

Tesis de Posgrado

Biología evolutiva en el género Ctenomys, (Rodentia: Octodontidae)

Ortells, Marcelo Oscar

1990

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Ortells, Marcelo Oscar. (1990). Biología evolutiva en el género Ctenomys, (Rodentia: Octodontidae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2374_Ortells.pdf

Cita tipo Chicago:

Ortells, Marcelo Oscar. "Biología evolutiva en el género Ctenomys, (Rodentia: Octodontidae)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1990.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2374_Ortells.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Biología Evolutiva en el género
Ctenomys
(Rodentia: Octodontidae)

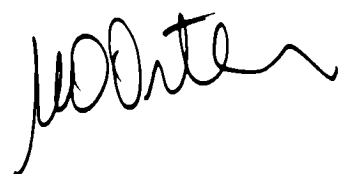
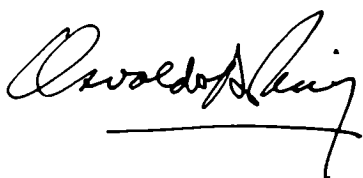
Marcelo Oscar Ortells

Director: Osvaldo A. Reig

Tesis presentada como requisito para optar al Título de
Doctor en Ciencias Biológicas

1990

2374
g. 2



a Georgina

a mis Padres

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Osvaldo A. Reig el haberme ofrecido, hace años ya, trabajar con él, y el haberme dirigido desde mi seminario de Licenciatura hasta esta tesis. Debo agradecerle también, la libertad con la que he trabajado y su constante confianza puesta en mi persona.

Debo agradecer a mis padres, Susana y Francisco, los esfuerzos realizados por mi, en todo sentido, ya desde mis primeros años escolares; de forma generosa y con atinado criterio, me brindaron la oportunidad de cultivar libremente cuanta actividad cultural o deportiva deseara, lo que me permitió de manera fácil, algo que pocos en este mundo pueden: elegir como vivir y tener posibilidad de lograrlo.

Sólo por una razón temporal de la vida, es que menciono y agradezco a mi querida compañera y amiga, Georgina Barrantes, en este orden. Si, como he dicho, aún tengo oportunidad de manipular en cierta forma mi futuro, sin duda alguna se lo debo a ella, sin la cual, esas posibilidades se habrían esfumado hace tiempo. Además, tengo que agradecerle el haberme enseñado pacientemente la técnica de electroforesis y el haberse prácticamente "mudado" conmigo, durante muchos meses, al laboratorio.

Muy especial es el agradecimiento a Julio R. Contreras por varias razones. Ha permitido con su esfuerzo y dedicación sin igual el analizar en esta tesis, las poblaciones de tuco-tucos de Corrientes, Santa Fe, Entre Ríos, Chaco y Paraguay. Debo agradecer también el ceder, desinteresadamente, parte del material utilizado en este trabajo. Incluidos en este agradecimiento están su esposa Amalia, Yolanda Davis y Griselda, que supieron acogerme calidamente en su hogar de Corrientes.

Muchas otras personas colaboraron con el esfuerzo propio a esta tesis. Debo mencionar especialmente a Orlando (Tito) Scaglia por su continuo apoyo en el campo, en el manejo de las colecciones, preparación de ejemplares, y muchas otras cosas que seguramente me olvido. John W. Kirsh ha permitido con su apoyo, la obtención de parte del material y ha ofrecido constantemente su ayuda.

Debo agradecer infinitamente a mi jefe y a mis compañeros de la Cátedra de Genética de la FCEYN de Mar del Plata "aguantar" allá, mi estancia acá.

El hecho que una persona se mueva de su lugar de origen para obtener lo que sus motivaciones requieren, necesariamente tiene precio, a menudo elevado. Y es frecuentemente este precio, no el de una droga o el de una campaña, el más difícil de pagar y el que puede hacer fracasar un proyecto. Una de las satisfacciones más grandes que he tenido durante los cinco años que hasta el momento llevo fuera de mi ciudad, es el haber podido mantener la amistad con mi querido grupo marplatense. Y no realmente gracias a mi, sino al enorme e incondicional esfuerzo que significa modificar totalmente sus ritmos de vida para poder estar juntos las veces que he viajado y mucho más...

Debo agradecer finalmente a todos aquellos, especialmente de mis compañeros del GIBE, que de alguna u otra manera, en algún momento, me han ayudado.

INDICE

i. INDICE GENERAL.....	i
ii. INDICE DE TABLAS.....	vi
iii. INDICE DE FIGURAS.....	vii
iv. INDICE DE AUTORES.....	...
v. RESUMEN.....	
i. INDICE GENERAL..	
1. INTRODUCCION.....	1
1.1. Fundamentos.....	1
1.1.1. La especie, la especiación y su metodología de estudio.....	1
1.1.1.1. Los conceptos de especie.....	1
1.1.1.2. Los modelos de especiación.....	6
1.1.1.3. Puesta a prueba de los modelos de especiación.....	10
1.1.2. Reconstrucción de árboles evolutivos.....	13
1.1.2.1. Métodos de máxima parsimonia (MP) y de compatibilidad (MC).....	14
1.1.2.2. Métodos basados en matrices de distancias (MD).....	15
1.1.2.3. Método de máxima verosimilitud (MV).....	16
1.1.2.4. Comparación entre los distintos métodos.....	17
1.1.2.5. Confiabilidad de los árboles obtenidos.....	22
1.2. Antecedentes sobre el género <i>Ctenomys</i>	23
1.2.1. Distribución geográfica.....	24
1.2.2. Ubicación sistemática.....	24
1.2.3. Registro fósil.....	24
1.2.4. Rasgos morfológicos generales.....	25
1.2.5. Morfología espermática.....	26
1.2.6. Diversidad específica.....	26
1.2.7. Interrelación entre las especies.....	27
OBJETIVOS.....	28
2. MATERIALES Y METODOS.....	28
2.1. Materiales.....	29
2.1.2. Equipos.....	29
2.1.2.1. Computación.....	29
2.1.2.2. Material óptico.....	29
2.1.2.3. Material de medición.....	29
2.1.2.4. Centrífugas y Fuentes de Poder.....	29
2.1.3. Especímenes.....	29
2.1.3.1. Especímenes analizados morfológicamente.....	29
2.1.3.1.2. Ejemplares macho.....	29

2.1.3.1.2. Ejemplares hembra.....	34
2.1.3.2. Especímenes analizados cromosómicamente.....	35
2.1.3.3. Especímenes analizados electroforéticamente.....	41
2.1.3.4. Especímenes analizados espermáticamente.....	42
2.2. METODOS.....	43
2.2.1. Análisis Morfológico.....	43
2.2.1.1. Procesamiento de los especímenes.....	44
2.2.1.2. Variables analizados y nomenclatura.....	44
2.2.1.3. Procedimientos estadísticos.....	45
2.2.1.3.1. Método de Burnaby.....	46
2.2.1.3.2. Análisis de componentes principales.....	47
2.2.1.3.3. Análisis de factores.....	48
2.2.1.3.4. Análisis discriminante.....	51
2.2.1.3.5. Regresión múltiple.....	53
2.2.1.4. Estimación general de la divergencia basada sobre morfología craneana.....	54
2.2.1.4.1. Estimación cuantitativa.....	54
2.2.1.4.2. Estimación cualitativa.....	54
2.2.1.5. Estimación de la filogenia basada sobre morfología craneana.....	55
2.2.1.5.1. Aproximación fenética.....	55
2.2.1.5.2. Aproximación por Fitch & Margoliash.....	55
2.2.1.5.3. Aproximación por Máxima verosimilitud.....	55
2.2.1.5.4. Aproximación por el Método del vecino más próximo.....	55
2.2.1.6. Programas de computación utilizados.....	55
2.2.2. Análisis Electroforético.....	58
2.2.2.1. Procesamiento de los especímenes.....	59
2.2.2.2. Sistemas analizados y nomenclatura.....	60
2.2.2.3. Procedimientos estadísticos.....	61
2.2.2.3.1. Frecuencias alélicas.....	61
2.2.2.3.2. Medidas de la variabilidad genética.....	61
2.2.2.3.3. Equilibrio Hardy-Weinberg.....	61
2.2.2.3.4. Estimación de distancias genéticas.....	62

2.2.2.4. Estimación general de la divergencia basada sobre alozimas.....	63
2.2.2.5. Estimación de las relaciones de parentesco sobre la base de alozimas.....	63
2.2.2.5.1. Aproximación fenética.....	63
2.2.2.5.2. Aproximación cladística.....	63
2.2.2.5.2.1. Análisis basado en máxima parsimonia.....	63
2.2.2.5.2.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique).....	63
2.2.2.5.3. Aproximación por Máxima verosimilitud.....	63
2.2.2.6. Programas de computación utilizados.....	64
2.2.3. Análisis Cromosómico.....	64
2.2.3.1. Procesamiento de los especímenes y preparados.....	65
2.2.3.1.1. Tinción normal.....	66
2.2.3.1.2. Bandas G.....	66
2.2.3.1.3. Bandas C.....	66
2.2.3.1.4. Fotografiado.....	66
2.2.3.2. Descripción de cariotipos novedosos y nomenclatura.....	67
2.2.3.3. Estimación general de la divergencia basada sobre cromosomas.....	67
2.2.3.3.1. Aproximación basada en cariotipos normales.....	67
2.2.3.3.2. Aproximación basada en cariotipos bandedados.....	67
2.2.3.4. Estimación de la filogenia basada en datos cromosómicos.....	68
2.2.3.4.1. Aproximación fenética.....	68
2.2.3.4.2. Aproximación cladística.....	68
2.2.3.4.2.1. Análisis basado en máxima parsimonia.....	68
2.2.3.4.2.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique).....	69
2.2.3.5. Programas de computación utilizados.....	69
2.2.4. Análisis Espermático.....	69
2.2.4.1. Procesamiento de los especímenes y preparados.....	69
3. Resultados y discusión parcial.....	70

3.1. Resultados de morfología craneana.....	70
3.1.1. Machos.....	70
3.1.1.1. Método de Burnaby.....	72
3.1.1.2. Análisis de Factores.....	73
3.1.1.3. Estimación general de la divergencia ba- sada sobre morfología craneana.....	73
3.1.1.3.1. Estimación cuantitativa.....	73
3.1.1.3.2. Estimación cualitativa.....	77
3.1.1.4. Estimación de la filogenia sobre la base de la morfología craneana.....	90
3.1.1.5.1. Aproximación del análisis cuali- tativo.....	90
3.1.1.5.2. Aproximación fenética.....	82
3.1.1.5.3. Aproximación por Fitch & Margo- liash.....	95
3.1.1.5.4. Aproximación por Máxima Verosi- militud.....	97
3.1.1.5.5. Aproximación por el Método del Ve- cino más próximo.....	98
3.1.2. Hembras.....	100
3.1.2.1. Método de Burnaby.....	102
3.1.2.2. Análisis de Factores.....	103
3.1.2.3. Estimación general de la divergencia ba- sada sobre morfología craneana. Estima- ción cuantitativa.....	103
3.1.2.4. Estimación de la filogenia basada sobre morfología craneana. Aproximación fené- tica.....	105
3.2. Resultados de electroforésis.....	109
3.2.1. Frecuencias alélicas.....	109
3.2.2. Medidas de la variabilidad genética.....	111
3.2.3. Estimación de distancias genéticas.....	119
3.2.4. Estimación general de la divergencia y estima- ción fenética de la filogenia.....	119
3.2.5. Aproximación cladística.....	126
3.2.5.1. Análisis basado en máxima parsimonia.....	126
3.2.5.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique).....	128
3.2.6. Aproximación por Máxima verosimilitud.....	129
3.3. Resultados de Cromosomas.....	130

3.3.1. Descripción de cariotipos novedosos y presentación de cariotipos bandeados.....	130
3.3.1.1. Cariotipos normales.....	130
3.3.1.2. Cariotipos con Bandas G.....	141
3.3.1.3. Cariotipos con Bandas C.....	148
3.3.2. Estimación general de la divergencia y filogenia basada sobre cromosomas sin bandear.....	153
3.3.3. Estimación general de la divergencia y filogenia basada sobre cromosomas bandeados.....	160
3.3.3.1. Aproximación fenética.....	162
3.3.3.2. Aproximación cladística.....	164
3.3.3.2.1. Análisis basado en máxima parsimonia.....	164
3.3.3.2.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique).....	177
3.4. Resultados de espermios.....	179
4. DISCUSION.....	180
4.1. Filogenia de <i>Ctenomys</i>	180
4.2. Especiación en <i>Ctenomys</i>	184
4.2.1. Especiación cromosómica.....	185
4.2.1.1. Ejemplos de la literatura.....	185
4.2.1.1.1. Arvicolidae.....	185
4.2.1.1.2. Spalacidae.....	186
4.2.1.1.3. Echimiidae.....	187
4.2.1.1.4. Geomyidae.....	188
4.2.1.1.5. Iguanidae.....	189
4.2.1.2. El grupo de especies de Corrientes.....	191
4.2.1.2.1. Aislamiento reproductivo postcigótico.....	192
4.2.1.2.2. Diferenciación genética en el grupo de Corrientes.....	193
4.2.1.2.3. Correspondencia con el marco teórico..	196
4.2.1.2.4. Modelos posibles de especiación cromosómica en <i>Ctenomys</i>	198
4.2.2. Especiación alopátrica.....	198
5. CONCLUSIONES.....	200
5.1. Filogenia de <i>Ctenomys</i>	200
5.2. Especiación en <i>Ctenomys</i>	200
5.3. Taxonomía.....	201
6. BIBLIOGRAFIA.....	202
7. APENDICE.....	217

ii. INDICE DE TABLAS.

Tabla 1.I.	2
Tabla 2.1.I.	30
Tabla 2.2.I.	44
Tabla 2.2.II.	61
Tabla 3.1.1.I.	70
Tabla 3.1.1.II.	73
Tabla 3.1.1.III.	74
Tabla 3.1.1.IV.	75
Tabla 3.1.1.V.	78
Tabla 3.1.1.VI.	79
Tabla 3.1.1.VII.	81
Tabla 3.1.1.VIII.	98
Tabla 3.1.1.IX.	98
Tabla 3.1.2.I.	100
Tabla 3.1.2.II.	103
Tabla 3.1.2.III.	104
Tabla 3.1.2.IV.	105
Tabla 3.2.I.	110
Tabla 3.2.II.	112
Tabla 3.2.III.	113
Tabla 3.2.IV.	126
Tabla 3.2.V.	119
Tabla 3.3.1.1.	130
Tabla 3.3.2.I.	153
Tabla 3.3.3.I.	160
Tabla 3.3.3.II.	161
Tabla 3.3.3.III.	162
Tabla 3.3.3.IV.	165
Tabla 3.3.3.V.	166
Tabla 3.3.3.VI.	167
Tabla 3.3.3.VII.	172

iii. INDICE DE FIGURAS.

Figura 1.1.I.	20	Figura 3.3.2.III.	157
Figura 1.1.II.	21	Figura 3.3.3.I.	163
Figura 1.1.III.	21	Figura 3.3.3.II.	165
Figura 2.1.I.	30	Figura 3.3.3.III.	168
Figura 2.2.I.	45	Figura 3.3.3.IV.	169
Figura 3.1.1.I.	83	Figura 3.3.3.V.	176
Figura 3.1.1.II.	91	Figura 3.3.3.VI.	178
Figura 3.1.1.III.	92	Figura 4.I.	181
Figura 3.1.1.IV.	93		
Figura 3.1.1.V.	96		
Figura 3.1.1.VI.	97		
Figura 3.1.1.VII.	99		
Figura 3.1.2.I.	108		
Figura 3.1.2.II.	108		
Figura 3.2.1.	121		
Figura 3.2.II.	122		
Figura 3.2.III.	123		
Figura 3.2.IV.	124		
Figura 3.2.V.	126		
Figura 3.2.VI.	127		
Figura 3.2.VII.	128		
Figura 3.3.1.I.	135		
Figura 3.3.1.II.	136		
Figura 3.3.1.III.	136		
Figura 3.3.1.IV.	139		
Figura 3.3.1.V.	140		
Figura 3.3.1.VI.	140		
Figura 3.3.1.VII.	141		
Figura 3.3.1.VIII.	142		
Figura 3.3.1.IX.	143		
Figura 3.3.1.X.	144		
Figura 3.3.1.XI.	145		
Figura 3.3.1.XII.	146		
Figura 3.3.1.XIII.	147		
Figura 3.3.1.XIV.	149		
Figura 3.3.1.XV.	150		
Figura 3.3.1.XVI.	151		
Figura 3.3.1.XVII.	152		
Figura 3.3.2.I.	154		
Figura 3.3.2.II.	156		

iv. INDICE DE AUTORES.

Abella, A.	43	Cook, J.A.	130, 154
Agrawaval, V.C.	25	Coyne, J.A.	190
Aguilera, M.	11, 187	Cracraft, J.	5
Allen, S.L.	60	Crisci, J.V.	180
Altuna, C.A.	154	De Lorenzo, R.J.	60
Anbinder, E.M.	11	Dobzhansky, TH.	1
Anderson, S.	130, 131, 154	Dubost, G.	25
Apfelbaum, L.	60	Echelle, A.A.	10
Archie, J.	116, 191	Edwards, A.W.F.	15, 16, 63
Arnason, U.	11	Elder, F.F.B.	65
Avise, J.C.	58	Ellerman, J.K.	27
Ayala, F.	10, 23, 57, 59, 62, 118, 119, 120, 196	Endler, J.A.	7
Baker, R.J.	8, 9	Estabrook, G.F.	14
Bar-El, H.	186	Faith, D.P.	16
Barros, C.	26	Farris, J.S.	14, 15, 19
Barros, M.A.	66	Feder, J.H.	189
Bernaldo, M.	187, 188	Feito, R.	26, 179
Berlocher, S.H.	16, 19, 20	Folsomtoin, J.	14, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 55, 63, 90
Berrios, M.	26, 179	Fitch, W.	15, 21, 55
Bickman, J.W.	8	Fontdevila, A.	9
Blanco, A.	60	Freitas, T.R.O.	130, 148, 154
Bookstein, F.	44, 46, 47, 48, 49	Gallardo, M.	26, 77, 130, 154, 179, 195
Boyer, S.H.	60	Gittenberg, E.	10
Bregliano, J.C.	9	Grant, V.	3
Bunge, M.	5	Greenbaum, I.	174
Burgman, M.A.	18, 21	Gropp, A.	8, 190
Burnaby, T.P.	45, 46	Hall, W.P.	9, 189, 191
Bush, G.L.	9, 10, 11, 190	Hamerton, J.	65
Cabrera, A.L.	24, 26, 27	Harris, H.	57, 60
Camin, J.M.	14	Hayman, D.	11
Campbell, C.A.	119	Hedrick, P.W.	9
Capanna, E.	8, 173, 185	Herrera, E.	26, 179
Carson, H.L.	11	Hilburn, L.R.	64
Catzefflis, F.M.	187	Hiner, R.	60
Cavalli-Sforza, L.L.	15, 16, 63	Honacki, J.H.	24, 27
Chesser, R.K.	9	Honeycutt, R.L.	118
Christie, M.I.	125	Hopkinson, D.A.	60
Contreras, J.R.	43, 154, 169		

- | | | | |
|-------------------|---|------------------|---|
| Hubby, J.L. | 57 | Moore, D.W. | 176 |
| Humphries, J.M. | 44, 46 | Moritz, C. | 8, 185 |
| Hunter, R.L. | 57 | Morrison, D.F. | 47, 48, 50 |
| Imai, H.T. | 11 | Mosiman, J.E. | 44 |
| Johnson, M.S. | 14, 20 | Moyzis, R.K. | 177 |
| Jolicoeur, P. | 44 | Mueller, D.L. | 23, 62, 119, 120 |
| Jones, R.C. | 26, 154 | Murray, J. | 7 |
| Kaiser, P. | 173 | Myers, P. | 174 |
| Kiblsky, P. | 26, 27, 67, 130,
131, 133, 154, 157, 184 | Nachman, M.W. | 174 |
| Kidwell, M.G. | 9 | Naveira, H. | 9 |
| Kiger, J.A. | 59 | Neff, N.A. | 48, 49, 50, 51, 52 |
| Kim, J. | 18, 21 | Nei, M. | 15, 18, 21, 22,
27, 55, 62 |
| King, M. | 9, 174, 185, 186,
190, 197 | Nevo, E. | 25, 115, 117, 118,
186, 187, 189, 199, 201 |
| Kluge, A.G. | 14 | Novello, A.F. | 130 |
| Kondrashov, A.S. | 10 | Ortells, M.O. | 130 |
| Kornfield, I. | 10 | Palma, E. | 195 |
| Krimbas, C. | 18 | Pascual, R. | 24 |
| Lande, R. | 9 | Paterson, H.E.H. | 2 |
| Langguth, A. | 43 | Patterson, B. | 24 |
| Le Quesne, W.J. | 14 | Patton, J.L. | 66, 117, 118, 188,
189, 196, 197 |
| Lee, M.R. | 65 | Pearson, O.P. | 24, 25, 125 |
| Lessa, E. | 130, 154, 148 | Penny, D. | 17 |
| Levan, A. | 67 | Porter, C.A. | 190 |
| Lewis, H. | 9 | Prakash, S. | 57 |
| Lewontin, R. | 56, 57 | Raven, P.H. | 5 |
| Li, W.H. | 15 | Redi, C.A. | 173 |
| Marcus, L.F. | 48, 49, 50, 51, 52 | Reed, M. | 174 |
| Margoliash, E. | 15, 21, 55 | Reig, O.A. | 5, 11, 23, 24,
25, 26, 27, 43, 67, 130,
131, 133, 154, 157, 184,
185, 187, 188 |
| Markert, C.L. | 57 | Richardson, B.J. | 60 |
| Massarini, A. | 130, 154 | Rofe, R. | 11 |
| Mattevi, M.S. | 130 | Rogers, J.S. | 18, 62, 63 |
| Maynard Smith, J. | 7 | Rohlf, F.J. | 18, 21, 47, 61 |
| Mayr, E. | 1, 5, 7 | Roig, V. | 26, 27 |
| McMorris, F.R. | 14 | Rosenberg, A. | 6 |
| Meyne, J. | 177 | Rossi, M.S. | 198 |
| Mickievich, M.F. | 19, 20, 21 | | |
| Mina, M.V. | 10 | | |
| Mitter, C. | 19, 20, 21 | | |
| Modi, W.S. | 68, 185, 186 | | |

Indice de Autores

Rovereto, C.	24	Valentine, J.W.	118
Ruddle, F.H.	60	Vidal-Rioja, L.	130, 148
Rusconi, C.	26	Villarroel, C.	25
Sage, R.O.	27, 115, 116, 194, 195	Vitullo, A.	26, 69, 77, 154
Saitou, N.	15, 18, 21, 22, 55	Wahrman, J.	186
Sattler, P.W.	64	Walsh, J.B.	9
Scolaro, J.A.	43	Wayne, R.K.	11
Seabright, M.	66	White, M.J.D.	8, 9, 185
Selander, R.K.	60, 112, 118	Wiley, E.O.	14, 15
Shaw, D.D.	9	Williams, S.L.	118
Shaw, CH.R.	9, 59	Wilson, A.C.	10, 11, 58, 190
Sherwood, S.W.	188, 186, 197	Winking, H.	190
Simon, C.	116, 191	Woods, C.A.	24
Simpson, G.C.	24	Wooten, M.C.	18, 21
Sites, J.W.	8, 185, 189, 190, 191	Wright, S.	62
Slutkin, M.	9	Yang, S.Y.	117, 118, 188, 189
Smith, M.F.	188, 189	Yates, T.L.	130, 176
Smithies, O.	60	Zambrano, I.F.	187
Sneath, P.H.A.	12, 15, 63, 67	Zinkham, W.H.	60
Sokal, R.R.	12, 14, 15, 61, 63, 67		
Somers, K.M.	46		
Sourdis, J.	18, 21, 22		
Spotorno, A.	193		
Stent, G.S.	5		
Stock, A.D.	201		
Swofford, D.L.	18, 19, 20, 64, 69		
Tate, G.H.H.	24, 28		
Tateno, Y.	15		
Tauber, C.A.	10		
Tauber, M.J.	10		
Teissier, G.	44		
Templeton, A.R.	2, 4, 7, 10, 59, 186, 190, 191, 198		
Thaeler, C.S.	189		
Thomas, O.	26		
Thompson, P.	191		
Thorpe, R.S.	47		
Travi, V.H.	130		

RESUMEN

v. RESUMEN.

En esta tesis se estudiaron las relaciones de parentesco de la 42 muestras poblacionales que corresponden a 20 de las 55 especies reconocidas, y a otras 4 que los resultados de esta tesis indican que deberán asignarse a nuevas especies. El octodóntido *Octodontomys gliroides* fué incluido como grupo externo para facilitar las inferencias cladísticas. Las relaciones de parentesco fueron estudiadas sobre la base de información cromosómica, de morfología craneana, alozimas y morfología espermática. Para 14 OTUs se obtuvo información de los cuatro tipos mientras que del resto de solo 1, 2 ó 3 tipos. Los datos morfométricos cromosómicos y alozímicos se analizaron utilizando diferentes aproximaciones cuantitativas (UEGMA, máxima parsimonia, compatibilidad, máxima verosimilitud, Fitch & Margoliash, Vecino más próximo) y con los datos de morfología craneana se utilizó un método descrito aquí, basado en sucesivos análisis discriminantes. Cada uno de los procedimientos multivariados, fenéticos y cladísticos utilizados fue expuesto y discutido en cuanto a su aplicabilidad para cada uno de los caracteres analizados.

