dos especies. La variación observada para el carácter dentro de cada localidad debe ser menor que la variación observada entre las localidades.

La tabla 3 y la Figura 3 señalan el rango de variación y los valores promedio para el número de escamas sobre la línea media del cuerpo. A pesar de la gran variación intrapoblacional observada, el carácter muestra un desplazamiento geográfico coincidente con el rango de la especie. *B. microlepidotus* exhibe un número menor de escamas (rango, 74 - 96; $\bar{X}=85.70$) que *B. australis* (rango, 86-115; $\bar{X}=99.46$).

La mayor variación que se observa en el intervalo de variación para Petorca se debe a dos (4%) especímenes que presentan los números extremos de 74 y 98 escamas.

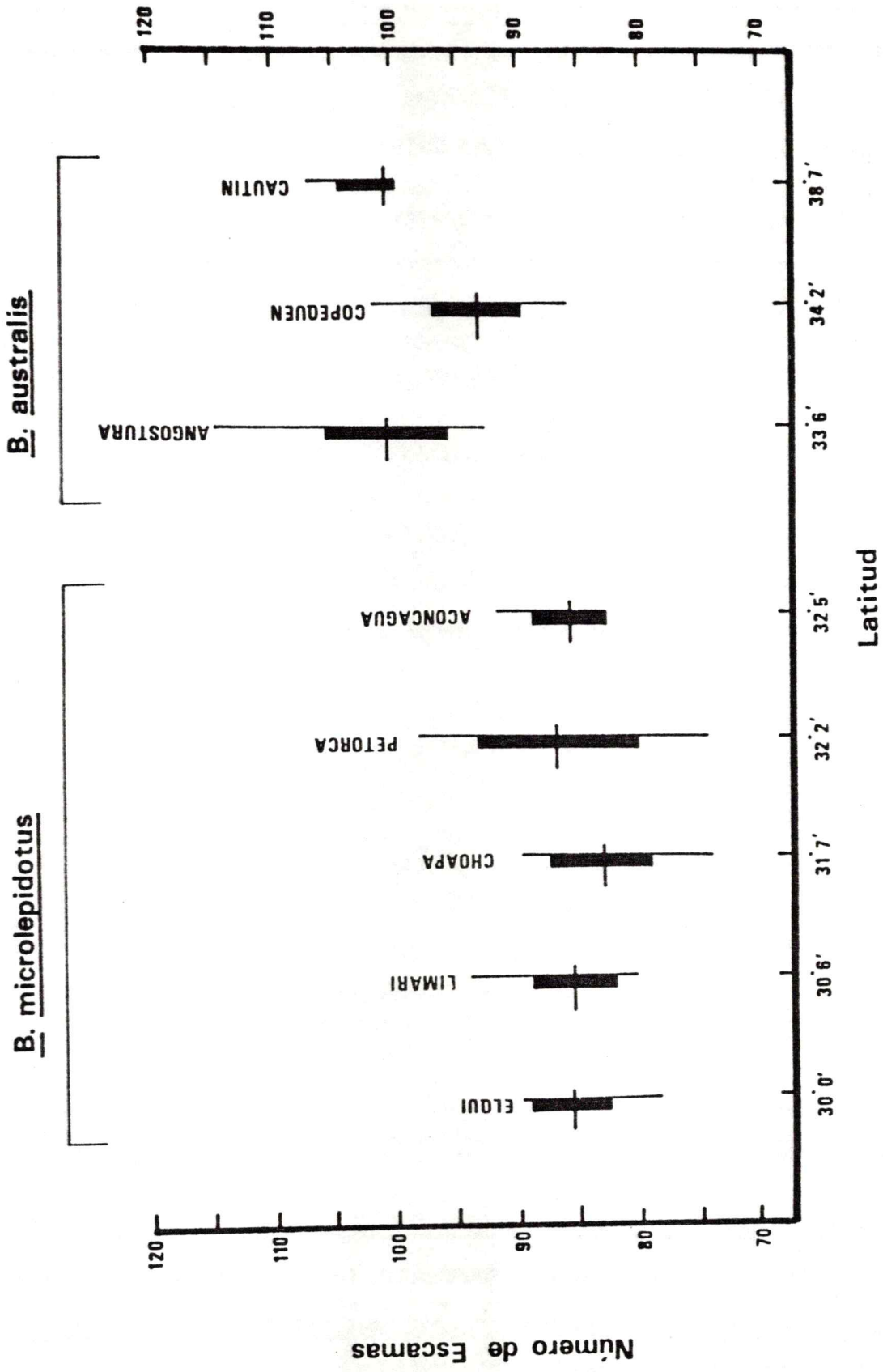
El análisis de varianza (Sokal y Rohlf, 1981) demuestra que las poblaciones de ambas especies son lo suficientemente

TABLA 3
 NUMERO DE ESCAMAS SOBRE LA LINEA MEDIA DEL CUERPO EN POBLACIONES DE
B. microlepidotus Y *B. australis*. *

Localidad	min	x + e.s.	max	N
Elqui	78	85.59 + 0.569	90	34
Limarí	80	85.52 + 0.637	94	31
Choapa	74	86.42 + 0.739	90	30
Petorca	74	87.06 + 0.892	96	50
Aconcagua	83	85.87 + 0.478	92	39
Total	74	85.70 + 0.404	96	154
Angostura	93	100.92 + 0.697	115	50
Copequen	86	93.39 + 0.613	102	33
Cautín	99	100.42 + 0.343	107	43
Total #	93	101.59 + 0.416	115	93

* (min: mínimo; \bar{x} : media; e.s.: error estándar; max: máximo).
 # No incluye Copequén. para explicación véase el texto.

Figura 3. Variación en el número de escamas sobre la línea media del cuerpo en *B. microlepidotus* y *B. australis*. Las localidades aparecen de acuerdo a su latitud. El rango de variación es indicado por una línea vertical; la media por una línea horizontal; la zona ennegrecida indica una desviación estándar a cada lado del promedio.

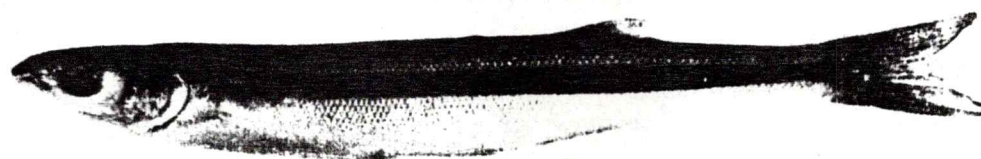


homogéneas como para ser consideradas como entidades independientes. Por tal motivo, en la Tabla 3, las poblaciones de *B. microlepidotus* aparecen agrupadas (F: 3.19; $0.05 < P < 0.01$, 94.1% de la varianza debida a diferencias intragrupos).

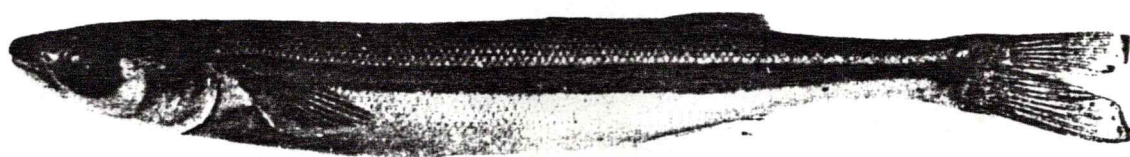
En el análisis de las localidades pertenecientes a *B. australis*, Copequén muestra una varianza entre grupos mayor al ser comparada con Angostura (F: 57.5; 60% de la varianza entre grupos) y con Cautín (F: 185; 83.1% de la varianza entre grupos). Sin embargo, cuando se comparan los datos de *B. microlepidotus* agrupados, con los de *B. australis* agrupados (sin considerar Copequén), se observa que el 83.1% de las diferencias observadas se deben a variación entre los grupos.

3. ANALISIS MORFOMETRICO UNIVARIADO

Aunque *B. microlepidotus* y *B. australis* comparten un patrón morfológico muy similar (Figura 4), ambas especies pueden ser reconocidas por un experto. La impresión cualitativa de similitud es más evidente al observar la Tabla 4, que muestra los valores promedios, el error estándar y el intervalo de variación para las variables consideradas en el análisis morfométrico de ambas especies. De ella puede concluirse que, a pesar de que las



A



B

Figura 4. A. *Basilichthys microlepidotus* (110 mm., LT) del río Choapa. B. *B. australis* (140 mm.) del río Cautín.

TABLA 4

DATOS MORFOMETRICOS PARA *B. microlepidotus* Y *B. australis*.*

VARIABLE	<i>microlepidotus</i> N = 193	<i>australis</i> N = 156
LS	2.83 + 0.007 (2.58 - 3.11)	3.03 + 0.005 (3.19 - 3.44)
LPD1	2.59 + 0.007 (2.35 - 2.86)	2.77 + 0.012 (2.47 - 3.10)
LPD2	2.66 + 0.007 (2.42 - 2.94)	2.86 + 0.013 (2.55 - 3.19)
LPP	2.52 + 0.006 (2.29 - 2.78)	2.70 + 0.012 (2.40 - 3.01)
LPA	2.66 + 0.007 (2.41 - 2.91)	2.80 + 0.013 (2.53 - 3.15)
LC	2.19 + 0.007 (1.96 - 2.46)	2.38 + 0.013 (2.08 - 2.70)
LAD1	1.50 + 0.011 (1.11 - 1.83)	1.77 + 0.018 (1.32 - 2.28)
LAD2	1.98 + 0.008 (1.71 - 2.28)	2.17 + 0.013 (1.82 - 2.55)
LAP	2.00 + 0.008 (1.76 - 2.26)	2.18 + 0.014 (1.86 - 2.57)
LPO	1.70 + 0.007 (1.49 - 1.94)	1.89 + 0.013 (1.39 - 2.22)
AC	1.96 + 0.007 (1.64 - 2.20)	2.11 + 0.013 (1.85 - 2.43)
AB	1.67 + 0.007 (1.34 - 1.92)	1.82 + 0.012 (1.51 - 2.14)
AID	1.73 + 0.007 (1.44 - 1.99)	1.91 + 0.011 (1.64 - 2.06)
AM	1.93 + 0.009 (1.65 - 2.22)	2.10 + 0.015 (1.77 - 2.46)
DO	1.62 + 0.006 (1.34 - 1.81)	1.77 + 0.010 (1.53 - 2.17)
HM	2.07 + 0.009 (1.81 - 2.41)	2.25 + 0.018 (1.89 - 2.69)
HC	1.98 + 0.007 (1.61 - 2.21)	2.14 + 0.014 (1.85 - 2.56)
HP	1.69 + 0.009	1.87 + 0.000

* Los datos incluyen promedio + desviación estándar (rango).

diferencias en tamaño son importantes, la variación intraespecífica es grande para la mayoría de las mediciones y los intervalos de variación están también ampliamente sobrepuestos. Por tal motivo, es difícil desprender comentarios concluyentes respecto de las diferencias interespecíficas.

En ambas especies no se aprecian diferencias importantes como consecuencia del sexo de los animales. Como se señala en la Tabla 5, que muestra los valores promedio, la desviación estándar y el intervalo de variación para las variables consideradas separadas por sexo, los intervalos de variación se sobreponen ampliamente.

El comportamiento isométrico de las variables es evidente al observar la matriz de correlación (Tabla 6, Apéndice 1), considerando el conjunto de las localidades sin distinción de sexo. Todas las variables muestran una alta correlación (rango, r : 0.99-0.88) con la longitud estándar. Lo mismo ocurre al comparar las correlaciones para los individuos separados por sexo. En la Tabla 7 (Apéndice 2) se señalan los coeficientes de correlación para las hembras, mientras que en las Tablas 8 (Apéndice 3) y 9 (Apéndice 4) se señalan aquellos para los machos y los individuos de sexo indeterminado, respectivamente.

El comportamiento alométrico se hizo evidente al comparar las correlaciones observadas para las variables en los

TABLA 5
ANÁLISIS MORFOMÉTRICO EN MACHOS Y HEMBRAS DE *B. microlepidotus* y *B. australis*.

VARIABLE	HEMBRAS		MACHOS	
	1 N = 63	2 N = 49	1 N = 59	2 N = 76
LS	2.88 ± 0.09 (2.66-3.08)	3.07 ± 0.19 (2.79-3.44)	2.81 ± 0.09 (2.62-3.10)	3.03 ± 0.18 (2.71-3.39)
LPD1	2.65 ± 0.09 (2.43-2.85)	2.82 ± 0.19 (2.52-3.22)	2.58 ± 0.09 (2.40-2.86)	2.78 ± 0.18 (2.47-3.28)
LPD2	2.72 ± 0.10 (2.50-2.93)	2.91 ± 0.20 (2.62-3.32)	2.65 ± 0.09 (2.46-2.94)	2.87 ± 0.18 (2.55-3.22)
LPP	2.57 ± 0.09 (2.41-2.76)	2.74 ± 0.19 (2.48-3.16)	2.51 ± 0.08 (2.35-2.78)	2.69 ± 0.16 (2.40-3.04)
LPA	2.70 ± 0.09 (2.51-2.91)	2.89 ± 0.20 (2.61-3.32)	2.63 ± 0.09 (2.44-2.91)	2.84 ± 0.19 (2.53-3.35)
LC	2.24 ± 0.09 (2.03-2.41)	2.40 ± 0.18 (2.13-2.76)	2.17 ± 0.09 (1.99-2.35)	2.36 ± 0.16 (2.08-2.66)
LAD1	1.58 ± 0.15 (1.14-1.80)	1.78 ± 0.22 (1.32-2.19)	1.50 ± 0.14 (1.11-1.79)	1.74 ± 0.20 (1.38-2.16)
LAD2	2.03 ± 0.11 (1.73-2.27)	2.21 ± 0.20 (1.86-2.59)	1.98 ± 0.10 (1.76-2.28)	2.16 ± 0.18 (1.82-2.52)
LAP	2.06 ± 0.10 (1.83-2.25)	2.24 ± 0.19 (1.95-2.62)	2.00 ± 0.10 (1.77-2.26)	2.19 ± 0.18 (1.86-2.53)
LPO	1.76 ± 0.09 (1.54-1.92)	1.93 ± 0.20 (1.65-2.30)	1.69 ± 0.10 (1.50-1.93)	1.89 ± 0.18 (1.39-2.22)
AC	2.00 ± 0.09 (1.82-2.20)	2.13 ± 0.19 (1.85-2.53)	1.94 ± 0.07 (1.79-2.15)	2.11 ± 0.16 (1.85-2.45)
AB	1.72 ± 0.09 (1.55-1.92)	1.85 ± 0.18 (1.57-2.24)	1.65 ± 0.09 (1.34-1.89)	1.82 ± 0.15 (1.54-2.11)
AIO	1.78 ± 0.09 (1.56-1.97)	1.95 ± 0.20 (1.68-2.38)	1.72 ± 0.09 (1.47-1.99)	1.92 ± 0.17 (1.64-2.30)
AM	2.01 ± 0.12 (1.77-2.22)	2.13 ± 0.24 (1.78-2.61)	1.90 ± 0.11 (1.71-2.19)	2.10 ± 0.20 (1.77-2.50)
DO	1.65 ± 0.07 (1.50-1.81)	1.76 ± 0.10 (1.53-1.97)	1.62 ± 0.06 (1.49-1.77)	1.75 ± 0.09 (1.53-1.93)
HM	2.15 ± 0.12 (1.84-2.41)	2.26 ± 0.24 (1.89-2.78)	2.05 ± 0.12 (1.81-2.34)	2.23 ± 0.21 (1.91-2.66)
HC	2.03 ± 0.09 (1.83-2.20)	2.17 ± 0.23 (1.85-2.75)	1.97 ± 0.07 (1.81-2.19)	2.13 ± 0.16 (1.90-2.64)
HP	1.75 ± 0.10 (1.54-1.95)	1.91 ± 0.23 (1.57-2.41)	1.68 ± 0.10 (1.50-1.96)	1.87 ± 0.20 (1.54-2.25)

* Los datos incluyen promedio ± desviación estándar (intervalo de variación).

1= *B. microlepidotus*; 2= *B. australis*.

individuos separados por localidad y por sexo. Por ejemplo en la Tabla 10 (Apéndice 5), con los coeficientes de correlación para las hembras de Elqui, puede observarse que todas las variables (excepto ELL) están inversamente correlacionadas con la longitud de la cabeza (LC), mientras que otras (LPA, LAD1, LPO, AC, AM) lo están con la longitud de la aleta pectoral. En la localidad de Cautín (Tabla 11, Apéndice 6) se observan correlaciones de baja significación ($P=0.07$) entre la Longitud prepélvica (LPP) y la longitud de la aleta dorsal 1 (LAD1), como también entre la longitud de la cabeza y la longitud de la aleta dorsal 1 ($P=0.14$). Muchas otras correlaciones son de valores de r de baja significación. Similares comentarios se aplican a las localidades de Imperial (Tabla 12, Apéndice 7) y Nehuentúe (Datos no incluidos). Como se verá posteriormente, las diferencias, más que atribuibles al factor sexo, deben entenderse como consecuencia de la disminución en el tamaño de la muestra y al tamaño de los individuos.

La alometría observada al comparar individuos de diferente tamaño ha sido descrita en Atherínidos (Barbour y col. 1983) y tiene importancia taxonómica. Por ejemplo, Barbour y col. han establecido que la especie *Menidia beryllina* se diferencia de su congénérica *Menidia menidia* por la alometría evidente observada con respecto al diámetro del ojo en la primera especie.

Al comparar ejemplares de *B. australis* de diferente tamaño, puede observarse una situación similar a la descrita para otros Atherínidos. Las localidades de Cautín (Tabla 11, Apéndice 6) e Imperial (Tabla 12, Apéndice 7) pertenecen a la hoya hidrográfica del río Imperial y corresponden a individuos de la misma especie, a juzgar por el número de escamas y por la condición de no protractibilidad en la boca. Los especímenes de Imperial, una zona cercana a la desembocadura del río Imperial en Puerto Saavedra, exhiben un tamaño promedio (197.68 mm.) superior a los individuos colectados en el río Cautín (106.16 mm.), en Temuco. Al observar los coeficientes de correlación para ambas localidades, se observa que mientras los valores de r son significativos para los especímenes de Cautín (Tabla 11), estos valores son negativos en el caso del diámetro del ojo ($r: -0.29$), la longitud de la aleta dorsal 1 ($r: -0.07$) y otros en la localidad de Imperial (Tabla 12). Esto indica que una vez que se ha alcanzado el tamaño crítico (Fowler, 1970) mientras los individuos crecen, determinadas porciones de su cuerpo permanecen inalteradas.

4. ANALISIS MORFOLOGICO MULTIVARIADO.

4.1. ANALISIS DISCRIMINANTE. El análisis produjo 5 funciones discriminantes, las que dan cuenta del 100% de la variación observada. La figura 5 resume los resultados de este análisis. Dos funciones discriminantes, que en total dan cuenta del 74% de la variación observada, permiten separar dos grupos de poblaciones de acuerdo a lo esperado. En el extremo derecho de la Figura 5 aparecen individuos de las localidades de Angostura (1) y de Copequén (3), mientras que las localidades establecidas como *B. microlepidotus* se agrupan en el extremo opuesto. Estas son: Elqui (2), Limarí (4), Choapa (5) y Petorca (6).

La primera función discriminante explica el 53.44% de la variación, y de acuerdo a la magnitud absoluta de los coeficientes discriminantes (Tabla 13) es fuertemente influenciada por el largo total, la distancia predorsal 1, la altura máxima del cuerpo y la distancia prepélvica. La segunda función discriminante explica el 22% de la variación y es influenciada por el largo de la cabeza. La tercera función explica el 14.72% de la variación y es influenciada por la distancia preanal. La matriz de clasificación (Tabla 14) demuestra que el 94.15% de los casos fueron clasificados correctamente.

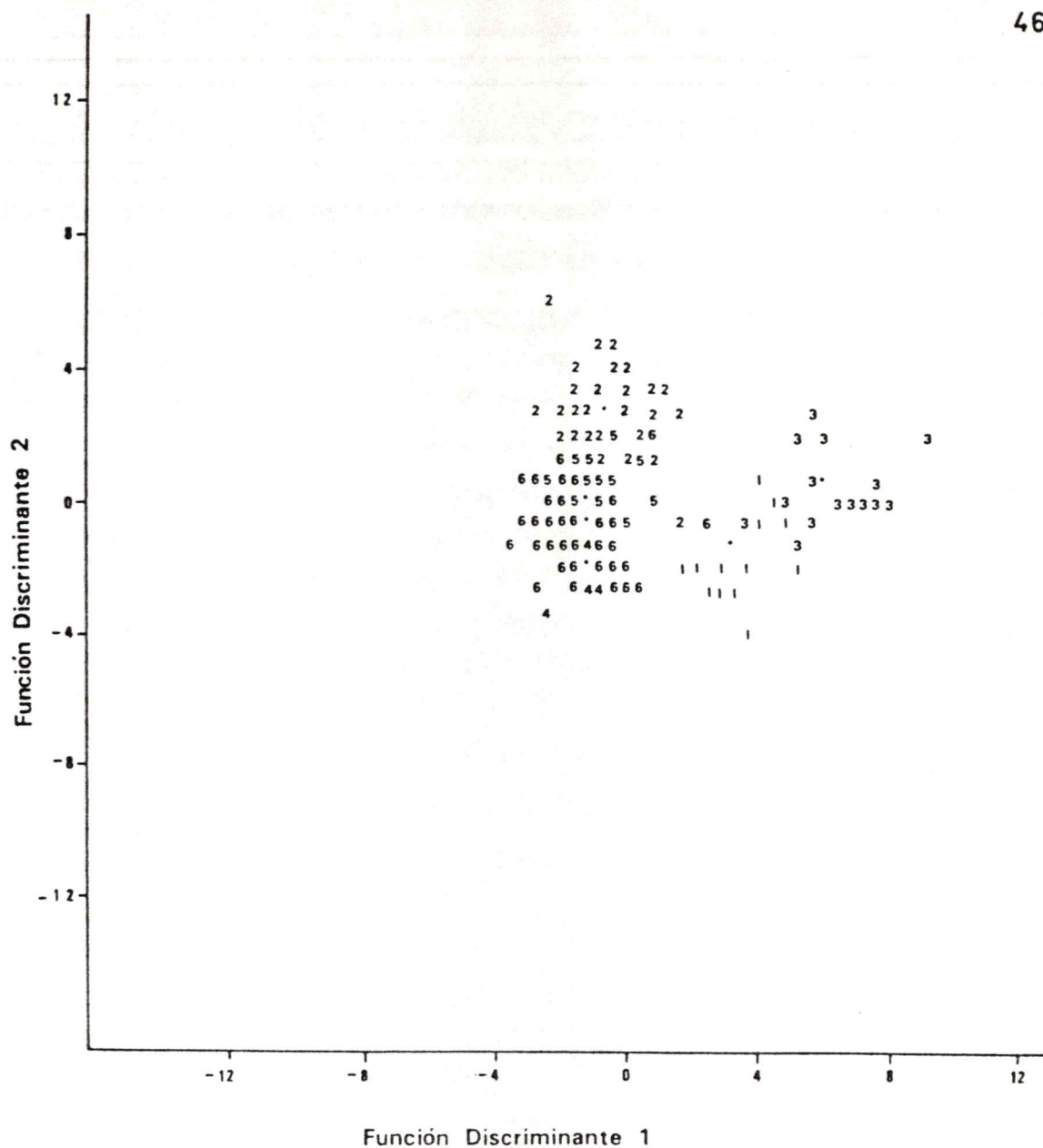


Figura 5. Proyección de los individuos de *B. microlepidotus* y de *B. australis* sobre los ejes de las dos primeras funciones discriminantes. Cada número especifica un pez de la localidad correspondiente al número. Cada punto (*) representa un centroide.

TABLA 13

VALOR DE LOS COEFICIENTES CANONICOS PARA LAS 5 FUNCIONES
OBTENIDAS EN EL ANALISIS DISCRIMINANTE DE 205 ESPECIMENES
DE *Basilichthys*.

	Func. 1	Func. 2	Func. 3	Func. 4	Func. 5
LT	3.49	1.04	2.46	-1.39	-4.20
LS	1.65	-2.03	0.66	0.29	4.23
LPD1	2.52	1.43	2.51	-0.29	1.85
LPD2	1.00	-0.41	-1.51	0.99	0.97
LPP	-1.44	0.36	1.07	1.42	0.52
LPA	0.28	-0.16	-3.50	-1.90	-1.91
LC	-0.07	2.08	-0.83	-1.40	0.24
LAD1	0.35	0.39	0.53	-0.00	0.18
LAD2	-0.46	0.34	0.78	0.29	1.60
LAP	0.87	0.02	0.10	2.05	-1.66
LPD	0.26	-1.05	-1.80	-0.72	0.99
AC	-1.00	-1.12	0.57	0.65	-0.58
AB	0.28	-0.31	0.58	-0.32	-1.53
AID	-0.86	-1.10	-1.04	-0.41	0.29
AM	-0.32	-1.09	0.87	-0.20	-1.09
DO	0.89	0.39	0.01	-0.99	-0.32
HM	-1.59	2.35	-2.30	0.80	0.09
HC	-0.05	0.09	0.85	-0.87	1.45
HP	-0.49	-0.78	-0.13	0.57	-1.10
ELM	0.44	-0.46	-0.49	0.13	0.01

TABLA 14

MATRIZ DE CLASIFICACION BASADA EN EL ANALISIS DISCRIMINANTE DE 205
ESPECIMENES DE *Basilichthys*.