En el análisis de las relaciones de parentesco se partió de la consideración de la morfología espermática, que divide al género en dos grandes grupos de especies, las que poseen el tipo denominado simétrico, considerado primitivo, y las que poseen el tipo llamado asimétrico, derivado. Tomando como referencia extra grupal a *Octodontomys*, y utilizando datos de bandas G cromosómicas, se estableció que, de las especies analizadas con este tipo de datos, *C. occultus* es la que posee más caracteres en estado plesiomórfico. El tipo de espermio del extragrupo utilizado fue el simétrico, al igual que el de *C. occultus*. Utilizando la información de todas las topologías obtenidas con los diferentes análisis realizados sobre los diferentes tipos de datos, se construyó un árbol único, el que tuvo como tronco principal, el obtenido con el análisis cladístico de los cromosomas con bandas G. El grupo de especies compuesto por *C. opimus*, *C. fulvus* y *C. robustus*, es el más relacionado con el antecesor de las especies de espermio asimétrico. Las restantes especies derivadas se vinculan entre sí a través de diversos agrupamientos, que pueden servir de base a la clasificación intragenérica de *Ctenomys* en distintos grupos de especies.

Además, se estudiaron los posibles mecanismos de especiación que pudieron haber intervenido en la diversificación del género. Como criterio metodológico, se tomaron en cuenta aquellos grupos, encontrados en el análisis filogenético, en los que no pudiera haber ambigüedades en la interpretación de las diferencias encontradas en las especies del mismo, en cuanto a que las mismas fueran pre- o postespeciación. Para el caso específico de especiación cromosómica, se buscaron grupos que tuvieran las siguientes características: 1) que existieran diferencias cromosómicas entre las especies en cuestión y

que las mismas pudiesen actuar como barreras reproductivas; 2) que no existieran entre dichas especies, diferencias respecto de algún otro carácter que pudieran ser indicadoras de la existencia de algún otro mecanismo de especiación, previo a la diferenciación cromosómica; 3) debido a que siempre es posible encontrar diferencias (estadísticamente) significativas para cualquier carácter, se tomó como parámetro, las diferencias máximas encontradas entre cualquier par de poblaciones de una misma especie de *Ctenomys*, esto significa que para cualquier carácter, ninguna diferencia que se encuentre al mismo nivel o por debajo de las diferencias encontradas entre poblaciones de una misma especie pueden ser consideradas como causantes o indicadoras de diferenciación específica.

Esta misma metodología fue aplicable para la puesta a prueba de otros tipos de especiación de una forma más general: si no se tiene evidencia directa o indirecta de aislamiento reproductivo, se consideraron especies diferentes aquellas que tuvieron diferencias mayores que las encontradas para cualquier par de poblaciones de una misma especie de *Ctenomys*.

Dos grupos de especies fueron encontrados, en los que fue posible analizar los mecanismos de especiación involucrados en los mismos.

El primer grupo fue el compuesto por 6 OTUs estudiados mediante bandedo G, que pertenecen a la Provincia de Corrientes, Argentina. En estos OTUs el número diploide varía de 42 a 70, y el número fundamental de 80 a 84. El análisis de bandas G permitió establecer el número y tipo de reordenamientos involucrados en la diferenciación cromosómica, llegandose a la conclusión de que los mismos son suficientes para actuar como barreras reproductivas entre todos estos OTUs. Cuando se analizaron las diferencias en morfología craneana, las mismas estuvieron en el nivel o, en la mayoría de los casos, por debajo de aquellas encontradas entre poblaciones de *C. australis*, *C. tuconax* y *C. talarum*. El análisis morfológico se realizó utilizando, o no, técnicas estadísticas que eliminan el factor tamaño (Método de Burnaby). Las distancias genéticas medidas por alozimas encontradas entre los OTUs de Corrientes, fueron bajas. Estas distancias estuvieron también por debajo de las encontradas entre poblaciones de una misma especie, como las halladas entre poblaciones de *C. mendocinus* y *C. australis*. Estos resultados no contradicen la predicción de Templeton (1980) de que las distancias genéticas medidas mediante alozimas, deberían ser altas en aquellos grupos que especieron cromosómicamente. Esto es así porque la variabilidad genética existente en el antecesor común a todo el grupo fue baja. El análisis cladístico de los datos alozimicos demostró que la variabilidad presente en dicho antecesor fue como máximo, igual a la variabilidad máxima existente en las especies actuales. Por lo tanto se calcularon las distancias máximas teóricas posibles con los alelos presentes en los OTUs de Corrientes, y las

mismas están también por debajo del nivel de poblaciones. Si bien no serán presentados en esta tesis, resultados preliminares de hibridación de ADN ADN, indican que no existen diferencias en el ADN de copia única de los OTUs de Corrientes. Estos resultados nos llevan a la conclusión que, estando aislados reproductivamente, como lo indicarían las diferencias cariotípicas, y no existiendo ninguna otra variable que los diferencie, los OTUs de Corrientes habrían especiados por algún mecanismo que involucre los cromosomas. El modelo exacto, no pudo ser establecido, pero es probable que hayan actuado más de un tipo de mecanismo.

El otro grupo en donde se pudo investigar el probable mecanismo de especiación, fue el denominado "*mendocinus*" (Massarini *et al.*, *en prensa*). Este grupo posee idéntico cariotipo, aún en el nivel de bandeo G. Por lo tanto queda descartada la existencia de especiación cromosómica. Se analizó entonces si diferían en otros rasgos de manera suficiente como para considerar los OTUs que lo componen (*C. mendocinus*, *C. portecusi*, y *C. australis*) especies distintas. Solo fueron analizados desde el punto de vista de las variables morfológicas, y demostraron tener diferencias mayores que las encontradas para poblaciones de una misma especie. Un mecanismo posible de especiación para este grupo es el clásico alopátrico, pudiendo existir también en el caso específico de *C. australis*, un caso de especiación ecológica (Nevo, 1985).

Se determinaron también, para todas las especies analizadas por bandeo G, los tipos principales de reordenamientos cromosómicos involucrados en la transformación de un cariotipo de 22 cromosomas, como el de *C. occultus*, a otro de 70 como el de *C. dorbignyi*. El principal reordenamiento hallado fue la inversión pericéntrica que genera un brazo cromosómico nuevo (26.37%), luego le siguen la fusión céntrica (23.63%), aparición de brazos no detectados en algún antecesor (21.43%), fisión céntrica (14.84%), desaparición de brazos cromosómicos presentes en el antecesor (6.04%), le siguen en menor medida amplificaciones eucromáticas (2.75%), amplificaciones heterocromáticas (1.65%), y finalmente inversiones pericéntricas que no generan un brazo nuevo, inversiones paracéntricas y duplicaciones de brazos enteros (todas con 1.10%).

Se analizaron también cuáles variables craneométricas fueron las que más influyeron en la modificación de la forma a lo largo de la evolución de las especies analizadas. Las variables fueron clasificadas en cuatro categorías: mandíbula, y el alto, ancho y largo del cráneo. De estas cuatro categorías, la mandíbula resultó la que más veces estuvo relacionada con la diferenciación entre dos especies, siguiéndole el ancho del cráneo, el largo y finalmente el alto. En cuanto a las variables individuales, la longitud del maxilar inferior y el ancho rostral, fueron las más importantes, siguiéndoles el alto del maxilar inferior y la longitud nasal.

INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

Uno de los problemas evolutivos más interesantes se refiere a los mecanismos de origen de nuevas especies. La enorme diversidad organizmica actual y pasada tiene como causa a dichos mecanismos, lo que apoya la afirmación anterior. Pero es también un problema conflictivo, debido a la multiplicidad de mecanismos propuestos y a las posturas no siempre conciliadoras de los especialistas.

Para el estudio de estos mecanismos, el modelo de organismo es muy importante. El mismo debe ser un grupo politípico y sobre el que exista cierta evidencia de que los procesos especiogénicos están activo o son recientes. El género *Ctenomys* es un buen ejemplo.

Los roedores pertenecientes al género *Ctenomys* (Caviomorpha, Octodontidae) comprenden más de 50 especies reconocidas, caracterizandose, especialmente, por una alta especificidad cariotípica (con números diploides que van de 10 a 70, y números fundamentales de 20 a 86) y vida subterránea. Estas dos características han llevado a considerar la existencia de una relación causal entre mecanismos de especiación cromosómica y la amplia diversidad específica del género (Reig & Kiblishky, 1989; Reig, 1989; Reig *et al.*, 1980). Sin embargo, como en muchos otros casos, esta relación, aún pudiendo ser cierta, no ha sido justificada adecuadamente. Más aún, existen en el género casos de diferenciación específica sin evidencias de cambios cromosómicos. Sumado a esto, las posibilidades reales de los modelos de especiación cromosómica parecen ser escasas cuando se tienen en cuenta las restricciones biológico-poblacionales a las que en teoría, los mismos deben ajustarse (Patton & Sherwood, 1982; Sites & Moritz, 1987).

Por otra parte, las relaciones de parentesco entre las formas de *Ctenomys* no son conocidas. Además de ser las mismas un conocimiento evolutivo de por sí importante, son imprescindibles para el estudio de los mecanismos de especiación. Esto es así porque la especiación genera especies hermanas, y estas son reconocibles solo mediante el análisis filogenético.

1.1. Fundamentos

1.1.1. La especie, la especiación y su metodología de estudio.

1.1.1.1. Los conceptos de especie.

El principal libro de C. Darwin, "El Origen de la Especies", trata más bien sobre el origen de las adaptaciones que sobre el de las especies. Quizá un punto crucial de este problema importante y todavía en pleno debate, radique en la falta de acuerdo sobre "qué es" una especie. El concepto de especie más tradicionalmente aceptado es el biológico. Mayr (1983) lo define como "un grupo de poblaciones naturales, efectiva o potencialmente interfértiles que están aislados de otros tales grupos". Dobzhansky (1970:357)

dice que "las especies son sistemas de poblaciones, entre los cuales el intercambio genético está limitado o impedido por un mecanismo de aislamiento reproductivo o quizá por una combinación de varios de esos mecanismos". Pero lejos estamos de un total acuerdo.

No me propongo aquí hacer una discusión exhaustiva del problema de la definición de especie. La discusión que sigue sólo trata de proporcionar un encuadre teórico basado en las aportaciones más recientes, centrando sobre todo en las aportaciones de Alan. R. Templeton.

Recientemente, Templeton (1989) hace una revisión de tres conceptos en boga de especie: el concepto evolutivo, el concepto del aislamiento y el concepto del reconocimiento y propone un cuarto, el concepto de cohesión de las especies. En esta revisión considera que las cuatro definiciones tratan a las especies como entidades biológicas reales, por lo que, siguiendo a Paterson (1985) utiliza el nombre de "concepto del aislamiento" para el tradicional "concepto biológico" de especie, ya que éste define la especie en términos de mecanismos de aislamiento. En la Tabla 1.1. tomada de Templeton (1989: 6) se resumen los distintos tipos de mecanismos de aislamiento reproductivo (MAR).

1. Mecanismos preapareamiento que evitan cruzamientos interpoblacionales	
a.	Aislamiento ecológico o de habitat: las poblaciones se aparean en diferentes habitats en la misma región geográfica o usan diferentes polinizadores, etc.
b.	Aislamiento temporal: las poblaciones se aparean en diferentes épocas del año.
c.	Aislamiento etológico. Las parejas interpoblacionales potenciales se encuentran, pero no se aparean.
2. Aislamiento postapareamiento pero preigótico.	
a.	Aislamiento mecánico: el apareamiento interpoblacional se produce pero no tiene lugar la transferencia de gametas.
b.	Mortalidad o incompatibilidad gamética: se produce la transferencia de gametos pero el huevo no es fertilizado.
3. Aislamiento postigótico:	
a.	Inviabilidad de la F ₁ : los cigotos híbridos tienen reducida viabilidad.
b.	Esterilidad de la F ₁ : los híbridos adultos tienen fertilidad reducida.
c.	Debilitamiento del híbrido: la F ₂ o la retrocruza tiene viabilidad o fertilidad reducida.
d.	Interacciones citoplasmáticas o coevolutivas: los individuos de una población infectada por un endoparásito o con un determinado elemento citoplasmático son fértiles entre ellos, pero la fertilidad y/o la viabilidad se ve disminuida cuando se aparean individuos infectados con no infectados.

Tabla 1.1. Clasificación de los mecanismos de aislamiento reproductivo, tomada de Templeton (1989).

El primer concepto que Templeton analiza es el de "especie evolutiva". Bajo esta definición, una especie consiste de una población o grupo de poblaciones que comparten un "destino evolutivo común a través del tiempo". La decisión del status específico se basa en los patrones de cohesión fenotípica dentro de un grupo de organismos versus la discontinuidad entre grupos. Templeton señala dos objeciones importantes. Primero, es difícil

juzgar que es un destino evolutivo "común", y segundo, éste no es un concepto mecanicista, ya que sólo se refiere a la manifestación de la cohesión y no a los mecanismos responsables de ella.

El segundo concepto, el de aislamiento, tiene el problema de definir a la especie a través de los mecanismos de aislamiento reproductivo (MARs), los que pueden no estar relacionados con el proceso de especiación mismo. Por ejemplo, en el modelo alopátrico (véase más adelante) que comienza con la separación en dos por una barrera externa de una población, los mecanismos señalados en la Tabla 1.1. nada tienen que ver con el proceso de especiación. Según Templeton, esto no quiere decir que el aislamiento no sea algunas veces el producto de la especiación, pero el producto (aislamiento) no debe ser confundido con el proceso (especiación). Esta confusión puede evitarse utilizando el tercer concepto de especie, el de "reconocimiento" (Paterson, 1985). Contrariamente al anterior que define a la especie en cuanto a los mecanismos que evitan la reproducción (función negativa), estos mismos mecanismos pueden verse como funciones positivas. Por ejemplo los mecanismos precopulatorios complejos se han seleccionado porque mejoran el reconocimiento de pareja, persuaden a la potencial pareja a copular, sincronizan las actividades de la cópula, etc. Es decir, facilitan la reproducción. Como subproducto de estos comportamientos surgen los MARs (en este ejemplo, preapareamiento). En consecuencia, los MARs son una forma errónea de pensar, según Templeton, acerca del proceso de especiación.

Pero para Templeton estos dos conceptos (aislamiento y reconocimiento) padecen de dos problemas comunes: no son aplicables cuando no existe sexo ni cuando hay "excesivo" intercambio de genes. El primer extremo deja afuera a las especies partenogenéticas y a las asexuales (Es cierto, sin embargo, que existe intercambio de genes entre individuos. ¡Pero por otro lado es posible que los individuos que intercambian genes sean de "especies" diferentes!, como sucede en bacterias). Pero el problema parece ser aún más grave. Teniendo en cuenta sus propias investigaciones sobre la cebada, Templeton sostiene que los modelos para analizar selección en varios loci en poblaciones que se autofecundan, explican también la dinámica de aquellas que son autofecundantes en un 99.43%. Entonces si las especies que son autofecundantes en un 99.43% caen fuera del dominio lógico de los conceptos de aislamiento y de reconocimiento ¿que ocurre con los que lo son en un 99% o en un 95%? ¿En que punto caen en el dominio de los dos conceptos anteriores?. La respuesta no es clara, pero para Templeton el dominio de estos dos conceptos es más restringido de lo que generalmente se piensa.

Si los sistemas genéticamente cerrados traen problemas para los conceptos de aislamiento y de reconocimiento, lo mismo sucede con los muy abiertos, como lo ejemplifican los denominados singameones (Grant, 1977,

1981). Estos son grupos de especies que si bien están definidos morfológica, genética y comportamentalmente, y que estas diferencias se han mantenido en algunos casos por millones de años, según lo prueba el registro fósil, ocasionalmente hibridan en la naturaleza. Según la definición original de Grant (1977:170): "Un conjunto de semiespecies simpátricas o por lo menos sólo marginalmente alopátricas, constituye un singameón". Este es el caso de las semiespecies de plantas definidas por Grant (1981) o en animales el caso de lobos y coyotes de América del Norte.

El concepto de especie que propone Templeton (1989) para evitar todas estas contradicciones es denominado, como se dijo antes, de la cohesión. Según este, la especie es "la población más inclusiva de individuos que poseen la potencialidad de la cohesión fenotípica a través de mecanismos intrínsecos de cohesión" (Templeton, 1989:12) o también como "el conjunto más inclusivo de organismos que tienen el potencial, genéticamente determinado, para la intercambiabilidad genética y/o demográfica" (Templeton, 1989:25). Los mecanismos intrínsecos de cohesión son clasificados por Templeton en las dos categorías mencionadas: mecanismos de intercambiabilidad genética y mecanismos de intercambiabilidad demográfica.

Por intercambiabilidad genética se entiende a los factores que definen los límites de expansión de una nueva variante genética a través del flujo génico y "se refiere simplemente a la capacidad de intercambiar genes a través de la reproducción sexual" (Templeton, 1989: 14). Aquí se incluyen tanto los mecanismos que promueven e impiden el flujo genético. Por intercambiabilidad demográfica se entiende a los factores que definen el nicho fundamental y los límites de expansión de una nueva variante genética a través de la deriva génica y la selección natural. El nicho fundamental es definido por "la tolerancia intrínsea (genética) de los individuos a varios factores ambientales que determinan el rango de ambientes en los cuales los individuos son potencialmente capaces de sobrevivir y reproducirse" (Templeton, 1989: 14). Los factores son:

- a) Reemplazabilidad por deriva génica: Cualquier individuo, en una población intercambiable demográficamente, es un antecesor común potencial de toda la población en algún punto del futuro. De esta manera las relaciones ancestro-descendiente pueden ser definidas tanto para poblaciones sexuales o asexuales.
- b) Desplazabilidad por selección natural. El concepto de selección natural no necesita de intercambiabilidad genética porque pueden ser formulados fácilmente para sistemas genéticos cerrados, necesitando solo que se produzcan más descendientes que los necesarios para un estricto reemplazo y que el crecimiento ilimitado no puede ser sostenido indefinidamente. Cuando estas condiciones se juntan con

variación heredable en caracteres que influyan en la supervivencia y reproducción, los descendientes de algunos individuos desplazarán a otros dentro de la población. Este proceso puede alterar directamente los caracteres que determinan la extensión de la intercambiabilidad demográfica. Por lo tanto estas transiciones adaptativas juegan un papel directo en cuanto a la definición de grupos de organismos intercambiables demográficamente. Esta transición adaptativa tiene límites y estos están dados por las mutaciones que se produzcan, características propias del proceso del desarrollo, constreñimientos debidos a la historia del grupo y genético-poblacionales.

Al igual que el concepto evolutivo de especie, el concepto de cohesión define a las especies en términos de cohesión genética y fenotípica, con lo que al igual que el primero es aplicable a los taxones con reproducción asexual (o con sistemas genéticos relativamente cerrados) y a taxones que pertenecen a singameones. Pero al contrario del concepto evolutivo, define a las especies en términos de los mecanismos que confieren la cohesión más que en términos de la manifestación de la cohesión a lo largo del tiempo evolutivo. Es un punto de vista mecanístico al igual que el del concepto de aislamiento, pero enfocado sobre los mecanismos de cohesión más que en los de aislamiento. La especiación es vista entonces como la evolución de los mecanismos de cohesión. La tarea consiste en identificar aquellos mecanismos de cohesión que ayudan a mantener a un grupo como un linaje evolutivo.

J. Cracraft (1989) prefiere un concepto "filogenético" de especie: "un grupo irreducible (basal) de organismos, que es diagnosticable de manera diferente con respecto a otros grupos equivalentes, y dentro del cuál, hay un patrón parental de ancestralidad y descendencia" (Cracraft, 1989: 34-35). Basal implica, según Cracraft, que los grupos mencionados no puedan ser subdivididos en subpoblaciones más pequeñas, que sean ellas mismas unidades diagnosticables y discretas. Se agrega a este concepto la cohesión reproductiva. Esta restricción debe agregarse para evitar asignar el estatus de especies a organismos individuales, a sexos diferentes o a morfos, o incluso a diferentes estadios del desarrollo.

Estos dos últimos conceptos (de la cohesión y filogenético) sin embargo, son difíciles de aplicar a poblaciones en diferentes lugares, (lo que no ocurre con el concepto biológico de especie) y tienen el problema de que pueden separar las especies biológicas en unidades arbitrariamente pequeñas (Coyne & Barton, 1986).

Por otro lado, existen en la literatura discrepancias en cuanto al "status" ontológico de la especie. Autores como Mayr (1969), Reig (1979), Stent (1986) y muchos otros, proponen que la especie es una entidad real de la naturaleza. En un sentido diferente opinan Bunge (1981), Raven (1986) y

Rosenberg (1986), entre otros. Para ellos, las entidades "reales" de la naturaleza que evolucionan son las poblaciones. Para Raven, por ejemplo, un aspecto básico del concepto biológico de especie, el flujo genético, es en realidad totalmente desconocido para la mayoría de las especies y en las que se conoce (aunque sus ejemplos son en general de plantas) existe muy poco o ningún flujo genético aún entre poblaciones cercanas, llegandose al extremo en las plantas autopolinizantes. Entonces, según este autor, si una especie es básicamente una serie de poblaciones que están *de facto* genéticamente aisladas unas de otras ¿qué sentido tiene verlas como una unidad? Raven hace una importante distinción conceptual y metodológica. Para él, es la población y no la especie la unidad evolutiva, y es hacia ella donde deben dirigirse los estudios de los mecanismos evolutivos. Queda así la especie como un concepto sistemático, y la sistemática encargada, entonces, de desarrollar una clasificación de las distintas unidades discontinuas ("especies biológicas") existentes en la naturaleza.

1.1.1.2. Los modelos de especiación.

Si uno desea encarar el estudio de los mecanismos que dan origen a las unidades discontinuas (mecanismos de especiación) debería centrarse, de acuerdo a lo anterior, en examinar a fondo la biología poblacional (genética y ecología) del grupo de interés.

Pero otro punto ineludible es el de establecer qué tipos de barreras reproductivas podrían haber efectivamente actuado en el grupo de interés (por ejemplo, en un grupo de especies homocariotípicas se pueden descartar los mecanismos cromosómicos sin necesidad de estudiar a fondo la biología poblacional). Esto es así ya que actualmente resulta imposible deducir a partir del conocimiento de la biología poblacional qué tipo de aislamiento reproductivo surgirá o podría surgir. Más bien, los estudios poblacionales tendrían el objetivo de convalidar o falsificar las distintas hipótesis alternativas según concuerden o no sus predicciones respecto a la biología poblacional, molecular o citogenética con los datos obtenidos y en caso afirmativo profundizar entonces en mecanismos más detallados. Esto último puede aclararse de la siguiente manera. En un grupo donde existen diferencias cariotípicas se puede especular que los cromosomas puedan haber desempeñado un papel en el aislamiento reproductivo. El segundo paso sería proponer un modelo nuevo o uno de los muchos que existen, que explique cómo los cambios cromosómicos observados pudieron haber dado origen a nuevas especies. Es aquí donde hace su aparición el estudio de la población: debemos averiguar si su estructura biológico-poblacional concuerda con lo esperado por el modelo, si las diferencias cromosómicas son barreras reproductivas efectivas, si existen o no mecanismos moleculares que aumenten la frecuencia de un determinado tipo

de mutación, etc.

Para poder continuar la discusión será necesario hacer una breve reseña de los distintos modelos de especiación.

Templeton (1980, 1981) propuso una clasificación genético poblacional de los mecanismos de especiación, separándolos en dos grandes categorías: divergencia y transiliencia. En la divergencia, las barreras reproductivas evolucionan de una manera continua (pero no necesariamente de manera uniforme o lenta), con algún tipo de selección dirigiendo directa o indirectamente el camino hacia el aislamiento. La transiliencia involucra una discontinuidad en la que surge un tipo de aislamiento a partir de algún tipo de mecanismo evolutivo que no involucra (necesariamente) a la selección.

El modelo alopátrico de Mayr (1942) es el ejemplo más conocido de divergencia y corresponde al de divergencia adaptativa de Templeton. Según este modelo, cuando una población se separa en dos subpoblaciones por una barrera externa, de tal manera que sus acervos genéticos continúan evolucionando independientemente, el aislamiento reproductivo surge como efecto pleiotrópico de la divergencia genética microevolutiva. Esta divergencia puede evidenciarse por distancias genéticas altas o por grandes cambios en la morfología, etc.

Incluido como modelo de divergencia, el parapátrico (Murray, 1971; Endler, 1977) plantea el aislamiento reproductivo por distancia en una clina. Corresponde al de divergencia clinal de Templeton.

El modelo simpátrico (Maynard Smith, 1966) o selección de habitat de Templeton, propone que en una población polimórfica se establece el aislamiento reproductivo precigótico entre dos o más morfos, como consecuencia de la selección de habitat y de pareja. En este caso las distancias genéticas medidas por proteínas pueden ser muy bajas, ya que pueden verse afectados en el aislamiento reproductivo muy pocos genes.

Para los modelos de transiliencia, Templeton considera cuatro casos. Primero, la transiliencia genética, causada por un evento fundador y que provoca un rápido cambio del sistema genético estable anterior. Mayr (1954) fue el primero en proponerlo.

El segundo y tercer tipo se refieren a especiación por hibridación de dos especies incompatibles, una por mantenimiento del híbrido y otra por estabilización del recombinante mediante selección y endocruza.

El último de los modelos por transiliencia es el cromosómico. Según este modelo, la deriva y la endocruza causan la fijación de mutaciones cromosómicas con fuerte heterosis negativa, que determinan el aislamiento postcigótico. Con posterioridad al trabajo de Templeton de 1980, han surgido diversos modelos de especiación cromosómica, algunos de los cuales no se ajustan al de transiliencia. Por este motivo y por tratarse de un tipo de

especiación muy controvertido y pertinente a esta tesis lo trataremos aparte de la anterior clasificación.

Sites & Moritz (1987) clasifican a los modelos de especiación cromosómica en 3 clases.

En la clase I, donde se incluyen la mayoría de los modelos, aparecen los que se basan en los efectos individuales de los reordenamientos cromosómicos, que alterando los patrones de segregación en la meiosis, disminuyen la fertilidad de los heterocigotas. Esta clase la discutiremos más adelante con mayor profundidad una vez delinendamos las dos clases restantes.

La clase II incluye un solo modelo, el de fusiones céntricas monobraquiales (Capanna, 1982; Baker & Bickman, 1986). En el mismo, brazos cromosómicos iguales están involucrados en distintos reordenamientos robertsonianos, es decir, distintos elementos bibraquiados poseen un solo brazo homólogo. En la profase meiótica del heterocigota se forman dos tipos de estructuras, cadenas lineales o anillos, constituidos por cromosomas apareados por uno de sus brazos a un cromosoma y a otro cromosoma mediante el brazo restante. Estas estructuras traen aparejadas la infertilidad del individuo heterocigótico por formación de gametos aneuploides en el caso de formación de anillos, por mala segregación de los cromosomas o por el detenimiento de la gametogénesis, por algún mecanismo desconocido aún, en el caso de estructuras lineales (Gropp et al., 1982). Lo interesante de este modelo es que cada rearrreglo robertsoniano individual no es o es muy poco heterótico negativo dentro de cada población lo que facilita su fijación.

En la clase III, la barrera al flujo génico deriva de la ruptura de complejos de genes coadaptados, por la alteración de los patrones de recombinación de los híbridos heterocariotípicos F1. El modelo establece que cuando en las poblaciones se fijan cambios cromosómicos que alteran los patrones de recombinación, en cada población se desarrollan distintos grupos de ligamiento adaptados a diferentes ambientes. Los híbridos formados por contacto secundario tendrán cambios en la localización de los quiasmas en los bivalentes heterocigotos estructurales, lo que rompe el balance interno de los cromosomas. Esto se traduce en una severa reducción en la viabilidad de la progenie de los híbridos F1.

Retomando los modelos de la clase I, algunos de los mismos difieren en el contexto geográfico y en la manera que los nuevos reordenamientos se esparcen una vez fijados.

Por ejemplo, el modelo estasisipátrico (White, 1968) puede ocurrir dentro de la población ancestral o de forma parapatrica, mientras que los otros modelos son esencialmente alopátricos. Este modelo de White (1968) fue el primero de los modelos cromosómicos en ser planteados. En él, el aislamiento reproductivo surge porque en alguna parte del área de distribución

de la especie surgen uno o más reordenamientos (inversiones, fusiones, etc.) heteróticos negativos, que al fijarse en alguna subpoblación, comienza a expandirse, estableciendo contacto con la forma ancestral o invadiendo zonas no explotadas si la nueva forma se fija en la periferia.

El modelo de especiación por alopatría cromosómica primaria de King (1981) está basado en lo que el autor denomina "una situación revolucionaria experimentada durante un proceso de radiación y colonización" e involucra rearrreglos robertsonianos. Una nueva forma cromosómica se establece en un demo periférico en el límite del rango de distribución de una raza cromosómica. Los individuos de este demo luego toman parte de un proceso de colonización que amplía la distribución de la nueva raza cromosómica.

Los modelos de cascada (Hall, 1983) y procesos en cadena (White, 1979) sugieren que el aislamiento reproductivo surge de la acumulación de efectos de varios rearrreglos, siendo cada uno apenas inferiores selectivamente, al estado heterocigota.

Todos los modelos del grupo I padecen del mismo problema: la probabilidad de fijación de cualquier rearrreglo cromosómico es inversamente proporcional a la capacidad de ese rearrreglo para actuar como barrera reproductiva. Los estudios teóricos de la genética de poblaciones de estos modelos (Lande, 1979, 1984; Hedrick, 1981; Slatkin, 1981; Walsh, 1982; Chesser & Baker, 1986) han demostrado que aquellos rearrreglos con suficiente heterosis negativa como para actuar de barrera reproductiva solo pueden fijarse en demos muy pequeños ($n < 10$) y sin flujo genético. Chesser & Baker (1986) muestran que bajo estas condiciones la tasa de extinción de las poblaciones debe ser alta.

Existen sin embargo, diversas situaciones que permitirían relajar estas condiciones tan restrictivas. Por ejemplo, la existencia de "conducción" meiótica ("meiotic drive") y fuerte endocruza permiten relajar levemente las condiciones de bajo tamaño poblacional y de flujo genético. Pero quizá, la fuente más prometedora de distensión de condiciones restrictivas provenga del campo molecular. La teoría genético poblacional mencionada arriba presupone que los rearrreglos cromosómicos surgen por mutación una sola vez. Pero si algunos rearrreglos surgen repetidas veces, la probabilidad de fijación aumenta considerablemente (Shaw *et al.*, 1983). Varios estudios de híbridos (naturales o experimentales) han mostrado que en los mismos se produce una elevada tasa de mutación cromosómica que es posiblemente debida al mismo proceso de hibridación (Shaw *et al.*, 1983; Naveira & Fontdevila, 1985). Busch (1981) sugirió que los elementos genéticos móviles eran los responsables de los fenómenos anteriores, lo que concuerda con los estudios de la bien conocida disgénesis híbrida de *Drosophila melanogaster* (Bregliano & Kidwell, 1983). Sin embargo, se desconoce la extensión de estos fenómenos en las poblaciones naturales. Lewis (1982) sugirió que una fuerte endocruza asociada con un

evento de colonización puede inducir rearrreglos cromosómicos. Esto es interesante ya que las mismas condiciones que en cierta manera permitirían *per se* la fijación de una mutación cromosómica, induciría a la formación de las mismas.

Templeton (1980, 1981, 1982) predijo que deberían esperarse distancias genéticas grandes (medidas mediante electroforésis de proteínas) en grupos que hayan especiado por mecanismos cromosómicos basados en la fijación de rearrreglos individuales con heterosis negativa mediante deriva. El patrón de variación genética dentro y entre razas cromosómicas será afectado por a) la heterocigosidad y diversidad de las formas cromosómicas ancestrales, b) cambios debidos a la deriva genética que acompañan el establecimiento de los cambios cromosómicos y c) divergencia genética después de la separación (Templeton et al., 1981). El fundamento de la predicción de grandes distancias es que durante el proceso de deriva (necesario para la fijación de reordenamientos cromosómicos con heterosis negativa) se fijarán en diferentes subpoblaciones distintos alelos. Es claro que si la variabilidad genética de las formas ancestrales es baja, esta predicción no se cumplirá. Estas distancias podrán ser grandes también si ha transcurrido suficiente tiempo después de la especiación cromosómica.

1.1.1.3. Puente a prueba de los modelos de especiación.

¿Que importancia relativa tienen todos estos modelos en la naturaleza? Cada modelo al menos tiene un ejemplo concreto, y en general son sobre estos ejemplos que se basan y originan los modelos respectivos.

La especiación alopátrica posee muchos ejemplos descritos en la literatura. Uno de los casos mejor estudiados es el descrito en los trabajos realizados por el grupo de F.J. Ayala (1975) con *Drosophila willistoni* donde se muestra el grado de divergencia génica que se va alcanzando en cada estadio de la diferenciación alopátrica. Muchos otros ejemplos existen en la literatura que corroboran la existencia de este tipo de especiación.

La especiación simpátrica es una de las más controvertidas desde las épocas de Darwin (Tauber & Tauber, 1989). Posiblemente la principal causa de esto es que al tener un fundamento poco "intuitivo" como puede tenerlo el modelo alopátrico, necesita de fundamentos teóricos muy precisos, lo que la hace muy lábil a las falsificaciones. Sin embargo existen ejemplos bien fundamentados. Dentro del reino animal, una alta proporción de ellos proviene de los insectos (Kondrashov & Mina, 1986; Tauber & Tauber, 1989), peces y moluscos (Echelle & Kornfield, 1984; Gittenberg, 1988; Wilson, 1989) y pocos de aves y mamíferos (Bush, 1981).

El concepto biológico de especie, en el que la individualidad (morfológica, etológica, fisiológica, etc.) de las especies se basa en el

aislamiento reproductivo que evita el flujo de genes entre las mismas, permite postular un papel importante de los cromosomas en la evolución organizmática. Esto es así, porque ellos están directamente relacionados con la transmisión de los genes de generación en generación.

Existen en la literatura numerosos ejemplos de grupos taxonómicos en los que el cariotipo es especie-específico. Esto es característico por ejemplo de Primates y Roedores.

Sin embargo existen numerosos ejemplos contrarios, en los que la especiación ha ocurrido sin modificación alguna del cariotipo. El caso más típico es el de las drosófilas homosecuenciales de Hawai (Carson et al., 1967). En ellas no hay variación en las secuencias de bandas de los cromosomas politénicos y presentan aislamiento reproductivo etológico, siendo además alomórficas. Existen también numerosos ejemplos de invariancia cariotípica entre los mamíferos. Los marsupiales son muy variables en su morfología, fisiología y comportamiento, pero existe poca diferenciación cromosómica (Rofe & Hayman, 1985). Similares ejemplos se encuentran en cetáceos (Arnason, 1972), pinípedos (Anbinder, 1980) y diversas familias de fisípedos (Wayne et al., 1987).

A pesar de estos contraejemplos, se ha encontrado en diversos grupos de gran variabilidad cariotípica, una buena correlación entre tasa de cambio cromosómico y tasa de especiación (Aguilera, 1980; Bush et al., 1977; Imai et al., 1983; Wilson et al., 1975). Siguiendo esta línea, Reig (1989) sugirió que la reorganización cromosómica puede actuar como un factor importante en el aislamiento reproductivo en taxones de roedores involucrados en procesos de especiación explosiva.

Existen problemas metodológicos importantes en el estudio de la especiación que dificultan la falsificación o puesta a prueba de hipótesis alternativas. Esto es debido a que se tratan de eventos históricos, hechos no repetibles y en general no datables directamente. Por lo tanto los datos disponibles de las especies son posteriores a los eventos cladogenéticos.

Es también debido a estas razones que el esquema metodológico de falsificación no es no solo el único sino tampoco quizá en algunos casos, el más adecuado. Las observaciones de los estudios evolutivos tienen esa característica, la de permitir un amplio espectro de diferentes interpretaciones, que derivan en dificultades teóricas o técnicas infranqueables al momento de la falsificación, lo que deja abierta la discusión.

Frente a un abanico tan grande de probabilidades de especiación ¿en que casos y con que datos podríamos estar en condiciones de discernir de entre todos ellos?

Ante una cantidad muy grande de permutaciones entre diferentes

esquemas de contrastación de unas hipótesis con otras, me concentraré en las condiciones y datos que permitan inferir o sugerir la existencia de especiación cromosómica. La prueba más obvia de falsificación de la especiación cromosómica es que el grupo en estudio sea homocariotípico. De no serlo ¿cómo podemos inferir que el factor desencadenante del aislamiento reproductivo han sido los reordenamientos cromosómicos? El punto clave a demostrar es que las especies solo difieren en sus cariotipos y que estos son suficientemente diferentes como para actuar de barreras de aislamiento reproductivo. Tradicionalmente se utilizan como medidas de divergencia distancias genéticas, diferenciación morfológica, distancias inmunológicas, hibridación de ADN, etc. Pero es común que al someter a un grupo de OTUs (Operational Taxonomic Units; Sneath & Sokal, 1973) a algún tipo de análisis de los arriba mencionados, encontremos diferencias estadísticamente significativas. Esto indica que los OTUs diferenciados pertenecen a taxones diferentes, pero no nos dice necesariamente nada sobre la significación taxonómica de la diferenciación. Esto es, el análisis nos indica que los OTUs son diferentes pero no sabemos si lo son al nivel de población, raza o subespecie, especie, etc. En estudios de especiación es usual utilizar OTUs de un mismo género, lo que reduce las posibilidades: los OTUs diferenciados serán o bien especies, razas o poblaciones diferentes. Como las diferencias absolutas entre poblaciones, razas y especies, características de cada tipo de dato puede variar de género a género, se necesita tener un patrón de referencia. Debemos tener como parámetro estimaciones de las diferencias que existen entre poblaciones o razas de una misma especie que pertenezca al género en estudio. La justificación de este parámetro es simple. Si el nivel de divergencia parámetro no ha sido suficiente para aislar reproductivamente a otros grupos del mismo género, no hay razón para pensar que si lo sea en el grupo en estudio. Entonces si las diferencias encontradas entre las diferentes especies con diferente cariotipo de nuestro grupo problema son menores o iguales que las diferencias "parámetro" para poblaciones o razas en otras especies del género podemos inferir que los cromosomas aparecen como únicos responsables del aislamiento reproductivo, ya que solo difieren en sus cromosomas y estas diferencias los aíslan reproductivamente. Si estas diferencias fueran mayores a las de poblaciones o razas, nada podemos asegurar: no podemos distinguir si las diferencias cromosómicas fueron previas o posteriores a la divergencia.

Este tipo de contrastación tendría plena validez si demostramos efectivamente que lo que estamos utilizando como parámetro son poblaciones de una especie y no especies diferentes. Esto requiere estudios muy profundos donde se analicen en la naturaleza y en el laboratorio todos los mecanismos de aislamiento reproductivo conocidos solo para demostrar este punto. Y si esto

es así para el parámetro, el grupo problema debería estudiarse con la misma profundidad. Esta profundidad de estudio rara vez se alcanza, caracterizándose la mayoría de las veces a las poblaciones de una especie como tales solo desde el punto de vista morfológico tradicional y también el cromosómico. Menos traumático en este sentido es el grupo problema, ya que se puede afirmar la distinción específica sobre la base de los cariotipos (si estos son suficientemente diferentes) por si solos.

El encontrar grupos de especies o especies que solo difieran en un aspecto y que el mismo esté relacionado con algún mecanismo de aislamiento reproductivo resulta un hecho difícil y más bien fortuito. Cabría esperar que esto ocurra en aquellos grupos o especies que están o muy recientemente han estado involucrados en procesos cladogenéticos.

1.1.2. Reconstrucción de árboles evolutivos

¿Es necesario en el estudio de los procesos de especiación conocer las relaciones filogenéticas de las especies que se están analizando?

Obvio es que para poder estudiar especiación necesitamos comparar al menos dos especies. Como se dijo en la sección anterior debemos investigar en qué y en cuánto difieren estas y en qué no, qué mecanismos de aislamiento reproductivo están actuando entre ellas, etc. Pero ¿tiene sentido comparar cualquier par de especies? Evidentemente no. Un evento de especiación produce dos especies hermanas; entonces en estudios concretos de especiación deberemos utilizar especies hermanas. Concluimos así que el conocimiento de la filogenia de un grupo es necesario porque es mediante este conocimiento que podemos establecer qué especies son hermanas. Viendolo desde otro punto, comparar especies que pertenecen a grupos parafiléticos carece de sentido porque cada una de ellas se puede haber originado por mecanismos de especiación diferentes.

Claro está también que la reconstrucción nunca será completa (y exacta) por problemas de muestreo y también por procesos de extinción que seguramente harán imposible o extremadamente difícil el hallar verdaderas especies hermanas. Podemos, a pesar de esto utilizar las especies que aparecen como hermanas en la filogenia obtenida, como si efectivamente lo fueran. Más aún, si en un grupo monofilético de especies ha actuado un solo mecanismo de especiación, es probable que solo difieran en características ligadas a este, pudiéndose analizar al grupo monofilético como un todo, sin importar que especies son hermanas dentro del mismo.

Pero independientemente del estudio de la especiación, el conocimiento de la filogenia de un grupo es de por si muy importante. Me referiré brevemente en los siguientes párrafos a los aspectos generales de las distintas escuelas metodológicas existentes respecto de la reconstrucción de filogenias.

En la reconstrucción de filogenias se deben estimar tres aspectos, a) la topología del árbol, b) la longitud de las ramas y c) los estados asociados a los ancestros hipotéticos (generalmente denominados HTU, de "Hypothetical Taxonomic Unit", Farris, 1970). No profundizaré en la discusión sobre la terminología (cladograma, dendrograma, red, árbol, filograma) que se emplea para referirse a los diagramas que esquematizan el curso de la evolución de un grupo de OTUs. En general me referiré a ellos como filogenias o árboles filogenéticos. Sin embargo definiré de forma más precisa dos de esos términos. Un dendrograma es una representación en forma ramificada que conecta entidades unidas por algún criterio (Wiley, 1981). Entonces los fenogramas los definiremos como dendrogramas donde el criterio de unión es la similitud global de los OTUs analizados. Los cladogramas son representaciones de la topología basados en caracteres derivados compartidos (sinapomorfías). En estos, los estados de los HTUs pueden ser establecidos mediante algún criterio.

A continuación describiré de forma sucinta los diferentes métodos de reconstrucción de filogénias basandome en el trabajo de Felsestein (1988).

1.1.2.1. Métodos de máxima parsimonia (MP) y de compatibilidad (MC).

El método de máxima parsimonia se justifica, según la escuela cladista o de la sistemática filogenética, equiparando la cantidad de cambios de estado extra de un árbol con la cantidad de hipótesis extra que se necesitan para explicar la evolución del grupo. Bajo el principio de máxima parsimonia se elige la hipótesis que explique los datos de manera más económica. Simplicidad, economía y parsimonia, se refieren a un mismo concepto general (Wiley, 1981). Para el cladismo entonces, el mejor árbol es el que menor número de pasos tiene.

Existen distintas variantes bajo el mismo rótulo de parsimonia, que difieren en cuanto a los supuestos evolutivos que consideran:

Camin-Sokal (Camin & Sokal, 1965): se conoce o se supone el estado primitivo y sólo se permiten cambios al estado derivado.

Wagner (Kluge & Farris, 1969; Farris, 1970): similar al Camin-Sokal, pero se permiten en este caso las reversiones.

Dollo: basado en la ley de Dollo que supone que las estructuras complejas se adquieren difícilmente y se pierden con facilidad durante la evolución. Farris (1977) sugiere una aproximación donde solo se permite la aparición del carácter complejo derivado una sola vez en todo el árbol, pero la reversión al estado simple primitivo puede ocurrir sin restricción.

Compatibilidad: también denominado método de "clique". Originado en el trabajo de Le Quesne (1968), aunque los algoritmos no fueron bien definidos hasta los trabajos de Estabrook, Johnson & McMorris (1976a,b). Es un criterio relacionado pero diferente al de la

parsimonia, para resolver conflictos entre caracteres. Un carácter es compatible con una filogenia si su evolución puede ser explicada sin suponer que algún estado surja más de una sola vez. Este método obtiene el árbol que tiene el número máximo de caracteres compatible con el. Algunos autores como Wiley (1981) piensan que éste no es un método relacionado con la parsimonia.

El término *homoplasia* define en general, a aquellos sucesos que aumentan el número de explicaciones extras que se necesitan para explicar un árbol, por ejemplo *paralelismos* y *reversiones*.

1.1.2.2. Métodos basados en matrices de distancias (MD).

Métodos basados en bondad de ajuste.

Las filogenias inferidas, permiten realizar cálculos de las distancias entre cada par de OTUs sumando los largos de las ramas del camino de una especie a otra. Se utiliza luego un modelo de bondad de ajuste entre distancias observadas (de la matriz de distancias) y la predicha o esperada por el árbol construido. Se elige el árbol que minimiza la discrepancia entre la distancia observada y la esperada o inferida.

Fitch & Margoliash (1967): estos autores fueron los primeros en describir un método basado en una matriz de distancias. Está basado en mínimos cuadrados. Este método halla el árbol que minimiza

$$\sum_{i,j} (D_{ij} - d_{ij})^2 / D_{ij}^2$$

donde D es la distancia observada entre los OTUs i y j y d es la distancia esperada.

Cavalli-Sforza & Edwards (1967): independientemente de los anteriores, estos autores introdujeron otro método. Al igual que el anterior está basado en mínimos cuadrados. Este método halla el árbol que minimiza

$$\sum_{i,j} (D_{ij} - d_{ij}) / D_{ij}^2$$

donde los símbolos corresponden al anterior modelo.

Métodos basados en algoritmos.

Existen muchos otros métodos basados en matrices de distancias como el de Farris (1972) "distance Wagner", el método de distancias transformadas de Li (1981), el método modificado de Farris de Tateno et al. (1982) y el método del vecino más próximo de Saitou & Nei (1987), que no están definidos en términos de alguna medida de bondad de ajuste, sino solo como el resultado de algún algoritmo determinado que va uniendo especies y calculando los largos de los brazos. Junto a ellos se puede agrupar al método de distancias promedio o UPGMA (Sneath & Sokal, 1973). Estos algoritmos están diseñados para dar un

solo árbol, con resultado exacto si hay un árbol que se ajusta exactamente a los datos.

Método de distancias transformadas: el método tiene por objetivo recalcular la matriz de distancias eliminando de cada distancia la componente de distancia común a un OTU antecesor a todos, construyéndose el árbol por UPGMA.

Método de "distance Wagner": se construye el árbol añadiendo en cada paso un OTU que se coloca en la posición que minimiza la longitud total del árbol. La distancia usada debe ser aditiva.

Método de Farris modificado: las modificaciones corrigen el efecto de acortamiento de las ramas interiores. Faith (1985) introdujo otra modificación que corrige el efecto que estos acortamientos producen en la topología del árbol.

Método del vecino más próximo: a partir de una topología en estrella de todos los OTUs se obtienen relaciones de vecindad entre ellos (mediante un algoritmo) y los mismos se van uniendo de a pares.

Método de UPGMA: este bien conocido algoritmo funciona correctamente en la reconstrucción de filogenias si la velocidad de evolución de los caracteres utilizados para construir la matriz de distancias fue constante e igual para todos los linajes. Si esto es así, entonces la asignación de valores a los largos de las ramas está en estrecha relación con los métodos de mínimos cuadrados (Felsenstein, 1988).

Redes de Prim: tienen relación con las denominadas redes de Wagner, que son a su vez equivalentes a los árboles de Wagner sin raíz definida. La diferencia con las redes de Wagner, es que en la red de Prim, no existen HTUs, es decir, hay tantos nodos como OTUs. El primer paso es unir los dos OTUs más cercanos y luego se van incorporando los que poseen la menor distancia a ellos.

1.1.2.3. Método de máxima verosimilitud (MV).

Es un método general para derivar estimaciones estadísticas. Dado un modelo M y los datos D , la máxima verosimilitud T de un árbol es igual a la probabilidad de los datos, dados un árbol y un modelo $P(D;T,M)$, considerados como función del árbol. El método de máxima verosimilitud elige aquel árbol que maximiza la verosimilitud, maximizando entonces la probabilidad de que los datos observados pudieran haber ocurrido. Edwards & Cavalli-Sforza (1964) fueron los primeros en proponer un método aplicado a datos de frecuencias génicas. Uno de los modelos utilizados para caracteres cuantitativos y frecuencias génicas es el movimiento Browniano (Edwards & Cavalli-Sforza, 1964; Felsenstein, 1981a,b). En el cada carácter evoluciona independientemente de acuerdo a un proceso de movimientos Brownianos. Existen dos tipos de

procesos biológicos que pueden aproximarse al movimiento Browniano (Felsenstein, 1981a,b), la deriva genética y la variación aleatoria de los coeficientes de selección. Otro modelo es el que supone que la probabilidad de cambios de estado a lo largo de los segmentos del árbol constituyen un proceso de Markov (Felsenstein, 1973 y otros). Los métodos basados en la máxima verosimilitud utilizan este criterio para encontrar el mejor árbol en cada paso. Las longitudes de las ramas están dadas en términos de número esperado de sustituciones, permitiendo establecer límites de confianza para las mismas.

1.1.2.4. Comparación entre los distintos métodos.

La reconstrucción de árboles evolutivos ha sido origen de largas controversias en lo que respecta a la mejor metodología de inferencia, en general, o para un tipo particular de datos. Como Felsenstein (1984) apuntó, muchos de los métodos se basan en datos consistentes en una serie de variables medidas a través de una serie de taxones. Otros se basan en la información provista por una matriz de distancias entre todos los pares de OTUs. Los datos de hibridación de ADN y distancias inmunológicas son medidos directamente en ésta última forma. Otros (genéticos, secuencias de ADN y proteínas, cromosómicos, morfológicos) responden al primer esquema, pero pueden ser transformados a una matriz de distancias con pérdida de información original (Penny, 1982). Dentro de estos últimos, los morfológicos son sujetos más frecuentemente a análisis netamente fenéticos, principalmente por desconocerse en la mayoría de los casos la base hereditaria de los mismos y por ende el origen principal de la variación; los otros tratan directamente con los productos genéticos directos (proteínas), el propio material genético (ADN) o con grupos de genes (cromosomas) y por lo tanto nos permiten acceder directamente a la información que liga y diferencia a los distintos linajes en la historia evolutiva. La medición de estos últimos tipos de datos es netamente discreta: el análisis electroforético de proteínas de un individuo nos dice que alelos posee y cuales no; la secuenciación del ADN o de proteínas nos dice qué nucleótido o aminoácido está presente en tal posición, o los métodos de bandeo cromosómico nos indican la presencia o no, en una especie de un brazo cromosómico, cromosoma o reordenamiento.

La información así obtenida puede transformarse. Así, la secuencia de nucleótidos de varias especies puede utilizarse como información básica para algún índice de distancia, o los datos alozímicos expresarse mediante frecuencias, y estas a su vez usarse para construir una matriz de distancias entre pares de OTUs.

El clásico análisis Henningeano o cladista de búsqueda de sinapomorfias utiliza los datos sin transformación, en estado discreto. La transformación a matriz de distancias ya no nos permite el reconocimiento de sinapomorfias, basando la reconstrucción del árbol en una similitud global de

caracteres entre pares de OTUs.

La discusión general radica en establecer si es basándose en una matriz de distancias que se obtendrá la mejor estimación del árbol o por el contrario, basándose en la información directa de los caracteres discretos (cuando es posible) y por lo tanto, utilizando el principio de parsimonia (o de compatibilidad, si no lo consideramos afín a este). La antinomia no es parsimonia versus distancias, ya que el principio de parsimonia puede aplicarse también a los métodos de distancias (Rogers, 1986; Swofford & Berlocher, 1987), sino caracteres discretos versus distancias. Ultimamente se han unido a esta confrontación los métodos de MV que habían sido relegados simplemente por la complejidad de los cálculos y por supuesto porque difícilmente uno puede estar seguro que el modelo aplicado sea el correcto o el adecuado, especialmente con datos morfológicos.

¿Pero cómo averiguar si un método es mejor que otro si no conocemos con seguridad cuál es el verdadero árbol filogenético de ningún grupo, ya que son consecuencia de eventos históricos únicos?