Grupo	N de casos	# de individuos clasificados					
		1	2	3	4	5	6
1. ANGOSTURA	21	20	0	0	0	0	1
%		95.2%	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8%
2. CHOAPA	49	0	46	0	0	3	0
		0.0	93.9	0.0	0.0	6.1%	0.0
3. COPEQUEN	21	0	0	21	0	0	0
		0.0	0.0	100%	0.0	0.0	0.0
4. ELQUI	34	0	0	0	34	0	0
		0.0	0.0	0.0	100%	0.0	0.0
5. LIMARI	30	0	1	0	1	26	2
		0.0	3.3%	0.0	3.1%	86.7%	6.7%
6. PETORCA	50	1	1	0	1	1	46
		2.0%	2.0%	0.0	2.0%	2.0%	92.0%

Porcentaje de casos clasificados correctamente 99.5%

4.2. ANALISIS DE CONGLOMERADOS.

En la Tabla 15 se señala la matriz con las distancias de Mahalanobis (D^2) para el conjunto de las localidades, sin distinción de sexo. Con esta información se construyó el dendrograma de la Fig. 6. De este puede deducirse que los especímenes colectados en los ríos Limarí y Choapa presentan la menor distancia fenética (F: 1.64; P, N.S.). Estos se relacionan con aquellos del río Petorca (poblaciones conespecíficas de *B. microlepidotus*) a un nivel jerárquico superior. Los especímenes del río Elqui y del río Aconcagua aparecen distantes morfológicamente (F: 3.37; $P < 0.01$) y ambas localidades aparecen separadas del conglomerado que conforman Limarí, Choapa y Petorca. Dentro de este conjunto de localidades, la de Aconcagua resulta ser la más distanciada morfológicamente con respecto a sus conespecíficas.

Los peces de los ríos Angostura y Cautín (*B. australis*) aparecen compartiendo una gran similitud fenética, a pesar de que estos sistemas hidrográficos están separados por aproximadamente 600 kilómetros. Esta situación no resulta lógica si se acepta la hipótesis de que las diferencias morfológicas incrementarían con la distancia geográfica. La distancia de Mahalanobis para la comparación de ambas localidades es significativa ($P < 0.001$) lo que revela que,

TABLA 15

DISTANCIA DE MAHALANOBIS PARA EL ANALISIS MORFOLOGICO DE *B. microlepidotus* Y DE *B. australis*.*

Lugar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	-----	3.4571	4.4128	3.4778	4.4934	5.2956	6.2800	6.4151	7.5041	8.2467	9.1059
2	3.4571	-----	2.5963	2.9108	4.8866	4.1095	4.9897	5.0672	5.1614	6.5678	7.8023
3	4.4128	2.5963	-----	2.9984	3.9200	3.4224	4.8530	5.1679	4.6724	5.7299	7.2253
4	3.4778	2.9108	2.9984	-----	4.6981	3.7007	5.5109	5.3250	6.3501	7.2719	8.1907
5	4.4934	4.8866	3.9200	4.6981	-----	5.2257	7.0892	6.9454	6.6002	7.2294	8.1609
6	5.2956	4.1095	3.4224	3.7007	5.2257	-----	3.7685	3.3124	4.9889	5.4314	7.7987
7	6.2800	4.9497	4.8530	5.5109	7.0892	3.7685	-----	4.4643	4.8168	5.4698	8.0619
8	6.4151	5.0672	5.1679	5.3250	6.9454	3.3124	3.4343	-----	5.1218	5.2707	7.6684
9	7.5041	5.7614	4.6724	6.3501	6.6002	4.9889	4.8168	5.1218	-----	2.7414	5.5891
10	8.2467	6.5678	5.7299	7.2719	7.2294	5.4314	5.4698	5.2707	2.7414	-----	4.4278
11	9.1059	7.8023	7.2253	8.1907	8.1609	7.7987	8.0619	7.6684	5.5891	4.4278	-----

456 observaciones 455 g.l.total

19 variables 445 g.l.intra clases

11 clases 10 g.l.entre clases

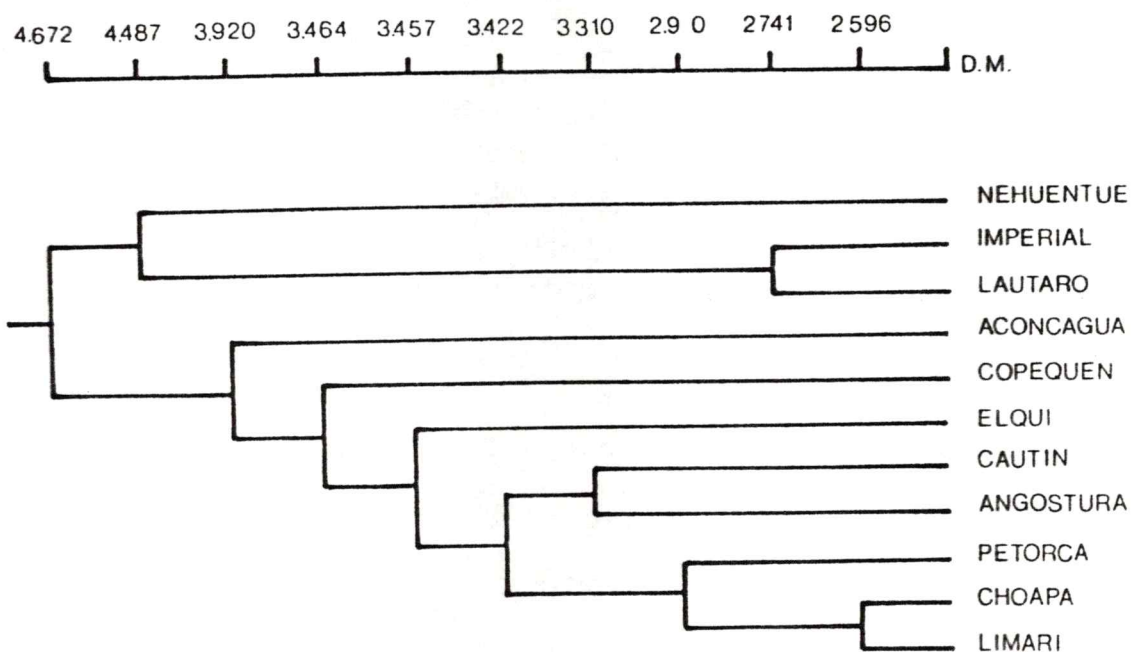


Figura 6. Análisis de conglomerados en *microlepidotus* y *B. australis*. Considera el total de especímenes, sin distinción de sexo.

en conjunto, las variables difieren. Una situación semejante ocurre con los especímenes colectados en Lautaro e Imperial, que forman un conglomerado independiente. Copequén aparece más distante, formando un grupo independiente. Por último, los especímenes colectados en Nehuentúe, que representan a una especie no congénica, aparecen de manera concordante como el grupo más distante morfológicamente.

La situación descrita en esta figura no concuerda estrictamente con lo que se espera, si la hipótesis de la existencia de dos especies morfológicas es válida, ni con los antecedentes de su distribución geográfica.

En la Tabla 16 se señala la matriz con las distancias de Mahalanobis para las hembras (sexo 0), datos que se grafican en la Fig. 7. En el dendrograma se observa una buena correspondencia con lo esperado, en base a la distribución geográfica de las especies, y de acuerdo al número de escamas en la línea media del cuerpo. De esta forma, los especímenes colectados en las localidades de Lautaro, Cautín, Angostura y Copequén, localidades de *B. australis*, aparecen relacionados, aunque a distintos niveles jerárquicos, y formando uno de los conglomerados importantes. Esta observación concuerda con los datos que demuestran que las D^2 no son significativamente diferentes, para cada una de las comparaciones pareadas. Las

TABLA 16

MATRIZ CON LA DISTANCIA DE MAHALANOBIS PARA EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LAS HEMBRAS DE *B. microlepidotus* y de *B. australis**

Lugar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	-----	06.8425	07.2567	07.6951	06.2093	07.4253	08.4546	09.5732	07.7634	13.1983	16.4939
2	06.8425	-----	04.1111	05.9966	06.2915	06.2011	06.4587	08.2373	07.5977	10.5555	12.6882
3	07.2567	04.1111	-----	06.7190	05.3423	06.5357	06.8152	09.3625	08.1823	10.5185	11.4186
4	07.6951	05.9966	06.7190	-----	08.6478	06.4079	07.8017	08.1949	07.9902	11.2236	15.7815
5	06.2093	06.2915	05.3423	08.6478	-----	07.1575	08.9084	10.1554	08.3937	11.7220	13.5186
6	07.4253	06.2011	06.5357	06.4079	07.1575	-----	04.1542	04.3705	03.7933	07.4558	15.1386
7	08.45466	06.4587	06.8152	07.8017	08.9084	04.1542	-----	05.5224	05.3507	08.4964	14.5854
8	09.5732	08.2373	09.3625	08.1949	10.1554	04.3705	05.5224	-----	03.5022	07.8781	17.0451
9	07.7634	07.5977	08.1823	07.9902	08.3937	03.7933	05.3507	03.5022	-----	08.8509	16.9394
10	13.1983	10.5555	10.5185	11.2236	11.7220	07.4558	08.4964	07.8781	08.8509	-----	14.8135
11	16.4939	12.6882	11.4186	15.7815	13.5186	15.1386	14.5854	17.0451	16.9394	14.8135	-----

139 observaciones 138 g.l. total

19 variables 128 g.l. intra clases

11 clases 10 g.l. entre clases

* Cada numero representa una localidad.

Figuras 7 y 8. Análisis de conglomerados en *B. microlepidotus* y *B. australis*. Arriba, hembras (Figura 7). Abajo, machos (Figura 8).

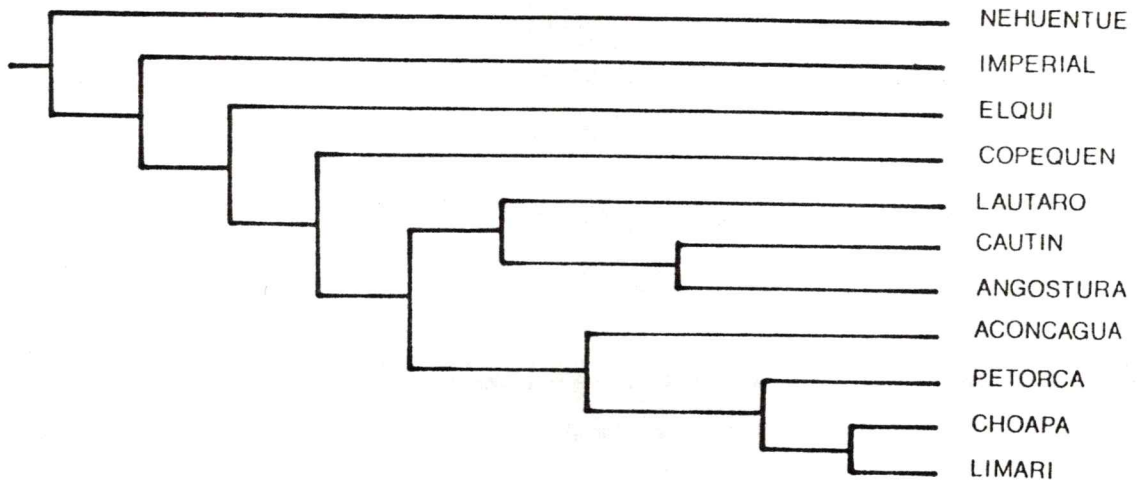
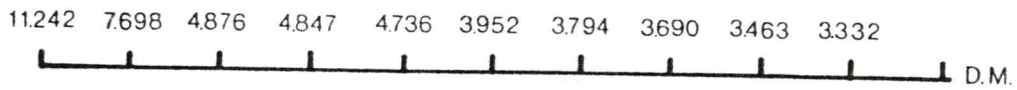
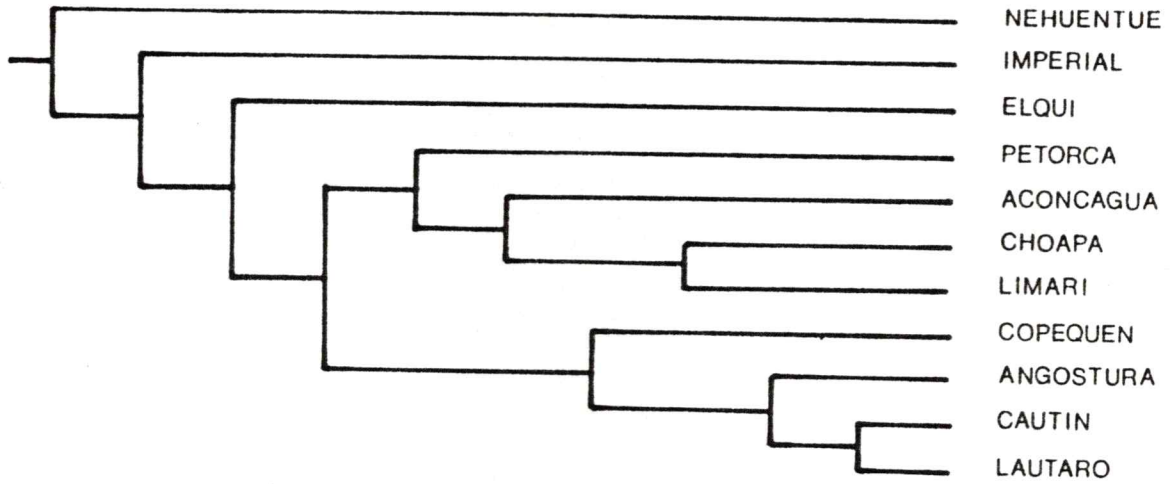
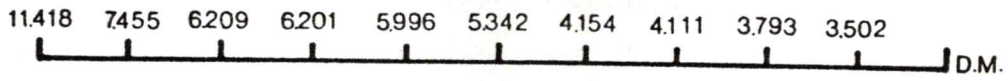


TABLA 17

MATRIZ CON LA DISTANCIA DE MAHALANOBIS PARA EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LOS MACHOS DE *B. microlepidotus* y de *B. australis*.

Lugar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	-----	05.6811	05.5071	04.8762	05.3474	06.1835	07.2299	07.8151	07.5551	11.5678	15.2402
2	05.6811	-----	03.3325	03.4643	04.4035	05.7298	06.8104	07.2536	07.8467	09.9254	12.0899
3	05.5071	03.3325	-----	03.5253	03.7949	05.1894	05.8204	07.0371	07.4661	08.3873	11.2446
4	04.8762	03.4643	03.5253	-----	04.0526	04.7367	06.3324	06.7426	06.4231	09.8890	13.0480
5	05.3474	04.4035	03.7949	04.0526	-----	05.7871	07.0686	07.7526	07.5247	09.7748	12.8325
6	06.1835	05.7298	05.1894	04.7367	05.7871	-----	04.8479	03.6901	04.8054	07.6982	14.4052
7	07.2299	06.8104	05.8204	06.3324	07.0686	04.8479	-----	05.4036	06.4178	08.8431	13.6454
8	07.8151	07.2536	07.0371	06.7426	07.7526	03.6901	05.4036	-----	03.9528	07.8569	15.6293
9	07.5551	07.8467	07.4661	06.4231	07.5247	04.8054	06.4178	03.9528	-----	09.7989	16.9931
10	11.5678	09.9254	08.3873	09.8890	09.7748	07.6982	08.8431	0785691	09.7989	-----	12.4064
11	15.2402	12.0899	11.2446	13.0480	12.8325	14.4052	13.6454	15.6293	16.9931	12.4064	-----

145 observaciones 144 g.l. total

19 variables 134 g.l. intraclases

11 clases 10 g.l. entre clases

localidades que comparten la menor distancia mínima son las de Lautaro y Cautín, que son precisamente las más cercanas dentro del río Cautín. Los especímenes del río Imperial son los que están morfológicamente más distantes con respecto a los individuos de localidades que representan poblaciones conespecíficas.

Para las localidades de *B. microlepidotus* consideradas puede observarse una correspondencia interesante. Aunque no forman un grupo morfológicamente homogéneo, lo cual es esperable dada su distribución geográfica y a su condición de aislamiento, todas - con excepción de Elqui- aparecen estrechamente relacionadas, formando otro gran conglomerado, en el cual la mayor similitud morfológica corresponde a las localidades de Limarí y Choapa (F: 0.27; P, N.S.).

En este caso, nuevamente es Nehuentúe la localidad que aparece con la mayor divergencia morfológica.

El dendrograma para los machos (Figura B), construido en base a los datos de la distancia de Mahalanobis de la Tabla 17, presenta una gran correspondencia con lo observado para las hembras, con la diferencia que son los individuos de *B. microlepidotus* los que aparecen con la menor distancia mínima.

La correspondencia observada en los conglomerados resultantes para machos y hembras demuestra que, como se

señaló inicialmente, las diferencias entre sexos no son significativas. De acuerdo a esto es posible predecir que el dendrograma confeccionado sobre la base de los datos para ambos sexos agrupados debe dar un resultado concordante con el ordenamiento esperado de acuerdo a la hipótesis de la existencia de dos especies. Al observar el dendrograma de la Fig. 9 se observa que lo señalado corresponde plenamente con lo esperado, puesto que las localidades de *B. microlepidotus* (Limarí, Choapa, Petorca y Aconcagua) aparecen formando uno de los conglomerados observados. Por otra parte, las localidades de *B. australis* (Lautaro, Cautín, Angostura y Copequén) forman el otro gran conglomerado. Las localidades de Elqui e Imperial, que representan los extremos de distribución para *B. microlepidotus* y *B. australis* respectivamente, conforman grupos independientes. Por último, la localidad de Nehuentúe es la más distante morfológicamente, situación concordante con el carácter de especie no congénica de los individuos colectados en esta localidad.

De esta figura pueden resumirse las siguientes conclusiones: 1. Existe variación intraespecífica, lo cual está en concordancia con la situación geográfica y aislamiento de los sistemas hidrográficos estudiados. Aunque la relación no es absolutamente correspondiente, las

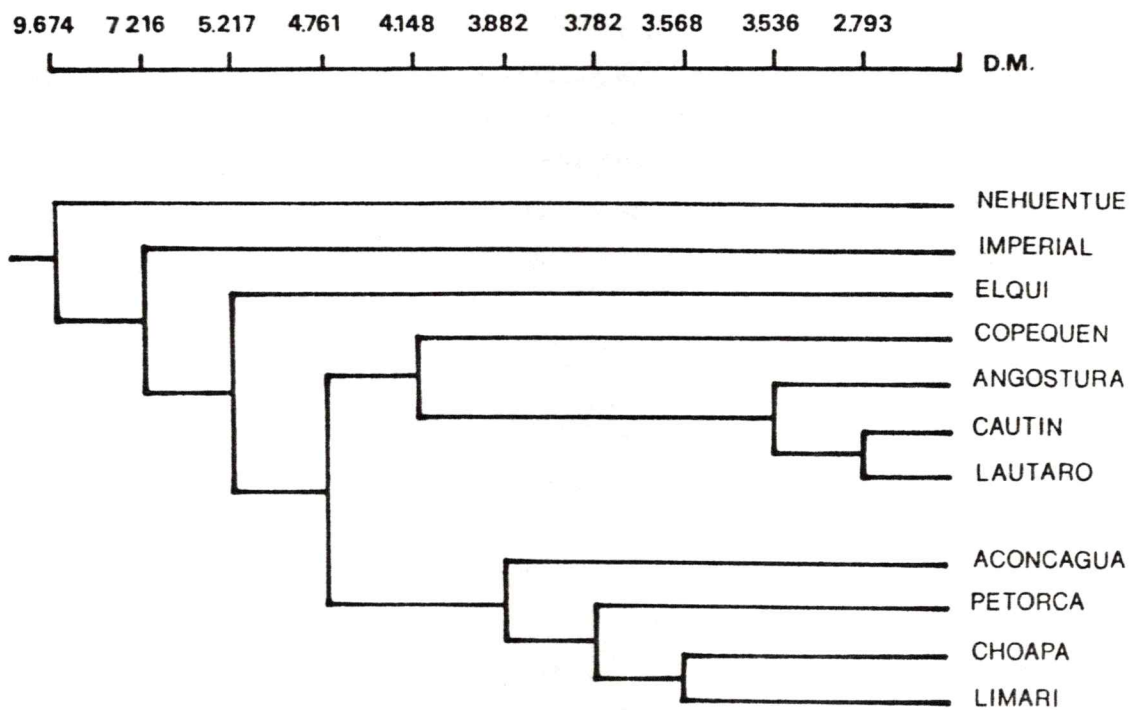


Figura 9. Análisis de conglomerados en *B. microlepidotus* y *B. australis* (Machos y hembras agrupados).

localidades presentan un grado de divergencia morfológica que aumenta hacia los extremos del rango de distribución. Es así como en el caso de los especímenes de *B. microlepidotus* de Elqui y Aconcagua, límite Norte y Sur, respectivamente, son los que presentan la mayor divergencia morfológica. 2. No son notorias las diferencias entre machos y hembras.

La diferencia entre este dendrograma y aquél que considera las tres categorías de sexo podría atribuirse, por lo tanto, a los individuos catalogados como de sexo indeterminado, los cuales en su mayoría representan estados inmaduros, y a la disminución en el número de la muestra que ocurre al considerar independientemente cada categoría. La correlación entre D^2 y la distancia geográfica, que corrobora el punto 1, queda de manifiesto al calcular el coeficiente de correlación de acuerdo al método no paramétrico de Spearman. El valor de 0.99 para r es significativo ($P < 0.001$). Esto significa aceptar la hipótesis nula de que existe relación entre la distancia de Mahalanobis, calculada para cada comparación pareada, y la distancia geográfica de los pares comparados.

4.3. ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

La Tabla 18 señala los vectores característicos para los componentes I, II y III (explican el 97.9% de la varianza observada), resultantes del análisis de componentes principales realizado de acuerdo a la matriz de datos de la Tabla 6 (Apéndice 1), que considera el total de individuos sin separación de sexos. La mayor parte de las variables presentan vectores característicos para el componente I (explica el 92.4% de la variación) de alrededor de 0.23, y la totalidad de ellos, con excepción del número de escamas sobre la línea media del cuerpo, tienen valores positivos. Este hecho indica, según Pimentel (1977), que el primer componente es un estimador de tamaño, lo cual puede comprobarse al observar los coeficientes de correlación obtenidos al comparar las variables originales con los componentes principales (Tabla 19). El coeficiente de correlación para la comparación de la longitud estándar y el componente I es 0.99. Una correlación significativa se observa también para el resto de las variables, lo cual indica que todas están influenciadas por el tamaño. Aunque es difícil diferenciar entre el factor forma y tamaño, especialmente cuando se consideran mediciones lineales (Humphries y col., 1981), se ha señalado que el segundo componente es un estimador de forma. En la Tabla 18

TABLA 18

VECTORES CARACTERISTICOS PARA LOS TRES PRIMEROS COMPONENTES
PRINCIPALES (CP) OBTENIDOS EN EL ANALISIS DE *B.*
microlepidotus Y *B. australis*.

VARIABLE	CPI	CPII	CPIII
Varianza explicada (%)	92.4	4.9	0.9
LS	0.23	0.06	0.02
LPD1	0.22	0.10	-0.01
LPD2	0.23	0.06	-0.00
LPP	0.23	0.01	-0.02
LPA	0.23	0.05	-0.01
LC	0.23	-0.01	-0.07
LAD1	0.22	-0.01	-0.43
LAD2	0.23	0.00	0.23
LAP	0.22	0.01	0.69
LPO	0.23	0.08	-0.10
AC	0.23	-0.01	-0.14
AB	0.22	0.11	-0.25
AID	0.23	0.05	-0.08
AM	0.23	0.01	-0.09
DO	0.22	-0.09	-0.44
HM	0.22	-0.07	-0.12
HC	0.22	-0.01	-0.36
HP	0.23	0.01	-0.03
ELM	-0.07	0.96	0.05

TABLA 19

COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LA COMPARACION ENTRE LAS
VARIABLES ORIGINALES Y LOS COMPONENTES PRINCIPALES I (CPI)
Y II (CPII).

VARIABLES	PC I	PC II
LS	0.99	0.06
LPD1	0.99	0.10
LPD2	0.99	0.06
LPP	0.99	0.02
LPA	0.99	0.05
LC	0.99	-0.02
LAD1	0.95	-0.10
LAD2	0.98	0.00
LAP	0.94	0.02
LPD	0.97	0.00
AC	0.99	-0.02
AB	0.96	0.10
AIO	0.99	0.05
AM	0.99	0.01
DO	0.96	-0.09
HM	0.98	-0.02
HC	0.97	-0.02
HP	0.99	0.02
ELM	-0.34	0.94

puede observarse que este componente tiene un valor característico superior a 0.90 para el número de escamas sobre la línea media del cuerpo y que, además, está negativamente correlacionado con la Longitud Standard (LS). Esto concuerda con lo señalado por Mossiman y James (1979), en cuanto a que un buen estimador de forma debe ser independiente de la longitud total.

De la comparación de los vectores característicos para los componentes I, II y III puede concluirse que la tendencia de los caracteres estudiados a agruparse en los componentes, revela que las diferencias entre *B. microlepidotus* y *B. australis* son consecuencia precisamente de estos caracteres.

Para el componente II se observa un contraste entre caracteres asociados con la morfología de la cabeza (HC; DO; AC; LC) y algunos como ancho de la boca y posición de las aletas.

En la Tabla 20 se señalan los vectores característicos para los tres primeros componentes principales, considerando cada sexo en forma independiente. Nuevamente se demuestra que la mayoría de las variables son estimadores de tamaño, a excepción del número de escamas, carácter que tiene un alto valor asociado al segundo componente. Se puede observar, además, que los vectores característicos no presentan gran diferencia entre los sexos.

TABLA 20

VECTORES CARACTERISTICOS PARA LOS TRES PRIMEROS COMPONENTES (CPI, CP II, CP III.), SEPARADOS POR SEXO.

VARIABLE	HENBRAS			MACHOS			INDETERMINADO		
	CPI	CP II	CP III	CPI	CP II	CP III	CPI	CP II	CP III
varianza (%)	92.4	4.9	0.9	91.8	5.2	0.6	93.1	4.0	1.4
LS	0.23	0.07	0.17	0.23	0.05	0.08	0.23	0.05	-0.01
LPD1	0.23	0.12	0.03	0.23	0.05	0.04	0.23	0.10	-0.02
LPD2	0.23	0.07	0.09	0.23	0.05	0.07	0.23	0.06	-0.03
LPP	0.23	0.05	0.02	0.23	-0.00	-0.09	0.23	0.03	-0.02
LPA	0.23	0.07	0.05	0.23	0.03	0.13	0.23	0.04	-0.03
LC	0.23	-0.00	-0.03	0.23	0.00	-0.12	0.22	0.00	-0.06
LAD1	0.22	-0.16	0.55	0.22	-0.06	0.47	0.22	0.08	0.32
LAD2	0.23	0.01	0.15	0.23	-0.03	0.10	0.22	0.02	0.23
LAP	0.23	-0.01	0.18	0.23	-0.03	0.03	0.20	0.03	0.80
LPD	0.22	0.07	0.06	0.22	0.06	-0.21	0.22	0.07	-0.09
AC	0.23	-0.00	-0.29	0.23	-0.04	-0.01	0.22	-0.01	-0.09
AB	0.22	0.14	-0.46	0.22	0.12	-0.52	0.22	0.08	-0.14
AID	0.23	0.00	-0.57	0.23	0.01	0.04	0.22	0.07	-0.09
AM	0.23	-0.03	-0.18	0.23	0.02	0.10	0.23	0.03	-0.08
DD	0.22	-0.13	0.15	0.22	-0.04	-0.56	0.22	-0.05	-0.07
HM	0.22	-0.07	-0.21	0.23	-0.07	0.05	0.22	-0.05	-0.10
HC	0.22	0.00	-0.37	0.23	-0.06	0.04	0.22	-0.00	-0.33
HP	0.22	0.03	0.01	0.23	0.00	0.17	0.23	0.02	-0.05
ELM	-0.08	0.94	0.10	-0.00	0.97	0.07	0.11	0.97	0.02

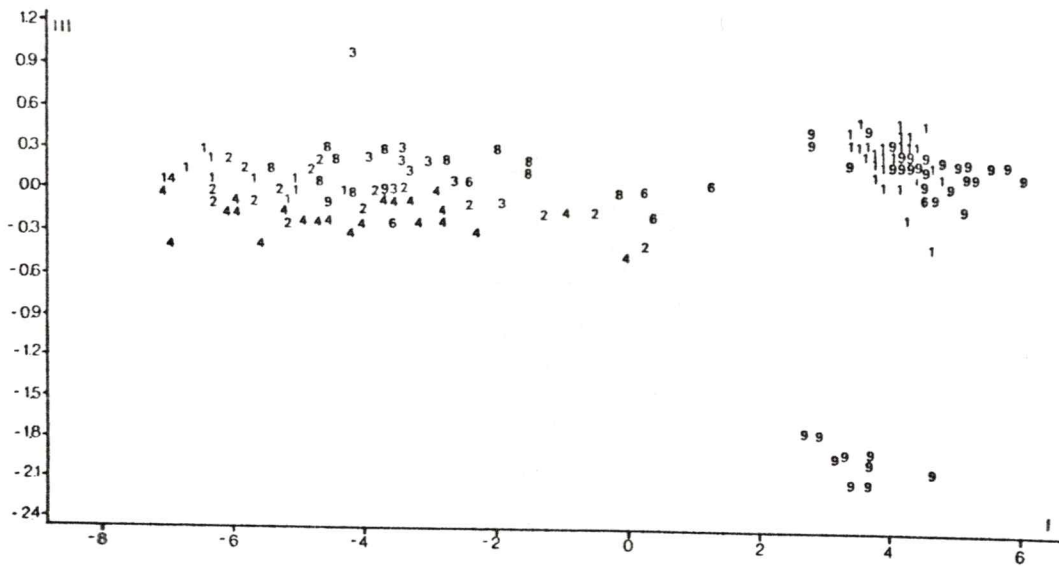
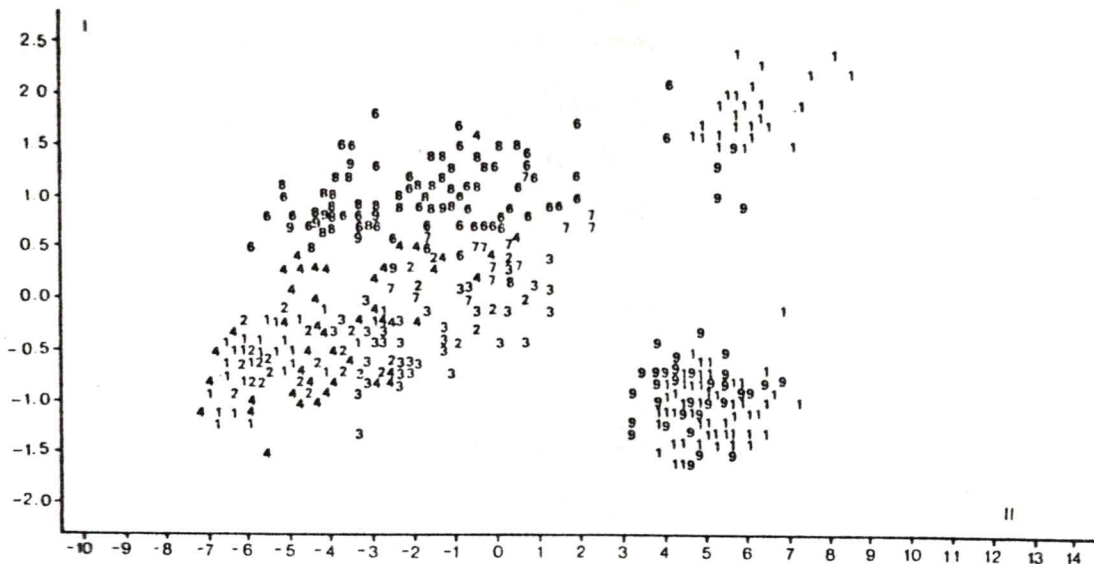
Aunque el análisis no está precisamente diseñado para detectar grupos, en muchos casos puede servir para tales propósitos. Los posibles agrupamientos se describen desde la Figura 10 a la Figura 16. Estas, que no son más que la representación gráfica del análisis, presentan en algunos casos consistencia en el ordenamiento espacial de los especímenes de cada localidad.

La Fig. 10 resume el análisis de los dos primeros componentes principales en el conjunto de las localidades, sin distinción de sexo. En ella se pueden reconocer 4 grupos. Los especímenes de Elqui (1) conforman un grupo relativamente separado en el extremo superior derecho. En el extremo inferior derecho se agrupan individuos de Nehuentúe (11) y Lautaro (9), mientras que en el extremo superior izquierdo se ubican los individuos de Cautín (8), Angostura (6) y Copequén (7). En el extremo inferior izquierdo se agrupan los individuos de Petorca (4), Choapa (3) y Limarí (2). Si se compara este gráfico con el dendrograma de la Figura 6, se observa una buena correspondencia.

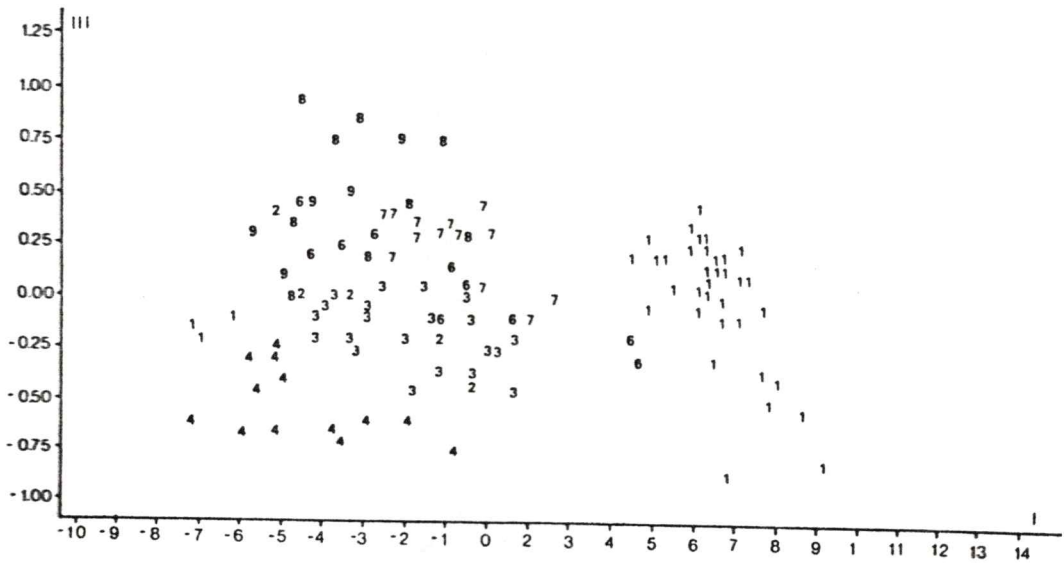
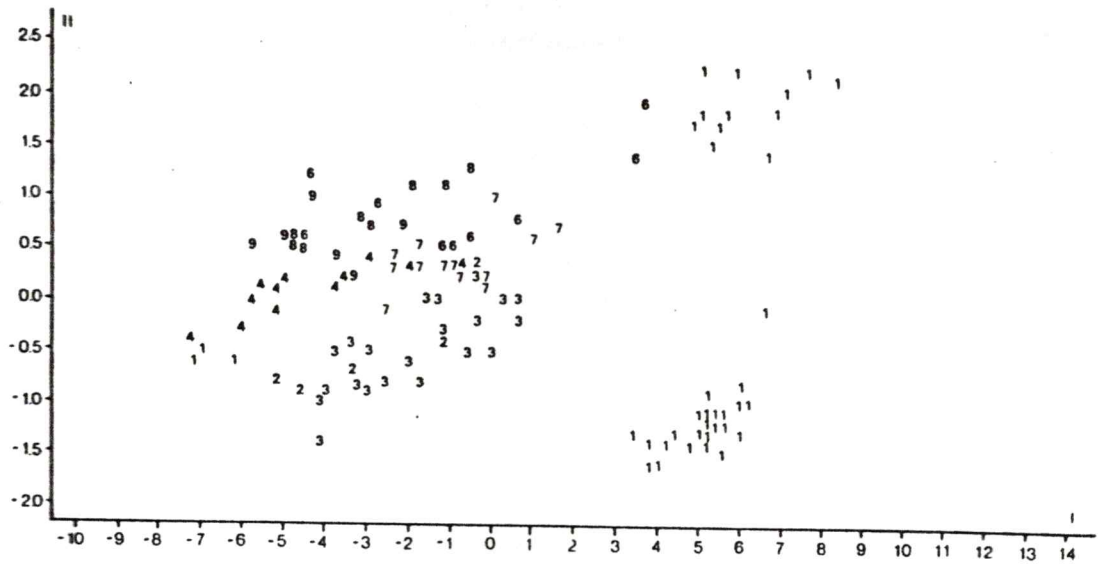
El primer y tercer componente (Fig. 11) no permiten una separación efectiva.

Cuando se considera la proyección de las hembras (Fig.12) sobre los ejes del primer y segundo componente, se puede observar que hay una buena separación entre los especímenes

Figuras 10 y 11. Proyeccion de los especimenes de *B. microlepidotus* y de *B. australis* (sin distincion de sexo) en el analisis de componentes principales. Arriba, componentes I y II. Abajo, componentes I y III.



Figuras 12 y 13. Proyección de las hembras en el análisis de componentes principales. Arriba, componentes I y II. Abajo, componentes I y III.

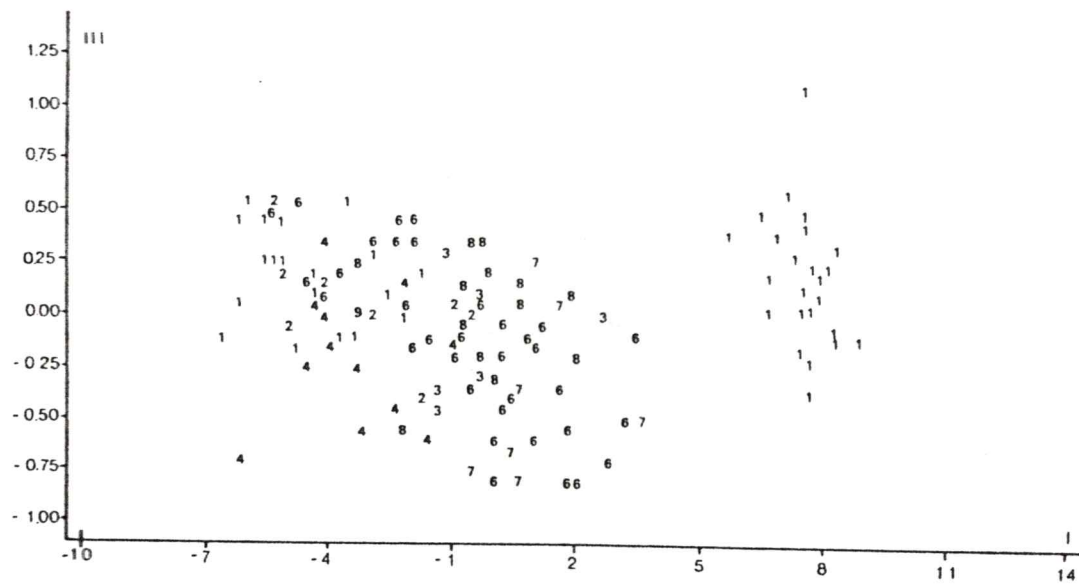
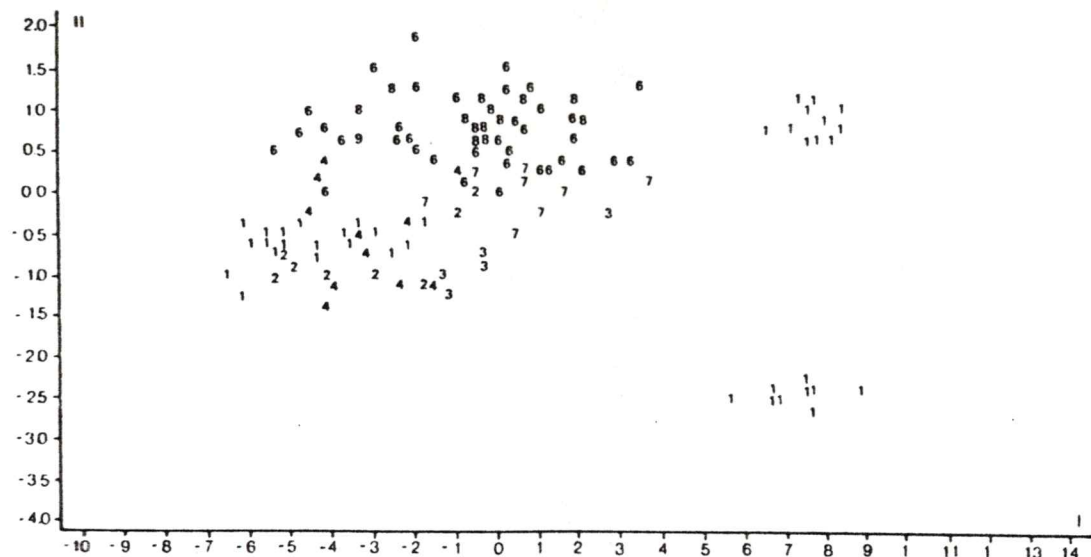


de la localidad de Nehuentúe (11, extremo inferior derecho), Elqui (1, extremo superior derecho), los que conforman dos grupos independientes, con respecto a las localidades de *B. australis* Cautín (8), Copequén (7) y Angostura (6, extremo superior izquierdo). Los especímenes de estas localidades aparecen relativamente independientes de las de *B. microlepidotus* Choapa (3), Limarí (2), Petorca (4). El primer y el tercer componente (Fig. 13) no aportan a una mejor resolución.

En las Figuras 14 y 15 se muestra la disposición espacial para los machos, de acuerdo a la información aportada por los componentes I y II y I y III, respectivamente, mientras que en la Fig. 16 se muestran los resultados para los individuos de sexo indeterminado.

Como consecuencia del análisis morfológico puede concluirse que, si bien Eigenmann (1927) describió a ambas especies como "morfológicamente difíciles de diferenciar", la divergencia en este aspecto es notoria. Esta divergencia morfológica sería concordante con lo observado para la mayoría de las especies alopátricas, en las cuales el criterio principalmente utilizado para su caracterización es, generalmente, el morfológico.

Figuras 14 y 15. Proyección de los machos en el análisis de componentes principales. Arriba, componentes I y II. Abajo, componentes I y III.



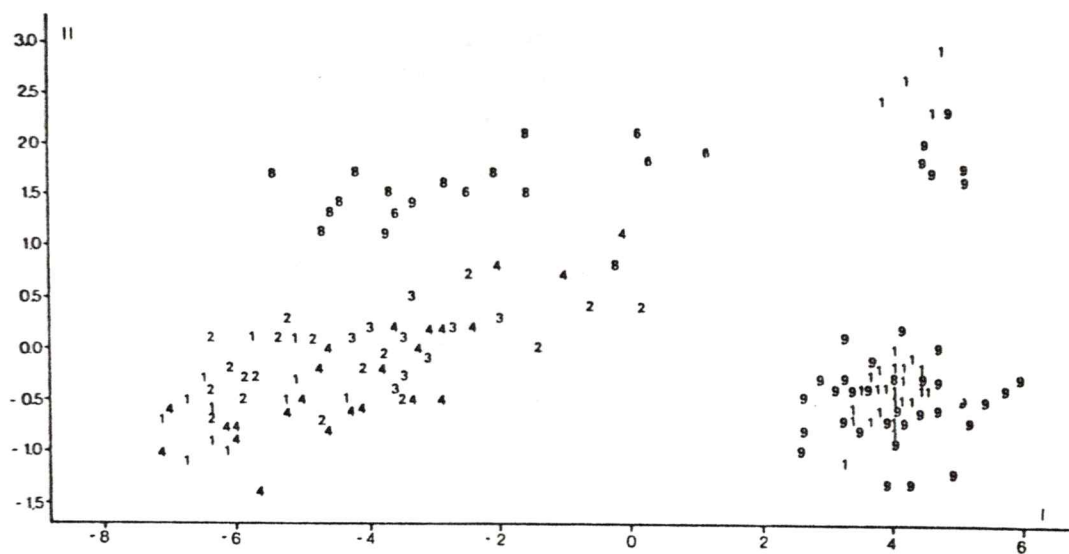


Figura 16. Proyección de los individuos de sexo indeterminado en el análisis de componentes principales. Componentes I y II.

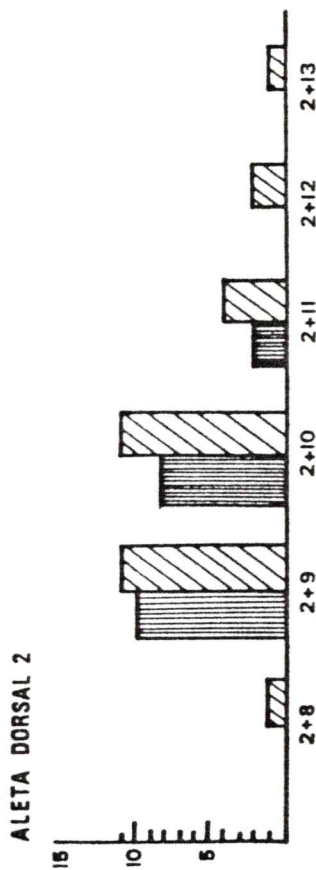
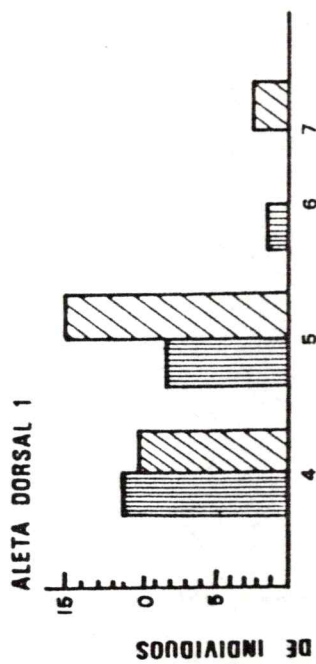
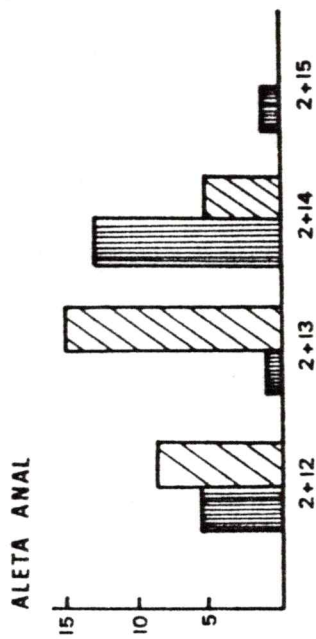
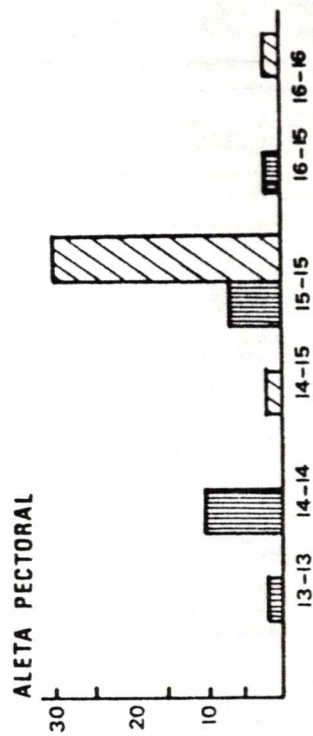
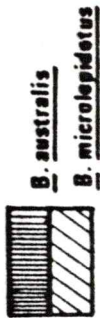
5. ANALISIS OSTEOLOGICO

Los histogramas en la Figura 17 resumen los datos del número de rayos en las aletas de ambas especies. El número modal de rayos para la aleta pectoral es diferente. *B. microlepidotus* presenta un número modal mayor (15/15; ambas aletas pectorales) que el de *B. australis*. Para la aleta dorsal el número modal para *B. microlepidotus* es de 5, mientras que para *B. australis* este es de 4. Como se puede ver en la figura 17, el número de rayos en la aleta dorsal presenta una gran variación y para este carácter no pudo establecerse un modo. Sin embargo, el número más frecuentemente observado para ambas especies oscila entre 2+9 y 2+10. Para la aleta anal, el número modal para *B. australis* es de 2+13 mientras que en *B. microlepidotus* este es de 2+14.

Estos datos concuerdan con aquellos descritos para *B. australis* por De la Hoz y Tosti-Croce (1981) y, en general, corresponden a los descritos para especies emparentadas (Tabla 21) como *Atherinopsis affinis*, *Atherinopsis californiensis* y *Leuresthes tenuis* (White y col., 1983).

De la variación observada para los datos graficados en la Figura 17, se desprende que éstos no pueden considerarse con absoluta confianza para separar a ambas especies, más

Figura 17. Distribución de frecuencias para el número de rayos en las aletas de *B. microlepidotus* y *B. australis*.



NUMERO DE INDIVIDUOS

TABLA 21
 CARACTERES MERISTICOS EN ESPECIES SELECCIONADAS DE LA FAMILIA ATHERINIDAE*.