Existen dos métodos, el estudio de la lógica del método y su relación con los datos a los que se aplica y los estudios de simulación en los que se suponen un tipo determinado (o varios) de evolución, se establecen una (o más) topologías y se generan mediante simulación los datos que se nos presentarían en las especies actuales. La mayor parte de la discusión y de las puestas a prueba de los distintos métodos están basados en dos tipos de datos, los de electroforesis de proteínas y los de secuencias de ADN. Especialmente en los estudios de simulación, la posibilidad de extrapolación de los resultados de eficiencia de los métodos usando un tipo de datos a otros tipos de datos no resulta clara, pero al menos, su conocimiento permite cierto grado de estimación. Expondré por lo tanto, los resultados obtenidos para electroforesis y ADN de forma separada, aunque en esta tesis no utilizamos el último tipo de datos.

Una excepción, sin embargo es el método de UPGMA. Todos los autores (Felsenstein, 1983; Saitou & Nei, 1987; Sourdis & Krimbas, 1987; Rohlf & Wooten, 1988; Kim & Burgman, 1988) concuerdan en que el mismo, como se dijo antes, da buenos resultados siempre que la tasa de evolución de los caracteres que se utilizan para construir la matriz de distancias sea baja e igual en todas las ramas.

Estimación a partir de datos electroforéticos: Este método ha llegado a ser uno de los más confusos por la forma en que se ha desarrollado la discusión. Esta confusión se basa en que los datos electroforéticos pueden sufrir doble transformación: de caracteres discretos a frecuencias, y de frecuencias a distancias, o caracteres discretos a distancias directamente. Entonces, conforme con un mismo

principio, el de parsimonia, se genera la discusión entre los adscriptos a la utilización de caracteres discretos contra los que están a favor de las frecuencias-distancias. Luego, desde otro punto de vista, aparecen los que confrontan parsimonia versus otro método, pero el rendimiento del método de parsimonia lo estiman a partir de frecuencias, cuando podría hacerse basando en caracteres discretos. A esta situación caótica se agregan las confrontaciones entre los que utilizan caracteres discretos pero codificados de diferente manera. La utilización de caracteres codificados en oposición a una matriz de distancias, en ambos casos bajo el principio de parsimonia ha sido discutida principalmente por Farris (1981), Mckevich & Mitter (1981, 1983), en favor de la primera alternativa y por Swofford & Berlocher (1987) en favor de la segunda. Los argumentos en favor de una u otra postura son de diversa índole. Farris (1981) critica la utilización de distancias argumentando en contra de los métodos de ajuste de los largos de los brazos sobre la base de que, en general, las unidades de longitud de los brazos de los árboles que se intentan construir no se corresponden con las unidades de las distancias originales medidas. Swofford & Berlocher (1987) por su parte desarrollan un método que permite asignar frecuencias alélicas a los ancestros hipotéticos (HTU) de forma exacta. Esto y la interpretación de las longitudes de los brazos como distancias esperadas en lugar de distancias evolutivas reales hecha por Felsenstein (1984) quitan toda fuerza al argumento de Farris. Otros argumentos menos metodológicos hechos por Farris en contra del uso de frecuencias son desbaratados por Swofford & Berlocher (1987). Estos por su parte utilizan todo su arsenal lógico en contra de la codificación sobre la base de que esta última es más propensa a errores debidos a bajos números muestrales. Es en definitiva debido unicamente a este argumento, que estos autores basan la superioridad de la utilización de frecuencias. En un trabajo independiente de esta tesis intentaré demostrar que esos argumentos son falsos, pero me remitiré aquí solo a mostrar que independientemente del problema de muestreo, la utilización de los datos de frecuencia pueden en muchos casos, derivar en topologías incorrectas. Supongamos tres poblaciones (A, B y C), dos de las cuales (A y B) poseen un alelo común (x) no compartido por C, existiendo solo un alelo alternativo (y). La utilización de caracteres codificados nos ubicará más estrechamente A y B respecto de C. Pero supongamos que la frecuencia de los alelos sea la siguiente: A, $x=0.9$, $y=0.1$; B, $x=0.1$, $y=0.9$; C, $x=0$, $y=1$. La utilización de cualquier índice de distancia unirá de forma incorrecta más estrechamente a B y

C. Esto es debido a que las frecuencias alélicas pueden tener variaciones a escala ecológica que no tienen influencia en la codificación pero sí en una matriz de distancia. Si se da el caso que se pierda un alelo raro (por ej. x en B) ambos métodos fallarán. Queda claro que sin errores de muestreo los datos de frecuencias pueden derivar en topologías incorrectas; y como el cálculo de los largos de brazos y estados de los HTU queda supeditado a la topología, el uso de frecuencias no es recomendable. Más aún, es posible que tricotomías no resueltas por los métodos de codificación sean resueltas utilizando información de frecuencias (Swofford & Berlocher, 1987). Pero esta resolución puede ser debida a adaptaciones convergentes o a efectos estocásticos de deriva que asemejen a algunas poblaciones o especies más que a otras respecto de sus frecuencias, en cuyo caso no se aporta información de parentesco relevante.

Una de las controversias entre los que prefieren utilizar caracteres codificados es la utilización de tres posibles modelos (Figura 1.1.1.):

a) Alelos independientes: Presentado por primera vez por Mckievich & Johnson (1976). El fundamento es el siguiente. No hay razones *a priori* para descartar la existencia de ninguna combinación de alelos. La aparición y desaparición de los alelos individualmente son eventos independientes, por lo tanto, cada alelo es un carácter diferente (Figura 1.1.1.B.)

b) Modelo de los alelos compartidos: Presentado por Mckievich & Mitter (1981). Este modelo supone que el locus es el carácter que evoluciona, por lo tanto, cada locus es un carácter cuyos estados son combinaciones de alelos. Cuando aparecen más de dos de tales estados, el ordenamiento de los mismos se puede resolver con un método análogo al de la parsimonia. Entonces, dos estados relacionados (aquellos que comparten alelos) están conectados de tal manera de minimizar la cantidad total de evolución alélica. Esta serie puede luego codificarse para el uso en la construcción de cladogramas (Figura 1.1.1.C.).

c) Modelo de análisis de transformación de series: Presentado también por Mckievich & Mitter (1981). Cada combinación de alelos es tomado

A	Taxones			
	Alelos	X	Y	Z
	a	.5	0	0
	b	.5	.5	0
	c	0	.5	.5
	d	0	0	.5

B	Taxones			
	X	Y	Z	
	1	0	0	
	1	1	0	
	0	1	1	
	0	0	1	

C	Taxones			
	X	Y	Z	
	1-2-3			

D	Taxones			
	X	Y	Z	
	9	8	6	

Figura 1.1.1. A. Frecuencias alélicas hipotéticas para 3 taxones. B. Codificación bajo el método de alelos independientes. C. Codificación bajo el método de alelos compartidos. D. Codificación bajo el método del análisis de transformación de series. (Tomado de Mckievich & Mitter, 1981).

como un estado del carácter, el loci, y la transformación de estos estados de caracteres de unos a otros no es posible *a priori* sino a partir del cladograma mediante el análisis de transformación de series (Figura 1.1.I.D.).

Mickievich & Mitter (1981) objetan al modelo de alelos independientes porque permite la existencia de ancestros HTUs que no poseen alelos en un locus. La Figura 1.1.II. muestra el ejemplo dado por los autores.

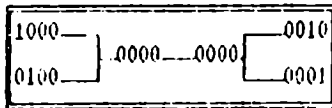


Figura 1.1.II. Ejemplo dado por Mickievich & Mitter (1981) como prueba de la falencia del método de los alelos independientes.

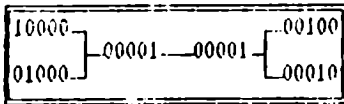


Figura 1.1.III. Contraejemplo del presentado por Mickievich & Mitter (1981) en contra del método de los alelos independientes. Ver texto.

Es claro que la falta de alelos en el ancestro hipotético es sólo falta de alelos detectables en la actualidad. En la Figura 1.1.III. muestro que si se agrega un quinto carácter (alelo) al esquema anterior, el modelo de alelos independientes se mantiene tan realista como los demás.

Por último aparecen en la confrontación, los modelos de máxima verosimilitud (MV). Dos trabajos compararon, utilizando modelos de simulación, uno con tasas de cambio iguales en todas las ramas (Rohlf

& Wooten, 1988) y otro utilizando tasas desiguales (Kim & Burgman, 1988) pero ambos utilizando el modelo de deriva aleatoria 3 métodos, UPGMA, parsimonia (MP) y MV con los siguientes resultados. Con tasas de evolución iguales MV no se comporta mejor que UPGMA o MP a menos que el número de loci (tomados como carácter) sea muy grande. La disminución de la precisión con la disminución del número de loci fue menor para UPGMA. La tendencia de los resultados indicó que aumentando el número de loci MV dará los mejores resultados. Con tasas de evolución desigual el MV fue el que mejor se comportó. Además Felsenstein (1983) predijo que bajo estas condiciones todos los métodos fallarán (la adición de más información no incrementará la precisión de la estimación). Los métodos fenéticos fallarán primero, luego los de MP y los de MV tendrán la mayor estabilidad.

El problema con los trabajos de simulación anteriores es que utilizaron frecuencias alélicas en el MP, lo que pudo haber perjudicado, según hemos visto, la actuación del mismo.

Estimación a partir de datos de secuencias de ADN: Utilizando el método de distancias modificadas de Li, las actuaciones del UPGMA son mejoradas bajo ciertas condiciones (Sourdis & Nei, 1988). Por encima de este método se encuentra el de Fitch & Margoliash. Saitou & Nei

(1987) y Sourdís & Nei (1988) muestran que los métodos de "distance-Wagner" y los de Farris modificados dan mejores resultados que los anteriores. El método del vecino más próximo rinde resultados similares pero algo mejores si la topología correcta del árbol es equilibrada (Saitou & Nei, 1987). Todos estos trabajos muestran a partir de sus simulaciones, que los métodos de distancia son superiores a los de parsimonia, especialmente cuando las tasas de evolución son muy altas (lo que lleva aparejado alta tasa de convergencia y reversiones). Pero es muy necesario aclarar que las condiciones que se imponen en esos trabajos a las simulaciones pueden estar diseñadas para que alcancen mejor rendimiento los métodos novedosos de turno que se presentan en cada uno de ellos o el preferido de los autores.

Los métodos de MV alcanzan resultados tan buenos como los anteriores, pero como en el caso de electroforesis, mantiene buenas prestaciones con tasa evolutivas altas.

1.1.2.5. Confiabilidad de los árboles obtenidos.

Una descripción completa de los métodos disponibles para la estimación de la fiabilidad de los árboles evolutivos obtenidos se encuentra en Felsenstein (1988). Aquí describiré algunos que serán utilizados en esta tesis.

Un método que permite estimar intervalos de confianza para los largos de los brazos es el de MV. El método se describe detalladamente en Felsenstein (1981b) al que derivo para una explicación más profunda debido a la complejidad del algoritmo. Para dar una idea del método diré que la matriz de covarianzas de los largos de brazos es igual a la inversa negativa de la matriz cuyos elementos son $-\delta^2 \ln L / \delta v_i \delta v_j$, donde los v son los largos de brazos estimados y L es la MV del árbol verdadero. Esto quiere decir que tenemos suficiente cantidad de datos como para saber cuál es la topología correcta. La segunda derivada anterior se calcula numéricamente usando una aproximación de segundo orden.

Más generales y más frecuentemente utilizados en los últimos tiempos son los métodos estadísticos de remuestreo denominados "bootstrap" y "jackknife".

En la técnica del "bootstrap", se remuestran los datos eligiendo un subgrupo de los mismos de forma aleatoria y con reemplazo, hasta que se obtiene un conjunto de datos de tamaño igual al original. Con cada uno de estos subgrupos de datos se construye un árbol. Se pueden obtener límites de confianza de cualquier variable, por ejemplo, desechando el 2.5% superior e inferior de la distribución de dicha variable, para obtener el 95% "bootstrap"

límite de confianza. Por ejemplo, en el caso que nos ocupa, se puede obtener un árbol consenso de todos los obtenidos con la información del porcentaje de ocurrencia de cada grupo monofilético del mismo.

El otro método de remuestreo el "jackknife" o el método de "dejar uno afuera", tiene una lógica similar. En este caso, en cada remuestreo, un dato (un locus por ejemplo) es dejado afuera. Excluir un dato a la vez tiene efecto muy pequeño, más pequeño incluso que la variabilidad muestral (Felsenstein, 1988), y además sabemos cuán pequeño es ese efecto. Si hay n datos, la perturbación de dejar uno afuera es $1/n$. Usando el "jackknife", se calculan "seudovalores" de la variable que se está estimando tomando el cambio en la estimación y extrapolandola multiplicando por n . Por ejemplo, si queremos estimar los límites de los largos de los brazos de un árbol, simplemente se calculan n árboles y sus respectivos largos de brazo. Si B es el largo de brazo con todos los datos y B' es la estimación después de arrojar un dato, el pseudovalor será (Felsenstein, 1988):

$$S = nB - (n-1)B'$$

que es el resultado de n extrapolación del efecto de arrojar un dato. El test de significancia puede ser una t de Student sobre la media de los pseudovalores. Esta técnica ha sido utilizada por Mueller & Ayala (1982) para datos electroforéticos.

1.2. Antecedentes sobre el género *Ctenomys*

Los roedores sudamericanos caviomorfos del género *Ctenomys* denominados coloquialmente "tucu-tucos", "tunduchos", "tojos", "ocultos" o "anguyá-tutús" en distintas regiones de su distribución, son los más numerosos en especies de los roedores subterráneos, representando con sus 56 especies (Reig et al., 1980) el 44% de los mismos. El resto está distribuido en otros 18 géneros, teniendo 11 especies el más diverso.

Este género ha sufrido una cladogénesis explosiva, durante el Pleistoceno, solo equiparable en velocidad y extensión por el género de roedor arvicolino *Microtus* (Reig, 1989).

Los tucu-tucos poseen una combinación de características, relacionadas con su modo de vida subterráneo, que pueden ser claves para explicar esta extraordinaria tasa de diversificación: territorialidad, estructura poblacional compuesta por demos semiaislados de tamaño poblacional a veces muy pequeño y con una distribución "en parches" en dependencia con las características del suelo, vagilidad limitada, alta variabilidad cromosómica, diferentes grados de diferenciación morfológica. Esta información está disponible sin embargo para muy pocas especies del género siendo necesario extenderla y profundizarla para un mejor entendimiento de la evolución del mismo.

1.2.1. Distribución geográfica.

La distribución del género *Ctenomys* cubre una gran área de Sudamérica desde los 15° a los 54°S y desde los Andes hasta el Atlántico, incluyendo, el sur de Brasil y Perú, gran parte del Paraguay y Bolivia, Argentina, Uruguay, Argentina y Chile.

1.2.2. Ubicación sistemática.

Los tuco-tucos pertenecen a la familia Octodontidae (Caviomorpha). Los octodóntidos tienen su distribución geográfica en el cono sur de Sudamérica. Entre las formas vivientes se distinguen dos subfamilias, Octodontinae y Ctenomyinae. A la primera de ellas pertenecen géneros más generalistas como *Octomys*, *Tympanoctomys* y el choz-chori *Octodontomys*, y cavadores y semisubterráneos como el degü, *Octodon* y *Pithanotomys* (= *Aconaemys*). Incluye también el más especializado a la vida subterránea de los roedores sudamericanos, el coruro *Spalacopus* (Reig, 1970). La subfamilia Ctenomyinae incluye un solo género viviente, *Ctenomys*, al que pertenecen todos los tuco-tucos. Los ctenominos están caracterizados por poseer molares hipsodontes simplificados en forma de riñón y por sus adaptaciones a un modo de vida herbívoro y subterráneo. Estas adaptaciones son sorprendentemente similares a las alcanzadas por los Geomyidae de Norte América (Pearson, 1958).

Siguiendo a Tate (1935), varios autores modernos (Simpson, 1945; Cabrera, 1961; Honacki et al., 1982; Woods, 1984) prefieren asignarle el status de familias puestas a las dos subfamilias mencionadas. Reig et al. (1980) no encuentran sin embargo razones de peso para esto ya que las características de Ctenomyinae se encuentran presentes en algunos géneros de Octodontinae: vida subterránea (*Pithanotomys*, *Spalacopus*) y molares simples y arriñonados (*Octodontomys*). Por lo tanto aquí los trataré como dos subfamilias siguiendo a estos últimos y a otros autores (Patterson & Pascual, 1968).

1.2.3. Registro fósil.

Típicos octodóntidos, respecto de la estructura de los molares, aparecen en el Mioceno medio Santacrucense de la Patagonia y en los depósitos del Mioceno superior Chasicuense de la Prov. de Buenos Aires, en Argentina, representados por *Sciurmys* *Acaremys* y *Chasicomys* respectivamente. Sin embargo hay evidencia de que un animal con típico patrón ctenomino de los molares es contemporáneo a *Chasicomys* (Reig & Quintana, en prep.). Estos dientes también son muy similares a los descritos para *Xenodontomys simpsoni* Kraglievich 1961, el cual fue la base del género *Proctenomys* (Pascual et al., 1965). Sin embargo este último parece ser un sinónimo de otro género, *Paleoctodon* descrito por Rovereto (1914) para el Mioceno tardío de Mendoza. Por lo tanto, los ctenominos estaban presentes en el Mioceno superior. Durante todo el Mioceno superior los

ctenominos estaban representados solo por *Paleoctodon*, pudiéndose distinguir solo dos especies. Una de estas especies es probable que haya sido el linaje ancestral del cuál partió una moderada diversificación cladogenética en el Plioceno temprano, que duró todo el Plioceno y el Pleistoceno temprano, cladogénesis representada por los géneros *Xenodontomys*, *Eucoelophorus*, *Actenomys*, *Praectenomys* y *Megactenomys* (ver bibliografía en Reig et al., 1990). La característica principal de esta cladogénesis es que si bien hubo una diversificación en varios géneros, cada uno de ellos fue o monoespecífico o pauciespecífico, y explorando distintas modalidades del mismo tipo de vida. Por ejemplo *Eucoelophorus* utilizaba los incisivos para cavar (Agrawala, 1967), mientras que *Actenomys* lo hacía probablemente con las patas delanteras. (Reig et al., 1990). Ni *Eucoelophorus* ni *Actenomys* parecen ser los linajes que dieron origen a *Ctenomys*. Más bien parece corresponderle este papel al género *Xenodontomys* que en un estadio más avanzado hacia *Ctenomys* derivaría en el género que puede considerarse predecesor del mismo: *Praectenomys* (Villarroel, 1975). La mayor radiación de los ctenominos comienza en el Pleistoceno temprano con *Paraectenomys*, un subgénero de *Ctenomys*, derivado probablemente de *Praectenomys*. En el Pleistoceno Medio ya se conocen alrededor de 10 especies verdaderas de *Ctenomys* en depósitos fósiles de Argentina, Uruguay y Bolivia (ver bibliografía en Reig et al., 1990), llegando a la actualidad, como hemos dicho anteriormente a alrededor de 56. Por lo tanto, *Ctenomys*, representa una radiación muy amplia en un solo género comenzó hace 1.8 millones de años, precedida por una fase de radiación de los Ctenomyinae que involucró cuatro géneros principales que duró de 2 a 6 millones de años con muy poca diferenciación específica.

1.2.4. Rasgos morfológicos generales.

Los tuco-tucos poseen una gran cantidad de las adaptaciones morfológicas características de los roedores subterráneos indicadas por Dubost (1968) y Nevo (1979). La morfología externa e interna es muy uniforme entre todas las especies, difiriendo en tamaño, color, algunas diferencias en el cráneo y otros órganos.

El tamaño varía entre 220 mm de tamaño total y 100 gramos de peso (*C. pundti*) a 430 mm y 1100 gramos (*C. conoveri*). La forma externa del cuerpo está adaptada a la vida subterránea, con cuerpo pesado, pelaje corto, cabeza corta, grande y robusta, cuello corto, ojos moderados ubicados casi dorsalmente, cola corta pero no vestigial y moderadamente cubierta de pelo, usualmente con una longitud que alcanza la mitad del largo del cuerpo. Las patas delanteras poseen uñas largas, especialmente las del tercer dedo. En las patas delanteras y traseras poseen una serie de pelos en forma de peine que le da el nombre al género (del griego *ctenos*=peine) y que tendrían función táctil (Pearson, 1959). La piel es generalmente de coloración uniforme, más clara en el vientre y de

tonalidad semejante al suelo donde habitan. El cráneo es robusto, ancho y dorsalmente achatado, arcos cigomáticos fuertes, rostro ancho, foramen infraorbital grande, cresta lambdoidea desarrollada. Es típicamente trunco en la parte trasera, con ampollas auditivas grandes y en forma de pera. Los incisivos son fuertes, levemente procodontes a ortodontes. Molares de crecimiento continuo de forma simplificada, los inferiores de forma arriñonada y los superiores de forma semilunar.

1.2.5. Morfología espermática.

Feito y Gallardo (1982), han mostrado que es posible dividir a *Ctenomys* en dos grandes grupos, según el tipo de espermio. Estos autores encuentran que en *Ctenomys* existen dos tipos de morfología espermática, una simétrica (S), descrita originalmente por Jones (1975) y otro asimétrico (A), descrita en detalle por Feito & Barron (1982). Basándose en la presencia del tipo S de espermio en otros caviomorfos e incluso en otro Octodontido, *Octodon* (Berrios et al., 1978; Herrera et al. 1978), Vitullo et al. (1988) proponen que esta morfología espermática es la primitiva para el género. Aun más, basándose en la baja variabilidad intragrupal, proponen que la diferenciación espermática ocurrió en estados tempranos de la evolución de *Ctenomys*. Existe también una correlación entre la distribución geográfica de las especies y su tipo de espermio (Feito & Gallardo, 1982). Las especies con espermio S poseen una distribución septentrional: norte de Chile y Argentina, Paraguay y Bolivia (Feito & Gallardo, 1982; Vitullo et al., 1988) y corresponde una distribución meridional para las formas "A" (Feito & Gallardo, 1982; Vitullo et al., 1988). Existe sin embargo, un área más bien pequeña (en relación al área de distribución del género) de superposición en la costa Atlántica de la Pcia de Buenos Aires (Arg.) donde cohabitan *C. talarum* (S) y *C. australis* (A).

1.2.6. Diversidad específica.

Los tuco-tucos son conocidos desde 1802 cuando Azara se refirió a ellos en sus "Apuntamientos". Pero fue Blainville (1826) el primero en proponer el binomio *Ctenomys brasiliensis* a una especie de tuco-tucos. Fue gracias a los trabajos de Thomas entre 1896 y 1929 que se comenzó a comprender la diversidad de *Ctenomys*. En la primer revisión bibliográfica de *Ctenomys*, Rusconi (1928) listó 60 nombres que correspondían a 48 especies y 9 subespecies. Posteriormente Tate (1935) informó 62 nombres distribuidos en 53 especies. Actualmente existen 77 nombres de especies vivientes disponibles. En 1961 Cabrera intentó un reordenamiento de la taxonomía de *Ctenomys*, y mediante una revisión de fundamento bibliográfico redujo a 27 especies y 52 subespecies el número de formas reconocidas para este género. Varios trabajos posteriores (Reig & Kiblicky, 1969; Reig & Reig, 1969) mostraron la invalidez de muchas de las

sinonimias hechas por Cabrera. Sin embargo, autores posteriores siguieron el criterio de Cabrera, reconociendo, por ejemplo Honacki et al. (1982) solo 33 especies. El último trabajo de revisión (Reig et al., 1990) elevó nuevamente el número de especies a un mínimo de 53. La lista de estas especies aparece en el Apéndice.

1.2.7. Interrelación entre las especies.

Se han realizado algunos intentos de agrupamiento de las especies de *Ctenomys*. Ellerman (1940) dividió varias especies de *Ctenomys* en diferentes secciones, reconociendo seis: *magellanicus*, *torquatus*, *opimus*, *boliviensis*, *leucodon* y *lewisi*. Estas secciones estaban basadas en el tamaño, grado de proyección de los incisivos y el ancho del cráneo y el rostro. Este ordenamiento probó ser artificial ya que unía especies muy distantes en distribución y en patrón cromosómico. Otros intentos posteriores pueden considerarse preliminares o inconclusos debido al número limitado de especies incluidas. Este es el caso del trabajo morfométrico de Reig et al. (1965) sobre *C. talarum* y algunas poblaciones de Entre Ríos (Argentina), Uruguay y Brasil, que actualmente están clasificadas como *C. pearsoni*, *C. rionegrensis* y *C. minutus*. Un trabajo posterior de Reig & Reig (1969) sobre la afinidad inmunológica entre *C. tucumensis*, *C. tuconax*, *C. latro*, *C. mendocinus*, *C. talarum*, *C. australis* y *C. porteusii*, solo ayudó para confirmar la distinción de las tres primeras especies (De Tucumán) respecto de *mendocinus* y la mayor afinidad de la última con el grupo de especies pampeanas, en acuerdo con estudios cromosómicos paralelos (Reig & Kiblicky, 1969). El último estudio comparativo publicado es el de Sage et al. (1986) basado en la variación en 34 loci proteínicos en 11 poblaciones de *Ctenomys* de Argentina. En el se reconocen 4 grupos separados por distancias de Nei (1972, 1978) mayores a 0.14. El más separado es *C. sociabilis* de Los Lagos, Neuquén, Argentina ($D=0.35$), luego le siguen *C. argentinus* ($D=0.20$) y *C. dorbignyi* ($D=0.14$). El cuarto grupo está formado por 8 poblaciones, 6 corresponden a *C. mendocinus* y las dos restantes a *C. haigi* y *C. bonettoi*. La baja representatividad en el número de especies y el bajo número de especímenes estudiados obliga a considerar a este estudio también como tentativo y sus resultados provisionales.

OBJETIVOS.

Los objetivos generales de esta tesis son los siguientes:

a) Establecer una hipótesis de las relaciones filogenéticas en el género *Ctenomys*, utilizando información cromosómica, morfológica, alozímica y espermática.

b) Estudiar los mecanismos de especiación en *Ctenomys*, en aquellos grupos de este género que sean aptos para dicho análisis.