	D1	D2	A	PECT.	VERT.	DIENTES
<i>Atherinops affinis</i>	3-7	10-14	9-14	12-15	43-49	14-27
<i>Atherinopsis californiensis</i>	4-9	10-15	20-29	14-17	46-53	18-44
<i>Leuresthes tenuis</i>	4-7	9-13	20-24	13-16	47-50	20-29
<i>B. microlepidotus</i>	4-7	8-13	12-14	14-16	47-50	11-21
<i>B. australis</i>	4-6	9-11	12-15	13-16	50-54	16-21

*Datos tomados de White y col. (1983).

aún teniendo en cuenta los antecedentes que demuestran que estas características son fuertemente influenciadas por el medio ambiente (Barlow, 1961).

Número de vértebras. *B. microlepidotus* (de las localidades de Limarí y Petorca) presenta un número de vértebras que varía entre 47 - 50. De éstas 39 a 40 son vértebras abdominales y 18 a 20 son caudales. *B. australis* (Angostura) presenta un número total mayor de vértebras (50-54) y también de vértebras abdominales (30-34). En cambio la región caudal no muestra diferencia (19-21) con respecto a *B. microlepidotus*.

B. australis presenta un número mayor de costillas (28 a 32) que *B. microlepidotus* (27-29).

Serie orbital. Según Rosen (1964: 228), en *Aterinoideos* los huesos de la serie infraorbital están representados por el primero (la, lacrimal) y por el último (dsf, dermosfenótico). Nuestra observación (Fig. 18) indica que en *Basilichthys* existe un tercer elemento (i, infraorbital) lo que concuerda con lo descrito para *B. australis* por De la Hoz y Tosti-Croce (1981).

En la Figura 18 se observa además que, correspondientemente con lo descrito por Rosen (1964) y De la Hoz y Tosti-Croce (1981), en el aparato hioideo de *Basilichthys* el ceratohial (ce) y el epihial (ep) están fuertemente unidos por un refuerzo óseo de posición dorsal.

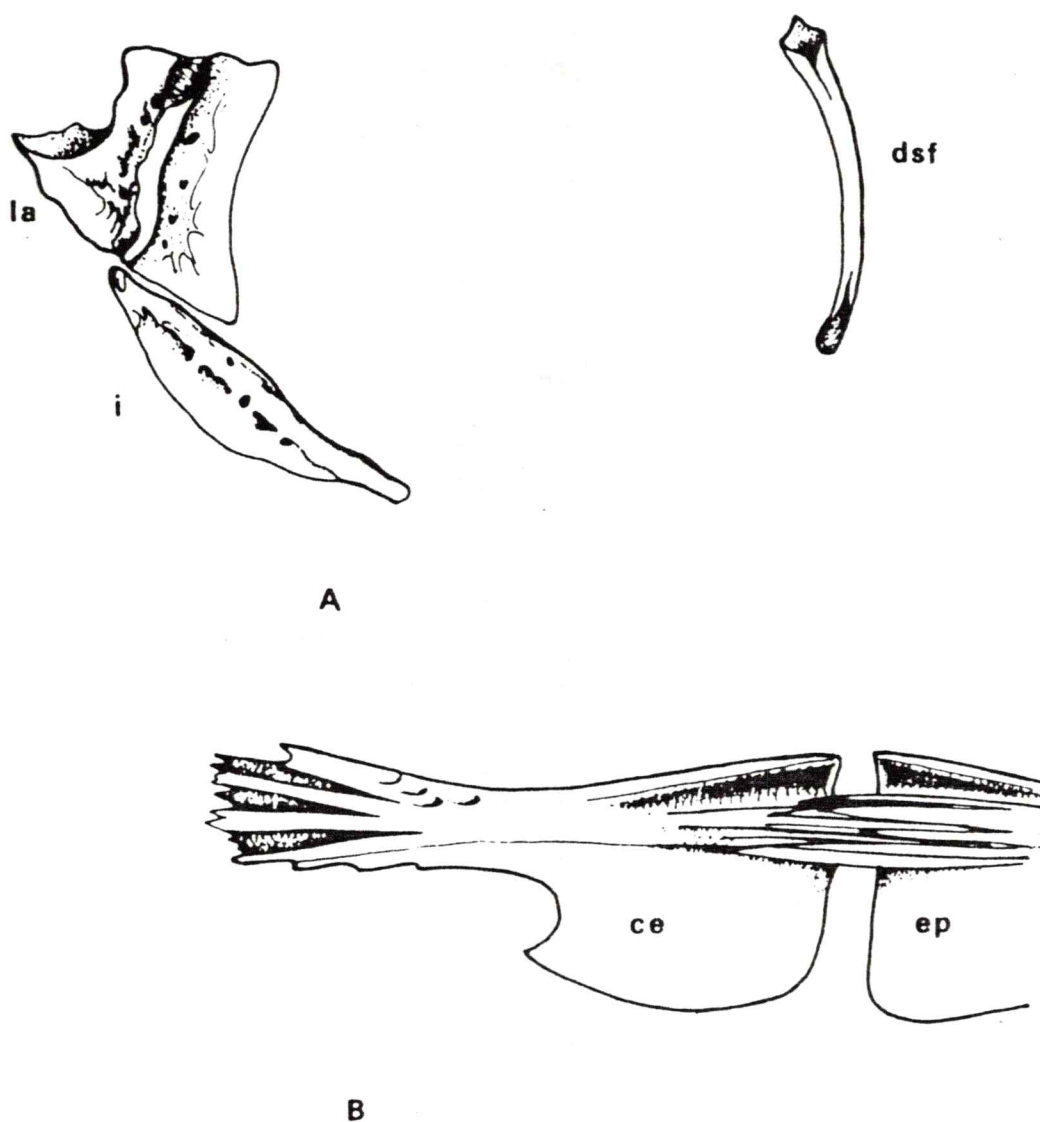


Figura 18. Serie orbital (A) y aparato hioideo (B) en el género *Basilichthys* (ce, ceratohial; dsf, desmosfenótico; ep, epihial; i, infraorbital; la, lagrimal).

Aleta caudal. En *Aterínidos* hay constantemente dos epurales (Rosen, 1964: 245). Esta situación está de acuerdo con lo observado en *B. microlepidotus* (Fig. 19 A). Sin embargo, en *B. australis* (Fig. 19 B) sólo existe uno, lo que concuerda con lo descrito para la misma especie por De La Hoz y Tosti-Croce (1981). La diferencia entre ambas especies para este carácter es significativa y puede ser importante incluso a nivel genérico.

Número de dientes en los arcos branquiales. En *B. microlepidotus* el número de dientes en cada uno de los 4 arcos (I,II,III,IV) branquiales, se desglosa de la siguiente manera: I: 21,18 (corrida externa e interna, respectivamente); II: 19,16; III: 17,14; IV; 16,11. El total de dientes, por lo tanto, es de 132. En *B. australis* el número total de dientes es superior (203) y estos se distribuyen como sigue: I: 28,38; II: 29,21; III: 27,23; IV; 21,16.

6. ANALISIS CROMOSOMICO

Los cromosomas de ambas especies son reducidos en tamaño, a pesar de que los de *B. australis* son levemente mayores (rango 2.0 u - 1.2u) que los de *B. microlepidotus* (1.4 u - 0.8u). En esta última especie se observó un cromosoma submetacéntrico no apareable (Fig.20), el cual es el más

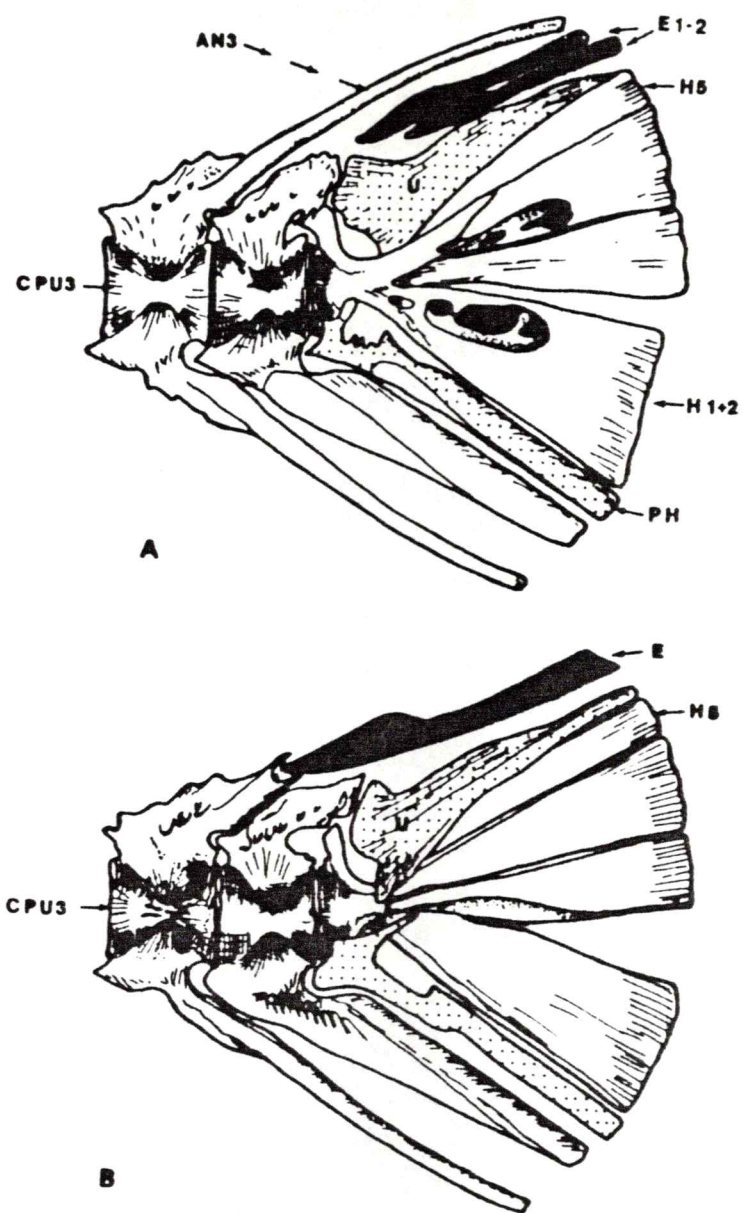


Figura 19. Estructura de la aleta caudal. A. *B. microlepidotus*. B. *B. australis* (AN, Arco neural; CPU, Centrum pleural; E, Epural; H, Hipural; Ph, Parhipural).

grande del complemento (1.6u). Este cromosoma apareció consistentemente tanto en machos como en hembras.

Para *B. microlepidotus* el número diploide modal es $2n=46$, mientras que para *B. australis* el número diploide es $2n=48$ (Tabla 22).

El cariotipo de *B. microlepidotus* (Figura 20; Tabla 23) está compuesto por 6 cromosomas metacéntricos pequeños, 7 submetacéntricos, 14 submetacéntricos - subteloecéntricos, 18 subteloecéntricos y 1 telocéntrico.

El cariotipo de *B. australis* (Figura 21; Tabla 23) está compuesto por dos pequeños cromosomas metacéntricos, 6 submetacéntricos, 2 submetacéntricos - subteloecéntricos, 30 subteloecéntricos y 8 acrocéntricos.

El número fundamental (NF) para *B. microlepidotus* y *B. australis* es de 91 y 88, respectivamente.

No se observaron cromosomas metacéntricos grandes que pudieran interpretarse como productos de fusión de 2 acrocéntricos (Uyeno y col., 1983). Tampoco se observó heteromorfismo sexual, en ninguna de las especies.

7. VARIABILIDAD GENÉTICA Y DISTANCIA EN *B. microlepidotus* y *B. australis*.

B. microlepidotus y *B. australis* no exhiben una variabilidad genética significativa, de acuerdo a lo

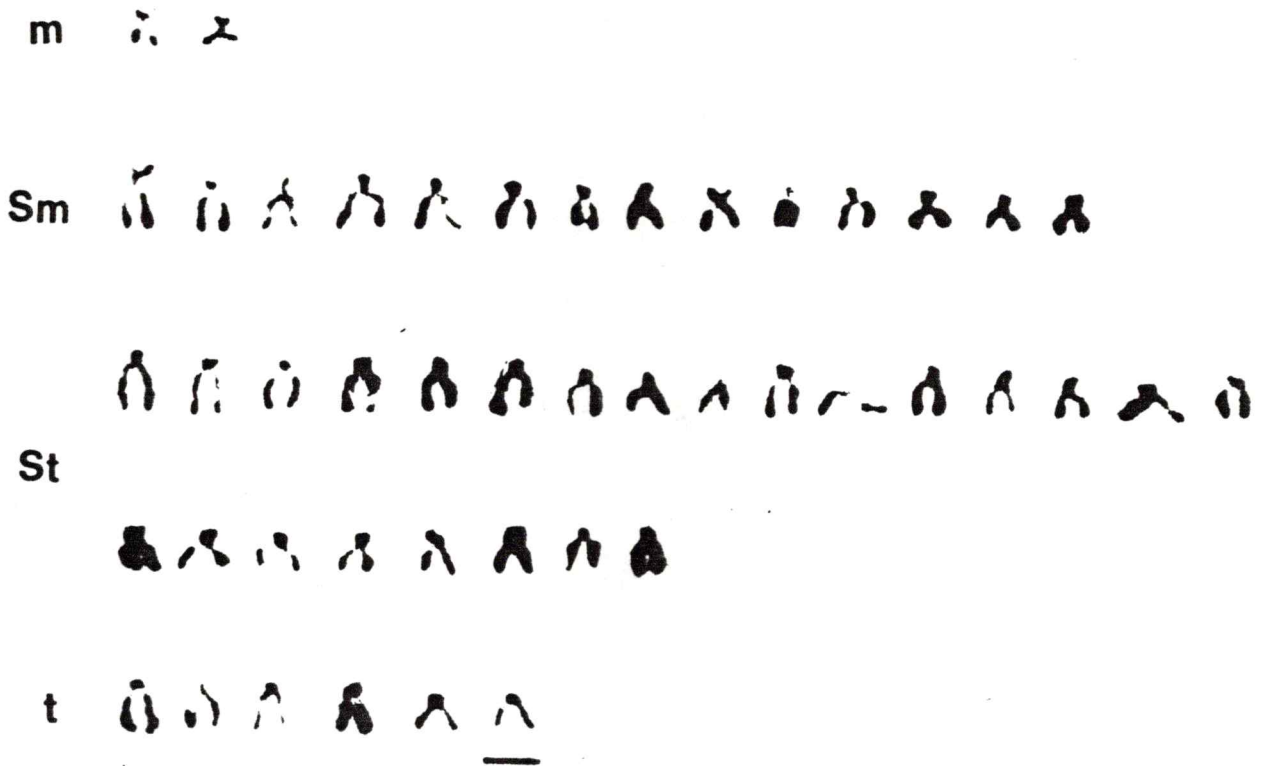


Figura 20. Cariotipo de *Basilichthys microlepidotus*. La barra representa 2 u.

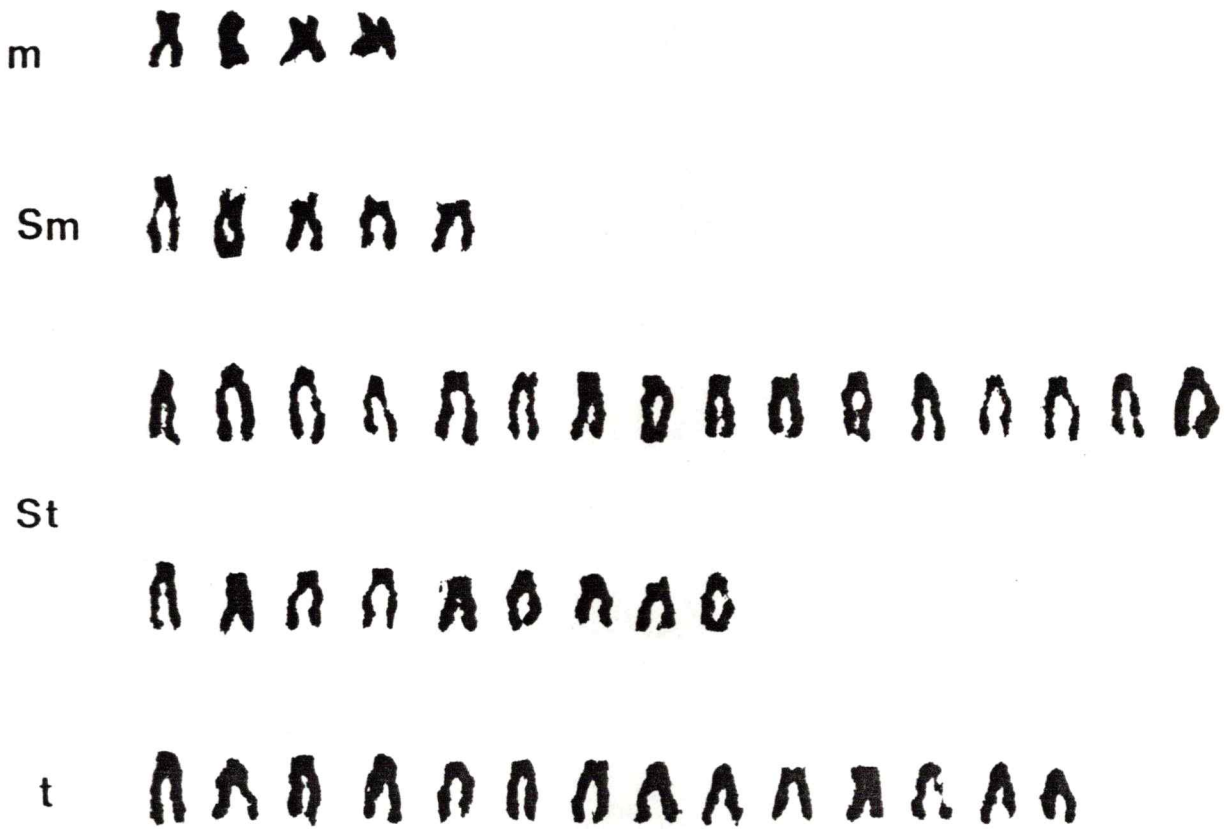


Figura 21. Cariotipo de *Basilichthys australis*.

TABLA 22

DISTRIBUCION DE LOS NUMEROS CROMOSOMICOS OBSERVADOS EN CELULAS DEL EPITELIO BRANQUIAL DE *B. microlepidotus* Y DE *B. australis*.

ESPECIE	N DE ESPECIMENES	N CROMOSOMICO						
		44	45	46	47	48	49	
<i>microlepidotus</i>	10	2	3	86	3	4	--	
<i>australis</i>	10	--	2	8	7	86	1	

TABLA 23

COMPOSICION CROMOSOMICA DE *B. microlepidotus* Y *B. australis*

SPECIES	2n	m	sm	smst	st	t
<i>B. microlepidotus</i>	46	6	7	14	18	1
<i>B. australis</i>	48	2	6	2	30	8

(m=metacéntrico; sm=submetacéntrico; smst=submetacéntrico-subtelocéntrico; t= telocéntrico).

revelado por el análisis de 32 loci estructurales (Tabla 2). La comparación interespecífica demostró que ambas especies son monomórficas para 28 loci y polimórficas para 5 loci.

7.1. LOCI MONOMORFICOS. En la figura 22 se señalan las migraciones electroforéticas relativas observadas para los loci monomórficos resueltos satisfactoriamente, en el análisis de 12 sistemas enzimáticos.

7.1.1 LACTATO DESHIDROGENASA. Esta enzima, involucrada en el metabolismo del lactato y del piruvato, representa uno de los sistemas enzimáticos mejor estudiados en peces. La enzima, para la cual se han encontrado 5 isoenzimas en vertebrados (Markert y Moller, 1959) posee una estructura cuaternaria de tipo tetramérica con un peso molecular de alrededor de 130.000 (Wilson y col., 1964), en donde las cuatro subunidades de la molécula pueden ser idénticas (homotetrámero) o diferentes (heterotetrámero). El número de genes descritos para teléosteos es de 3 (A, B, C), siendo activo este último, específicamente en la retina del ojo. Como puede observarse en la Figura 22, hemos detectado la presencia de estos tres loci, y en ambas especies están fijados para los mismos alelos.

7.1.2 L-GLICEROFOSFATO. Es una molécula dimérica controlada en peces por dos genes (Johnson y col., 1970; Engel y col., 1971; Utter y col., 1973; Allendorf y

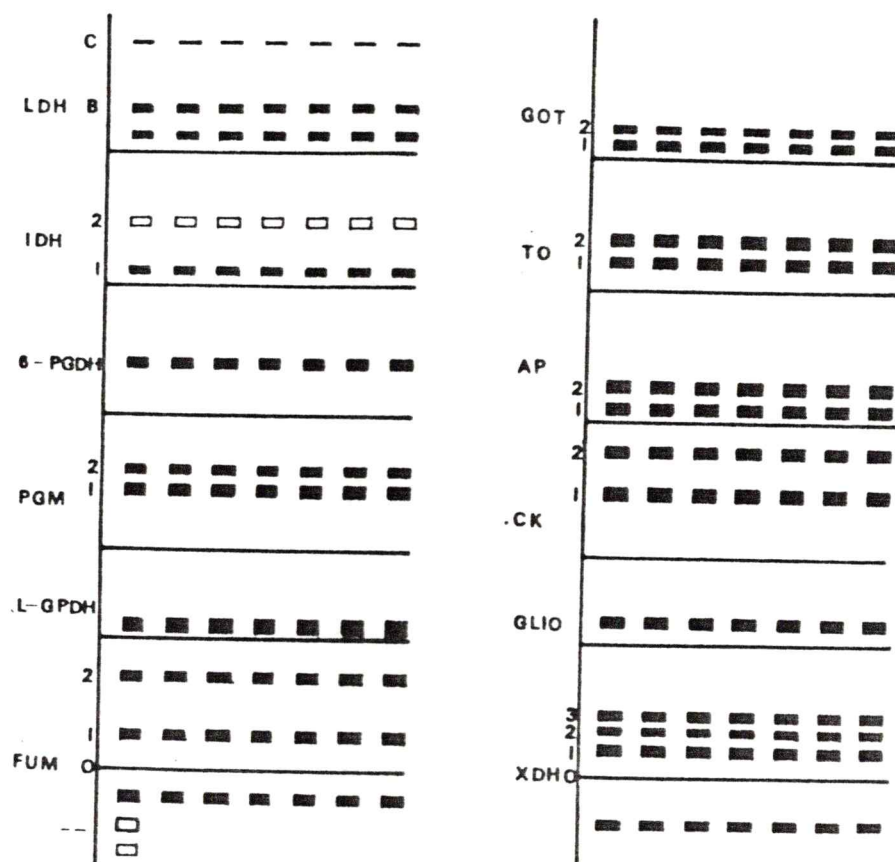


Figura 22. Esquema con las migraciones electroforéticas relativas para los loci monomórficos.

col., 1975; Busack y col., 1979. La interpretación de las figuras electroforéticas para esta enzima presenta ciertas dificultades las que, muchas veces hacen difícil reconocer el número de genes involucrados. Es así como para una misma especie (*Salmo gairdneri*) se postula el control de la enzima por un solo gen, el cual puede ser polimórfico (Utter y col., 1973) o por dos genes (Allendorf y col., 1975).

En el presente trabajo, tanto *B. microlepidotus* como *B. australis* presentan una amplia banda única, lo cual hace difícil resolver si el control es consecuencia de uno o dos genes. Hemos interpretado la presencia de esta banda como consecuencia del control por un sólo gen.

7.1.3. 6-FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA. Esta molécula de estructura cuaternaria dimérica tiene un peso molecular de 117.000 y, en vertebrados, está controlada por un gen único, situación que se evidencia en el gel de almidón por la presencia de una sola banda de migración anódica en el individuo homocigoto. En vertebrados, la existencia de más de una forma para esta enzima, se atribuye a duplicación génica, como ocurre, por ejemplo, en ciprínidos, en donde las especies tetraploides poseen dos genes independientes. Nuestros resultados (Fig. 22) concuerdan con la interpretación del control monogénico, ya que en todos los ejemplares de *Basilichthys* observados, la enzima migra

como una sola banda anódica, la cual representaría la presencia de un locus monomórfico único.

7.1.4. ISOCITRATO DESHIDROGENASA. Esta proteína de peso molecular de 75.000 existe como una forma que es dependiente de NAD (mitocondrial) y como dos formas que son dependientes de NADP (mitocondrial y citoplasmática). En general estas formas aparecen como dos bandas anódicas, cada una de las cuales representa un loci independiente (Engel y col., 1971).

En la Figura 22 se demuestra que el patrón electroforético observado en ambas especies es concordante con la hipótesis de un control debido a dos genes. En este caso ambos están fijados para un alelo.

7.1.5. GLUTAMATO OXALATO TRANSAMINASA. Dos loci controlan de manera independiente a dos proteínas de estructura dimérica, lo cual se expresa por la presencia de dos bandas en un gel de almidón, en el caso de los individuos homocigotos. En muchos casos, para el segundo loci (Got-2) se ha descrito una migración catódica, pero con un muy breve desplazamiento del origen.

El análisis del patrón de bandeo para esta enzima en *Basilichthys* señala la presencia de dos bandas de migración anódica, con la segunda muy cerca del origen. Sin embargo, es posible observar esta segunda banda con migración catódica muy leve, dependiendo del buffer usado.

Este cambio migracional observado como consecuencia del buffer utilizado es frecuentemente descrito.

7.1.6. FOSFOGLUCOMUTASA. Esta enzima de estructura cuaternaria monomérica presenta un peso molecular que varía entre 62.000 y 67.000 y puede estar controlada por 1, 2 o 3 genes. Esta enzima es variable en los peces (Roberts y col., 1969; Lush, 1969; Utter y Hodgins, 1970). Nuestras observaciones concuerdan con la hipótesis del control por dos loci independientes, según puede verse en la figura 22, en donde se señalan las dos bandas anódicas observadas. No concuerdan, sin embargo, con la variabilidad observada en otros peces.

7.1.7. OXIDASA DE TETRAZOLIUM. Esta enzima, que cataliza la transferencia de electrones desde colorantes de tetrazolium reducidos a oxígeno, se presenta en el gel de almidón acoplada a enzimas de tipo deshidrogenasas y aparece fácilmente distinguible por las bandas blancas que forma. La evidencia ancestral sugiere que la enzima estuvo originalmente controlada por un solo gen. Sin embargo, por duplicación génica es posible encontrar dos loci independientes (Cederbaum y Yoshida, 1972), los cuales dan cuenta de la presencia de dos bandas. Esta interpretación genética es válida para comprender el patrón de bandas observado (Fig. 22) para las especies en el presente estudio.

7.1.8. CREATINA KINASA. Esta enzima dimérica (Ferris y Whitt, 1978), muy abundante en el tejido muscular, posee un peso molecular que oscila entre 80.000 y 85.000 y presenta un patrón de bandas en geles de almidón que puede variar entre 2 a 4, lo cual ha dado origen a variadas interpretaciones genéticas. En el presente estudio, el patrón de bandeo observado en la Figura 22 corresponde a un control por dos genes independientes. Este modelo de control genético concuerda con lo observado para otras especies por Utter y col., (1973).

7.1.9. XANTINA DESHIDROGENASA.

Esta enzima se ha descrito como monomórfica para un loci resuelto en peces del género *Xiphophorus* (Morizot y Siciliano, 1984). Sin embargo, de acuerdo al patrón observado en la Figura 22, la enzima puede interpretarse como monomórfica para tres loci, dos de migración anódica y uno de migración catódica.

7.2. LOCI POLIMORFICOS

Cinco (15.6%) de los 32 loci son polimórficos. ADH es monomórfica en *B. microlepidotus*, mientras que en *B. australis* resultó polimórfica. Para PGI, el alelo 98, el cual aparece con una migración más anódica, no es compartido con *B. australis*. Sin embargo, su frecuencia

es muy baja ya que sólo se observó un heterocigoto en 40 individuos.

En la Tabla 24 aparecen las frecuencias alélicas para los loci polimórficos en *B. microlepidotus* y *B. australis* y a continuación se detallan brevemente cada uno de estos sistemas.

7.2.1. ESTERASA. Las esterasas son enzimas capaces de romper enlaces de tipo ester entre ácidos carboxílicos y naftol, y son generalmente divididas en 4 grupos (Manwell and Baker, 1970). Tanto las esterasas del suero como las de los tejidos son producidas por muchos loci. Para esta enzima se observaron 4 zonas de bandas. La banda más anódica (EST-4) resultó polimórfica, sin embargo, las bandas no pudieron resolverse claramente como para establecer los genotipos. La tercera zona anódica (EST-3) es polimórfica y presentó homocigotos de una banda y heterocigotos con dos bandas, situación que concuerda con su estructura monomérica y con un modo de herencia co-dominante (Ferguson, 1980).

7.2.2. FOSFOGLUCOSA ISOMERASA. Esta enzima cataliza la interconversión de glucosa - 6- fosfato y de fructosa - 6 - fosfato y su estructura cuaternaria es de tipo dimérica, siendo posible la formación de moléculas híbridas en los heterocigotos. PGI es considerada como una de las enzimas más variables en la familia de las enzimas glicolíticas.

TABLA 24

FRECUENCIAS ALELICAS PARA LOS LOCI POLIMORFICOS EN *B. microlepidotus* y
B. australis.

LOCUS ALELO	EST-4 100	108	MDH-2 100	108	PGI-2 100	110	98	ME-3 100	115
<i>microlepidotus</i>	0.95	0.05	0.97	0.03	0.90	0.03	0.07	0.93	
<i>australis</i>	1.00	0.00	0.97	0.03	1.00	0.00	0.00	0.95	
			0.07						
			0.05						

Dos loci fueron claramente resueltos (Fig.23 A), situación observada en muchos grupos de teleósteos, a excepción de algunos, en donde aparece un solo locus (Avisé y Kitto, 1973). El locus más anódico (GPI-3) es polimórfico y presenta heterocigotos con tres bandas claramente resueltas y homocigotos de una sola banda, lo cual está en correspondencia con lo observado para una enzima dimérica. La banda intermedia corresponde a una banda híbrida formada naturalmente.

7.2.3. DESHIDROGENASA MALICA. Esta enzima es un complejo isoenzimático representado por dos formas en vertebrados: una mitocondrial (MDH-1) y una citoplasmática (MDH-2). Ambas formas han sido aisladas y se sabe presentan una estructura dimérica, por lo tanto, después de realizar electroforesis en un material homocigoto generalmente se obtiene una banda. En los heterocigotos se observan tres bandas. Sin embargo, al estar presentes ambos loci en condición homocigótica el patrón de bandas característico es de 3, mientras que los heterocigotos aparecen de 6 bandas, como se señala en la figura 24, para *B. australis*.

7.2.4. ENZIMA MALICA. Para esta enzima se resolvieron claramente tres zonas de actividad (Fig.23 B). Los homocigotos aparecen con una banda discreta de actividad. Los heterocigotos aparecen con una banda de actividad

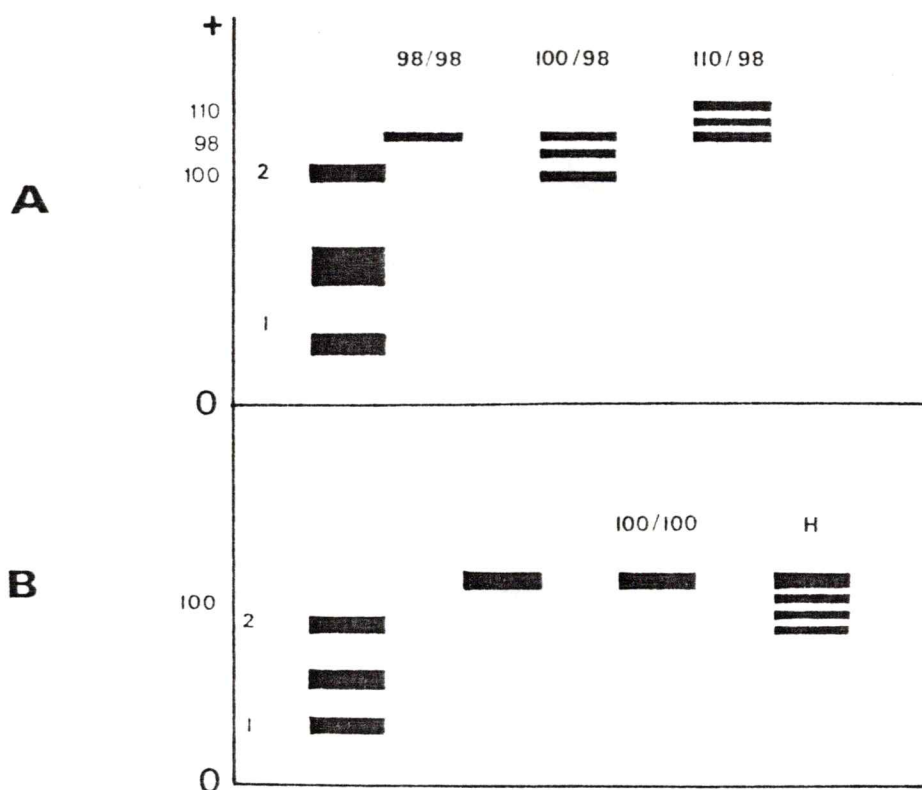


Figura 23. Esquema con las migraciones electroforéticas relativas para los loci polimórficos. A. Fosfoglucoasa isomerasa (PGI). B. Enzima málica (ME).

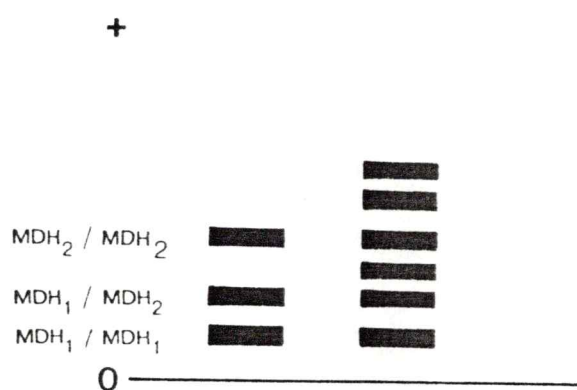


Figura 24. Esquema con la migración electroforética relativa observado en los heterocigotos para la enzima Malato deshidrogenasa (MDH).

marcadamente más gruesa.

7.2.5. ALCOHOL DESHIDROGENASA

La única zona de actividad claramente resuelta es de migración catódica. En el caso de *B. australis* presenta homocigotos de una sola banda y heterocigotos de tres bandas, situación que concuerda con su condición de enzima monomérica.

8. DIFERENCIACION GENETICA ENTRE *B. microlepidotus* y *B. australis*.

A partir de los datos de frecuencias alélicas para los sistemas polimórficos en ambas especies (Tabla 25), se calculó un valor de Identidad (I) de $0.999923 + 0.001549$ ($D = 0.000076$). Este valor es concordante con aquél señalado para poblaciones dentro de una especie y, por lo tanto, no está de acuerdo con las diferencias esperadas para dos buenas especies.

La heterocigocidad promedio por locus (H) es de 0.0339 para *B. microlepidotus* y de 0.01664 para *B. australis*.

Este valor fluctuó desde un mínimo de 0.06 en *B. microlepidotus* (ME-3) y de 0.07 en *B. australis*, hasta un máximo de 0.18 (*B. microlepidotus*) y de 0.13 (*B. australis*), observado para PGI, la enzima más variable.

La heterocigocidad promedio observada para el locus Me-3 fue de 0.18 en *B. microlepidotus* y de 0.09 para *B. australis*. Para el locus EST-4, se observó un valor de 0.088 para *B. microlepidotus*, mientras que para PGI-3 se observaron valores de 0.18 y 0.142 (*B. microlepidotus* y *B. australis*, respectivamente). Para el locus MDH-2 en *B. microlepidotus* se observa una heterocigocidad de 0.05 mientras que en *B. australis* este valor es de 0.038.

8.1. ANALISIS DE LA DIFERENCIACION GENETICA POR LOCUS POLIMORFICO

En las Tablas 25,26 y 27 se señalan las frecuencias alélicas para los loci polimórficos PGI-2, MDH-2 y EST-3, respectivamente. En cada caso se puede observar que las diferencias entre las localidades de ambas especies son mínimas. Por esta razón los dendrogramas construídos sobre la base de la matriz de distancia genética no tienen ninguna significación, ya que las distancias calculadas son muy bajas. De esta forma los grupos separados no son un aporte a la resolución taxonómica de ambas especies.

TABLA 25

FRECUENCIAS ALELICAS PARA EL LOCUS POLIMORFICO PGI-2.

	P O B L A C I O N*						
	1	2	3	4	5	6	7
	ALELOS						
100	0.93	0.89	1.00	0.96	1.00	1.00	0.93
110	0.02	0.03	0.00	0.04	0.00	0.00	0.07
98	0.05	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

* 1=Illapel; 2=Salamanca; 3=La Ligua; 4=Aconcagua; 5=Angostura; 6=Copequén;
7= Rapel.

TABLA 26
 FRECUENCIAS ALELICAS PARA EL LOCUS POLIMORFICO MDH-2.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11
 P O B L A C I O N *
 ALELOS

100 1.00 1.00 0.95 1.00 0.97 0.98 1.00 0.97 0.97 0.97 1.00 1.00 1.00
 108 0.00 0.00 0.05 0.00 0.03 0.02 0.00 0.03 0.03 0.03 0.00 0.00 0.00

* 1=Elqui; 2=Limarí; 3=Huentelauquén; 4=Recoleta; 5=Choapa; 6=La Ligua; 7=Aconcagua; 8=Angostura; 9=Copequén; 10=Cautín; 11=Riñihue.

TABLA 27
 FRECUENCIAS ALELICAS PARA EL LOCUS POLIMORFICO EST-3

ALELOS	1	2	3	4	5	6	7
100	0.95	1.00	0.95	1.00	1.00	1.00	1.00
108	0.05	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00

* 1=Choapa; 2=La Ligua; 3=Aconcagua; 4=Angostura; 5=Copequen; 6=Rapel; 7=Cautín.

DISCUSION

1. APORTE DEL ANALISIS MORFOLOGICO A LA DISTINCION DE *B. microlepidotus* y *B. australis*.

Basilichthys microlepidotus y *B. australis* son especies alopátricas con una supuesta zona de sobreposición (véase Cerisola y col., 1978 y Arratia, 1981) en el río Aconcagua, en donde serían alotópicas (Arratia, com.pers.). Considerando su distribución y en ausencia de datos directos sobre aislamiento reproductivo, se ha seguido el criterio de Wiley (1981) para confirmar el estatus específico de ambas. 1. Poblaciones separadas de ambas especies pueden ser claramente diferenciadas por el carácter escamas sobre la línea media del cuerpo y por el número cromosómico, lo cual está de acuerdo con el primer requerimiento señalado por Wiley. 2. El análisis multivariado permite separar, en grupos independientes, los especímenes de las localidades de ambas especies.

1.1. ESCAMAS SOBRE LA LINEA MEDIA DEL CUERPO.

El análisis de variación para el número de escamas sobre la línea media demostró que el carácter tiene valor taxonómico ya que muestra correspondencia con la distribución de las especies. A pesar de la sobreposición en los intervalos de variación, las poblaciones de cada especie son lo suficientemente homogéneas como para ser tratadas en conjunto como entidades independientes. Esta observación permite confirmar aquellas de Eigenmann (1927), Fowler (1945) y Duarte y col., (1977) y tiene la validez de considerar localidades que cubren una parte significativa de las áreas de distribución de ambas especies. Sin embargo, contradice aquellas que señalan que el número de escamas es un carácter altamente variable (Barlow, 1961; Kirpichnikov, 1981)

Dado que la selección natural es una de las fuerzas conductoras del proceso evolutivo, es posible suponer que ambas especies están bajo la acción diferencial de la selección natural para el número de escamas y para el tamaño de ellas, puesto que el carácter no está correlacionado (véase Tablas 6,7,8,9 en el Apéndice) con la longitud del pez.

Se desconocen antecedentes que permitan establecer el valor que pueda representar para las especies el tamaño de las

escamas. Sin embargo, con respecto al número de éstas debe señalarse que la constancia observada en cada especie demuestra que aquél es fuertemente regulado, situación que estaría de acuerdo con una de las predicciones de la hipótesis geográfica, la que señala que en ausencia de flujo génico (los sistemas hidrográficos considerados en el presente análisis están aislados) la cohesividad de la especie es mantenida por homeostásis genética.

Una breve reseña del hábitat de ambas especies podría contribuir a la interpretación de las diferencias observadas.

Descripción del hábitat. El ambiente de *B.*

microlepidotus comprende la IV y parte de la V región del país. Esta zona está conformada por cuatro valles principales, regados por sus respectivos ríos: Elqui, Limarí, Choapa y Aconcagua. Desde el punto de vista geológico corresponde a un geosinclinal andino (Jurásico y Cretácico inferior), salvo para los sedimentos fluviales recientes en los valles transversales y en las dioritas andinas de la parte costera.

El clima corresponde al de una región mediterránea árida (Di Castri y Hajek, 1976), caracterizada por un período seco que dura entre 8-9 meses, con 3-4 meses subhúmedos en invierno. La temperatura promedio en la costa es de 14.7°C (15.5 °C al interior), con un promedio de 18.3°C (24°C al

interior) para las máximas y de 11.5°C (8.5°C) para las mínimas. La pluviosidad promedio anual es de 115.0 mm., con una gran dispersión.

El principal factor de limitación climática, además de la aridez, es la extrema variabilidad anual de las lluvias.

Los suelos se definen como pardos cálcicos (Di Castri y Hajek, 1976).

La zona comprendida de Santiago al Sur se caracteriza por la presencia de sedimentos glaciares (Terciario superior y cuaternario). La diorita andina de la cordillera de la costa está flanqueada al oeste por sedimentos metamórficos (Precámbricos).

El clima es mediterráneo-húmedo (Santiago-Temuco) y mediterráneo-perhúmedo con influencias oceánicas (Valdivia al Sur). Se caracteriza por tener 4 a 5 meses de invierno con temperaturas promedios inferior a 10°C. La temperatura promedio anual es de 12.7°C (\bar{x} máxima= 18.5°C; \bar{x} mínima= 6.7 °C). La humedad relativa es de 76% y la pluviosidad de 1300 mm.

El suelo es de transición pardo-acálcico con laterita a pardo rojizo. Existen, además, suelos volcánicos con sustrato piroclástico ("Trumao").

La interpretación del número de escamas es difícil, puesto que son múltiples los factores que pueden influir. Sin embargo, el aumento en el número de escamas observado desde

Santiago al Sur puede estar correlacionado con una disminución en la temperatura del agua, como también con una disminución en la cantidad de sólidos disueltos. La temperatura en el río Choapa, por ejemplo, varía entre entre 12 °C y 27 °C (promedio, 16.6 °C), mientras que en el río Cautín oscila entre 7.8 °C y 19 °C, con un promedio de 11.08 °C (I. Vila, com. pers.).

Con respecto a los sólidos disueltos, las aguas del Sur son blandas (de baja conductividad), mientras que de Santiago al norte se observa un incremento en la dureza (aumenta la conductividad). Por ejemplo, en el río Cautín la conductividad oscila entre 43.7 y 72.7 microsiemens (ms.), mientras que en Santiago (río Maipo) es de 700 ms. y en el río Camarones, extremo norte, los valores oscilan entre 3180-5030 ms. (H. Campos, com. pers.).

De esta forma, se puede establecer dos zonas con respecto a la temperatura y a la conductividad del agua. Una de Santiago al Sur y la otra de Santiago al Norte, siendo la divergencia en conductividad del agua la característica más dramática. Con respecto a ésta, en un espacio aproximado de 1200 Km. se puede distinguir incluso una tercera zona, lo que permitiría explicar la separación de una probable tercera especie. Esta es *B. archeus*, la que se encontraría al Sur de Iquique (Campos, 1984). Aunque es razonable atribuir el incremento en conductividad de las

aguas hacia el norte a la mayor cantidad de sales disueltas, producto de la desertificación del terreno, la causa de estas notorias discontinuidades no están del todo claras y dejan en evidencia la necesidad de profundizar en el estudio de las características fisicoquímicas del agua, con el propósito de entender las barreras naturales entre las especies.

La correlación positiva entre los caracteres merísticos y la distribución geográfica (Barlow, 1961; Fowler, 1970) observada para el hemisferio norte, se invierte para *B. microlepidotus* y *B. australis*. Es decir, los miembros de la especie con distribución norte (*B. microlepidotus*) exhiben un menor número de elementos merísticos (número de escamas sobre la línea media del cuerpo y número de vertebras) que aquellos de la especie que tiene distribución hacia el Sur (*B. australis*).

Es posible que la relación entre la latitud y el número de elementos merísticos pueda ser resultado de la correlación observada entre el número de elementos y el tamaño del pez (Angus y Schultz, 1983), debido a que, en general, los peces que se distribuyen hacia el norte son de mayor tamaño. Sin embargo, en algunos ejemplos de gradientes latitudinales se ha observado (Lindsay, 1975) que, aún cuando el efecto de la longitud sea removido, la gradiente persiste.

En el caso de las especies *B. microlepidotus* y *B. australis* se observó que el número de escamas sobre la línea media del cuerpo está negativamente correlacionado con el tamaño del pez, lo que indicaría de acuerdo a Barlow (1961) que los peces han pasado el tamaño crítico hasta el cual los elementos merísticos aún crecen y, por lo tanto, se correlacionan fuertemente con el largo total.

El número de escamas sobre la línea media del cuerpo se podría utilizar como un estimador de forma, puesto que cumple con el requisito de ser independiente del tamaño (Mossiman y James, 1979).

1.2. NUMERO DE VERTEBRAS.

La correlación negativa observada entre la temperatura del agua y el número promedio de vértebras es concordante con las diferencias observadas en *B. microlepidotus* y *B. australis*. Aunque la comparación consideró sólo dos localidades distantes, el mayor número de vértebras observado para *B. australis* puede ser atribuído, como se mencionó anteriormente, a la menor temperatura del agua desde Santiago al Sur y, probablemente, a la disminución de los sólidos disueltos en el agua. Sin embargo, estos hechos no permiten descartar diferencias genéticas menores. Más aún, tanto el número de escamas, como el número de

vértebras y el de rayos en las aletas están sometidos a control poligenético (Barlow, 1961; Kirpichnikov, 1981; Tave, 1983; Angus y Schultz, 1983). Esto significa que estos caracteres están sujetos a la acción de la selección natural y de las posibles respuestas a ella pueden derivarse variadas alternativas evolutivas. Estas pueden estar acopladas a razones históricas como, por ejemplo, al tiempo de divergencia de cada sistema hidrográfico.

Las diferencias insinuadas entre ambas especies con respecto al número de vértebras caudales y número de rayos en las aletas podría tener importancia adaptativa, puesto que ambos tipos de caracteres pueden estar implicados funcionalmente con el patrón de natación del pez.

De manera similar a lo que ocurre con el número de escamas sobre la línea media y el número de vértebras, el control genético para el número de rayos es poligenético y una variación baja para este carácter se observa en peces de movimiento rápido y que viven en cuerpos de agua con mucha corriente. Como ha señalado Kirpichnikov (1981), los genes que controlan la estructura de las aletas representan intrincados componentes en redes genéticas complejas que pueden incluso afectar el curso total del desarrollo de un pez. Por ejemplo, se han descrito casos en donde, como consecuencia de un proceso intenso de selección se han producido alteraciones a nivel de la gónada, lo que indica

que la acción de estos genes puede conducir al aislamiento reproductivo.

1.3. ANALISIS MORFOMETRICO MULTIVARIADO.

El análisis morfométrico multivariado demostró que, a pesar de que ambas especies "difícilmente pueden separarse" (Eigenmann, 1927: 15), la diferenciación morfológica es evidente, especialmente en lo que se refiere a posición y tamaño de las aletas, altura del cuerpo, estructura de la cabeza y diámetro del ojo. Estas características, en algunos casos, se han descrito asociadas a actividades ecológicas. Por ejemplo, Chernoff y Miller (1982) observaron que la diferencia en el tamaño del ojo, que caracterizaba a dos especies de Aterínidos de México, se correlacionaba con el tipo de alimento.

Esta observación, mirada desde una perspectiva diferente, estaría de acuerdo con los resultados presentados en este trabajo que demuestran que el número de dientes en el arco branquial es mayor para *B. australis* (203 vs 112).

El número de dientes branquiales es considerado un buen indicador de diferencias tróficas entre dos especies (Larson, 1976), ya que estas proyecciones óseas, unidas por tejido conjuntivo a cada arco branquial y dispuestas en filas anteriores y posteriores sobre ellos, formando

verdaderos "rastrillos", evitan que las partículas abandonen la cavidad bucofaríngea. El espacio que queda entre los "rastrillos" determina el tamaño máximo de las partículas que pueden escapar de la cavidad bucofaríngea.

En un análisis de componentes principales en 5 especies del género *Cheirodon*, Campos (1982) atribuye las diferencias observadas en los caracteres morfométricos relacionados con la cabeza, a adaptaciones para coger el alimento.

Es necesario señalar la importancia que tiene la utilización de los métodos multivariados, ya que este tipo de análisis ha sido especialmente diseñado para analizar conjuntos de variables correlacionadas. Tradicionalmente las comparaciones han considerado proporciones corporales, las cuales han sido recientemente criticadas (Humphries y col., 1981). Este método presenta dificultades estadísticas y conceptuales que pueden afectar seriamente las conclusiones. Se ha demostrado, por ejemplo, que las proporciones pueden tener un comportamiento anómalo, dependiendo de la correlación observada entre el numerador y el denominador, que las proporciones no son necesariamente independientes del denominador y que su uso puede alterar la estructura de la matriz de covarianza.