Además se tienen los siguientes objetivos más específicos, que se alcanzarán en algunos casos, como subproductos de los dos más generales (a y b) ya enumerados:

c) Realizar un relevamiento de posibles nuevas formas y cariotipos de *Ctenomys*.

d) Estimar el número y tipo de reordenamientos cromosómicos involucrados en la evolución de los cariotipos del género.

e) Analizar los patrones de distribución de la heterocromatina en los diferentes cariotipos.

f) Estimar el patrones de evolución de caracteres craneométricos.

g) Estimar las distancias genéticas y patrones de evolución de diferentes loci.

h) Estimar la variabilidad alozímica intrapoblacional o intrespecífica.

MATERIALES Y METODOS

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.2. Equipos

2.1.2.1. Computación.

Todos los programas utilizados fueron ejecutados en una computadora personal Everex System 1800 AT con 1 Mb de RAM corriendo a 10 MHz, coprocesador matemático y con un disco duro de 40 Mb y otro de 30 Mb. Los programas utilizados se describen separadamente para cada sección correspondiente en MÉTODOS (2.2.).

2.1.2.2. Material óptico.

Las microfotografías de cromosomas fueron tomadas fotomicroscopio Zeiss Phomi II.

2.1.2.3. Material de medición.

Todas las medidas fueron tomadas con un calibre digital Etalon Caltronic 2.

2.1.2.4. Centrífugas y Fuentes de Poder.

Para el centrifugado a 800 rpm se utilizó una centrífuga Rolco de mesa. Para 11000 rpm una microcentrífuga Sorvall Microspin 24S.

Para las corridas electroforéticas se utilizó un fuente de poder Chemar Modelo F1-4.

2.1.3. Especímenes

La Tabla 2.1.1. resume la información de las especies de las cuales se obtuvo información original, poblaciones muestreadas de las mismas y el tipo de análisis (morfológico, cromosómico, alozímico y/o espermático) efectuado con ellas. Los nombres de los autores de las especies y las fechas respectivas se muestran en el apéndice.

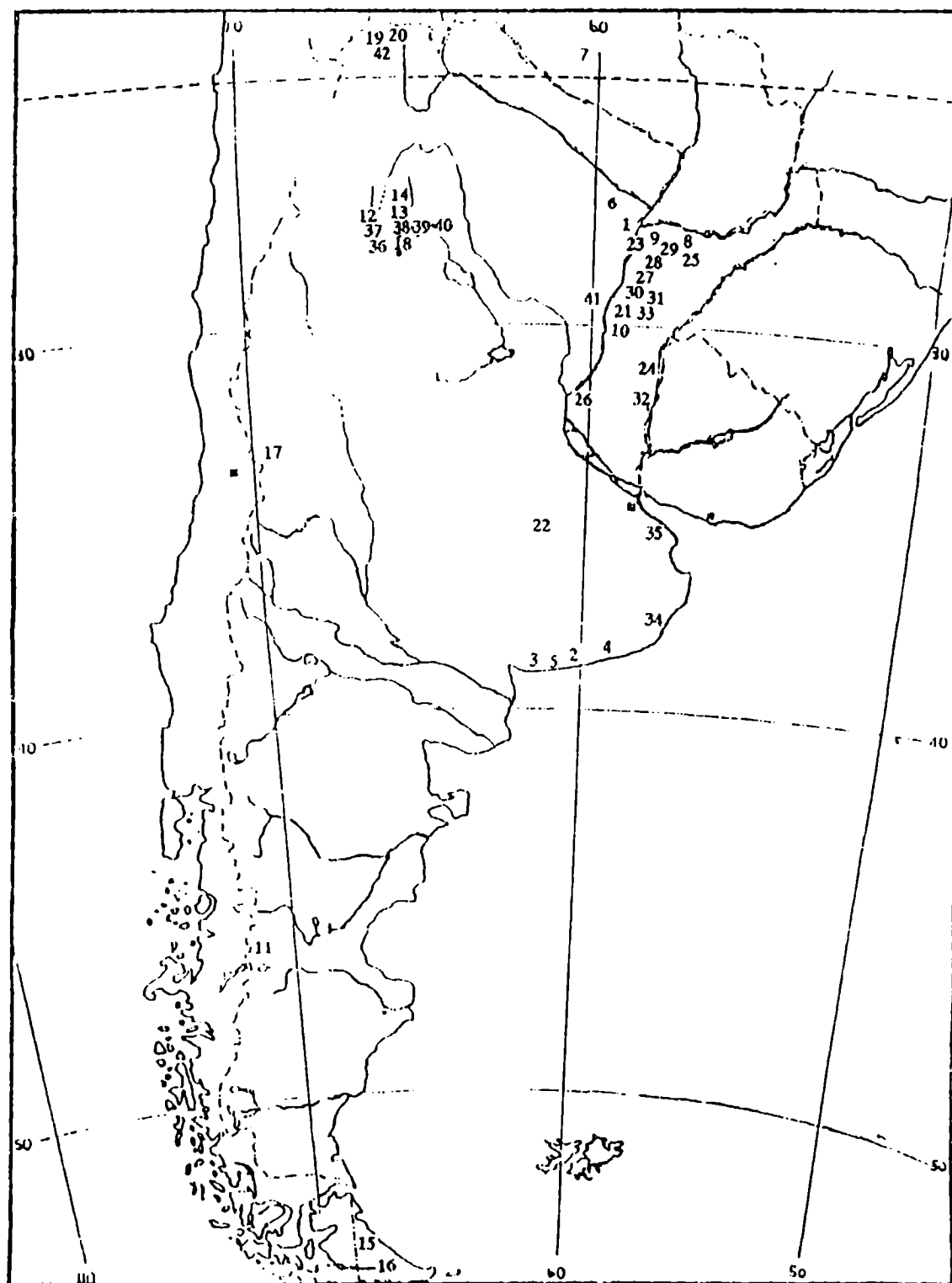
2.1.3.1. Especímenes analizados morfológicamente

2.1.3.1.2. Ejemplares macho.

Fueron medidos 286 ejemplares de *Ctenomys* macho distribuidos en 27 OTUs. A continuación se detalla el tamaño muestral de cada OTU y las identificaciones de cada ejemplar. Las siglas que se anteponen a los números indican la colección mastozoológica a la que pertenece el mismo, según el siguiente código: CFA= Colección Félix de Azara, Corrientes; CRICYT= Centro regional de Investigaciones científicas y tecnológicas, Mendoza; FCEN= Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires; MACN= Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Buenos Aires; MNEM-EN= Museo Municipal de Ciencias Naturales "Lorenzo Scaglia", Mar del Plata; I= Número de ingreso de animales del Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

No	Especie	Código	Localidad	Coordenada	Provincia	LT	M	C	A	E
1	<i>C. argentinus</i>	ARGENTIN	Colonia Benítez	27°19'S, 59°02'W	Chaco		ah	nb	ph	†
2	<i>C. australis</i>	AUSTCLAR	Claromecó	38°36'S, 60°02'W	Buenos Aires		a			
3	<i>C. australis</i>	AUSTMHER	Monte Hermoso	38°42'S, 60°45'W	Buenos Aires		a			
4	<i>C. australis</i>	AUSTNECO	Necochea	38°33'S, 58°45'W	Buenos Aires	†	ah	nb		
5	<i>C. australis</i>	AUSTORIE	Oriente	38°40'S, 60°19'W	Buenos Aires		a			
6	<i>C. bonettoi</i>	BONETTOI	Colonia Elisa	26°48'S, 59°33'W	Chaco		ah			
7	<i>C. conoveri</i>		Colon. Fernheim	22°15'S, 60°10'W	Boquerón ¹	†		n		
8	<i>C. dorbignyi</i>	DORBIGNY	Mbarigui	27°33'S, 57°31'W	Corrientes	†	ah	nb	ph	†
9	<i>C. dorbignyi</i>	DORBINDR	Loma Alta	28°05'S, 58°10'W	Corrientes		ah			
10	<i>C. dorbignyi</i>	DORDISUR	Esquina	30°14'S, 59°34'W	Corrientes		ah	n		
11	<i>C. fodax</i>	FOD	Lago Blanco	43°54'S, 71°45'W	Chubut	†		nb		
12	<i>C. knightii</i>	KNIGHTII	Los Cardones	26°38'S, 63°49'W	Tucumán		a	nb	ph	†
13	<i>C. latro</i>	LATRO	Tapia	26°35'S, 63°18'W	Tucumán	†	ah	nb	ph	†
14	<i>C. latro</i>	LATRU	Ticuccho	26°27'S, 63°13'W	Tucumán		a	n	h	
15	<i>C. magellanicus</i>	MAGELLAN	Rio Grande	53°45'S, 64°41'W	I. del Fuego		ah	nb	h	†
16	<i>C. magellanicus</i>	MAGELLAN	Tres Arroyos	54°13'S, 64°29'W	I. del Fuego		ah			
17	<i>C. mendocinus</i>	MENDOCIN	Mendoza	32°53'S, 68°49'W	Mendoza	†	ah	nb		
18	<i>C. occultus</i>	OCCULTUS	Mo teagudo	27°31'S, 63°17'W	Tucumán	†	ah	nb	p	†
19	<i>C. opimus</i>	OPIMUS	Tren Cruces	22°34'S, 63°35'W	Jujuy		ah	nb	h	†
20	<i>C. opimus</i>	OPIMUS	Co. Lagunita	23°37'S, 63°24'W	Jujuy		h	nb	ph	
21	<i>C. perrensi</i>	PERRENSI	Goya	29°08'S, 59°16'W	Corrientes	†	ah	nb	ph	†
22	<i>C. porteusii</i>	PORTEOUSI	Bonifacio	36°49'S, 62°13'W	Buenos Aires	†	ah	nb		
23	<i>C. roigi</i>	ROIGI	Costa Mansión	28°02'S, 58°49'W	Corrientes	†	ah	nb	ph	†
24	<i>C. sp.</i>		Concordia	31°25'S, 58°03'W	Entre Ríos			n		
25	<i>C. sp.</i>	CURUZU	Curuzú Laurel	27°47'S, 57°38'W	Corrientes		ah	nb	ph	†
26	<i>C. sp.</i>		Paraná	31°47'S, 60°29'W	Entre Ríos			n		
27	<i>C. sp.</i>		Saladas	28°15'S, 58°37'W	Corrientes			nb	ph	†
28	<i>C. sp.</i>		Saladas Km 7	28°12'S, 58°32'W	Corrientes			nb	ph	†
29	<i>C. sp.</i>		Saladas km 14	28°13'S, 58°34'W	Corrientes			nb	ph	†
30	<i>C. sp.</i>	SANROQUE	San Roque	28°34'S, 58°42'W	Corrientes		ah	nb	ph	†
31	<i>C. sp.</i>	SANROQUE	" , MF Mantilla	28°45'S, 58°40'W	Corrientes		a	nb	ph	†
32	<i>C. sp.</i>		Ubajay	31°45'S, 58°04'W	Corrientes		h	n		
33	<i>C. sp.</i>	YATAYTI	Yataiti-Calle	29°00'S, 58°54'W	Corrientes		ah	nb	ph	†
34	<i>C. talarum</i>	TALAMARC	Caet Norte	37°58'S, 57°34'W	Buenos Aires		ah	nb		†
35	<i>C. talarum</i>	TALAMAGD	Magdalena	34°52'S, 57°53'W	Buenos Aires	†	ah			
36	<i>C. tuconax</i>	TUCONAXC	Concepción	27°20'S, 63°35'W	Tucumán	†	a			
37	<i>C. tuconax</i>	TUCONAXI	El Infiernillo	26°40'S, 63°49'W	Tucumán		ah		ph	†
38	<i>C. tucumanus</i>	TUCUMANU	Camino Ticuccho	26°37'S, 63°13'W	Tucumán		ah	nb	p	†
39	<i>C. tucumanus</i>	TUCUMANU	El Cadillal	26°47'S, 63°14'W	Tucumán		ah	nb	p	†
40	<i>C. tucumanus</i>	TUCUMANU	Tucumán	26°49'S, 63°13'W	Tucumán	†	ah	nb		
41	<i>C. yolandae</i>	YOLANDLP	Las Palmas	29°25'S, 59°40'W	Santa Fe	†	ah	n		
42	<i>Octodontomys</i>	OCT	Tilcara	23°34'S, 63°22'W	Jujuy			nb	h	†

Tabla 2.1.1. Resumen de la información de las especies analizadas. Especie= nombres de especies; Código= códigos utilizados durante el texto para referirse a los OTUs, en algunos casos se utilizan dos códigos, uno de 8 letras y otro de que está indicado con letra negrita; Localidad= localidades de muestreo; Coordenada= Latitud, Longitud; Provincia= Provincias correspondiente a las localidades; LT= indica con "†" si la localidad es típica para la especie; M= análisis morfológico; a indica que fueron analizados ejemplares macho, h indica que fueron analizados ejemplares hembra; C= análisis citogenético; n sin bandeó, bi con bandeó; A= análisis alozimico; p indica que analizó plasma, h indica que se analizó hígado; E= análisis espermático; † indica que el OTU se analizó. Todas las Provincias corresponden a Argentina, salvo (¹) que pertenece a Paraguay.



C. argentinus, Colonia Benítez: 18

CFA-237, CFA-702, CFA-782, CFA-1195, CFA-708, CFA-1272, CFA-1194, CFA-1262, CFA-1595, CFA-688, CFA-701, CFA-776, CFA-787, CFA-788, CFA-1275, CFA-868, MMPMA-2451, C-686.

C. australis, Claromecó, Buenos Aires: 5

I-1048, I-1047, I-1050, I-1051, I-1043.

C. australis, Monte Hermoso, Buenos Aires: 8

I-1066, I-1073, I-1056, FN-85-5, FN-85-29, FN-85-31, MMPMA-1797, MMPMA-1803.

C. australis, Necochea, Buenos Aires: 16

FN-1530, FN-86-72, FN-86-73, FN-1518, FN-86-71, FN-82-238, FN-86-70, FN-82-67, FN-82-68, FN-82-71, FN-1524, FN-1527, FN-1531, FN-82-65, FN-2370, MMPMA-2545.

C. australis, Oriente, Buenos Aires: 2

I-1080, I-1081.

C. benettii, Colonia Elisa, Chaco: 15

CFA-1567, CFA-0770, CFA-1195, CFA-0728, CFA-0771, CFA-0765, CFA-0727, CFA-1176, CFA-1571, CFA-0720, CFA-3013, CFA-3015, CFA-3018, CFA-3020, CFA-1569.

C. dorbignyi, Mbarigüí, Corrientes: 21

CFA-1211, CFA-1444, CFA-1884, CFA-1075, CFA-1193, CFA-1922, CFA-1084, CFA-1298, CFA-1458, CFA-1146, CFA-2662, CFA-1923, CFA-1416, CFA-1119, CFA-1883, CFA-1457, CFA-1108, I-1233, I-1235, I-1261, I-1234.

C. dorbignyi, Loma Alta, Tres Bocas y Mburucuyá, Corrientes: 9

CFA-1511, CFA-1512, CFA-1522, CFA-1526, CFA-1484, CFA-1550, CFA-1489, CFA-1479, CFA-1477.

C. dorbignyi, Esquina, Corrientes: 6

CFA-1320, CFA-1310, CFA-1312, CFA-1313, CFA-1322, CFA-1326

C. knightii, Los Cardones, Dto. Amaicha, Tucumán: 2

MMPMA-2926, MMPMA-2924.

C. latro, Tapia, Tucumán: 8

FCEN-3042, FCEN-3180, FCEN-3185, FCEN-3197, MMPMA-2426, I-997, I-998, MACN-26143.

C. magellanicus, varias localidades de Tierra del Fuego: 6

FCEN-F1, MACN-15605, MACN-15606, FCEN-D4, FCEN-2800, I-307

C. mendocinus, Mendoza, Mendoza: 12

CRICYT-1583, CRICYT-1445, CRICYT-1550, CRICYT-1447, CRICYT-1570, CRICYT-1531, CRICYT-1520, CRICYT-1548, CRICYT-1448, CRICYT-1446, CRICYT-1450, CRICYT-1521.

C. occultus, Monteagudo, Tucumán: 3

1991, 1994, FCEN-3655.

C. opimus, Tres Cruces, Jujuy: 3

MMPMA-3103-1911, MMPMA-3105, MACN-36372.

C. perrensi, Goya, Corrientes: 17

CFA-01388, CFA-01470, CFA-02140, CFA-01468, CFA-01463, CFA-01386, CFA-01389, CFA-01169, CFA-01331, CFA-01189, CFA-01149, CFA-01467, CFA-01461, CFA-01460, CFA-02681, CFA-02683, CFA-02856.

C. porteousi, Bonifacio, Buenos Aires: 18

FN-82-161, FN-82-172, FN-82-173, FCEN-3264, FCEN-2868, FCM-1991, FCEN-2863, FCEN-1993, I-223, I-222, I-221, I-237, I-1027, I-1029, I-1030, I-1033, I-1024, MMPMA-2297.

C. roigi, Cos a Mansión, Corrientes: 21

CFA-1864, CFA-1861, CFA-1911, CFA-1669, CFA-1892, CFA-1951, CFA-1663, CFA-1667, CFA-1874, CFA-1897, CFA-1666, CFA-1671, CFA-1855, CFA-1866, CFA-1867, CFA-1871, CFA-1870, CFA-1912, MMPMA-2413, MMPMA-2410, MMPMA-2411.

C. sp., Curuzú Laurel, Corrientes: 6

CFA-2047, CFA-2996, CFA-2676, CFA-1302, CFA-1902, MMPMA-2474.

C. sp., San Roque, Corrientes: 3

MMPMA-2440, MMPMA-2435, MMPMA-2442.

C. sp., Yataytí-Calle, Corrientes: 4

CFA-1353, CFA-1350, CFA-1347, MMPMA-2437.

C. talarum, Camet Norte, Buenos Aires: 21

FN-76-422, FN-73-230, FN-85-75, FN-85-73, FN-85-72, FN-85-78, FN-85-89, FN-85-67, FN-85-82, FN-85-85, FN-85-113, FN-85-109, FN-85-101, FN-85-93, FN-85-98(32), FN-85-105, FN-85-116, FN-85-117, FN-85-119, FN-85-138, FN-85-118.

C. talarum, Magdalena, Buenos Aires: 22

FCEN-G14, FCEN-2678, FCEN-2648, FCEN-2716, FCEN-2652, FCEN-2649, FCEN-2752, FCEN-2706, FCEN-2708, FCEN-1NB, FCEN-11NB, FCEN-2939, FCEN-P5, FCEN-P7, FCEN-9NB, FCEN-G11, FCEN-2938, FCEN-L6, FCEN-2937, FCEN-2663, FCEN-2720, FCEN-2650.

C. tuconax, Concepción, Tucumán: 5

FCEN-3214, FCEN-3343, FCEN-3344, FCEN-3342, FCEN-3691.

C. tuconax, EL Infiernillo, Tucumán: 5

FCEN-3311, FCEN-3304, FCEN-3695, FCEN-3305, FCEN-3309.

C. tucumanus, Tucumán, Camino Tieuchó y El Cadillal, Tucumán: 12

FCEN-3044, FCEN-3649, FCEN-3203, FCEN-3193, FCEN-3194, FCEN-3054, FCM-3204, FCEN-3639, FCEN-3165, FCEN-3053, MMPMA-2298, I-988.

C. yolandae, Las Palmas, Santa Fé: 18

CFA-2489, CFA-2289, CFA-2471, CFA-2482, CFA-2480, CFA-2487, CFA-2306, CFA-2472, CFA-2481, CFA-2476, CFA-2494, CFA-2492, CFA-2484, CFA-2473, CFA-2425, CFA-2486, CFA-2420, CFA-2417.

2.1.3.1.2. Ejemplares hembra.

Fueron medidos 304 ejemplares de *Utenomys* hembra distribuidos en 22 OTUs. A continuación se detalla el tamaño muestral de cada OTU y las identificaciones de cada ejemplar.

C. argentinus, Colonia Benitez, Chaco: 21

CFA-703, CFA-304, CFA-750, CFA-696, CFA-1269, CFA-1636, CFA-1639, CFA-1266, CFA-664, CFA-709, CFA-1637, CFA-1414, CFA-1276, CFA-1638, CFA-665, CFA-1270

C. australis, Necochea, Buenos Aires: 23

FN-82-69, FN-82-239, FN-82-240, FN-82-243, FN-82-243, FN-82-241, FN-82-244, FCEN-1515A, FCEN-1415, FCEN-2369, FCEN-2357, FCEN-1414, FCEN-1520, FCEN-1525, FCEN-1413, FCEN-1528, I-193, I-186, I-200, I-195, I-196, I-199, MMPMA-2546.

C. bonettoi, Colonia Elisa, Chaco: 17

CFA-718, CFA-768, CFA-671, CFA-678, CFA-691, CFA-729, CFA-717, CFA-722, CFA-724, CFA-1572, CFA-3019, CFA-3017, CFA-3014, CFA-3016, CFA-772, CFA-1576, CFA-719.

C. dorbignyi, Mbarigui, Corrientes: 19

CFA-1204, CFA-1070, CFA-1185, CFA-1274, CFA-1069, CFA-1083, CFA-1077, CFA-1102, CFA-1145, CFA-1060, CFA-1292, CFA-1076, CFA-1078, CFA-1952, CFA-1418, CFA-2661, CFA-2664, CFA-2665, I1265

C. dorbignyi, Loma Alta, Tres Bocas y Mburucuyá, Corrientes: 14

CFA-1524, CFA-1519, CFA-1496, CFA-1498, CFA-1510, CFA-1514, CFA-1536, CFA-1549, CFA-1535, CFA-1487, CFA-1486, CFA-1485, CFA-1491, CFA-1476.

C. dorbignyi, Esquina, Corrientes: 12

CFA-1319, CFA-1321, CFA-1316, CFA-1314, CFA-1311, CFA-1309, CFA-1324, CFA-1317, CFA-1318, CFA-1327, CFA-1556, CFA-1363.

C. latro, Tapia, Tucumán: 21

FCEN-3033, FCEN-3035, FCEN-3037, FCEN-3038, FCEN-3040, FCEN-3043, FCEN-3172, FCEN-3182, FCEN-3187, FCEN-3188, FCEN-3195, FCEN-3196, FCEN-3328, FCEN-3329, FCEN-3330, FCEN-3331, FCEN-3333, FCEN-3334, MMPMA-2428, I-995, I-996.

C. magellanicus, varias localidades de Tierra del Fuego: 7

FCEN-C(6), FCEN-B(5), , FCEN-2963, FCEN-2960, FCEN-2962, FCEN-2961, FCEN-51D.

C. mendocinus, Mendoza, Mendoza: 16

FCEN-1561, FCEN-1568, FCEN-1588, FCEN-1584, FCEN-1449, FCEN-1455, FCEN-1518, FCEN-1589, FCEN-1562, FCEN-1512, FCEN-1611, FCEN-1554, FCEN-1555, FCEN-1441, FCEN-1579, FCEN-1444.

C. occultus, Monteagudo, Tucumán: 4

FCEN-3659, FCEN-3345, I-992, I-993.

C. opimus, Tres Cruces, Jujuy: 4

MMPMA-3102, MMPMA-2202, MMPMA-3104, MACN-36358.

C. perrensi, Goya, Corrientes: 15

CFA-1180, CFA-1168, CFA-1462, CFA-1626, CFA-1627, CFA-1473, CFA-1878, CFA-2142, CFA-2130, CFA-1344, CFA-1345, CFA-1450, CFA-2074, CFA-2684, I-1232.

C. porteousi, Bonifacio, Buenos Aires: 20

FN-82-168, FN-82-170, FN-82-156, FN-82-169, FN-82-162, FN-82-167, FN-82-171, FCEN-2876, FCEN-3255, FCEN-3139, FCEN-2862, FCEN-2869, I-231, I-220, I-1021, I-1022, I-1023, I-1032, I-1028, MMPMA-2296.

C. roigi, Costa Mansión, Corrientes: 21

CFA-1670, CFA-1863, CFA-1677, CFA-1915, CFA-1858, CFA-1674, CFA-1873, CFA-1875, CFA-1868, CFA-1668, CFA-2496, CFA-2855, CFA-1672, CFA-1753, CFA-2695, CFA-1907, CFA-1913, CFA-1838, MMPMA-2414, MMPMA-2412, MMPMA-2443.

C. sp., Curuzú Laurel, Corrientes: 5

CFA-1301, CFA-2674, CFA-2857, I-1241, MMPMA-2476.

C. sp., San Roque, Corrientes: 2

MMPMA-2436, MMPMA-2441.

C. sp., Yataytí-Calle, Corrientes: 3

CFA-1348, CFA-1555, MMPMA-2438.

C. talarum, Camet Norte, Buenos Aires: 23

FN-85-76, FN-85-74, FN-85-77, FN-85-87, FN-85-80, FN-85-83, FN-85-69, FN-85-68, FN-85-87, FN-85-90, FN-85-86, FN-85-91, FN-85-84, FN-85-88, FN-85-100, FN-85-104, FN-85-108, FN-85-111, FN-85-110, FN-85-107, FN-85-92, FN-85-114, FN-85-99.

C. talarum, Magdalena, Buenos Aires: 22

FCN-2947, FCN-10NB, FCN-2950, FCN-2946, FCN-L9, FCN-2956, FCN-2948, FCN-C6, FCN-2940, FCN-G9, FCN-P7, FCN-2949, FCN-PA10, FCN-2670, FCN-2758, FCN-2695, FCN-2953, FCN-2721, FCN-2730, FCN-2744, FCN-2689, FCN-2653

C. tuconax, El Infiernillo, Tucumán: 3

FCEN-331-, FCEN-3303, MMPMA-2429.

C. tucumanus, Tucumán, Tucumán: 14

FCN-3169, FCN-3192, FCN-3647, FCN-3167, FCN-3642, FCN-3207, FCN-3050, FCN-3049, FCN-3051, FCN-3045, FCN-3190, MMPMA-2300, I-989, MACN-2761.

C. yolandae, Las Palmas, Santa Fé: 18

CFA-2410, CFA-2491, CFA-2475, CFA-2457, CFA-2422, CFA-2459, CFA-2477, CFA-2301, CFA-2485, CFA-2409, CFA-2483, CFA-2488, CFA-2418, CFA-2311, CFA-2404, CFA-2419, CFA-2408, CFA-2493.