El problema básico en el análisis morfológico es decidir qué porcentaje de la diferenciación es consecuencia del

tamaño y cuánto es consecuencia de la forma. Separar ambos factores ha significado un desarrollo interesante de técnicas. Sin embargo, es un hecho de que el tamaño puede ser un componente significativo en el análisis de las diferencias entre grupos (Gould, 1977; Wiley, 1981) y por lo tanto, no debería ser automáticamente excluído en un estudio (Humphries, 1981).

El tamaño es una de las diferencias importantes entre *B. microlepidotus* y *B. australis*, lo que queda en evidencia al observar los coeficientes de correlación entre el primer componente principal (indicador de tamaño, según Humphries y col., 1981) y la variable longitud estándar. La mayor parte de las variables representan el efecto de este factor, situación que es importante para la elección de variables en el diseño de futuros trabajos.

Al considerar la muestra utilizada por Eigenmann (1927: 59) en su trabajo sobre las dos especies de *Basilichthys*, se puede observar que *B. microlepidotus* presenta un tamaño promedio menor (170.0 mm.) en relación a *B. australis* (208.3 mm.). Concordantemente, Vila y col. (1981) y Vila y col. (1984) señalan que *B. microlepidotus* alcanza su madurez sexual a una talla menor que *B. australis*. Sin embargo, esta comparación no puede considerarse absoluta debido a que los datos de *B. australis* corresponden a observaciones realizadas en

el lago Rapel, en donde posiblemente otros factores están influenciando el tamaño.

Debido a que existe evidencia que demuestra que el tamaño de un pez está controlado genéticamente (Mc Phail, 1977), las diferencias observadas pueden considerarse consecuencia de la evolución de sistemas genéticos independientes.

El análisis de componentes principales no presume la existencia de grupos y de esta manera permite su descubrimiento, transformándose en una herramienta de demostración, fácilmente interpretable. Este tipo de análisis, evaluado en conjunto con la técnica de conglomerados y el análisis discriminante multivariado, es un aporte interesante y, para el caso particular de las especies consideradas en este trabajo, permite confirmar la hipótesis primariamente formulada sobre comparaciones de caracteres univariados, de que ambas especies son morfológicamente disímiles.

El conjunto de datos analizados en este trabajo permiten concluir que es posible separar a ambas especies sin necesidad de recurrir al recurso de la distribución geográfica. A pesar de la variabilidad morfológica, la que puede ser consecuencia de la variación geográfica, no es posible señalar que las diferencias entre ambas especies corresponden a variación ecofenotípica. Esta conclusión se ve reforzada al observar que en la zona de Aconcagua no

existen signos de intergradación como lo demuestra el análisis de variación para el número de escamas, la correspondencia en la agrupación de las localidades de cada especie en el análisis de conglomerados y la mayor divergencia morfológica que se observa hacia los extremos del área de distribución de cada una de las especies.

Si de acuerdo a Kirpichnikov (1981) aceptamos la evidencia que indica que la variabilidad morfológica está en relación directa con el tipo de ambiente que habita el pez, de manera que aquellos que habitan ambientes más homogéneos y de aguas tranquilas, son más variables que aquellos enfrentados a la rigurosidad de aguas tormentosas, debemos aceptar que los ambientes de *B. microlepidotus* y de *B. australis* son poco diversos en términos de hábitats, situación que podría concordar con la baja diversidad de especies que en general se observa para las aguas continentales de Chile (Eigenmann, 1927; Campos, 1973).

2. DIVERGENCIA CARIOTÍPICA

La caracterización de los cromosomas en *B. microlepidotus* y *B. australis* es de interés particular para este trabajo, puesto que las diferencias cromosómicas observadas en especies relacionadas, han sido interpretadas como el nexo causal entre la formación de

éstas y el desarrollo de aislamiento reproductivo (White, 1978; Kornfield, 1984).

El mecanismo posible, mencionado anteriormente, involucra la fijación de mutaciones (o rearrreglos) cromosómicos, los cuales derivarían en el desarrollo de mecanismos de aislamiento reproductivo, producto de fuertes presiones selectivas sobre los individuos F1 (Heterosis negativa) portadores de cariotipos heterocigotos (Templeton, 1980; Carson y Templeton, 1984). A pesar de que este tipo de mecanismo está involucrado en alrededor de un 90% de los sucesos que conducen a la formación de nuevas especies (White, 1978), existen críticas en su contra, derivadas del hecho de que éste parece ser propio de los mamíferos (Kornfield, 1984) y no de otros vertebrados.

El número diploide que aparece consistentemente en el orden Atheriniformes es de 48 cromosomas (Chiarelli y Capanna, 1973; Kirchpichnikov, 1981). Por ejemplo, $2n=48$ se observa en miembros de la familia *Hemiramphidae*, en algunos *Cyprinodontidae* y específicamente en algunos géneros al interior de la familia *Atherinidae* como *Menidia* y *Melanotaenia*.

La información cromosómica disponible, tanto para los *Atherinidae* como para grupos relacionados, permite considerar el cariotipo de *B. australis* como primitivo o ancestral, mientras que el de *B. microlepidotus* como

derivado. El hecho de que ambas especies no presenten cromosomas sexuales es consistente con la condición de cariotipo primitivo (Ohno, 1974). Como ha sido sugerido para anuros (Bogart, 1970) y para peces (Uyeno y col., 1983), la reducción en el número cromosómico es característica de la especialización cariológica. De tal manera que debe considerarse al cariotipo de *B. microlepidotus* como un estado más especializado.

El mecanismo involucrado en la reducción del número cromosómico está lejos de ser dilucidado en el presente análisis, ya que no se observaron cromosomas metacéntricos de tamaño grande, que pudieran ser interpretados como productos de fusión. Sin embargo, la presencia en *B. microlepidotus* de un único cromosoma submetacéntrico, el más grande del set, podría indicar que la reducción en el número cromosómico sería consecuencia de un proceso de fusión Robertsoniana, de la misma forma como se ha descrito para otras especies (Uyeno y col., 1983).

3. DIFERENCIACION ELECTROFORETICA.

Sería razonable predecir que los genomas de *B. microlepidotus* y de *B. australis* deberían contener una gran proporción de loci distintivos. Las diferencias morfológicas, merísticas y cromosómicas parecen indicar la

existencia de presiones selectivas diferentes sobre ambas especies. La posibilidad de ocurrencia de procesos estocásticos, asociados a fluctuaciones importantes en el tamaño poblacional, y el aislamiento geográfico (ausencia de flujo génico) podrían completar el cuadro que de respaldo a esta predicción. Sin embargo, la similitud electroforética observada entre ambas especies no está de acuerdo con lo esperado para dos buenas especies alopátricas. Entre los vertebrados estudiados, los valores observados para estas especies caen dentro de aquellos observados para poblaciones conespecíficas, cuando la mayoría de los estudios de diferenciación interespecífica entre vertebrados congénicos muestran identidades genéticas entre 0.54 y 0.74 (Ferguson, 1980: 98). Esta observación contradice las predicciones de la hipótesis nula (especiación geográfica), especialmente en lo que se refiere a observar un cambio genético importante, el cual debería traducirse en valores de identidad genética bajos o valores de distancia correspondientemente altos. También es particularmente importante considerar que las especies en cuestión se distribuyen con separación geográfica, situación única -de acuerdo a la hipótesis geográfica- en donde se puede organizar un nuevo acervo de genes.

La técnica de análisis electroforético es una herramienta importante para establecer la extensión de los reservorios

de variabilidad genética en las poblaciones naturales, como también para establecer relaciones sistemáticas entre taxas relacionados (Avice, 1974; Buth, 1981). Sin embargo, se sabe que la técnica no permite detectar toda la variación alélica disponible en un locus. Por razones prácticas se ha asumido que sólo es posible detectar un 30% de la variación en una proteína promedio (Selander y Whittam, 1983), estimación que está basada en la frecuencia de sustituciones al azar que alteran la carga de los aminoácidos. Lo esperable es suponer que la proporción de variación determinada para un locus, pudiera variar drásticamente.

4. DIFERENCIACION ELECTROFORETICA VS. DIFERENCIACION MORFOLOGICA

La pregunta básica: ¿Han evolucionado de manera concordante los caracteres morfológicos y los aloenzimáticos? tiene una respuesta negativa para el caso de las especies *B. microlepidotus* y *B. australis*. La similaridad genética observada para ambas especies contrasta marcadamente con las diferencias morfológicas. Este hecho mueve a tres explicaciones. Primero. Es posible que la porción del genoma muestreada por la técnica de electroforesis no sea representativa del genotipo total.

Esto significa que los genes estructurales o reguladores que codifican para caracteres morfológicos podrían haber evolucionado sin un cambio concordante en la porción del genoma examinado por electroforesis (Turner y col., 1979). Segundo. Las diferencias resultantes no reflejarían el efecto de la selección natural sino que el paso del tiempo (Wilson y col., 1977); Selander, 1982. De esta forma, *B. microlepidotus* y *B. australis* serían similares genéticamente dado que son especies recientes. Esta premisa podría cumplirse siempre que la variación isozímica fuera consecuencia de sustituciones aminoacídicas neutrales. Tercero. Cambios genéticos muy pequeños podrían traducirse en grandes cambios morfológicos, lo cual implicaría que los caracteres morfológicos y protéicos podrían evolucionar de manera independiente.

4.1. GENES ESTRUCTURALES Y MECANISMOS REGULADORES

Los estudios actuales sobre proteínas examinan alrededor de un 0.1% de todos los genes estructurales y, por tal razón, es posible suponer que aquellos genes responsables de la evolución de un organismo, si es que estuvieran en los de tipo estructural, podrían no ser detectados de acuerdo a los estudios bioquímicos.

Algunos autores han sugerido que los cambios en los

mecanismos de regulación de los loci estructurales puede ser de mayor significación que los cambios en las mismas enzimas (Wilson, 1976). Diferencias entre la velocidad de cambio en un gen estructural y la velocidad de cambio en fenotipos que tienen importancia adaptativa pueden ser consecuencia de regulación génica. Sin embargo, se requiere encontrar variación genética intraespecífica en el control de los genes estructurales para explorar el significado adaptativo de la regulación génica.

Los polimorfismos enzimáticos detectados por la técnica electroforética corresponden a aquellos pertenecientes al sistema genético abierto de Carson (1975). Los genes en esta categoría actúan de manera independiente y, generalmente tienden a tener efectos triviales, dado a que sus efectos epistáticos son mínimos. Sin embargo, para Carson existen otro tipo de genes, aquellos pertenecientes a un sistema genético cerrado, los que permanecen invariablemente asociados en un segmento cromosómico, cuyos efectos son epistáticos. A esta categoría de genes pertenecen aquellos que regulan el desarrollo, rasgos morfológicos y merísticos, historias de vida y la adaptación ecológica. Estos genes contribuyen al fenotipo con efectos pequeños pero de carácter aditivo y no dependen, por lo tanto, de combinaciones alélicas específicas, como ocurre con la mayoría de los genes

estructurales.

En atención a los antecedentes presentados es posible suponer que las diferencias entre las especies *B. microlepidotus* y *B. australis* sean consecuencia de un puñado de genes de acción cuantitativa y que su efecto sea obvio a través de rasgos merísticos, morfológicos o a través de diferencias ecológicas. (Transiliencia genética de Templeton, 1980). Se sabe que muchas características morfológicas y merísticas son de control poligenético. Es probable que, por imposiciones genéticas debidas a fenómenos como el efecto fundador, unos pocos genes manifiesten fuertes efectos pleiotrópicos, los que pueden tener consecuencias significativas sobre la viabilidad de un organismo. Estas condiciones extremas pueden darse en la naturaleza como consecuencia de la disminución drástica de la población (efecto cuello de botella), a las que generalmente están expuestas las poblaciones de peces. Por ejemplo, las fluctuaciones en el nivel de los cauces son frecuentes. Estas condiciones evidentemente representan oportunidades para una alta endogamia y para la expresión y fijación de características nuevas.

Tal como lo sugiere la hipótesis alopátrica, el genotipo de un individuo representa un complejo coadaptado de genes, lo que significa que la posición de los genes sobre el cromosoma tiene efectos importantes en la regulación

génica. Por tal motivo, el cambio en el número cromosómico (probablemente por un mecanismo de fusión) en las especies consideradas en el presente trabajo, y el cambio en la morfología de los cromosomas pueden actuar como barreras de esterilidad debido al apareamiento incorrecto de los heterocigotos durante la meiosis (White, 1978; Templeton, 1980). La fijación de mutaciones cromosómicas, como fusiones que producen un cambio en el número diploide de cromosomas, puede conducir de manera rápida al aislamiento reproductivo, situación descrita por White (1978). En estas circunstancias, las diferencias genéticas esperadas entre las especies en cuestión es baja.

Es posible sostener la hipótesis cromosómica puesto que la fijación de mutaciones cromosómicas se hace muy probable cuando se producen disminuciones drásticas del tamaño poblacional (Templeton, 1980; Carson y Templeton, 1984).

Los antecedentes geológicos son importantes al considerar la especiación rápida y los probables factores que inducen la reorganización genética en las poblaciones naturales.

B. microlepidotus y *B. australis* podrían haberse originado por colonización desde el océano, de acuerdo a lo sugerido por Eigenmann, (1927). Ambas especies representan a los Aterínidos de agua dulce de más antigüedad en Chile. De ser esta hipótesis válida, su divergencia genética debe remontarse a una época aproximada entre el fin del período

secundario y comienzos del cuaternario, tiempo estimado para la formación de la Cordillera de los Andes. El origen y posterior aislamiento de la mayoría de los sistemas hidrográficos en Chile está acoplado a este proceso (Cecioni, 1970). Entre los períodos mencionados se consolidó el panorama geológico actual. Sin embargo, la última glaciación, que se estima terminó alrededor de 25.000 años, determinó que ambas especies se contactaran de nuevo, probablemente con imposición de nuevas condiciones genéticas, como consecuencia de sucesivos eventos fundadores.

En muchos casos se ha argumentado que las poblaciones de agua dulce de sistemas separados se podrían haber derivado independientemente de poblaciones marinas después de la desglaciación de los hábitats. De acuerdo a esto, sería razonable asumir que las poblaciones de agua dulce representan el término de líneas que originalmente compartieron características con las poblaciones marinas.

4.2. RELOJ MOLECULAR.

Mayr (1984: 3) propone, para contrarrestar la evidencia de que el estudio de alozimas no tendría un papel significativo en el proceso de especiación, que "la cantidad de diferencias aloenzimáticas entre dos especies

es una indicación gruesa del tiempo transcurrido desde que ambas líneas filéticas se separaron". De tal manera que en grupos de especiación rápida es perfectamente posible el desarrollo de mecanismos de aislamiento sin que existan diferencias electroforéticas. Esta observación necesariamente conduce al concepto de reloj molecular, que es una predicción de la hipótesis de neutralidad de la evolución molecular. Bajo esta hipótesis, la tasa de evolución de proteínas en un gran período de tiempo iguala a la tasa de mutación, la cual produce sustituciones aminoacídicas selectivamente equivalentes en las proteínas (Nei, 1975). Se sabe que muchas sustituciones aminoacídicas son selectivamente neutrales, lo cual obviamente contrasta con la naturaleza saltatoria de los cambios morfológicos. Es obvio que estudiar fenómenos temporales usando marcadores protéicos implica considerar una serie de factores que son importantes, como es el grado de variación observado para diferentes proteínas. Existen aquellas que son muy variables, como por ejemplo las esterasas, cuya variación está en relación al número de sustratos con los cuales puede reaccionar (variado en este caso). Otro factor importante en el grado de variación observado en una proteína es su estructura cuaternaria (Ward, 1977) y el tamaño de las subunidades (Ward, 1978)

Aunque la medida de distancia de Nei (1972) permite

calcular un tiempo de divergencia de 400.000 años para *B. microlepidotus* y *B. australis*, la precisión de este cálculo es relativa (véase Wilson y col., 1977). El primer requerimiento es disponer de algunas medidas de tiempo externas, por ejemplo, tiempo de divergencia para las dos especies estimado por el registro fósil o por información geológica.

4.3 CAMBIOS GENETICOS PEQUEÑOS Y SU CONTRAPARTIDA MORFOLOGICA.

Los antecedentes bibliográficos y los resultados de este trabajo parecen indicar que los principales cambios adaptativos no han resultado de la acumulación de cambios en las aloenzimas y otros loci que codifican para proteínas. Es decir el proceso no puede explicarse en términos de cambio en las frecuencias génicas en loci polimórficos, lo cual contradice una de las predicciones del modelo alopátrico. Algunos autores han considerado que esta falta de relación es indicadora de la acción de los genes reguladores y que, por lo tanto, el proceso de especiación dependería fuertemente de su acción. La posición sostenida en este trabajo, al asignar un papel importante a aquellos genes del sistema cerrado de Carson, concuerda con esa afirmación.

No se pretende hacer un análisis exhaustivo del problema de los loci reguladores. Sin embargo, después de una interesante revisión sobre el problema, Mac Donald (1983:93) ha llegado a la siguiente conclusión: Aquellos loci que son obviamente variables (los detectados por electroforesis) en las poblaciones naturales no parecen tener importancia en la ocurrencia de los principales cambios adaptativos (para un punto de vista alternativo, véase Koehn y col., 1983). Sin embargo, aquellos loci que aparentemente sí lo tienen (los genes reguladores) no son variables dentro de las poblaciones naturales.

Entonces, si el material genético necesario para los principales cambios adaptativos no está, aparentemente, presente en el pool genético de las especies, ¿dónde está?

Atendiendo a la organización del material hereditario en los organismos eucarióticos, es razonable buscar la respuesta en la gran heterogeneidad observada en las secuencias nucleotídicas. Estas secuencias son altamente variables tanto al interior de una especie como entre especies y pueden dar cuenta de cambios genéticos muy rápidos y de gran significado adaptativo. Por ejemplo, Flavell (1982) encontró una correlación bastante alta entre familias heterogéneas de DNA repetido entre especies y la reducción en la formación de quiasmas en híbridos F1. Estos resultados, obtenidos en plantas, junto a otros (Brown y

Dover, 1981; Dover y col., 1981) demuestran que la restructuración genómica puede jugar un importante rol en el establecimiento de aislamiento reproductivo "de novo" en los eucariotes superiores.

Por otra parte, la presencia de elementos transponibles en eucariotes plantea severas dudas respecto de los mecanismos genéticos involucrados en la diferenciación interespecífica. Los transposones son sustrato para la ocurrencia de deleciones o pérdida de sectores de información y con mucha razón Rose y Doolittle (1983) señalan que como consecuencia de un simple acto de transposición se puede desarrollar una "enfermedad" (incompatibilidad) genómica. Este modo potencial de evolución, aparte de depender de elementos transponibles, puede tener efectos en procesos como entrecruzamientos desiguales y conversión génica (Slatkin, 1985).

El proceso de especiación es motivo de activa investigación y discusión en la actualidad. Por tal motivo, se hace cada vez más imperioso realizar estudios comparativos de especies relacionadas, tanto de distribución alopátrida como simpátrida con el propósito de establecer un modelo general (Mayr, 1984).

Este trabajo se suma a aquellos que sugieren que los loci estructurales detectados por electroforésis son marcadores insensibles al proceso de especiación y a los que indican

que los cambios genéticos involucrados en el proceso son menores. Sin embargo, esto no significa rechazar la predicción del modelo alópatrico, en el sentido que gran parte del genoma podría estar comprometido.

De acuerdo a Carson (1975), los genes del sistema abierto tendrían efectos pequeños sobre la viabilidad. Los genes del sistema cerrado, en cambio, la afectarían significativamente, ya que actuarían como complejos de genes balanceados internamente. Siendo así, cualquier rearrreglo sería rápidamente eliminado por la selección natural. Estos complejos varían interespecíficamente y no intraespecíficamente y el fenómeno de especiación ocurriría, de acuerdo a Carson, como consecuencia del rearrreglo experimentado por los sistemas coadaptados de genes.

La viabilidad de las especies depende de la estabilidad de los sistemas coadaptados de genes y éstos son aparentemente estables, como lo demuestran Morizot y Siciliano (1984). Sin embargo, son aún muy pocos los grupos de peces en donde se tiene información de este tipo. En el futuro se hace necesario incrementar los estudios de ligamiento con el propósito de verificar directamente la hipótesis nula de estabilidad de los sistemas.

De acuerdo a los resultados presentados en este trabajo, una forma de proteger los sistemas coadaptados de genes

podría ser el monomorfismo observado en los sistemas enzimáticos investigados. Así, el proceso de especiación ocurriría como consecuencia de cambios cualitativos en aquellas partes monomórficas del genoma, lo que se vería especialmente facilitado por la fijación de alteraciones cromosómicas (Althukov, 1982). La diferenciación a nivel de los loci monomórficos haría el proceso saltatorio, y no continuo, lo cual permitiría explicar la falta de relación entre los cambios morfológicos y genéticos observados.

BIBLIOGRAFIA

- ALTHUKOV, Y.P. 1982. Biochemical population genetics and speciation. *Evolution*, 36(2): 1168-1181.
- ALLENDORF, F.W. y UTTER, F.M. 1976. Gene duplication in the family *Salmonidae*. III. Linkage between two duplicated loci coding for aspartate amino transferase in the Cutthroat trout (*Salmo clarki*). *Hereditas*, 82: 19-24.
- ALLENDORF, F.W. y UTTER, F.M. 1979. Population genetics, En "Fish Physiology", Vol. 8. Hoar, W.S., Randall, D.J. y Brett, J.R., Eds. pp 407-454. Academic Press, New York.
- ALLENDORF, F.W., UTTER, F.M. y MAY, B.P. 1975. Gene duplication within the family *Salmonidae*. II. Detection and determination of the genetic control of duplicate loci through inheritance studies and the examination of populations. En "Isozymes". Vol IV. pp. 415-432. Academic Press, New York.
- ALLENDORF, F.W., RYMAN, N., STENNEK, A. y STAHL, G. 1976. Genetic variation in Scandinavian brown trout (*Salmo trutta* L.): evidence of distinct sympatric populations. *Hereditas*, 83(1): 73-82.
- ANGUS, R.A. Y SCHULTZ, R.J. 1983. Meristic variation in homozygous and heterozygous fish. *Copeia*, 1983(2): 287-299.
- ARRATIA, G. 1981. Géneros de peces de aguas continentales de Chile. *Mus. Nac. Hist.Nat., Chile, Pub. ocasional* (34): 3-108.
- AVISE, J.C. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23, 465-481.
- AVISE, J.C. 1976. Genetic differentiation during speciation. En "Molecular Evolution" Ayala, F.J., Ed. pp.106-122. Sinauer Associates.
- AVISE, J.C. y KITTO, G.B. 1973. Phosphoglucose isomerase gene duplication in the bony fishes: an evolutionary history. *Biochem. Genet.*, 8(2): 113-132.
- AVISE, J.C. Y SMITH, M.H. 1974. Biochemical genetic of sunfish. II. Genetic similarity between hybridizing species. *Am.Nat.*, 108(962): 458-472.

AVISE, J.C., SMITH, J.J. y AYALA, F.J. 1975. Adaptive differentiation with little genetic change between two native California minnows. *Evolution*. 29: 411-426.

AYALA, F.J. 1975. Genetic differentiation during the speciation process. En "Evolutionary biology". Dobzhansky, Th., Hecht, M.K. y Steere, W.C., Eds. pp. 106-122. Plenum Press.

AYALA, F.J. 1976. Protein evolution in related species: adaptive "foci". *Johns Hopkins Med. J.* 138: 268-278

AYALA, F.J. 1983. Enzymes as taxonomic characters. En "Protein Polymorphism: Adaptive and taxonomic significance". Oxford, G.S y Rollinson, D., Eds. pp 3 - 26. Academic Press.

BARBOUR, C.D., ECHELEL, A.A. Y HUMPHRIES, J. 1983. A biogeographical history of *Chirostoma* (Pisces: Atherinidae): a species flock from the Mexican plateau. *Copeia*, 1983: 533-556.

BARLOW, G.W. 1961. Causes and significance of morphological variation in fishes. *Syst.Zool.*, 10: 105-117.

BOGART, J.P. 1970. Systematic problems in the amphibian family Leptodactylidae (Anura) as indicated by karyotypic analysis. *Cytogenetics*, 9: 369-383.

BRNCIC, D. 1985. Polimorfismo cromosómico, coadaptación genética y especiación en el género *Drosophila*. En "El núcleo, los cromosomas y la evolución". Fernández-Donoso, R., Ed. pp. 40-61. Alfabetá Impresores.

BROWN, S.D.M. Y DOVER, G. 1981. The organization and evolutionary progress of a dispersed repetitive family of sequences in widely separated rodent genomes. *J.Mol.Biol.*, 150: 441-446.

BUSACK, C.A., HALLIBURTON, R. y GALL, G.A.E. 1979. Electrophoretic variation and differentiation in four strains of domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Genet. Cytol.*, 21(1): 81-94.

BUSACK, S.D., MAXSON, L.R. Y WILSON, M.A. 1985. *Pelobates varaldi* (Anura: Pelobatidae): A morphologically conservative species. *Copeia*, 1985(1): 107-112.

BUTH, D. G. 1981. Cladistic treatment of isozyme (rather

than allozyme) data. 2nd Annual Willi Hennig Society Meeting, Ann Arbor, Michigan.

BUTH, D.G. 1984. Allozymes of the Cyprinid Fishes. Variation and application. En "Evolutionary Genetics of fishes". Turner, B.J. Cap. 11. pp.561-590. Plenum Press, New York, London.

CAMPOS, H. 1973. Lista de peces de aguas continentales de Chile. Not. Mens. Mus.Nac.Hist.Nat., Chile, 14 (162): 3-9.

CAMPOS, H. 1984. Los géneros de Atherínidos (Peces, Atherinidae) del Sur de Sudamérica. Zoologia, Tomo XIII (6): 71-84.

CAPANNA, E. 1980. Chromosomal rearrangement and speciation in progress in *Mus musculus*. Folia Zoologica, 29 (1): 43-57.

CARSON. H.L. 1975. The Genetics of speciation at the diploid level. Am. Nat., 109: 83-92.

CARSON, H.L. 1976. The unit of genetic change in adaptation and speciation. Ann. Missouri.Bot.Gard., 63: 210-223.

CARSON, H. L. Y TEMPLETON, A. R. Genetic revolutions in relation to speciation phenomena: The founding of new populations. Ann. Rev. Ecol. Syst., 15: 97-131.

CECIONI, G. 1970. Esquema de paleogeografía chilena. Ed. Universitaria.

CEDERBAUM, S.D. y YOSHIDA, A. 1972. Tetrazolium oxidase polymorphism in rainbow trout. Genetics, 72: 363-367.

CERISOLA, H., GRISOLIA, F.y MENDEZ, M.E. 1978. Aspectos estructurales del ovario del pejerrey de agua dulce *Basilichthys australis* Eigenmann. An. Mus.Hist.Nat., Valparaíso, Chile, 11: 175-190.

CHERNOFF, B., CONNER, J.V. y BRYAN, C.F. 1981. Systematics of the *Menidia beryllina* complex (Pisces: Atherinidae) from the gulf of Mexico and its tributaries. Copeia 1981 (2): 319-336.

CHIARELLI, B. y CAPANNA, E. 1973. Checklist of fish chromosomes. En "Cytotaxonomy and vertebrate evolution". Chiarelli, B. y Capanna, E., Eds. Cap. 10. Academic Press. London, New York.

- CUVIER Y VALENCIENNES. 1835. Histoire Naturelle des Poissons. X. Paris: Levrault.
- DARWIN, C. 1859. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favored races in the struggle for life. John Murry, London.
- DE LA HOZ, E. Y TOSTI-CROCE, E. 1981. Osteología de *Basilichthys australis* Eigenmann (Teleostei -Atherinidae). An. Mus. Hist. Nat., Valparaíso, Chile. 14: 229-245.
- DENTON, T.E. 1973. Fish chromosomes methodology. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
- DI CASTRI, F. Y HAJEK, E.R. 1976. Bioclimatología de Chile. Imprenta Editorial Universidad Católica de Chile.
- DOBZHANSKY, T. 1970. Genetics of the evolutionary Process. Columbia University Press, New York.
- DOVER, G., STRACHAN, T. Y BROWN, S. 1981. The evolution of genome in closely related species. En " Evolution today". Scudder, G. y Rensel, J., eds. pp. 343-372. Academic, New York.
- DUARTE, W., FEITO, R., JARA, C., MORENO, C y ORELLANA, A. 1977. Ictiofauna del sistema hidrográfico del Maipo. Bol.Mus.Nac.Hist.Nat., Chile.32: 227-268.
- EBELING, A.W. Y CHEN, TR. 1970. Heterogamety in teleostean fishes. Trans.Am. Fish Soc., 99(1): 131-138
- EIGENMANN, C.H. 1927. The fresh-water fishes of Chile. Mem. Nat. Acad. Sci., 22 (2): 1-63.
- ENGEL, W., SCHMIDTKE, J. Y WOLF, U. 1971. Genetic variation of L-glycerophosphate dehydrogenase isoenzymes in clupeoid and salmonoid fish. Experientia, 27: 489-491.
- FERGUSON, A. 1980. Biochemical systematics and evolution. Wiley, New York.
- FERGUSON, M. M., NOAKES, D. L. Y DANZMANN, R. G. 1981. Morphological and biochemical systematics of chubs, *Nocomis biguttatus* and *N. micropogon*. (Pisces; Cyprinidae), in southern ontario. Can. J. Zool., 59: 771-775.
- FERRIS, S.D. y WHITT, G.S. 1978. Genetic and molecular analysis of nonrandom dimer assembly of the creatine kinase

- isozymes of fishes. *Biochem.Genet.*, 16(7): 811-829.
- FLAVELL, R. 1982. Sequence amplification, deletion and rearrangement: major sources of variation during species divergence. En "Genome evolution". Dover, G. Y Flavell, R. pp. 343-372. Academic Press, New York.
- FOWLER, H.W. 1945. Fishes of Chile. Systematics Catalog. *Rev.Chilena Hist. Nat.*, 45-46; 47(1): 1-36; (2): 1-171.
- FOWLER, J.A. 1970. Control of vertebrae number in teleost: an embryological problem. *The Quart.Rev.Biol.* 45:148-167.
- GIRARD, C. 1854. Abstract of a report Lieut. Jas. M. Gillis, U.S.N., upon the fishes collected during the U.S.N. Astronomical expedition to Chili. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philad.*, 7: 197-199.
- GRANT, V. 1971. Plant Speciation. Columbia University Press, New York.
- GREENWOOD, P.H. 1974. Cichlid fishes of lake victoria, east Africa: The biology and evolution of a species flock. *Ibid. Suppl.*, 6: 1-134.
- GOULD, S.J. 1977. Ontogeny and phylogeny. Cambridge and Belknap Press, London.
- GOULD, S.D., WOODRUFF, D.S. Y MARTIN, J.P. 1974. Genetics and morphometrics of Cerion at Pongo carpet: A new systematic approach to this enigmatic land snail. *Syst. Zool.*, 23:518-535.
- HARRIS, H. 1966. Enzyme polymorphisms in man. *Proc. Royal Soc., Ser. B*, 164: 298-310.
- HARRIS, H., HOPKINSON, D.A. Y EDWARDS, Y.H. 1976. Polymorphism and the subunit structure of enzymes: controversy. *Proc.Natl.Acad.Sci, USA.*, 74(2): 698-701.
- HENNIG, W. 1966. Phylogenetics systematics. University of Illinois Press, Urbana.
- HOLLISTER, G. 1934. Clearing and dyeing fish for bone study. *Zoologica*, 12: 89- 101.
- HUBBS, C.L. Y LAGLER, K.F. 1947. Fishes of the great lakes region. *Canbrook Inst.Sci.Bull.*, 26: 1-186.
- HUBBY, J.L. Y LEWONTIN, R.C. 1966. A molecular approach to

the study of genetic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*. 54: 577-594.

HUMPHRIES, J.M. 1984. Genetics of speciation in Pupfishes from laguna Chichancanab, Mexico. En "Evolution of fish species flocks". Echelle, A. A. y Kornfield, I., Eds., pp. 129-139. University of Maine at Orono Press.

HUMPHRIES, J.M., BOOKSTEIN, F.L., CHERNOFF, B., SMITH, G.R., ELDER, R.L. Y POSS, G.R. 1981. Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Syst. Zool.*, 30(3): 291-308.

JENYNS, L. 1842. Fishes. The zoology of the voyage of H.M.S. Beagle, 4: 16-172.

JOHNSON, M. S. 1974. Comparative geographic variation in *Menidia*. *Evolution*, 28: 607-618.

JOHNSON, M. S. 1975. Biochemical systematics of the atherinid genus *Menidia*. *Copeia*, 1975: 662-691.

JOHNSON, A.G., UTTER, F.M. Y HODGINS, H.O. 1970. Electrophoretic variants of L-alpha-glycerophosphate dehydrogenase in Pacific Ocean perch (*Sebastes alutus*). *J. Fish. Res. Board. Can.*, 27(5): 943-945.

KING, M.C. Y WILSON, A.C. 1975. Evolution at two levels in Humans and Chimpanzees. *Science* 188, 107-116.

KIRPICHNIKOV, V.S. 1981. Genetic bases of fish selection. Springer-Verlag. New York.

KIRKPATRICK, M. Y SELANDER, R.K. 1979. Genetics of speciation in lake whitefishes in the Allegash basin. *Evolution*, 33: 478-485.

KOEHN, R.K., ZERA, A.J. Y HALL, J.G. 1983. Enzyme polymorphism and natural selection. En "Evolution of Genes and Proteins. Nei, M. y Koehn, R.K., eds. pp. 115-136. Sinauer Associates.

KORNFELD, I. L. 1978. Evidence for rapid speciation in African cichlids fishes. *Experientia*, 34: 335-336.

KORNFELD, I.L. 1984. Descriptive genetics of Cichlid fishes. En "Evolutionary genetics of fishes". Turner, B.J., Ed. Cap. 12. pp. 591-616. Plenum press, New York, London.

- KORNFELD, I. L. Y KOEHN, R. K. 1975. Genetic variation and speciation in New world cichlids. *Evolution*, 29: 427-437.
- KOSSWIG, C. 1973. The role of fish in research on genetics and evolution. En "Genetics and mutagenesis of fish".pp. 3-16. Springer-Verlag, New York.
- LANDE, R. 1979. Effective deme sizes during long-term evolution estimated from rates of chromosomal rearrangement. *Evolution*, 33: 234-251.
- LARSON, G.L. 1976. Social behavior and feeding ability of two phenotypes of *Gasterosteus aculeatus* in relation to their spatial and trophic segregation in a temperate lake. *Can.J.Zool.*, 54: 107-121.
- LEARY, R.F., ALLENDORF, F.W. Y KNUDSEN, K.L. 1985. Inheritance of meristic variation and the evolution of developmental stability in rainbow trout. *Evolution*, 39(2): 308-314.
- LEGRANDE, .W.H. 1981. Chromosomal evolution in North American catfishes (Siluriformes: Ictaluridae) with particular emphasis on the Madtoms, *Noturus*. *Copeia*, 1981 (1): 33-52.
- LEHMAN, E.L. 1975. Nonparametrics statistical methods based on ranks. Holden-day.
- LEWONTIN, R.C. 1974. *The Genetics Basis of Evolutionary Change*. Columbia University Press, New York.
- LEWONTIN, R. C. Y HUBBY, J. L. 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54: 595-609.
- LINDSAY, C. C. 1975. Pleomerism, the widespread tendency among related fish species for vertebral number to be correlated with maximum body length. *J. Fish. Res. Bd., Canada*, 32: 2453-2469.
- LUSH, I.E. 1969. Polymorphism of a phosphoglucomutase isoenzyme in the herring (*Clupea harengus*). *Comp. Biochem.Physiol.*, 30: 391-395.
- MCDONALD, J.F. 1983. The molecular basis of adaptation: A critical review of relevant ideas and observations.

Ann.Rev.Ecol.Syst., 14: 77-102.

MCDONALD, J.F., ANDERSON, Y SANTOS, M. 1980. Biochemical differences between products of the ADH locus in *Drosophila*. Genetics, 95: 1013-1022.

MAC PHAIL, J.D. Y JONES, R.L. 1966. A simple technique for obtaining chromosomes from teleost fishes. J. Fish. Res. Bd. Canada., 23: 767-768.

MCPHAIL, J.D. 1977. Inherited interpopulational differences in size at first reproduction in threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. Heredity, 38: 53-60.

MANWELL, C. Y BAKER, C.M.A. 1970. Molecular biology and the origin of species. Heterosis, protein polymorphism and animal breeding. Sidgwick and Jackson, London

MARKERT, C.L. Y MOLLER, F. 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. Proc.Natl.Acad.Sci., USA., 45: 753-763.

MAXSON, L.R. Y WILSON, A.C. 1974. Convergent morphological evolution detected studying proteins of tree frogs in the *Hyla eximia* species group. Science, 185: 66-68.

MAXSON, L.R. Y WILSON, A.C. 1975. Albumin evolution and organismal evolution in frogs (Hylidae). Syst. Zool., 24: 1-15.

MAYR, E. 1963. Animal species and evolution. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

MAYR, E. 1982. Speciation and macroevolution. Evolution, 36(6): 1119-1132.

MAYR, E. 1984. Evolution of fish species flocks: A commentary. En "Evolution of fish species Flocks". Echelle, A.A. y Kornfield, I., Eds.pp. 3-11. University of Maine at Orono Press.

MICKEVICH, M.F. y JOHNSON, M.S. 1976. Congruence between morphological and allozyme data in evolutionary inference and character evolution. Syst. Zool., 25: 260-270.

MORIZOT, D.C. Y SICILIANO, M. J. 1984. Gene mapping in fishes and other vertebrates. En "Evolutionary Genetics of fishes. Turner, B., ed. pp. 173-234. Plenum Press, New York, London.

- MOSSIMAN, J.E. y JAMES, F.C. 1979. New statistical methods for allometry with application to Florida red-winged blackbirds. *Evolution*, 33: 444-459.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am.Nat.*, 106: 283-292.
- NEI, M. 1975. *Molecular Population Genetics and Evolution*. North Holland, Amsterdam.
- NEI, M. Y CHAKRABORTY, R. 1973. Genetic distance and electrophoretic identity of proteins between taxa. *J. Mol.Evol.*, 2: 323-328.
- NELSON, J.S. 1976. *Fishes of the world*. John Wiley and Sons.
- NEVO, E. 1983. Adaptative significance of protein variation. En "Protein Polymorphism: Adaptative and Taxonomic Significance". Oxford, G.S. y Rollinson, D., Eds. pp. 239-282. Academic Press, London, New York.
- NEVO, E. Y CLEVE, H. 1978. Genetic differentiation during speciation. *Nature*, 275: 125.
- OHNO, S. 1974. Protochordata, Cyclostomata and Pisces. En "Animal Cytogenetics", Vol. 4, Chordata 1. John, B., ed. Gebruder-Borntrager, Berlin.
- PHELPS, S.R. Y ALLENDORF, F.W. 1983. Genetic identity of pallid and shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus albus* y *S. platorynchus*). *Copeia*, 1983(3): 696-700.
- PARENTI, L.R. 1984. A taxonomic revision of the andean killifish genus *Orestias* (Cyprinodontiformes, cyprinodontidae). *Bull.Amer.Mus.Nat.Hist.*, 178(2): 107-214.
- PIMENTEL, R.A. 1979. *Morphometrics, the multivariate analysis of biological data*. Kendall & Hunt Publishing Co., Dubuque, Iowa.
- POWELL, J. 1975. Protein variation in natural populations of animals. *Evol. Biol.* 8: 79-119.
- ROBERTS, F.L, WOHNUS, J.F. Y OHNO, S. 1969. Phosphoglucosmutase polymorphism in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Experientia*, 25: 109-110.
- ROGERS, J.S. 1972 Measures of genetic similarity and genetic distance. *Univ. Texas Stud.Genet.*, VII: 145-153.

ROSE, M.R. Y DOOLITTLE, W.F. 1983. Molecular biological mechanisms of speciation. *Science*, 220: 157-162.

ROSEN, E.D. 1964. The relationships and taxonomic position of the halfbeaks, kill fishes, silversides, and their relatives. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. Art.*, (5)127: 219-267.

ROSEN, E.D. Y PARENTI, L. 1981. Relationships of *Oryzias*, and the group of Atherinomorph fishes. *Am.Mus.Novitates. Am.Mus.Nat.Hist.*, 2719: 1-25.

SAGE, R.D. Y SELANDER, R.K. 1975. Trophic radiation through polymorphism in cichlid fishes. *Proc.Natl.Acad.Sci.*, 72: 4669-4673.

SELANDER, R.K. 1976. Genic variation in natural populations. En "Molecular evolution". Ayala, F.J., ed. Sinauer Associates, suntherland, Massachusetts.

SELANDER, R.K. 1982. Phylogeny. En "Perspectives in evolution". Milkman, R., ed.pp. 32-59. Sinauer Associates, Suntherland, Mass.

SELANDER, R.K. Y WHITTAM, T.S. 1983. Protein polymorphism and the genetic structure of populations. En "Evolution of genes and proteins". Nei, M. y Koehn, R.K., eds. pp. 89-114.

SOKAL, R.F. Y ROHLF, J.F. 1981. *Biometry*. Freeman, San Francisco.

SCHULTZ, L. 1948. A revision of six subfamilies of Atherine fishes, with description of new genera and species. *Proc. U.S. Nat.Mus.*, 98 (3220): 1-48.

SHAW, C.R. y PRASAD, R. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.*, 4: 297-320.

SLATKIN, M. 1985. Genetic differentiation of transposable elements under mutation and unbiased gene conversion. *Genetics*, 110(1): 145-158.

TAUBER, A.C. y TAUBER, M.J. 1977. Sympatric speciation based on allelic changes at three loci: evidence from natural populations in two habitats. *Science*, 197: 1298-1299.

- TAVE, D. 1983. Genetics of dorsal fin ray number in the Guppy, *Poecilia reticulata*. *Copeia*, 1983 (1): 140-144.
- TEMPLETON, A.R. 1979. The unit of selection in *Drosophila mercatorum*. II. Genetic revolutions and the origin of coadapted genomes in parthenogenetic strains. *Genetics*, 92: 1265-1282.
- TEMPLETON, E.R. 1980. Modes of speciation and inferences based on genetic distances. *Evolution*, 34: 719-729.
- THORPE, J.P. 1983. Enzyme variation, genetic distance and evolutionary divergence in relation to levels of taxonomic separation. En "Protein polymorphism: Adaptative and Taxonomic significance". Oxford, G.S. y Rollinson, D., Eds. pp. 131-152. Academic Press, London.
- TURNER, B.J. 1974. Genetic divergence of death valley pupfish populations: species-specific esterases. *Comp.biochem.physiol.*, 46B: 57-70.
- TURNER, B.J. Y GROSSE, D.J. 1980. Trophic differentiation in *Ilyodon*, a genus of stream-dwelling goodeid fishes: speciation versus ecological polymorphism. *Evolution* 34: 259-270.
- TURNER, J.R., JOHNSON, M.S. Y EANES, W.F. 1979. Contrasted modes of evolution in the same genome: Allozymes and adaptative change in *Heliconius*. *Proc. Natl.Acad.Sci.,USA*, 76: 1924-1928.
- TURNER, B.J., GRUDZIEN, TH.A., ADKISSON, K. Y WORRELL, R.A. 1985. Extensive chromosomal divergence within a single river basin in the goodeid fish, *Ilyodon furcidens*. *Evolution*, 39(1): 122-134.
- UTTER, F.M. Y HODGINS, H.O. 1970. Phosphoglucomutase polymorphism in sockeye salmon. *Comp.Biochem.physiol.*, 36: 195-199.
- UTTER, F.M., ALLENDORF, F.W. y HODGINS, H.O. 1973. Genetic variability and relationships in pacific salmon and related trout based on protein variations. *Syst.Zool.*, 22(3), 257-270.
- UYENO, T., MILLER, R.R. y FITZSIMONS, J.M. 1983. Karyology of the Cyprinodontoid fishes of the mexican family Goodeidae. *Copeia*, 1983 (2): 497-510.
- VILA, I., SOTO, D. Y BAHAMONDES, I. 1981. Age and growth of

- B. australis* Eigenmann, 1927 in Rapel reservoir, Chile (Pisces, Atherinidae). Stud. Neotrop. Fauna & Environment, 16: 9-22.
- VILA, I., COMTE, SH. Y VIDIELLA, P. 1984. Relaciones tróficas de *Basilichthys microlepidotus* en el río Choapa. Arch. Biol. Med. Exp., 17(2): 190.
- WARD, R.D. 1977. Relationship between enzyme heterozygosity and quaternary structure. Biochem.Genet., 15(1/2): 123-135.
- WARD, R.D. 1978. Subunit size of enzyme and genetic heterozygosity in vertebrates. Biochem.Genet., 16(7/8): 799-
- WARD, R.D. y BEARDMORE, J.A. 1977. Protein variation in the plaice, *Pleuronectes platessa* L. Genet.Res., 30(1): 45-62.
- WHITE, M.J.D. 1968. Models of speciation. Science, 159: 1065-1070.
- WHITE, M.J.D. 1978. Modes of speciation. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
- WHITE, B.N., LAVENGERG, R.J. Y MCGOWEN, G.E. 1983. Atheriniformes: Development and relationships. En "Ontogeny and systematics of fishes". Allen Press Inc, Lawrence, Kansas.
- WILSON, A.C. 1976. Gene regulation in evolution. En "Molecular evolution". Ayala, F.J., ed. Sinauer Associates, Suntherland, Mass.
- WILSON, A.C., CARLSON, S.S. y WHITE, T.J. 1977. Biochemical evolution. Ann. Rev.Biochem., 46: 573-639.
- WILSON, A.C., KAPLAN, N.O., LENIN, C., PESCE, A., REICHLIN, M. Y ALLISON, W.S. 1964. Evolution of lactic dehydrogenases. Fed.Proc., 23: 250-258.
- WILEY, E.O. 1978. The evolutionary species concept reconsidered. Syst. Zool.27: 17-26.
- WILEY, E.O. (1981). Phylogenetics. The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics. John Wiley & Sons.

APENDICES

APENDICE 1

TABLA 6

MATRIZ DE CORRELACION PARA LAS 19 VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANALISIS MORFOLOGICO DE *B. microlepidotus* Y *B. australis*. CONSIDERA EL TOTAL DE INDIVIDUOS SIN DISTINCION DE SEXO.

	LS	LPD1	LPD2	LPP	LPA	LC	LAD1	LAD2	LAP
LS	1.000								
LPD1	0.992	1.000							
LPD2	0.996	0.992	1.000						
LPP	0.990	0.983	0.988	1.000					
LPA	0.993	0.988	0.992	0.988	1.000				
LC	0.984	0.976	0.984	0.983	0.944	1.000			
LAD1	0.948	0.928	0.944	0.945	0.981	0.976	1.000		
LAD2	0.986	0.977	0.983	0.981	0.981	0.976	0.959	1.000	
LAP	0.941	0.937	0.939	0.936	0.938	0.928	0.936	0.961	1.000
LPO	0.974	0.972	0.974	0.963	0.973	0.970	0.919	0.961	0.920
AC	0.980	0.974	0.980	0.980	0.980	0.983	0.941	0.973	0.926
AB	0.956	0.960	0.959	0.956	0.957	0.957	0.894	0.943	0.898
AIO	0.983	0.979	0.984	0.976	0.983	0.975	0.937	0.969	0.928
AM	0.984	0.979	0.984	0.980	0.983	0.979	0.943	0.974	0.931
DO	0.953	0.939	0.952	0.954	0.948	0.967	0.937	0.950	0.898
HM	0.975	0.967	0.975	0.974	0.974	0.981	0.944	0.971	0.919
HC	0.961	0.955	0.963	0.965	0.962	0.963	0.913	0.947	0.887
HP	0.988	0.982	0.988	0.983	0.985	0.979	0.948	0.981	0.934
ELL	-0.283	-0.244	-0.279	-0.320	-0.290	-0.353	-0.412	-0.331	-0.302

TABLA 6 (CONT)

	LPO	AC	AB	AID	AM	DO	HM	HC	HP	ELL
LS	0.97	0.98	0.95	0.98	0.98	0.95	0.97	0.96	0.98	-.28
LPD1	0.97	0.97	0.96	0.97	0.97	0.93	0.96	0.95	0.98	-.24
LPD2	0.97	0.98	0.95	0.98	0.98	0.95	0.97	0.96	0.98	-.27
LPP	0.96	0.98	0.95	0.97	0.98	0.95	0.97	0.96	0.98	-.32
LPA	0.97	0.98	0.95	0.98	0.98	0.94	0.97	0.96	0.98	-.29
LC	0.97	0.98	0.95	0.97	0.97	0.96	0.98	0.96	0.97	-.35
LAD1	0.91	0.94	0.89	0.93	0.94	0.93	0.94	0.91	0.94	-.41
LAD2	0.96	0.97	0.94	0.96	0.97	0.95	0.97	0.94	0.98	-.33
LAP	0.92	0.92	0.89	0.92	0.93	0.89	0.91	0.88	0.93	-.30
LPD	1.00	0.96	0.95	0.97	0.96	0.93	0.95	0.95	0.97	-.26
AC	0.96	1.00	0.96	0.97	0.98	0.95	0.98	0.97	0.98	-.35
AB	0.95	0.96	1.00	0.95	0.95	0.92	0.94	0.93	0.95	-.23
AID	0.97	0.97	0.95	1.00	0.98	0.94	0.96	0.96	0.98	-.28
AM	0.96	0.98	0.95	0.98	1.00	0.94	0.98	0.96	0.98	-.32
DO	0.93	0.95	0.92	0.94	1.00	1.00	0.95	0.92	0.94	-.40
HM	0.95	0.98	0.94	0.96	0.98	0.95	1.00	0.96	0.98	-.40
HC	0.95	0.97	0.93	0.96	0.96	0.92	0.96	1.00	0.96	-.34
HP	0.97	0.98	0.95	0.98	0.98	0.94	0.98	0.96	1.00	-.32
ELL	-.26	-.35	-.23	-.28	-.32	-.40	-.40	-.34	-.32	1.00

APENDICE 2

TABLA 7

MATRIZ DE CORRELACION PARA LAS 19 VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LAS HEMBRAS DE *B. microlepidotus* Y *B. australis*.