2.1.3.2. Especímenes analizados cromosómicamente

Fueron analizados cromosómicamente 102 ejemplares de *Ctenomys*

distribuidos en 14 especies identificadas y a 9 poblaciones de *C. sp.*, y 3 ejemplares de *Octodontomys gliroides*. A continuación se detalla el tamaño muestral de cada OTU y las identificaciones de cada ejemplar indicando primero el número de entrada interno al laboratorio (I) y el luego el número interno de citogenética (C). Todos los ejemplares fueron depositados en la colección del Museo Municipal de Ciencias Naturales "Lorenzo Scaglia" de Mar del Plata.

Especie: *Ctenomys argentinus*

Localidad: Colonia Benítez, población aislada Chaco

Hembras

I-484, C-700; I-486, C-702; I-487, C-703;

Machos

I-485, C-701

Total por especie: 4

Especie: *Ctenomys conoveri*

Localidad: Colonia Fernheim, Departamento de Boquerón, Paraguay

Machos

S/N, procesado en el laboratorio de la Dra. S. Merani, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA.

Total por especie: 1

Especie: *Ctenomys dorbignyi*

Localidad: Mbarigui, Berón de Astrada Corrientes

Hembras

I-730, C-1236; I-731, C-1237; I-742, C-1265; I-743, C-1266; I-749, C-1272; I-750, C-1273

Machos

I-727, C-1233; I-728, C-1234; I-729, C-1235; I-732, C-1238; I-741, C-1264

Total por localidad: 11

Localidad: Paraje Sarandicito, Esquina, Corrientes

Hembras

S/N; S/N; procesadas en el laboratorio de la Dra. S. Merani, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA.

Total por localidad: 2

Total por especie: 13

Especie: *Ctenomys fodax*

Localidad: Lago Blanco Chubut

Hembras

I-597, C-944

Total por especie: 1

Especie: *Ctenomys knightii*

Localidad: Los Cardones camino a Amaicha del Valle, Tucumán

Hembras

I-513, C-832

Machos

I-514, C-833; I-575, C-831

Total por especie: 3

Especie: *Ctenomys latro*

Localidad: Tapia, Tucumán

Hembras

I-612, C-995; I-613, C-996

Machos

I-614, C-997; I-615, C-998

Total por localidad: 4

Localidad: Ticucho, Tucumán

Hembras

I-467, C-677; I-468, C-678

Machos

I-466, C-676

Total por localidad: 3

Total por especie: 7

Especie: *Ctenomys magellanicus*

Localidad: Rio grande 71Km N Tierra del Fuego

Hembras

I-480, C-696

Machos

I-479, C-695

Total por localidad: 2

Total por especie: 4

Especie: *Ctenomys occultus*

Localidad: Plaza de Monteagudo, Monteagudo, Tucumán

Hembras

I-609, C-992

Total por localidad: 1

Localidad: Ruta 157 Monteagudo, Tucumán

Hembras

I-610, C-993

Machos

I-611, C-994

Total por localidad: 2

Total por especie: 3

Especie: *Ctenomys opimus*

Localidad: 10 km antes Tres Cruces, Jujuy

Hembras

I-357, C-464; I-568, C-908; I-570, C-909; I-571, C-910; I-573, C-912

Machos

I-322, C-465; I-572, C-911; I-574, C-913

Total por localidad: 8

Localidad: Cerro de la Lagunita, Jujuy

Hembras

I-923, C-1477

Total por localidad: 1

Total por especie: 9

Especie: *Ctenomys perrensi*

Localidad: Goya, Corrientes

Hembras

I-721, C-1227; I-722, C-1228; I-724, C-1230; I-726, C-1232

Machos

I-720, C-1226; I-723, C-1229; I-725, C-1231; I-739, C-1262; I-740,

C-1262

Total por especie: 9

Especie: *Ctenomys roigi*

Localidad: Costa Mansión, Empedrado Corrientes

Hembras

I-455, C-662; I-457, C-664; I-747, C-1270; I-748, C-1271

Machos

I-453, C-660; I-454, C-661; I-456, C-663

Total por especie: 7

Especie: *Ctenomys sp.*

Localidad: Concordia, Entre Ríos.

Hembras:

I-219, C-219;

Machos:

I-217, C-189; I-218, C-185;

Localidad: Curuzu laurel, San Miguel, Corrientes

Hembras

I-508, C-726; I-733, C-1239; I-734, C-1240; I-735, C-1241; I-736, C-1242; I-745, C-1268; I-751, C-1274; I-752, C-1275

Machos

I-505, C-725; I-507, C-727; I-744, C-1267; I-746, C-1269

Total por localidad: 12

Localidad: Paraná, Entre Ríos

Machos

S/N, procesado en el laboratorio de la Dra. S. Merani, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA.

Total por localidad: 1

Localidad: El Palmar (Ubajay), Entre Ríos

Machos

S/N, procesado en el laboratorio de la Dra. S. Merani, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA.

Total por localidad: 1

Localidad: Saladas, Corrientes

Hembras

I-482, C-698

Machos

I-483, C-699; I-489, C-705

Total por localidad: 3

Localidad: Saladas, Km 14 a Mburucuyá, Corrientes

Hembras

I-488, C-704

Machos

I-481, C-698

Total por Machos: 1

Localidad: Saladas, Km 7 a Mburucuyá, Corrientes

Hembras

I-753, C-1276; I-755, C-1278; I-756, C-1279

Machos

I-754, C-1277

Total por localidad: 4

Localidad: San Roque, Dto. San Roque, 5 km S Corrientes

Hembras

I-471, C-687; I-476, C-692

Machos

I-470, C-686; I-475, C-691

Total por localidad: 4

Localidad: San Roque M.F. Mantilla, Corrientes

Machos

I-477, C-693

Total por localidad: 1

Localidad: Yataytí-Calle ruta 16 a Perugorria, Corrientes

Hembras

I-473, C-689

Machos

I-472, C-688; I-474, C-690

Total por localidad: 3

Total por especie: 31

Especie: *Ctenomys tucumanus*

Localidad: Camino a Ticucho borde embalse, Tucumán

Hembras

I-607, C-989

Machos

I-605, C-987; I-606, C-988

Total por localidad: 3

Localidad: El Cadillal Tucumán

Hembras

I-392, C-550

Machos

I-387, C-548; I-386, C-549

Total por localidad: 3

Total por especie: 6

Especie: *Ctenomys yolandae*

Localidad: Las Palmas, Santa Fe

Hembras

S/N, procesada en el laboratorio de la Dra. S. Merani, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA.

Machos

S/N, procesado en el laboratorio de la Dra. S. Merani, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA.

Total por especie : 2

Especie: *Octodontomys gliroides*

Localidad: Tilcara, Jujuy

Hembras

I-822, C-1366

Machos

I-823, C-1367; I-824, C-1368

Total por especie: 3

2.1.3.3. Especímenes analizados electroforéticamente

Fueron analizados electroforéticamente 79 ejemplares de *Ctenomys* distribuidos en 11 especies identificadas y a 6 poblaciones de *C. sp.* y 3 de *Octodontomys gliroides*. A continuación se detalla el tamaño muestral de cada OTU y las identificaciones de cada ejemplar indicando el número de entrada interno al laboratorio (I). Todos los ejemplares fueron depositados en la colección del Museo Municipal de Ciencias Naturales "Lorenzo Scaglia" de Mar del Plata.

C. argentinus, Colonia Benitez, Chaco.

I-700, I-701, I-702, I-703

Total: 4

C. dorbignyi, Mburigui, Corrientes.

I-1273, I-1233, I-1235, I-1238, I-1236, I-1272, I-1265, I-1234, I-1266, I-1237, I-1264

Total: 11

knightsii, Los Cardones, Tucumán.

I-832, I-833, I-831, I-1485

Total: 4

latro, Ticucho y Tapia, Tucumán.

I-676, I-996, I-997, I-998, I-995

Total: 5

C. magellanicus, Rio Grande, Tierra del Fuego.

I-695

Total: 1

C. occultus, Monteagudo, Tucumán.

I-993, I-992, I-994

Total: 3

opimus, Tres Cruces y Cerro de la Lagunita, Jujuy.

I-465, I-913, I-1477

Total: 3

C. perrensi, Goya, Corrientes.

I-1231, I-1228, I-1227, I-1232, I-1229, I-1226, I-1263, I-1262, I-1230,

Total: 9

C. roigi, Costa Mansión, Corrientes.

I-1271, I-1270, I-661, I-662, I-663, I-664

Total: 6

C. sp., Curuzú Laurel, Corrientes.

I-1275, I-1267, I-1242, I-1268, I-1240, I-1269

Total: 6

C. sp., Saladas, Corrientes.

I-698, I-699, I-705

Total: 3

C. sp., Saladas, Km 7, Corrientes.

I-1276, I-1278, I-1279, I-1277

Total: 4

sp., Saladas Km 14, Corrientes.

I-704

Total: 1

C.sp., San Roque, Corrientes

I-691, I-692, I-687, I-688, I-693

Total: 5

C. sp., Yataytí-Calle, Corrientes.

I-689, I-688, I-690

Total: 3

C. tuconax, El Infiernillo, Tucumán.

I-552, I-867, I-868, I-870

Total: 4

C. tucumanus, El Cadillal, Tucumán.

I-987, I-989, I-988, I-548

Total: 4

Octodontomys gliroides, Tilcara, Jujuy.

I-1367, I-1368, I-1369

Total: 3

2.1.3.4. ~~Especímenes analizados espermáticamente~~

Se analizaron todos los machos analizados citogenéticamente.

2.2. METODOS

2.2.1. Análisis Morfológico

Los estudios morfológicos previos sobre las especies de *Ctenomys* se han basado en caracteres tales como coloración del pelaje, tamaño del cuerpo y algunos rasgos cráneo-dentales, que fueron las bases originales para la descripción de las nuevas especies de *Ctenomys*. Si bien en *Ctenomys* las variables morfométricas han sido tradicionalmente las más utilizadas para la descripción, diferenciación y establecimiento de relaciones evolutivas entre las distintas especies, una estandarización de las mismas no se logró sino hasta mucho tiempo después con los trabajos de Reig et al. (1965), Langguth & Abella (1970) y Contreras & Contreras (1984). Con la excepción de Contreras & Scolaro (1986), no se ha realizado hasta el presente una comparación global de las diferentes especies de *Ctenomys* basada en criterios morfológicos y utilizando metodologías multivariadas modernas.

La actitud de la sistemática evolutiva moderna hacia las variables morfológicas es la de considerarlas indicadoras de variabilidad génica. En este aspecto, los caracteres morfológicos tienen sus dificultades y sus ventajas. Las dificultades yacen en el hecho de que no se conoce (en general) su modo de herencia. Las ventajas se basan en que estas variables nos pueden indicar variación tanto en tamaño como en forma. Esto último, la variación en forma, es en principio, el resultado de la evolución de la acción de genes reguladores en los distintos programas de desarrollo.

Uno de los principales problemas que se afrontan en el análisis multivariado de caracteres morfológicos es la dificultad en diferenciar variación del tamaño de la variación de la forma. Si no se discrimina entre estos dos factores se pueden inferir relaciones de parentesco equivocadas. Por ejemplo, supongamos que analizamos cuatro especies: dos, una de tamaño grande y otra pequeña, con morfología craneana que podemos denominar arbitrariamente tipo "A"; y las otras dos, también una de tamaño grande y otra pequeña, con morfología craneana que podemos denominar arbitrariamente tipo "B". Un análisis de agrupamiento tradicional utilizando variables morfométricas agrupará seguramente las especies grandes por un lado y las especies chicas por otro. El problema radica en que es principalmente la forma lo que nos sugerirá la existencia de distintos programas epigenéticos, que nos permitirán inferir diferencias de genes reguladores. El tamaño, varía aún mucho dentro de cada especie y está altamente afectado por la influencia ambiental no heredable, por lo tanto esta información presenta dificultades para la inferencia genética. Es cierto que dos especies pueden diferir solo en tamaño, y que ello es importante, pero lo esencial es saber distinguir esta causa de la de la forma.

La solución tradicional es la utilización de la técnica del análisis

de componentes principales (FCA), donde se ha demostrado que el primer componente es una aproximación multivariada al tamaño general (Teissier, 1960; Jolicoeur, 1963); el resto de variación residual sería por lo tanto variación en forma. Pero se ha mostrado que el primer componente siempre incorpora también variación en forma (Mosiman, 1970; Humphries *et al.*, 1981), o que existe siempre residuos de tamaño en el segundo y demás componentes (Bookstein *et al.*, 1985).

La metodología que se utilizará para enfrentar este problema se presenta en la sección 2.2.1.3. de Procedimientos estadísticos.

Todos los análisis se realizarán por separado para machos y hembras. Los análisis de estimación de filogenias se realizarán con los especímenes macho por disponer de más OTUs con los mismos.

2.2.1.1. Procedimiento de los especímenes.

Para los especímenes que no fueron obtenidos ya preparados de distintos museos se siguió el siguiente tratamiento para los cráneos. Se hierven los cráneos sin piel por 10 minutos. Con bisturí, tijeras y pinzas se elimina la carne que rodea a los huesos. Con una pinza o aguja se extrae la masa encefálica. Finalmente se sumerge el cráneo en ácido hipocloroso (clorato I de hidrógeno) para eliminar los restos de carne más pequeños y se lava con agua común.

2.2.1.2. Variables analizadas y nomenclatura.

El análisis morfológico estará basado en la medición de 24 variables craneométricas, las que se listan en la Tabla 2.2.1., y se ilustran en la Figura 2.2.1.

No	Código	Denominación	No	Código	Denominación
1	L_TOT_CRAN	Longitud Total del cráneo	13	L_CON_PREM	Longitud cóndilo premolar
2	L_COND_BAS	Longitud cóndilo basilar	14	L_DIASTEMA	Longitud del diastema
3	L_COND_NAS	Longitud cóndilo nasal	15	L_AMP_AUDI	Longitud de la apolla auditiva
4	L_NASAL	Longitud del nasal	16	A_AMP_AUDI	Ancho de la apolla auditiva
5	A_NASAL	Ancho del nasal	17	A_INCISIVO	Ancho del incisivo
6	A_BINEATAL	Ancho bimeatal	18	LARBO_P4	Longitud del P4
7	A_BICISOMA	Ancho bicigomático	19	L_8_MOLAR	Longitud de la serie molar superior
8	A_BIMASTOI	Ancho bimaistoideo	20	A_MANDIBUL	Ancho de la mandíbula
9	A_FRONTAL	Ancho frontal	21	ALTO_CRANE	Alto del cráneo
10	A_ROSTRAL	Ancho rostral	22	L_BASAL	Longitud basal
11	A_CAJ_CERE	Ancho de la caja cerebral	23	L_MAXI_INF	Longitud del maxilar inferior
12	A_FO_PREOR	Ancho del foramen preorbitario	24	AL_MAX_INF	Altura del maxilar inferior

Tabla 2.2.1. Listado de las variables utilizadas en el análisis morfológico. Las variables están numeradas, y se indican los códigos que se utilizarán en Resultados.

2.2.1.3. Procedimientos estadísticos.

La metodología a seguir para resolver el problema del tamaño será la transformación logarítmica de los datos originales y la posterior utilización del método de Burnaby (1966), utilizando el eje obtenido a partir del primer autovector ("Eigenvector", vector propio o también llamado vector característico) del análisis de componentes principales de la matriz de varianza-covarianza (var-cov) agrupadas intragrupalmente. Esta última matriz es la que se obtiene normalmente a partir de un análisis discriminante o de un análisis multivariado de la varianza. Luego se utilizará el análisis de factores para intentar expresar los caracteres originales por medio de un número menor de variables funcionalmente relacionadas.

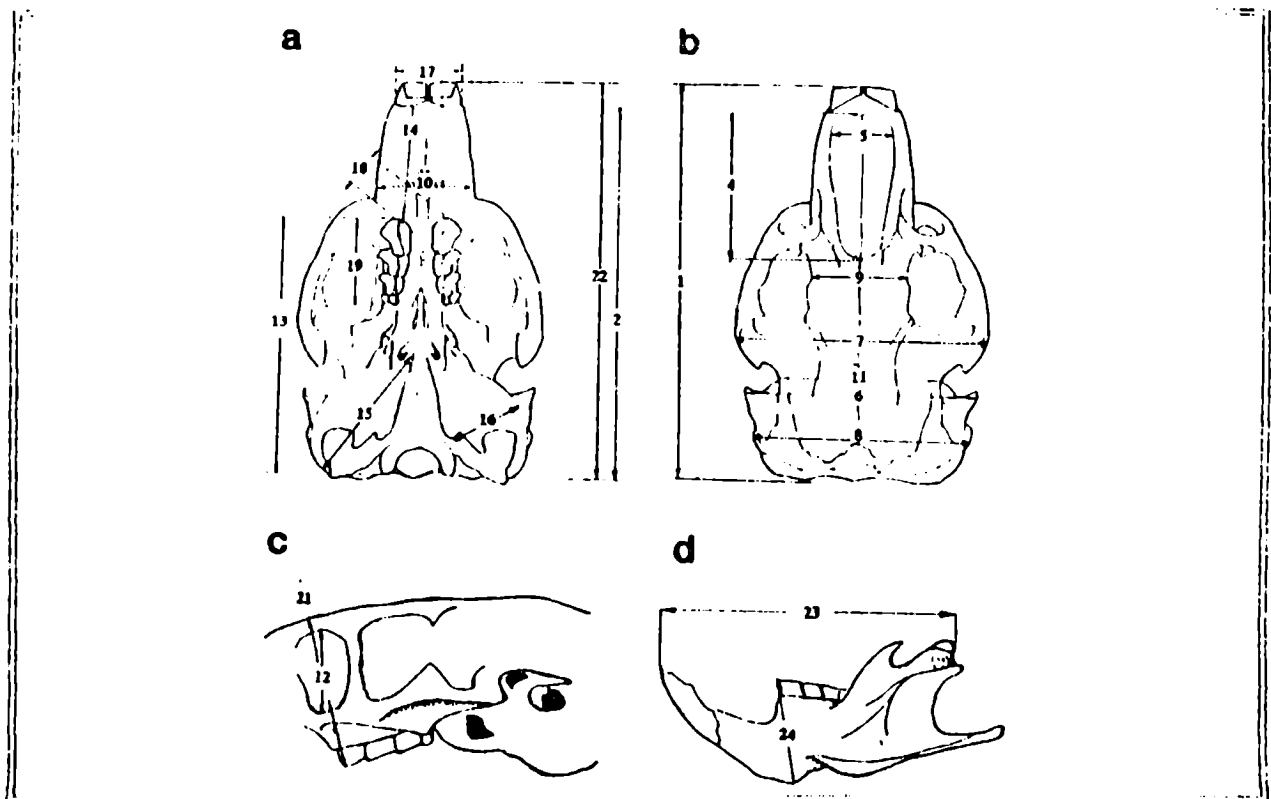


Figura 2.2.1. Vistas a) ventral, b) dorsal y c) lateral de un cráneo y d) de una mandíbula de *Clonoxys*, ilustrando las variables craneométricas utilizadas. La numeración corresponde a la de la Tabla 2.2.1. No se ilustran las variables 3 y 20.

Respecto a la solución del problema de los "datos faltantes", se utilizará regresión múltiple dentro de cada grupo para la estimación de los mismos. Los "datos faltantes" en las medidas craneales, suelen deberse a que ciertas zonas tomadas como referencia respecto a las variables utilizadas, son particularmente frágiles, y suelen romperse en algunos especímenes. Los programas estadísticos a nuestro alcance (SPSS-PC, STATGRAPHICS), al realizar el análisis multivariado de la varianza, eliminan totalmente de los cálculos aquellos especímenes que poseen al menos un dato faltante (procedimiento

denominado "listwise"; en otros procedimientos, es posible realizar los cálculos necesarios con los datos disponibles solamente, y se denomina el procedimiento "casewise" o "pairwise"). Al completar los datos faltantes con aquellos predichos por la regresión múltiple dentro de cada grupo, permite utilizar todos los ejemplares disponibles y la correlación general entre las variables dentro del mismo no es alterada.

A continuación se describen con mayor detalle los fundamentos de las técnicas mencionadas en el párrafo anterior.

2.2.1.3.1. Método de Burnaby.

Este método tiene por objetivo eliminar el efecto de una o más variables de los datos. Luego se pueden realizar otro tipo de análisis como componentes principales, análisis discriminante, etc. sobre la matriz de datos modificada o ajustada. Los resultados de estos análisis estarán basados entonces en la variación que es ortogonal a los vectores que corresponden a las variables mantenidas constantes. Lo usual es el eliminar el primer componente principal (F_1) obtenido a partir de la matriz de var-cov promediadas dentro de grupo. Se espera que la principal variación dentro de un grupo sea el factor tamaño pero no la forma. La matriz

$$L = I_p - F_1(F_1^t F_1)^{-1} F_1^t$$

proyecta cualquier vector a un subespacio complementario a F_1 . L es una matriz de orden p por p (p es el número de variables), F_1 es el factor de tamaño de dimensión p por 1 e I_p es la matriz identidad de orden p .

Utilizando la matriz L , se pueden proyectar los datos originales a un hiperespacio de una dimensión menor en la que está ajustada para la eliminación del tamaño, F_1 .

$$X' = XL$$

donde X ; y X son las matrices de datos ajustados y originales respectivamente. Esta matriz de datos ajustados puede usarse para posteriores análisis: agrupamiento, componentes principales, discriminante, etc.

Burnaby (1966) advierte que el vector F_1 debería estimarse de manera independiente del resto de los datos. Esto quiere decir que el primer autovector de la matriz de var-cov dentro de grupo no debería usarse si se desean realizar pruebas de significación tradicionales. Una alternativa es el uso de un vector teórico isométrico relacionado con el tamaño y definido *a priori*, como el propuesto por Somers (1986). Esta técnica extrae un primer componente "teórico" de tamaño, que es aquel cuyos coeficientes tienen todos el valor de $p^{-0.5}$, con p igual al número de variables originales. Esto quiere decir que todas las variables están afectadas de igual manera por la variación en tamaño. Este último método, así como el denominado "shear" (Humphries *et al.*, 1981; Bookstein *et al.*, 1985) o el análisis de componentes principales

multigrupo (Thorpe, 1983) darán a menudo resultados similares, pero de ellos el único que extrae directa y simplemente los efectos de la variable considerada tamaño es el de Burnaby (Rohlf & Bookstein, 1987).

2.2.1.3.2. Análisis de componentes principales.

Un conjunto de puntos (individuos) puede proyectarse en un espacio multidimensional en el que cada dimensión representa una de las p variables medidas para cada individuo. El análisis de componentes principales (ACP) es un método que encuentra un nuevo grupo de ejes, mutuamente ortogonales, en las direcciones de máxima dispersión entre los individuos. Esto se realiza por medio de una rotación rígida del sistema de coordenadas original. La información necesaria para realizar un ACP se puede obtener o bien de la matriz S de var-cov (de los datos centrados), en cuyo caso el análisis se realiza en las unidades originales, o bien, además de centrando, estandarizando los datos y usando en consecuencia la matriz de correlación R , en lugar de la de var-cov. Los resultados obtenidos basándose en S o en R , no son los mismos, y no pueden convertirse unos en otros mediante una rotación ortogonal, es decir que el ACP no es invariante ante un cambio de escala.

Geométricamente, el ACP tiene como objetivo hallar los ejes del elipsoide multidimensional que mejor se ajusta a la nube de puntos o individuos. Estos ejes son los componentes principales, y se demuestra (Morrison, 1976) que los mismos están en la dirección de los autovectores de S (o R). Los autovalores asociados con cada autovector equivalen a la varianza explicada por cada componente. Los diferentes autovectores son ordenados de mayor a menor, en función del tamaño de los correspondientes autovalores asociados. De esta manera los componentes principales (CP) se definen como primero, segundo, etc., de acuerdo al tamaño del autovalor asociado al autovector que lo define, y así hasta definir p componentes.

El primer componente principal es una combinación lineal de las observaciones originales (b_{1j} 's) ponderadas por los elementos del primer autovector (e_{1i} 's)

$$z_{11} = e_{11}b_{11} + e_{21}b_{12} + \dots + e_{p1}b_{1p}$$

y para todos los z, e y b ,

$$Z = BE$$

donde Z es la matriz de valores de los individuos en el nuevo sistema de coordenadas.

Los autovectores (de la matriz E) pueden ajustarse a diferentes escalas:

1) Si se dimensionan de tal manera que $e'_{1j}e_{1j} = 1$, entonces se dice que los vectores así normalizados tienen tamaño 1 (la suma de los cuadrados de las filas, que corresponden a las variables originales y los de las columnas, que

corresponden a los componentes es 1). En este caso cada elemento de e_j representa, a) la proporción que corresponde a cada variable original respecto de la varianza explicada por ese componente y b) los cosenos de los ángulos entre el componente que está en la misma dirección de ese autovector y la variable original correspondiente.

2) La otra forma de dimensionar los autovectores es, una vez dimensionados a un tamaño 1, se multiplican por la raíz cuadrada del valor propio correspondiente y cada elemento se divide por el desvío estándar de la variable original correspondiente (a menos que se hallan ya estandarizado los datos). Cada elemento representa en este caso a) la correlación entre la variable original correspondiente y el componente, b) los cosenos de los ángulos entre los componentes y las variables, pero en este caso, en un sistema de coordenadas para las variables originales, tal que los ángulos entre los ejes que representan a las mismas sean iguales a sus correlaciones, y c) elevados al cuadrado, cada elemento representa la proporción de la varianza de cada variable original explicada por el componente.

En ambos casos, los valores de estos elementos pueden ser tanto positivos como negativos. Sin embargo el hecho que un elemento en particular sea positivo o negativo carece de relevancia, ya que la asignación de los signos es arbitraria (por ejemplo es equivalente $+e_{11}, -e_{21}$ o $-e_{11}, +e_{21}$). Los elementos de los autovectores reciben a menudo diferentes nombres, de acuerdo al tipo de dimensionamiento. En el primer caso, reciben el nombre de "pesos" o en inglés, "weights". En el segundo caso, reciben el nombre de "cargas" o en inglés, "loadings". Esta última forma de dimensionar y nombrar los elementos de los autovectores es más común en el análisis de factores.