	LS	LPD1	LPD2	LPP	LPA	LC	LAD1	LAD2	LAP
LS	1.00	0.99	0.99	0.98	0.99	0.98	0.93	0.98	0.98
LPD1	0.99	1.00	0.99	0.98	0.99	0.98	0.91	0.98	0.98
LPD2	0.99	0.99	1.00	0.98	0.98	0.98	0.92	0.98	0.98
LPP	0.98	0.98	0.98	1.00	0.98	0.98	0.92	0.98	0.98
LPA	0.99	0.99	0.98	0.98	1.00	0.98	0.92	0.98	0.98
LC	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	1.00	0.93	0.98	0.98
LAD1	0.93	0.91	0.92	0.92	0.98	0.93	1.00	0.94	0.94
LAD2	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.94	1.00	0.98
LAP	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.94	0.98	1.00
LPO	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.91	0.97	0.96
AC	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.98	0.92	0.97	0.96
AB	0.94	0.95	0.94	0.95	0.95	0.95	0.86	0.94	0.93
AID	0.98	0.97	0.98	0.98	0.98	0.98	0.93	0.97	0.97
AM	0.97	0.97	0.97	0.98	0.97	0.98	0.93	0.97	0.97
DO	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.96	0.93	0.95	0.95
HM	0.96	0.96	0.96	0.97	0.96	0.97	0.92	0.97	0.97
HC	0.95	0.95	0.95	0.96	0.95	0.96	0.91	0.95	0.95
HP	0.98	0.98	0.98	0.98	0.97	0.98	0.93	0.98	0.97
ELL	-0.27	-0.23	-0.28	-0.29	-0.28	-0.34	-0.46	-0.33	-0.35

119 Observaciones

TABLA 7 (CONT.)

	LPO	AC	AB	AIO	AM	DO	HM	HC	HP	ELL
LS	0.97	0.97	0.94	0.98	0.97	0.94	0.96	0.95	0.98	-0.23
LPD1	0.97	0.97	0.95	0.97	0.97	0.94	0.96	0.95	0.98	-0.23
LPD2	0.97	0.97	0.94	0.98	0.97	0.94	0.96	0.95	0.98	-0.28
LPP	0.97	0.97	0.95	0.98	0.98	0.94	0.97	0.96	0.98	-0.29
LPA	0.97	0.97	0.95	0.98	0.97	0.94	0.96	0.95	0.97	-0.28
LC	0.97	0.98	0.95	0.98	0.98	0.96	0.97	0.96	0.98	-0.34
LAD1	0.91	0.92	0.86	0.93	0.93	0.93	0.92	0.91	0.93	-0.46
LAD2	0.97	0.97	0.94	0.97	0.97	0.95	0.97	0.95	0.98	-0.33
LAP	0.96	0.96	0.93	0.97	0.97	0.95	0.97	0.95	0.97	-0.35
LPO	1.00	0.96	0.93	0.96	0.95	0.92	0.95	0.94	0.96	-0.27
AC	0.96	1.00	0.95	0.98	0.98	0.95	0.97	0.97	0.97	-0.35
AB	0.93	0.95	1.00	0.94	0.94	0.90	0.93	0.93	0.93	-0.21
AIO	0.96	0.98	0.94	1.00	0.98	0.95	0.97	0.96	0.98	-0.34
AM	0.95	0.98	0.94	0.98	1.00	0.95	0.98	0.97	0.98	-0.37
DO	0.92	0.95	0.90	0.95	0.95	1.00	0.95	0.91	0.93	-0.45
HM	0.95	0.97	0.93	0.97	0.98	0.95	1.00	0.96	0.97	-0.41
HC	0.94	0.97	0.93	0.96	0.97	0.91	0.96	1.00	0.96	-0.33
HP	0.96	0.97	0.93	0.98	0.98	0.93	0.97	0.96	1.00	-0.31
ELL	-0.27	-0.35	-0.21	-0.34	-0.37	-0.45	-0.41	-0.33	-0.31	1.00

APENDICE 3

TABLA 8

MATRIZ DE CORRELACION PARA LAS 19 VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LOS MACHOS (SEXO 1) DE *B. microlepidotus* Y *B. australis*.

	LS	LPD1	LPD2	LPP	LPA	LC	LAD1	LAD2	LAP
LS	1.00	0.98	0.99	0.98	0.98	0.98	0.95	0.98	0.98
LPD1	0.98	1.00	0.98	0.97	0.97	0.97	0.93	0.97	0.97
LPD2	0.99	0.98	1.00	0.98	0.98	0.98	0.95	0.98	0.98
LPP	0.98	0.97	0.98	1.00	0.97	0.97	0.94	0.97	0.97
LPA	0.98	0.97	0.98	0.97	1.00	0.97	0.94	0.97	0.98
LC	0.98	0.97	0.98	0.97	0.97	1.00	0.94	0.97	0.98
LAD1	0.95	0.93	0.95	0.94	0.94	0.94	1.00	0.95	0.95
LAD2	0.98	0.97	0.98	0.97	0.97	0.97	0.95	1.00	0.98
LAP	0.98	0.97	0.98	0.97	0.98	0.98	0.95	0.98	1.00
LPO	0.95	0.95	0.96	0.94	0.95	0.96	0.90	0.94	0.95
AC	0.98	0.97	0.98	0.97	0.97	0.98	0.95	0.97	0.98
AB	0.94	0.94	0.94	0.94	0.93	0.95	0.88	0.93	0.94
AIO	0.98	0.97	0.98	0.97	0.98	0.98	0.95	0.98	0.98
AM	0.98	0.97	0.98	0.97	0.98	0.98	0.95	0.98	0.98
DO	0.94	0.93	0.94	0.95	0.93	0.96	0.90	0.94	0.94
HM	0.96	0.95	0.96	0.95	0.96	0.97	0.94	0.97	0.97
HC	0.96	0.95	0.96	0.96	0.96	0.97	0.94	0.97	0.97
HP	0.98	0.97	0.98	0.97	0.98	0.97	0.94	0.98	0.98
ELL	0.01	0.01	0.02	-0.04	-0.00	-0.03	-0.08	-0.06	-0.06

131 Observaciones

TABLA 8 (CONT.)

	LPD	AC	AB	AIO	AM	DO	HM	HC	HP	ELL
LS	0.95	0.98	0.94	0.98	0.98	0.94	0.96	0.96	0.98	0.01
LPD1	0.95	0.97	0.94	0.97	0.97	0.93	0.95	0.95	0.97	0.01
LPD2	0.96	0.98	0.94	0.98	0.98	0.94	0.96	0.96	0.98	0.02
LPP	0.94	0.97	0.94	0.97	0.97	0.95	0.95	0.96	0.97	-0.04
LPA	0.95	0.97	0.93	0.98	0.98	0.93	0.96	0.96	0.98	-0.00
LC	0.96	0.98	0.95	0.98	0.98	0.96	0.97	0.97	0.97	-0.03
LAD1	0.90	0.95	0.88	0.94	0.95	0.90	0.94	0.94	0.94	-0.08
LAD2	0.94	0.97	0.93	0.98	0.98	0.94	0.97	0.96	0.98	-0.06
LAP	0.95	0.98	0.94	0.97	0.98	0.94	0.97	0.96	0.98	-0.06
LPO	1.00	0.95	0.93	0.95	0.95	0.91	0.94	0.93	0.95	0.02
AC	0.95	1.00	0.94	0.98	0.98	0.94	0.97	0.97	0.98	-0.06
AB	0.93	0.94	1.00	0.93	0.94	0.91	0.92	0.92	0.93	0.08
AIO	0.95	0.98	0.93	1.00	0.98	0.94	0.97	0.96	0.98	-0.02
AM	0.95	0.98	0.94	0.98	1.00	0.93	0.98	0.97	0.98	-0.04
DO	0.91	0.94	0.91	0.94	0.93	1.00	0.92	0.92	0.92	-0.07
HM	0.94	0.97	0.92	0.97	0.98	0.92	1.00	0.96	0.97	-0.10
HC	0.93	0.97	0.92	0.96	0.97	0.92	0.96	1.00	0.97	-0.09
HP	0.95	0.98	0.93	0.98	0.98	0.92	0.97	0.97	1.00	-0.03
ELL	0.02	-0.06	0.08	-0.02	-0.04	-0.07	-0.10	-0.09	-0.03	1.00

131 Observaciones

APENDICE 4

TABLA 9

MATRIZ DE CORRELACION PARA LAS 19 VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LOS INDIVIDUOS DE SEXO INDETERMINADO (SEXO 2) DE *B. microlepidotus* Y *B. australis*.

	LS	LPD1	LPD2	LPP	LPA	LC	LAD1	LAD2	LAP
LS	1.00	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	0.95	0.98	0.88
LPD1	0.99	1.00	0.99	0.99	0.99	0.98	0.94	0.97	0.88
LPD2	0.99	0.99	1.00	0.99	0.99	0.98	0.95	0.98	0.88
LPP	0.99	0.99	0.99	1.00	0.99	0.98	0.95	0.98	0.88
LPA	0.99	0.99	0.99	0.99	1.00	0.98	0.95	0.98	0.88
LC	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	1.00	0.95	0.97	0.87
LAD1	0.95	0.94	0.95	0.95	0.95	0.95	1.00	0.96	0.92
LAD2	0.98	0.97	0.98	0.98	0.98	0.97	0.96	1.00	0.93
LAP	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.87	0.92	0.93	1.00
LPO	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.94	0.96	0.86
AC	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.94	0.97	0.86
AB	0.96	0.97	0.97	0.96	0.97	0.96	0.92	0.95	0.84
AIO	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.97	0.94	0.96	0.86
AM	0.99	0.98	0.99	0.98	0.99	0.98	0.94	0.97	0.87
DO	0.97	0.96	0.97	0.96	0.97	0.97	0.95	0.95	0.85
HM	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.95	0.97	0.86
HC	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.95	0.90	0.93	0.80
HP	0.99	0.98	0.99	0.98	0.99	0.98	0.95	0.97	0.88
ELL	-.44	-.40	-.43	-.46	-.45	-.48	-.53	-.46	-.40

165 Observaciones

TABLA 9 (CONT.)

	LPO	AC	AB	AID	AM	DO	HM	HC	HP	ELL
LS	0.98	0.98	0.96	0.98	0.99	0.97	0.98	0.96	0.99	- .44
PD1	0.98	0.98	0.97	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.98	- .40
LPD2	0.98	0.98	0.97	0.98	0.99	0.97	0.98	0.96	0.99	- .43
LPP	0.98	0.98	0.96	0.98	0.98	0.96	0.98	0.96	0.98	- .46
LPA	0.98	0.98	0.97	0.98	0.99	0.97	0.98	0.96	0.99	- .45
LC	0.98	0.98	0.96	0.97	0.98	0.97	0.98	0.95	0.98	- .48
LAD1	0.94	0.94	0.92	0.94	0.94	0.95	0.95	0.90	0.95	- .5
LAD2	0.96	0.97	0.95	0.96	0.97	0.95	0.97	0.93	0.97	- .46
LAP	0.86	0.86	0.84	0.86	0.87	0.85	0.86	0.80	0.88	- .40
LPO	1.00	0.98	0.97	0.98	0.98	0.96	0.97	0.96	0.98	- .42
AC	0.97	1.00	0.96	0.97	0.98	0.97	0.98	0.96	0.98	- .4
AB	0.97	0.96	1.00	0.96	0.97	0.95	0.96	0.94	0.97	- .41
AIO	0.98	0.97	0.96	1.00	0.98	0.97	0.97	0.96	0.98	- .42
AM	0.98	0.98	0.97	0.98	1.00	0.97	0.98	0.96	0.99	- .45
DO	0.96	0.97	0.95	0.97	0.97	1.00	0.97	0.94	0.97	- .51
HM	0.97	0.98	0.96	0.97	0.98	0.97	1.00	0.96	0.98	- .52
HC	0.96	0.96	0.94	0.96	0.96	0.94	0.96	1.00	0.96	- .47
HP	0.98	0.98	0.97	0.98	0.99	0.97	0.98	0.96	1.00	- .46
ELL	- .42	- .49	- .41	- .42	- .45	- .51	- .52	- .47	- .46	1.00

165 Observaciones

APENDICE 5

TABLA 10

MATRIZ DE CORRELACION PARA LAS 19 VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LAS HEMBRAS DE LA LOCALIDAD DE ELBUI.

	LS	LPD1	LPD2	LPP	LPA	LC	LAD1	LAD2	LAP	LPO	AC	AB	AIO	AM	DO	HM	HC	HP	ELL
LS	1.00	0.98	0.99	0.96	0.77	-0.95	0.90	0.98	0.38	0.25	0.85	0.87	0.93	0.86	0.87	0.99	0.99	0.98	-0.49
LPD1	0.98	1.00	0.99	0.99	0.87	-0.87	0.96	0.99	0.20	0.43	0.93	0.76	0.84	0.94	0.70	0.98	0.95	0.99	-0.64
LPD2	0.99	0.99	1.00	0.97	0.81	-0.93	0.92	0.99	0.32	0.31	0.88	0.83	0.90	0.89	0.83	0.99	0.98	0.99	-0.54
LPP	0.96	0.99	0.97	1.00	0.91	-0.83	0.98	0.99	0.11	0.50	0.96	0.70	0.80	0.96	0.70	0.97	0.93	0.99	-0.70
LPA	0.77	0.87	0.81	0.91	1.00	-0.54	0.97	0.87	-0.29	0.81	0.98	0.36	0.49	0.98	0.36	0.79	0.70	0.87	-0.93
LC	-0.95	-0.87	-0.93	-0.83	-0.54	1.00	-0.73	-0.88	-0.64	0.05	-0.66	-0.97	-0.99	-0.66	-0.97	-0.94	-0.97	-0.88	0.20
LAD1	0.90	0.96	0.92	0.98	0.97	-0.73	1.00	0.96	-0.04	0.64	0.99	0.57	0.69	0.99	0.57	0.91	0.85	0.96	-0.81
LAD2	0.98	0.99	0.99	0.99	0.87	-0.88	0.96	1.00	0.21	0.41	0.93	0.77	0.85	0.93	0.77	0.99	0.96	0.99	-0.63
LAP	0.38	0.20	0.32	0.11	-0.29	-0.64	-0.04	0.21	1.00	-0.79	-0.14	0.78	0.68	-0.14	0.78	0.34	0.47	0.21	0.61
LPO	0.25	0.43	0.31	0.50	0.81	0.05	0.64	0.41	-0.79	1.00	0.71	-0.25	-0.10	0.71	-0.25	0.29	0.16	0.42	-0.96
AC	0.85	0.93	0.88	0.96	0.98	-0.66	0.99	0.93	-0.14	0.71	1.00	0.49	0.61	0.99	0.49	0.87	0.30	0.93	-0.86
AB	0.87	0.76	0.83	0.70	0.36	-0.97	0.57	0.77	0.78	-0.25	0.49	1.00	0.98	0.50	1.00	0.85	0.91	0.76	0.00
AIO	0.93	0.84	0.90	0.80	0.49	-0.99	0.69	0.85	0.68	-0.10	0.61	0.98	1.00	0.62	0.98	0.92	0.96	0.85	-0.14
AM	0.86	0.94	0.89	0.96	0.98	-0.85	0.99	0.93	-0.14	0.71	0.99	0.50	0.62	1.00	0.50	0.87	0.80	0.93	-0.86
DO	0.87	0.76	0.83	0.70	0.36	-0.97	0.57	0.77	0.78	-0.25	0.49	1.00	0.98	0.50	1.00	0.85	0.91	0.76	0.00
HM	0.99	0.98	0.99	0.97	0.79	-0.94	0.91	0.99	0.34	0.29	0.87	0.85	0.92	0.87	0.85	1.00	0.99	0.98	-0.52
HC	0.99	0.95	0.98	0.93	0.70	-0.97	0.85	0.96	0.47	0.16	0.80	0.91	0.96	0.80	0.91	0.99	1.00	0.96	-0.40
HP	0.98	0.99	0.99	0.99	0.87	-0.88	0.96	0.99	0.21	0.42	0.93	0.76	0.85	0.93	0.76	0.98	0.96	1.00	-0.63
ELL	-0.49	-0.64	-0.54	-0.70	-0.93	0.20	-0.81	-0.63	0.61	-0.96	-0.86	0.00	-0.14	-0.86	0.00	-0.52	-0.40	-0.63	1.00

APENDICE 6

TABLA 11

MATRIZ DE CORRELACION PARA LAS 19 VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LAS HEMBRAS DE LA LOCALIDAD DE CAUTIN

	LS	LPD1	LPD2	LPP	LPA	LC	LAD1	LAD2	LAP	LPD	AC	AB	A10	AM	DO	HM	HC	HP	ELL
LS	1.00	0.95	0.97	0.99	0.99	0.99	0.61	0.96	0.91	0.75	0.91	0.73	0.81	0.95	0.79	0.91	0.99	0.98	0.75
LPD1	0.95	1.00	0.96	0.95	0.95	0.94	0.56	0.87	0.90	0.66	0.83	0.66	0.78	0.88	0.84	0.84	0.94	0.92	0.57
LPD2	0.99	0.96	1.00	0.99	0.99	0.98	0.59	0.95	0.93	0.74	0.90	0.72	0.83	0.95	0.81	0.92	0.99	0.98	0.72
LPP	0.99	0.95	0.99	1.00	0.99	0.90	0.61	0.96	0.93	0.74	0.89	0.72	0.83	0.95	0.83	0.92	0.98	0.97	0.74
LPA	0.99	0.95	0.99	0.99	1.00	0.96	0.64	0.97	0.93	0.74	0.90	0.71	0.82	0.94	0.82	0.90	0.98	0.97	0.73
LC	0.98	0.94	0.98	0.96	0.96	1.00	0.52	0.94	0.89	0.71	0.94	0.78	0.81	0.98	0.76	0.89	0.98	0.97	0.74
LAD1	0.61	0.56	0.59	0.61	0.64	0.52	1.00	0.64	0.49	0.39	0.44	0.36	0.24	0.40	0.48	0.38	0.58	0.56	0.44
LAD2	0.96	0.87	0.95	0.96	0.97	0.94	0.64	1.00	0.88	0.76	0.93	0.78	0.80	0.95	0.71	0.89	0.96	0.96	0.76
LAP	0.91	0.90	0.93	0.93	0.93	0.89	0.49	0.88	1.00	0.74	0.88	0.67	0.92	0.91	0.80	0.93	0.94	0.95	0.58
LPO	0.75	0.66	0.74	0.74	0.74	0.71	0.38	0.76	0.74	1.00	0.67	0.45	0.69	0.67	0.33	0.82	0.77	0.77	0.42
AC	0.91	0.83	0.90	0.89	0.90	0.94	0.44	0.93	0.88	0.67	1.00	0.88	0.86	0.97	0.67	0.88	0.94	0.95	0.72
AB	0.73	0.66	0.72	0.72	0.71	0.78	0.36	0.78	0.67	0.45	0.88	1.00	0.76	0.96	0.45	0.75	0.78	0.80	0.55
A10	0.81	0.78	0.83	0.83	0.82	0.81	0.24	0.80	0.92	0.69	0.86	0.76	1.00	0.89	0.66	0.94	0.86	0.89	0.49
AM	0.95	0.88	0.95	0.95	0.94	0.96	0.44	0.95	0.91	0.67	0.97	0.86	0.89	1.00	0.76	0.93	0.97	0.97	0.77
DO	0.79	0.84	0.81	0.83	0.82	0.76	0.48	0.71	0.80	0.33	0.67	0.45	0.66	0.76	1.00	0.66	0.79	0.75	0.62
HM	0.91	0.84	0.92	0.92	0.90	0.89	0.38	0.89	0.93	0.82	0.88	0.75	0.94	0.93	0.66	1.00	0.93	0.95	0.64
HC	0.99	0.94	0.99	0.98	0.98	0.98	0.58	0.96	0.94	0.73	0.94	0.78	0.86	0.97	0.79	0.93	1.00	0.99	0.72
HP	0.98	0.92	0.98	0.97	0.97	0.97	0.56	0.96	0.95	0.77	0.95	0.80	0.89	0.97	0.75	0.95	0.99	1.00	0.70
ELL	0.75	0.57	0.72	0.74	0.73	0.74	0.44	0.76	0.58	0.42	0.72	0.58	0.49	0.77	0.62	0.64	0.72	0.70	1.00

APENDICE 7

TABLA 12

MATRIZ DE CORRELACION PARA LAS 19 LOCALIDADES UTILIZADAS EN EL ANALISIS MORFOLOGICO DE LAS HEMBRAS DE LA LOCALIDAD DE IMPERIAL.

	LS	LPD1	LPD2	LPP	LPA	LC	LAD1	LAD2	LAP	LPO	AC	AB	AIO	AM	DO	HM	HC	HP	ELL
LS	1.00	0.43	0.41	0.25	0.34	0.39	-0.07	0.26	0.42	0.44	0.40	0.35	0.41	0.49	-0.29	0.35	0.50	0.35	-0.14
LPD1	0.43	1.00	0.98	0.93	0.97	0.97	-0.00	0.83	0.96	0.97	0.96	0.96	0.90	0.93	0.47	0.97	0.85	0.81	-0.04
LPD2	0.41	0.98	1.00	0.94	0.98	0.96	0.03	0.85	0.97	0.95	0.95	0.96	0.92	0.90	0.51	0.97	0.87	0.82	-0.08
LPP	0.25	0.93	0.94	1.00	0.95	0.94	0.22	0.85	0.93	0.92	0.89	0.95	0.93	0.85	0.50	0.97	0.90	0.84	-0.10
LPA	0.34	0.97	0.98	0.95	1.00	0.98	-0.00	0.86	0.98	0.96	0.94	0.96	0.92	0.88	0.54	0.97	0.86	0.80	-0.07
LC	0.39	0.97	0.98	0.94	0.98	1.00	0.07	0.88	0.97	0.96	0.95	0.95	0.94	0.91	0.49	0.98	0.90	0.80	-0.11
LAD1	-0.07	-0.00	0.00	0.22	-0.00	0.07	1.00	0.12	-0.04	-0.02	0.10	0.14	0.32	0.18	-0.27	0.11	0.35	0.19	-0.08
LAD2	0.26	0.83	0.85	0.85	0.86	0.88	0.12	1.00	0.82	0.86	0.78	0.84	0.80	0.73	0.27	0.84	0.84	0.75	-0.13
LAP	0.42	0.96	0.97	0.93	0.98	0.97	-0.04	0.82	1.00	0.96	0.92	0.93	0.89	0.88	0.52	0.97	0.87	0.78	-0.07
LPO	0.44	0.97	0.95	0.92	0.96	0.96	-0.02	0.86	0.96	1.00	0.93	0.93	0.87	0.90	0.41	0.96	0.87	0.82	-0.14
AC	0.40	0.96	0.95	0.89	0.94	0.95	0.10	0.78	0.92	0.93	1.00	0.95	0.91	0.97	0.43	0.95	0.84	0.79	-0.04
AB	0.35	0.96	0.96	0.95	0.96	0.95	0.14	0.84	0.93	0.93	0.95	1.00	0.91	0.97	0.43	0.95	0.84	0.79	-0.04
AIO	0.41	0.90	0.92	0.93	0.92	0.94	0.32	0.80	0.89	0.87	0.91	0.94	1.00	0.13	0.60	0.76	-0.44	0.63	0.05
AM	0.49	0.93	0.90	0.85	0.88	0.91	0.18	0.73	0.88	0.90	0.97	0.92	0.13	1.00	0.07	0.44	-0.12	0.31	-0.11
DO	-0.29	0.47	0.51	0.50	0.54	0.49	-0.27	0.27	0.52	0.41	0.43	0.46	0.60	0.07	1.00	0.09	-0.27	0.05	0.03
HM	0.35	0.97	0.97	0.97	0.97	0.96	0.11	0.84	0.97	0.98	0.95	0.97	0.76	0.44	0.09	1.00	-0.26	0.80	-0.00
HC	0.50	0.85	0.87	0.90	0.86	0.90	0.35	0.84	0.87	0.87	0.84	0.87	-0.44	-0.12	-0.27	-0.26	1.00	-0.12	-0.26
HP	0.39	0.81	0.82	0.84	0.80	0.80	0.19	0.75	0.78	0.82	0.79	0.81	0.63	0.31	0.05	0.80	-0.12	1.00	-0.02
ELL	-0.14	-0.04	-0.08	-0.10	-0.07	-0.11	-0.08	-0.18	-0.07	-0.14	-0.04	0.03	0.05	-0.11	0.03	-0.00	-0.26	-0.02	1.00