Esta técnica se utiliza más generalmente en sistemática como medio de reducir el número de dimensiones (Neff & Marcus, 1980). Esto se realiza descartando los CP cuyos valores propios adjuntos sean pequeños. Bookstein *et al.* (1985) recomienda el uso de la matriz de varianzas-covarianzas obtenidas a partir de datos logaritmizados sobre la de correlación cuando se trata de datos morfométricos, debido a su mejor interpretabilidad y debido a la mayor complejidad teórica del análisis de los valores y vectores propios extraídos de la matriz de correlación. La transformación a logaritmos es recomendada también para eliminar problemas de escalas. De igual manera, Morrison (1976) recomienda utilizar a S en lugar de R cuando se dispone de datos en escalas similares.

2.2.1.3.3. Análisis de factores.

El análisis de factores es una técnica similar al ACP pero con un modelo matemático subyacente diferente (Neff & Marcus, 1980; Bookstein *et al.*, 1985), más adecuado a la realidad biológica por varias razones. Lo que se

busca no es un nuevo marco de referencia donde la varianza sea maxima (como en el ACP), sino que se buscan factores o variables latentes (inmedibles directamente) que expliquen más parsimoniosamente las covarianzas existentes entre las variables medidas. Estas variables latentes serían entonces lo que es deseable estimar, a través de sus múltiples efectos: las variables medibles. Según Bookstein *et al.* (1985) el análisis de factores se interpreta mejor según la metodología de Sewall Wright (ver citas en Bookstein *et al.*, 1985) denominada "path analysis" que este autor desarrolló como una alternativa para obtener una visión más genética de los cambios de forma. La segunda razón, es que los factores no son (como el método de ACP impone), necesariamente ortogonales, es decir que ellos a su vez pueden estar correlacionados. Por ejemplo, si encontramos dos complejos morfológicos funcionales en un tipo de organismo, estos, difícilmente serán independientes (=ortogonales).

El análisis de factores comienza con la producción de una matriz de asociación como la de var-cov o de correlación. Por lo general se utiliza la correlación R para evitar problemas de escala. El modelo puede representarse de la siguiente manera (Neff & Marcus, 1980):

$$R = EQE' + U$$

donde Q es la matriz de covarianzas entre los factores, E es la matriz de "loadings" (ver ACP) o matriz de patrón de factores y U es la matriz de "uniqueness" o de individualidad que representa aquellas propiedades (variabilidad) de las variables originales que no pueden ser explicadas por los factores. La matriz Q, que aparece en el modelo, es una de las diferencias con ACP. En este último todos los componentes son ortogonales, por definición del modelo, por lo tanto no existe correlación entre ellos. En el análisis de factores, esto no es una condición (de ser los factores ortogonales, entonces Q es la matriz identidad). Como se dijo en ACP, los e_j están dimensionados a un tamaño igual a la raíz cuadrada del valor propio correspondiente. En este caso, la varianza total de cada factor es igual a 1, por lo que, como se dijo, la diagonal de Q está compuesta de unos. La varianzas de las variables originales no explicables por los factores comunes, son explicadas por las propiedades que son únicas a ellas ("uniqueness"). Estas propiedades son, por definición del modelo, independientes unas de otras. Siendo esto así, la matriz U es una matriz diagonal. Cada elemento de la diagonal es la proporción de varianza explicada por estas propiedades exclusivas de cada variable. La matriz de estructura de los factores es la matriz de correlación entre las variables y los factores y es el producto EQ.

Si en el análisis de factores se realizara la factorización de la matriz R como en el análisis de componentes principales, daría como resultado una sola matriz de factores, ya que en ACP existe la restricción de que la varianza de los sucesivos componentes sea cada vez menor y por lo tanto

diferentes. Pero esto no es así. Supongamos que multiplicamos la matriz E por una matriz cuadrada ortogonal T de dimensión p x p, entonces (obviando a Q)

$$R = ET(ET')' + U$$

$$R = ETT'E' + U$$

$$R = EE' + U$$

Aunque los elementos de ET son diferentes de E, generan exactamente igual las correlaciones entre las variables originales. Es decir, existen infinitas matrices de factores, generadas por transformación de unas en otras por rotaciones ortogonales, que explican a R de igual manera. Incluidas en estas infinitas matrices, pueden existir algunas de ellas que posean algún patrón de "loadings" más interpretable respecto a las variables originales. Se denomina a la búsqueda de estas matrices, por el método que se emplea para obtenerlas, rotación. Existen dos tipos de rotaciones, rígidas u ortogonales, cuando no afectan la perpendicularidad de los factores, u oblicuas, cuando lo hacen. En este último caso, los factores quedan correlacionados.

En el caso de rotaciones ortogonales las matrices de patrón de estructura (E) y la de estructura de factores (EQ) son iguales ya que Q es la matriz identidad. En el caso de una rotación oblicua los elementos de E no son más coeficientes de correlación: pueden ser considerados como coeficientes de regresión entre los factores y las variables originales (Neff & Marcus, 1980; y referencias ahí citadas). La rotación más usada o citada se basa en el criterio de estructura simple de Thurstone (1945, citado en Morrison, 1976). Este criterio consiste en rotar los factores ortogonales originales de tal manera que en la nueva configuración (no necesariamente ortogonal) las variables originales caigan en grupos de factores mutuamente excluyentes, donde tengan "loading" altos en un factor, moderados o bajos en unos pocos, y cercanos a cero en el resto.

Existen varias técnicas de rotación. La más usada es la **varimax** que es una rotación ortogonal que tiende a minimizar el número de variables con "loadings" altos en cada factor. Esto ayuda en la interpretación de los factores. La rotación que utilizaremos es la denominada **oblicua** que tiene el mismo objetivo que varimax pero permite la correlación entre factores, lo que tiene mayor significación biológica, como se explicó más arriba.

Un factor muy importante es la adecuación de los datos al modelo factorial. Un indicador es el coeficiente de correlación parcial de cada variable. Este es un estimador de las correlaciones entre los factores de individualidad o únicos de cada variable y deben ser cercanos a cero (ver más arriba). El negativo de la correlación parcial es llamada la correlación anti-imagen. Si la proporción de coeficientes altos es grande, no es recomendable el uso del análisis de factores. Otra medida es la medida de adecuación de los datos de Kaiser-Meyer-Olkin (SPSS/PC+, Advanced Statistic's User Manual) que es un índice que compara las magnitudes de los coeficientes de correlación

respecto de los coeficientes de correlación parcial

$$KMO = \frac{\sum_{i,j} r_{ij}^2}{\sum_{i,j} r_{ij}^2 + \sum_{i,j} a_{ij}^2}$$

donde r_{ij} son los coeficientes de correlación entre las variables i y j y a_{ij} es el coeficiente de correlación parcial entre las variables i y j . Si la suma de los coeficientes de correlación parcial es chica en relación a la suma de los coeficientes de correlación, entonces KMO será cercano a 1. Valores pequeños para KMO indican que no debería utilizarse el análisis de factores. Se recomienda no usarlo con KMO por debajo de 0.5.

Otro factor importante es la estimación de la bondad de ajuste del modelo factorial a los datos. Cuando los factores se obtienen por el método de mínimos cuadrados o de máxima verosimilitud (y se supone multinormalidad de los datos) es posible realizar el test de bondad de ajuste. Para tamaños muestrales grandes, el estadístico de bondad de ajuste tiende a una χ^2 . En general el número de factores reales no es conocido. Por lo tanto es necesario ir aumentandolos hasta que se producen un buen ajuste.

2.2.1.3.4. Análisis discriminante.

A diferencia del análisis de componentes principales o del análisis de factores cuyos objetivos son encontrar una nueva estructura en los datos, el objetivo general del análisis discriminante (AD) es encontrar una combinación lineal de las variables originales que maximice las diferencias entre grupos definidos *a priori*.

De acuerdo con Neff & Marcus (1980:145) el término análisis discriminante se refiere a una variedad de técnicas que tienen en común la partición de una matriz de datos en diversos grupos de especímenes sobre la base de una clasificación *a priori*.

Existen tres tipos de técnicas cuyo modelo matemático subyacente es similar, y que solo se diferencian en el énfasis que ponen en uno u otro aspecto del análisis. Estos son, el análisis discriminante propiamente dicho (AD), el análisis canónico de las variables (ACV) y el análisis multivariado de la varianza (cuyas siglas más comúnmente conocidas son las derivadas del inglés, MANOVA).

El modelo general es el siguiente. Se divide la matriz de datos compuesta por N individuos a los que se les midieron p variables, en k grupos definidos *a priori*. En el primer grupo hay n_1 individuos, en el grupo 2 n_2 ... y n_k en el grupo k . Las nuevas variables (denominadas variables canónicas), que maximizan las diferencias entre los k grupos, están en la dirección de los vectores propios de la matriz

$$S_A S_W^{-1}$$

donde S_A es la matriz de varianza entre grupos y S_W es la matriz promediada de las varianzas dentro de cada grupo. Los elementos de estos vectores propios

son cosenos de los ángulos entre los ejes de las variables originales y los ejes canónicos.

Las coordenadas o valores (V) de los individuos en el nuevo espacio (espacio canónico) es determinada por

$$V=B_0+B_1X_1+B_2X_2+\dots+B_pX_p$$

donde los X_i corresponden a los valores de las variables originales y los B_i a los coeficientes de la función discriminante. La constante B_0 desaparece si se estandarizan los B_i . Un problema que surge al querer interpretar los B_i como estimadores de la importancia de cada variable original en las funciones discriminantes, es la correlación que puede existir entre las variables originales. Menos influenciados por esta correlación son los denominados coeficientes de estructura, que son coeficientes de correlación entre las variables originales (basados en la matriz var-cov agrupada dentro de grupo) y los ejes canónicos (SPSS/PC+, Advanced Statistic's User Manual).

Las distancias euclídeas entre los centroides, en el espacio de los ejes canónicos, se denominan distancias de Mahalanobis (D).

Para visualizar mejor el objetivo del AD en general, supongamos lo siguiente. Si se realizan diferentes transformaciones del espacio original de tal manera que los elipsoides que representan las nubes de puntos de cada grupo se vuelvan esferoides, entonces la máxima dispersión entre los grupos puede ser obtenida por un análisis de componentes principales de los centroides: el primer CP equivale al primer ojo canónico (Neff & Marcus, 1980).

Los objetivos principales de los tres diferentes análisis que se basan en el mismo modelo general discriminante son:

a)Análisis discriminante propiamente dicho (AD): tiene como objetivo encontrar, utilizando los ejes canónicos, funciones clasificatorias, que permitan asignar un individuo no incluido entre aquellos medidos para derivar el nuevo espacio, a uno de los grupos definidos *a priori*.

b)Análisis canónico de las variables (ACV): el objetivo principal es el de poder representar los individuos medidos en un espacio de menores dimensiones (los ejes canónicos), que maxice la variación entre los grupos.

c)Análisis multivariado de la varianza (MANOVA): busca principalmente, la puesta a prueba de las hipótesis de similitud y diferencias entre los centroides de los k grupos formados *a priori*.

El modelo general tiene varias limitaciones. Primero, solo se pueden hallar combinaciones lineales de las variables originales, las que deben ser continuas. Segundo, supone que las matrices de var-cov de los k grupos son iguales (homogéneas) y que las p variables forman una distribución multinormal.

2.2.1.3.5. Regresión múltiple.

El análisis de regresión múltiple es una técnica que busca predecir los valores de una variable (dependiente) medida en una serie de OTUs, a partir de una combinación lineal de un grupo de variables independientes, también medidas para los mismos OTUs. Puede ser usada para la predicción de valores o describir o hallar relaciones funcionales.

Un modelo de la forma

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots + \beta_p x_{ip} + r_i$$

se ajusta a los datos, en general por el método de los mínimos cuadrados (las estimaciones b_i de los parámetros β , se realizan minimizando la suma de los cuadrados de los r_i); y_i es el valor de la variable dependiente o predicha para cada OTU i ; x_{i1} a x_{ip} son los valores observados para las variables independientes para el mismo OTU; β_0 es la ordenada al origen y $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_p$ son los coeficientes de regresión usados para predecir los y_i como combinaciones lineales de los m x_i 's; v_i es el error o variabilidad residual, es decir, la parte de y_i no explicada por la dependencia sobre los x_i 's. En forma matricial el modelo se puede escribir como

$$Y = X\beta + R$$

Y es un vector columna de los n valores para la variable dependiente; X es una matrix de dimensión n por $p+1$ de valores para las variables independientes. La misma tiene una dimensión (columna) más que el total de variables independientes, en dicha columna hay unas para " x_0 ". β es el vector columna de los $p+1$ coeficientes de regresión, mientras que R es otro vector columna, el correspondiente a los residuos.

El modelo es similar al de análisis de factores, ya que se busca predecir el valor de una variable, en función de otras. Pero en el análisis de factores solo el análogo a Y es medido. Los análogos de X y β son estimados, mientras que en el análisis de regresión solo los β son estimados.

Una medida de la bondad de ajuste está dada por R^2 , el coeficiente de correlación múltiple al cuadrado. R es la correlación entre los y_i observados y los predichos ($\hat{y}_i$)

$$\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_{i1} + \dots + b_p x_{ip}$$

$R^2=1$ indica que la dependencia es total. $R^2=0$ significa que y no está correlacionada con ninguno de los x 's, ni con ninguna función lineal de los mismos y por lo tanto no predicen mejor los valores de y que la media de y .

Como son estimados $p+1$ β 's, un ajuste perfecto se obtendrá con $p+1$ OTU's. Menos OTU's deriva en una solución indeterminada y más OTU's permite una estimación del error y la inferencia estadística (si los supuestos de multinormalidad y otros se cumplen).

Un problema que surge con esta técnica es el de encontrar las

mejores variables que predigan la variable dependiente, cuando se tienen una gran cantidad de variables independientes posibles. La solución más común a este problema es el método "stepwise" (de a pasos). En cada paso de este método se agregan o se sacan (o ambas cosas) variables, y se estima la adecuación del modelo a los datos. Esto se repite hasta que se encuentra un óptimo con un grupo elegido de variables. Este óptimo es local, lo que quiere decir que este método no halla "la" mejor combinación.

2.2.1.4. Estimación general de la divergencia basada sobre morfología craneana.

2.2.1.4.1. Estimación cuantitativa.

Se realizará un análisis de agrupamiento utilizando una matriz de distancias basada en los centroides de los OTUs en los distintos ejes canónicos obtenidos en un análisis discriminante, para obtener una medida de las similitudes de forma entre los OTUs. Se realizará también este mismo procedimiento a partir de los datos originales sin eliminación del factor tamaño para ostimar qué especies no se diferencian en forma pero sí en tamaño.

2.2.1.4.2. Estimación cualitativa.

Para obtener una estimación del tipo de diferenciación craneal que ha ocurrido durante la filogenia, se utilizarán sucesivos análisis discriminantes forzando la obtención de solo 2 ejes discriminantes por análisis, que, según pruebas previas, suelen alcanzar a explicar la mayoría de la variabilidad. Sobre la base de los valores de los centroides de los distintos grupos sobre este eje se construirá una red de Prim por análisis discriminante. En la red correspondiente se identificarán los dos grupos más conspicuos a partir de la dicotomía evidenciada por la distancia mayor entre dos OTUs en la red. Entonces a partir de las correlaciones entre las variables y los ejes canónicos (rotados bajo el algoritmo *varimax*) de la función discriminante (de la matriz de estructura, ver más abajo en Análisis Discriminante) se estimarán qué variables (originales) han divergido más entre los dos grupos. Este procedimiento se repite separadamente para los dos grupos formados. Este iteración termina cuando se han completado todas las comparaciones dicotómicas posibles que revistan interés. El fundamento de este procedimiento es que los ejes canónicos que maximizan la varianza entre todos los grupos al mismo tiempo poco pueden tener que ver (salvo el primero) con el proceso evolutivo que, según las teorías filogenéticas más en boga, es principalmente dicotómico. A partir de un hipotético antecesor común, todas las especies analizadas pueden separarse en dos grupos. A partir de este evento cada grupo evoluciona independientemente, por lo que las variables que más se diferencian en la siguiente dicotomización en cada grupo no

necesariamente son las mismas, lo que fundamenta el análisis separado. Es importante aclarar que la dicotomización evidenciada por el primer análisis discriminante no es necesariamente la primera dicotomización evolutiva o primer evento cladogenético, sino que representa a los grupos más diferenciados actualmente, quizá por efectos de una evolución muy rápida de alguna línea evolutiva. Esta estimación tendrá sentido si los grupos formados por el proceso de dicotomización tienen alguna relación con los grupos dicotómicos formados por otros métodos de estimación de árboles filogenéticos. Alternativamente este método podría utilizarse para construir un árbol sin raíz, si unimos los grupos formados mediante los OTUs más cercanos en el eje discriminante pertenecientes a grupos distintos.

Solo se realizará este análisis en machos, ya que se dispone de mayor cantidad de OTUs representados por ese sexo.

2.2.1.5. Estimación de la filogenia basada sobre morfología craneana.

2.2.1.5.1. Aproximación fenótica.

Una primera aproximación será la topología obtenida del fenograma basado en distancias de centroides a partir de datos en los cuales se ha eliminado el factor tamaño.

2.2.1.5.2. Aproximación por Fitch & Margoliash.

También se obtendrán árboles filogenéticos con el método de Fitch & Margoliash (1967). Este método es sensible a la secuencia de entrada de los OTUs por lo que se reordenará la matriz de distancias 10 veces (según lo aconsejado por J. Felsenstein en el manual del paquete de programas PHYLIP), de manera que la secuencia de entrada varíe y permita rastrear un mayor número de árboles.

2.2.1.5.3. Aproximación por Máxima verosimilitud.

También se utilizará el método de máxima verosimilitud de Felsenstein (1981b). Si bien este método no es aconsejado por su autor para datos morfológicos lo utilizaré ya que es el único a disposición que permite hacer estimaciones de la confianza de las longitudes de las ramas.

2.2.1.5.4. Aproximación por el Método del vecino más próximo.

Por último se utilizará el método del Vecino más Proximo (Saitou & Nei, 1987). Este método puede utilizarse según sus autores para realizar estimaciones de filogenias a partir de cualquier matriz de distancias.

2.2.1.8. Programas de computación utilizados.

Los programas utilizados para el cálculo de los distintos

procedimientos fueron los siguientes:

SPSS/PC+, 1986: Cálculo de la matriz de varianzas-covarianzas agrupadas dentro de grupo con el procedimiento MANOVA. Análisis discriminante con el procedimiento DISCRIMANT mediante el método "stepwise" y las opciones Mahal que maximiza la distancia de Mahalanobis entre centroides. Análisis de factores con el procedimiento FACTOR mediante el método de máxima verosimilitud.

NTSYS-pc, ver. 1.4: Cálculo del primer componente principal de la matriz de varianzas-covarianzas agrupadas dentro de grupo con el procedimiento ELGEN. Transformación de los datos a logaritmos con el procedimiento TRANSF. Eliminación del componente de tamaño proyectando los datos al espacio ortogonal al primer componente principal anterior con el procedimiento PROJ (PT=ORTH). Cálculo de las matrices de distancias euclídeas con el procedimiento SIMINT. Cálculo de los fenogramas UICHA con el procedimiento SAHN. Cálculo de los coeficientes de correlación cofenética (CCC) mediante los procedimientos COPH y MXCOMP.

NJ: Cálculo de los árboles mediante el método del vecino más próximo. Programa fuente FORTRAN versión de enero de 1990, escrito por Naruya Saitou compilado con Microsoft Fortran 77 ver.3.31.

FITCH: Cálculo de los árboles basados en el método de Fitch & Margoliash. Programa perteneciente al paquete PHYLIP (Phylogenetic Inference Package) escrito por J. Felsenstein. Programa fuente PASCAL versión 2.9 compilado con TurboPascal ver. 3.01A.

SHUFFLE: Reordenamiento de matrices de distancias necesario para que el programa Fitch realice distintas estimaciones filogenéticas. Programa perteneciente al paquete PHYLIP.

CCNTML: Cálculo de los árboles basados en el método de máxima verosimilitud. Programa perteneciente al paquete PHYLIP.

2.2.2. Análisis Electroforético

Lewontin (1974) propone que cualquier técnica encaminada a identificar los genotipos, existentes en poblaciones o especies, debe cumplir los siguientes requisitos:

- (1) Las diferencias fenotípicas causadas por la sustitución de un alelo (formas alternativas de un gen) por otro en un solo locus deben detectarse en cualquier individuo.
- (2) Las sustituciones alélicas en un locus deben poder distinguirse en sus efectos de las sustituciones alélicas en otros loci.
- (3) Todas, o al menos una fracción considerable de las sustituciones en un locus, deben ser detectables y distinguibles entre sí, independientemente de la intensidad o la categoría de sus efectos

fisiológicos.

(4) Los loci estudiados deben ser una muestra de genes al azar con respecto a los efectos fisiológicos que determinen los genes y a la cantidad de variación genética que existe en el locus.

De las técnicas moleculares convencionales utilizadas, la electroforesis en gel, que se fundamenta en el comportamiento físico-químico de las proteínas, es la que satisface el mayor número de requisitos, pero no cumple totalmente con (3) puesto que algunas sustituciones pueden no detectarse. Ayala (1982), muestra que utilizando técnicas tales como electroforésis secuencial, calentamiento o urea, se puede encontrar mayor variabilidad (un 20% más del número de alélos y entre 0.07 y 0.1 más de heterocigosidad), pero también concluye que la electroforésis estándar detecta la mayoría de las variantes proteicas presentes en las poblaciones. Los polipéptidos migran a través de un campo eléctrico a distintas velocidades de acuerdo a su carga neta, tamaño y forma. Las proteínas que migren a diferentes distancias, diferirán al menos en un aminoácido. La colinealidad de la secuencia de nucleótidos en el ADN implica que estas proteínas fueron codificadas por segmentos de ADN que se diferencian al menos en un par de bases. Entonces, la movilidad de las proteínas proporciona información sobre los productos inmediatos de la acción de los genes, que constituyen una evidencia indirecta de la diferenciación del ADN. Hunter y Markert (1957) combinaron la electroforésis con métodos de tinciones histoquímicas específicas que permiten localizar e identificar enzimas en extractos acuosos de tejidos y líquidos corporales. Estos autores propusieron el término zimograma, para referirse al conjunto de bandas coloreadas que aparecen sobre el medio de separación electroforética al revelar actividad enzimática. Esta técnica fue incorporada, entonces, por los biólogos evolutivos y genetistas poblacionales a partir de los trabajos de Harris (1966) y Lewontin & Hubby (1966) quienes independientemente estimaron la variación genética en poblaciones naturales con muestras de proteínas tomadas al azar. Las técnicas electroforéticas permitieron disponer de una herramienta fértil para cuantificar y evaluar la variación génica y la diferenciación genética a nivel de genes estructurales entre poblaciones que pueden o no estar aisladas reproductivamente (Harris, 1966; Hubby & Lewontin, 1966; Lewontin & Hubby, 1966). Con esta técnica, no sólo se pueden distinguir proteínas que fueron codificadas por distintos loci sino también alozimas (Prakash, Lewontin & Hubby, 1969): productos proteicos de un mismo locus que difieren en la movilidad electroforética y cuyo comportamiento segregacional en las poblaciones sigue un patrón mendeliano. Debe evitarse la confusión de los términos alozimas e isozimas. Estas últimas son formas alternativas de una

misma enzima, que catalizan una misma reacción, pero son producidas por loci distintos, de manera tal que una isozima puede existir en un número determinado de formas alozímicas. Después de la corrida electroforética, en un mismo gel, pueden aparecer tanto variantes isozímicas como alozímicas, las que se diferencian porque en general las diferencias de movilidades entre alozimas es mucho menor respecto a las de diferentes isozimas. Así, cada grupo (uno o más) de bandas que se revela a una distancia similar, se asigna presuntivamente a una isozima diferente, es decir, a loci diferentes. Dentro de cada grupo, si existen diferencias de movilidad en las bandas reveladas, se asigna cada una a alelos distintos.

Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que la electroforesis presenta, además de las ventajas que la hacen una técnica de uso corriente, ciertas desventajas. A este respecto se hace oportuno citar un estudio de Avise (1975) en el que considera el valor de los datos electroforéticos en sistemática y en donde concluye que este método presenta las siguientes ventajas y desventajas:

Ventajas:

"1. La enumeración de los alelos y sus frecuencias son determinaciones objetivas basadas únicamente en la movilidad de las bandas en los geles. Puede incorporarse ocasionalmente subjetividad en los datos morfológicos (forma del cuerpo) o de comportamiento.

"2. Constancia de los caracteres genéticos. Si bien se conocen muchos ejemplos de loci que se activan o desactivan durante el desarrollo o que se expresan diferencialmente en los sexos, la mayoría de los loci que se estudian (incluyendo casi todos los loci que metabolizan glucosa) muestran poca o ninguna variación específica en función de la edad o el sexo..."

"3. Cantidad de información genética. Los datos alozímicos incluyen necesariamente el número de loci examinados. Por lo tanto, conociendo el número y tipos de loci estudiados, se pueden obtener los grados de confianza relativos de los diferentes estudios. En contraste, la base genética de los caracteres morfológicos, comportamentales o fisiológicos son rara vez conocidos, y algunas conclusiones pueden estar basadas en una cantidad de información genética, desconocida, mayor que otras..."

"4. Precisión. Las técnicas electroforéticas dan información precisa sobre el contenido genético de los organismos y hasta el momento solo la secuenciación de proteínas o de ADN garantizan mayor precisión"

Desventajas:

"1. Restricción a organismos vivientes. Las comparaciones enzimáticas están restringidas a especies actuales, restricción que no comparten

los estudios morfológicos del registro fósil disponible."

"2. Movilidad de las bandas similar debida al azar."

"4. Diferencias proteínicas no detectables. Pueden ocurrir muchos cambios nucleotídicos sin necesidad de que se altere la secuencia de aminoácidos y también pueden ocurrir cambios en la secuencia de aminoácidos sin alterar la carga neta del polipéptido. Shaw (1970) estimó que solo un 30% de las sustituciones nucleotídicas codifican para aminoácidos con cargas diferentes. Este desvío, junto con la identidad de bandas debida al azar, conduce a una subestimación de la variabilidad genética interpoblacional. Los estimaciones de distancias genéticas deben considerarse como mínimas."

"5. El muestreo de genes no es al azar. Los métodos electroforéticos muestrean principalmente proteínas solubles codificadas por genes estructurales. Ya que se tiene poca información del porcentaje de los genes que codifican proteínas solubles, entonces no se puede evaluar el grado de error que se comete en la muestra del genoma, pero puede ser considerable."

"6. Más de un evento mutacional. Los datos electroforéticos no dan información sobre el número de aminoácidos diferentes entre las proteínas. Dos alelos pueden estar separados por uno o muchos eventos mutacionales."

El problema principal con respecto a esta técnica es que no ofrece ningún tipo de información sobre la variación de los genes reguladores, entendiéndose por estos, aquellos que regulan o modifican la actividad de otros genes (Ayala & Kiger, 1980). Los genes estructurales que codifican proteínas, parecen constituir loci relativamente neutrales con respecto a los fenómenos de especiación y en general a los procesos macroevolutivos (Templeton, 1980), fenómenos en los que tendrían mayor importancia los genes reguladores (Wilson, 1976). Sin embargo, es poco lo que se sabe sobre la naturaleza y forma de actuar de dichos genes.

Estas observaciones críticas no constituyen una objeción insuperable a la utilización de los datos electroforéticos para la estimación y cuantificación de la variabilidad genética, los cuales pueden seguir siendo utilizados como aproximación válida y eficaz para la estimación de dicha variabilidad.

2.2.2.1. Procesamiento de los especímenes.

A cada animal se le extrajo aproximadamente 2 ml de sangre. Ello se logró tanto por punción cardíaca con jeringas heparinizadas como con pipetas Pasteur aplicadas al seno infraorbital. Con las técnicas convencionales se separó el plasma y sangre total.

Posteriormente se sacrificó al animal por medio de inhalaciones con éter. Se extrajo hígado para el procesamiento electroforético. El material se conservó en termos de nitrógeno líquido hasta el momento de la preparación de los homogeneizados.

Los homogeneizados de hígado se llevaron a cabo según Apfelbaum & Blanco (1984). Un trozo pequeño de hígado por animal se homogeneizó junto con 0.8 ml. de agua destilada y luego se centrifugó a 11000 rpm. Se utilizó para la siembra el sobrenadante.

Se utilizó electroforesis en gel de almidón (Electrostarch) al 14%, mediante el dispositivo vertical de Smithies (1959), según la modificación de Boyer & Hiner (1963). Los loci analizados y sus sistemas buffers se indican en la Tabla 2.2.II. También se indican los tejidos en donde se analizaron los loci.

Para las tinciones específicas se utilizan las siguientes técnicas: Allen *et al.* (1963), Blanco *et al.* (1964), Blanco & Zinkham (1966), De Lorenzo & Ruddle (1970), Selander *et al.* (1971) y Harris & Hopkinson (1976).

2.2.2.2. Sistemas analizados y nomenclatura.

Los loci presuntos que controlan la síntesis de las distintas proteínas fueron designados por la sigla correspondiente al nombre de cada proteína, con la primera letra en mayúsculas. Las isozimas (formas alternativas de una misma enzima) controladas por más de un locus se numeraron asignando el número 1 a la de mayor desplazamiento hacia el ánodo y así sucesivamente en orden decreciente de movilidad. Un punto a aclarar es el de las esterasas. Como se verá en RESULTADOS, fue necesario identificar de manera diferente las reveladas en hígado y plasma, porque demostraron ser, debido a sus patrones diferenciales de corrida (se repitieron la experiencias más de diez veces para la mayoría de los especímenes) pertenecientes a diferentes loci. Al no tener un patrón común de referencia para la movilidad de los sistemas de hígado y plasma debido a la utilización de diferentes "buffers" en cada uno, no fueron numeradas de manera consecutiva todas ellas, sino de manera independiente para cada tejido. La existencia de diferencias en la expresión de las esterasas en diferentes tejidos es conocida en otros organismos (Richardson *et al.*, 1986).

Los genotipos se designaron mediante el símbolo de cada locus, seguido de dos letras minúsculas que indican los alelos. Se denominó alelo a, al que controla la síntesis de la proteína de mayor desplazamiento hacia el ánodo.

Los fenotipos se denominaron igual que los genotipos, pero con la sigla en letras mayúsculas.

2.2.2.3. Procedimientos estadísticos.

Para cada individuo hay dos situaciones posibles: que cada uno de los alelos sean idénticos, que se denomina situación homocigótica, o que cada alelo sea distinto, que recibe el nombre de situación heterocigótica. De esta manera, en ausencia de dominancia y dentro de las limitaciones del método electroforético, se presupone que el fenotipo es equivalente al genotipo. Así, la variación alozímica en una población es considerada como un indicador de la variación genética.

2.2.2.3.1. Frecuencias alélicas.

La frecuencia de un alelo determinado dentro de un locus, para la muestra de individuos en estudio, es igual a dos veces el número de homocigotas para ese alelo más el número de heterocigotas para ese mismo alelo, dividido por dos veces el número de individuos de la muestra.

$$\text{Frecuencia del alelo } i: x_i = (2.Ho + H_{et}) / (2.N)$$

siendo N= número de individuos de la muestra

Ho=número de individuos homocigotas para el alelo i

H_{et}=Número de individuos heterocigotas para el alelo i

Proteínas	Locus	Tejido	C.E
Aspartato aminotransferasa	Aat-1	I	1
Aspartato aminotransferasa	Aat-2	I	1
Esterasas de plasma	Es-1P	II	2
Esterasas de plasma	Es-2P	II	2
Esterasas de plasma	Es-3P	II	2
Esterasas de plasma	Es-4P	II	2
Esterasas solubles	Es-1H	I	1
Esterasas solubles	Es-2H	I	1
Esterasas solubles	Es-3H	I	1
Esterasas solubles	Es-4H	I	1
Esterasas solubles	Es-5H	I	1
Enzima láctica	En	I	1
Glucosa-6 fosfato dehidrogenasa	G-6pdh	I	1
Hexosa-6 fosfato dehidrogenasa	H-6pdh	I	1
Leucina aminopeptidasa	Lap	II	2
Peptidasa	Pep-1	II	1
Peptidasa	Pep-2	II	1
Peptidasa	Pep-3	II	1
Peptidasa	Pep-4	II	1
Proteínas totales I	PT-1	II	2
Proteínas totales II	PT-2	II	2
Proteínas totales III	PT-3	II	2
Proteínas totales IV	PT-4	II	2
Proteínas totales V	PT-5	II	2
Tetranolium oxidasa	To	I	1
Xantina dehidrogenasa	Xdh	I	1

Tabla 2.2.II. Proteínas, locus y tejidos estudiados con sus correspondientes buffers; C.E= condiciones electroforéticas; 1- Tris bórico Edta, pH 9.0., corrida durante 15 horas a 150V y 12 mA; 2- Hidróxido de litio, solución stock A, pH 8.1, solución stock B, pH 8.4, corrida durante 15 horas a 150V y 12 mA. I. Hígado, II. Plasma.

las frecuencias de algunas clases son muy bajas, el test de J² no es adecuado (Sokal & Rohlf, 1969). En este caso se agruparán todos los alélos, menos el

2.2.2.3.2. Medidas de la variabilidad genética.

Se estimaron las siguientes medidas de variabilidad genética.

a) Número promedio de alelos por locus (A).

b) Porcentaje de loci polimórficos (P). Se utilizaron los criterios del 95%, 99% y sin criterio (que corresponden a los casos en que la frecuencia del alélo más común es menor que 95%, 99% y 100% respectivamente).

c) Heterocigosidad media (H): calculada por el recuento directo de heterocigotas y de acuerdo a lo esperado por Hardy-Weinberg.

2.2.2.3.3. Equilibrio Hardy-Weinberg.

Se probará en cada loci polimórfico si las frecuencias genotípicas se ajustan a lo esperado por Hardy-Weinberg utilizando el test de bondad de ajuste de J² (chi²). Si

más común, como si fuesen uno solo, con lo que las frecuencias genotípicas quedarán compuestas por tres clases: homocigotas para el alelo más común, heterocigotas para el alelo más común y alguno de los otros alelos y el resto de los genotipos. Entonces se procederá a utilizar de nuevo J^2 con un grado de libertad.

Por último se calculará el índice de fijación F (Wright, 1969), que estima la desviación (exceso o deficiencia) respecto de los heterocigotas esperados.

2.2.2.3.4. Estimación de distancias genéticas.

Para comparar genéticamente las especies se estimarán a partir de las frecuencias alélicas los índices de identidad genética (I) y de distancia genética (D) de Nei (1972), con la modificación del propio Nei (1978) para muestras de tamaño pequeño y las modificaciones hechas por Mueller & Ayala (1982). El coeficiente I varía desde $I=0$ (las poblaciones no tienen alelos en común) hasta $I=1$ (las poblaciones tienen los mismos alelos a idénticas frecuencias). Si el número de sustituciones por locus sigue una distribución de Poisson y si las sustituciones para un locus son independientes de las que ocurran en otros loci, D puede ser interpretado como una medida del número promedio de sustituciones por locus, detectables electroforéticamente, las cuales han tenido lugar desde que las poblaciones o especies se separaron de un ancestro común. El coeficiente D toma los valores $D=0$ cuando $I=1$ y $D=\infty$ cuando $I=0$ ya que dos o más sustituciones codónicas pueden ocurrir en un mismo locus.

Las modificaciones realizadas por Mueller y Ayala consisten en realizar estimaciones de D s "promedios" mediante el método de "jackknife". El proceso consiste en calcular, para cada par de OTUs, el promedio de n valores de D (con $n=n^\circ$ de loci), cada uno de ellos realizado con $n-1$ loci, siendo eliminado en cada una de las n iteraciones un locus diferente. De esta manera, no solo resulta fácil el cálculo de la varianza sino que también se pueden calcular varianzas y covarianzas de D entre 2 grupos de poblaciones o especies lo que permite estimar si estos 2 grupos son significativamente diferentes o no genéticamente. Este trabajo también se propone para el cálculo de los intervalos de confianza de D la utilización de la distribución gamma cuando los valores de D caen en el orden de 10^{-2} o más bajos. Esto está justificado porque en este rango los valores de D alrededor del D medio no se distribuyen normalmente debido a que no pueden existir valores de D menores que cero.

Se elegirá el D de "jackknife" por ser un estimador que, entre otros atributos, es menos sesgado que otros. Todos los D corresponderán, por lo tanto, al estimador de "jackknife".

Se calculará también el índice de similitud de Rogers (1972), ya que

este, junto con versiones modificadas de los índices de Cavalli-Sforza & Edwards (1967) son los más adecuados para la construcción de árboles filogenéticos de máxima parsimonia basados en matrices de distancias (Rogers, 1986).

2.2.2.4. Estimación general de la divergencia basada sobre alozimas.

El análisis fenético interespecífico se realizará mediante un análisis de agrupamiento utilizándose el método de UPGMA (Sneath & Sokal, 1973) a partir de las distancias genéticas de Nei (D) y Rogers (1972).

2.2.2.5. Estimación de las relaciones de parentesco sobre la base de alozimas.

2.2.2.5.1. Aproximación fenética.

Como primera aproximación de la filogenia de las especies de *Ctenomys* estudiadas electroforéticamente se utilizarán los fenogramas UPGMA de la sección 2.2.2.4.

2.2.2.5.2. Aproximación cladística.

2.2.2.5.2.1. Análisis basado en máxima parsimonia

El análisis de máxima parsimonia se basará en la construcción de una matriz de presencias y ausencias por OTU, de todos los alelos detectados en todos los loci. Se asignó el número 1 ó 0 cuando el alelo estaba presente o ausente, respectivamente. El modelo a utilizar será entonces el de alelos independientes (ver sección 1.1.2.4.). Cuando un sistema no fue revelado para algún OTU, se considera como dato faltante la presencia o ausencia de los alelos de ese locus en ese OTU. Todos los caracteres son considerados sin polaridad conocida. Se utilizará a la especie *Octodontomys gliroides* como extragrupo con el objeto de establecer una raíz para el o los árboles a obtener e inferir la polaridad del resto de los caracteres. En caso de obtenerse más de un árbol igualmente parsimonioso se estimará un árbol consenso.

2.2.2.5.2.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique)

Se utilizará la misma matriz que en el análisis anterior pero por incapacidad del programa a utilizar de manejar datos faltantes, los mismos serán considerados ausentes.

2.2.2.5.3. Aproximación por Máxima verosimilitud.

Se utilizará el método de máxima verosimilitud de Felsenstein (1981b). Este método utiliza en el caso de frecuencias alélicas, la frecuencia de un solo alelo (el más común) como información para cada locus.

2.2.2.6. Programas de computación utilizados.

BIOSYS-1, rel. 1.6: Este programa se utilizará para el cálculo de frecuencias alélicas y genotípicas, heterocigosis esperada y observada media y por locus, cálculo de bondad de ajuste entre observada y esperada, estimación de loci polimórficos, cálculo de bondad de ajuste a Hardy-Wainberg y de índices de fijación.

CLIQUE: Programa para análisis de compatibilidad. Programa perteneciente al paquete PHYLIP (Ver sección 2.2.1.8.)

CONTML: Cálculo de los árboles basados en el método de máxima verosimilitud. Programa perteneciente al paquete PHYLIP.

CONTREE ver. 3/1/86: Cálculo de árboles de consenso. Programa acompañante del PAUP.

NTSYS-pc, ver. 1.4: Este programa se utilizará para el cálculo de los fenogramas UPGMA con el procedimiento SANN, cálculo de los coeficientes de correlación cofenética (CCC) mediante los procedimientos COFH y MXCOMP.

PAUP, ver. 2.4.1: Cálculo de los árboles de máxima parsimonia realizado por Swofford (1985). Programa ya compilado por D. Swofford. Se utilizaron las opciones:

ADDSQ-CLOSEST: la secuencia de agregados de OTUs, se realiza agregando cada OTU a todas las posiciones posibles y eligiendo el OTU que minimize el tamaño del árbol.

HOLD=5: el número máximo de árboles mantenidos en memoria en cada paso para ser usados en el siguiente paso.

SWAP=GLOBAL: cada subárbol posible es separado del árbol y reinsertado en todas las otras posiciones posibles.

MULFARS: indica que deben ser buscados todos los árboles igualmente parsimoniosos.

MAXTREE=100: el número máximo de árboles igualmente parsimoniosos a ser retenidos con MULFARS

ROOT=OUTGROUP: el OTU designado como extragrupo (outgroup) forma un grupo hermano respecto al resto.

SLDGEND2: Cálculo de los valores de D y sus varianzas por el método de jackknife y cálculo estadístico de diferencias entre grupos. Programa fuente BASIC escrito por Sattler & Hilburn (1985) y compilado con QUICKBASIC ver. 2.

STATGRAFICS ver. 2.6.: Se calculará los intervalos de confianza e distribución gamma, de ser necesario.

2.2.3. Análisis Cromosómico

Como se vió en la sección 1.1.2.4., los cromosomas brindan

información directamente relacionada con los genes, o más bien con grupos de genes ligados. Las ventajas del estudio cromosómico en los aspectos evolutivos pueden resumirse así:

- 1) Están directamente relacionados con el aislamiento reproductivo. Grandes diferencias de cariotipos permiten suponer en algunos casos aislamiento reproductivo, independientemente de si fueron o no la causa de la especiación.
- 2) Las técnicas de bandeo cromosómico permiten en muchos casos establecer homologías, no solo de cada par de cromosomas en los organismos diploides, sino también entre cromosomas de diferentes individuos pertenecientes a diferentes especies. Esta es una cualidad importante, porque permite establecer estados discretos diferentes de cada carácter y por ende realizar un tratamiento cualitativo. Estos estados discretos pueden ser presencia o ausencia de un determinado cromosoma o brazo cromosómico, o reordenamientos cromosómicos. Estos datos también permiten estas técnicas inferir que tipo de reordenamientos ha tenido lugar.

El punto 1) está evidentemente relacionado directamente con el estudio de la especiación y el 2) con especiación y relaciones filogenéticas.

2.2.3.1. Procesamiento de los especímenes y preparados.

Se utilizará una modificación de la técnica de Ford and Hamerton (1956) en médula ósea: colchicinado *in vivo*, tratamiento hipotónico de la médula ósea, fijación con Carnoy (metanol:acético 3 a 1), siembra y tinción Giemsa.

Los especímenes son inyectados 48 y/o 24 horas antes de sacrificar con solución de levadura (10g/10ml) con el objeto de infectarlos e incrementar el índice mitótico (Lee & Elder, 1980). Posteriormente son inyectados intraperitonealmente con solución de colchicina (1µg/g de peso) y sacrificados con éter sulfúrico 45 minutos después. Se cortan luego las epífisis de los fémurs y tibias y con una jeringa conteniendo 4 ml de solución hipotónica (KCl 0.075M) se extrae la médula ósea, y se la vierte en un tubo de Kahn. La médula se disuelve pipeteando suavemente con una pipeta Pasteur y se mantiene en estufa a 37° por 20 minutos. Se agregan posteriormente un par de gotitas de Carnoy, se homogeneiza suavemente y se centrifuga el tubo a 800 rpm durante 12 minutos. Luego se extrae el sobrenadante y se agregan suavemente 4 ml de Carnoy, resuspendiéndose inmediatamente. Se deja en heladera a 4° por 20 minutos fijándose. Luego se centrifuga por 5 minutos a 800 rpm, se descarta el sobrenadante y se agregan 4 ml de fijador nuevo. Este último paso se repite 2 veces más. Finalmente se procede a la siembra de los portaobjetos. Es importante que el fijador esté recién preparado y mantenido en heladera. La siembra de láminas se realiza sobre portaobjetos muy bien lavados con detergente y esponja, enjuagados suficiente tiempo para eliminar el

detergente, mantenidos durante 1 hora al menos en una mezcla de metanol y eter en partes iguales, lavados fuertemente con agua corriente al ser sacados de la mezcla anterior y sumergidos en agua destilada hasta el momento de la siembra. Esta se realiza dejando caer 3 ó 4 gotas de suspensión de médula fijada (diluída suficientemente con fijador hasta que quede casi transparente; puede usarse en caso de excesivo material una alícuota del tubo original y dilución en otro tubo) sobre diferentes partes de un portaobjeto recién sacado del agua destilada y mantenido en forma horizontal. Inmediatamente se lava con un chorro de fijador nuevo y se deja secar al aire puesto de forma vertical. En el momento de preparar las láminas el fijador de la suspensión celular de médula debe ser recién hecho, por lo tanto debe cambiarse de ser necesario.

2.2.3.1.1. Tinción normal.

Los preparados destinados a la determinación de número diploide (2N), número fundamental (NF) y morfología cromosómica se tiñen en una solución 3% de Giemsa durante 3 minutos.

2.2.3.1.2. Bandas G.

La técnica de bandeado G es básicamente la descrita por Seabright (1971). Los preparados previamente envejecidos por 7 a 30 días se sumergen por 10 minutos en agua común. Posteriormente se los sumergen en una solución de tripsina al 0.2% en PBS ("buffer" fosfato salino). El tiempo en tripsina varía, dependiendo del envejecimiento de la lámina, el animal usado, etc. En general se realizan diferentes pruebas hasta establecer el tiempo correcto. Finalmente se tiñen con Giemsa 3% por 3 a 5 minutos.

2.2.3.1.3. Bandas C.

La técnica de bandeado C es similar a la descrita por Barros & Patton (1985). Los preparados sin envejecer se sumergen en Ba(OH) saturado por 3 a 20 minutos (en algunos casos por varias horas), se lavan fuertemente con agua corriente y se los sumergen por 1 hora en solución salina concentrada al 200% (2XSSC). Luego se lavan con agua corriente, se enjuagan con agua destilada y finalmente se tiñen con Giemsa 3% por 3 a 5 minutos.

2.2.3.1.4. Fotografado.

Todos las metafases de interés tanto las tratadas con tinción normal o bandeadas se fotografiaron a 1000X. Se realizaron copias ampliadas de las mismas, en papel, para posteriormente armar los cariotipos, realizar las mediciones cromosómicas o ilustrar.

2.2.3.2. Descripción de cariotipos novedosos y nomenclatura.

De cada animal procesado se obtiene el $2n$ y el NF por observación y recuento directo al microscopio y en algunos casos mediante copias fotográficas. Se define el NF como el número de brazos autosómicos. El porcentaje de cada cromosoma de cada cariotipo se calculará como porcentaje de la longitud total del complemento haploide femenino utilizando al menos 10 cariotipos armados. Para la clasificación de los cromosomas según la posición del centrómero se siguió a Levan *et al.* (1964) y según su tamaño a Reig & Kiblicky (1969), pero agrupando los cromosomas pequeños y los microcromosomas. Los cromosomas se ordenan en dos grupos. Un primer grupo de cromosomas acro o telocéntricos y un segundo grupo de cromosomas bibrachiados. Dentro de cada grupo se los ordena por tamaño. El primer par de cromosomas del primer grupo (si lo hubiere) será designado como el primer par del cariotipo y el resto se numerará consecutivamente hasta el último par del segundo grupo. Los cromosomas del par sexual serán denominados de la manera usual X e Y.

2.2.3.3. Estimación general de la divergencia basada sobre cromosomas.

2.2.3.3.1. Aproximación basada en cariotipos normales.

Si bien el bandeo G permite una comparación rigurosa de los diferentes cariotipos, esta información es escasa en la literatura y la mayoría de los cariotipos bandeados serán presentados originalmente en esta tesis. Existe por otra parte, gran cantidad de información publicada de cariotipos normales (no bandeados) de *Ctenomys* que es importante incluir en un análisis global. El análisis a realizar para cariotipos normales será la construcción de 3 fenogramas aplicando el método de UFGMA (Sneath & Sokal, 1973). Se elaborará una matriz de distancias euclídeas basada en 4 variables medidas de todos los cariotipos disponibles en la literatura. Estas variables son: $V1$ = nº de brazos cromosómicos que miden de 0 a 2% del set haploide femenino; $V2$ = idem $V1$ pero con rango de más de 2 y menos de 4%; $V3$ = idem $V1$ con rango de 4% o más; $V4$ = nº de pares de cromosomas telo o acrocéntricos. Es de notar que el $2n$ y NF son combinaciones lineales de estas variables ($NF=V1+V2+V3$; $2n=V4+NF/2$). Los valores de estas variables fueron extraídos directamente de la literatura, a través de su medición a partir de las figuras cuando en el trabajo original no existían mediciones directas o de datos propios presentados en esta tesis basados en cariotipos armados a partir de copias fotográficas. En un fenograma se incluirán todas las especies y en otros dos fenogramas solo las de espermio asimétrico y simétrico respectivamente (ver 2.2.4.).

2.2.3.3.2. Aproximación basada en cariotipos bandeados.

Se construirá una matriz de presencias y ausencias de caracteres

definidos de la siguiente manera. Siguiendo a Modi (1987), se definirán dos tipos de caracteres, brazos cromosómicos y reordenamientos cromosómicos. El reconocimiento de brazos y reordenamientos estará basado en Bandas G, por lo que el número de OTUs incluidos será menor que en el tratamiento de cariotipos normales. A los OTUs que posean un brazo cromosómico determinado (y definido como se dijo recién como carácter) se les asignará para ese carácter un 1, a aquellos que no lo posean un 0. A los OTUs que posean un reordenamiento cromosómico determinado (y definido como se dijo recién como carácter) se les asignará para ese carácter un 1, a aquellos que no lo posean un 0. Cuando un OTU tenga un 0 para un carácter definido por un brazo cromosómico, la presencia o ausencia de los reordenamientos correspondientes a ese brazo se considerarán indeterminadas (dato no disponible: "missing data"). La identificación de los caracteres se realizará de la siguiente manera. Los caracteres basados en brazos cromosómicos serán identificados numéricamente comenzando en 1 y hasta la cantidad de brazos diferentes que se identifiquen en todos los cariotipos. Los caracteres basados en rearrreglos cromosómicos serán considerados subgrupos de cada carácter de brazo y serán designados alfabéticamente a partir de la letra a y siguiendo el abecedario hasta nombrar el último rearrreglo del brazo correspondiente. Todos los caracteres de reordenamiento serán designados por el mismo criterio en cada grupo, correspondiente a cada carácter de brazo. A partir de esta matriz se calculará una matriz de distancias Manhattan. Cuando existan datos no disponibles se calcularán diferencias promedio. A partir de esta matriz se realizará un análisis de agrupamiento UPGMA.

Se calcularán también las frecuencias de los distintos reordenamientos que diferencian los distintos cariotipos (ver la sección 2.2.3.4.2.1. para el establecimiento de polaridades).

2.2.3.4. Estimación de la filogenia basada en datos cromosómicos.

2.2.3.4.1. Aproximación fenética.

Como primera y más global aproximación de la filogenia de *Ctenomys* se utilizarán los fenogramas UPGMA de la anterior sección basados en cariotipos normales.

2.2.3.4.2. Aproximación cladística.

2.2.3.4.2.1. Análisis basado en máxima parsimonia.

El análisis de máxima parsimonia se basará en la construcción de una matriz de presencias y ausencias por OTU, utilizando la matriz de caracteres discretos derivada de cromosomas con bandas G y descrita en la sección 2.2.3.3.2. Todos los caracteres serán considerados sin polaridad conocida, salvo aquellos que se refieran a inversiones pericéntricas en las que

intervengan un cromosoma telocéntrico y otro con la misma secuencia de bandas G pero con una inversión que involucre el centrómero. En este caso se considerará que el estado ancestral es el del cromosoma telocéntrico, bajo el supuesto de la baja probabilidad de que se produzca una inversión que exactamente involucre telómero y centrómero en relación a una inversión que involucre centrómero con cualquier otra parte del cromosoma. Se utilizará a la especie *Octodontomys gliroides* como extragrupo con el objeto de establecer una raíz para el o los árboles a obtener y como consecuencia inferir la polaridad del resto de los caracteres. En caso de obtenerse más de un árbol igualmente parsimonioso se estimará un árbol consenso.

Asimismo se calcularán los intervalos de confianza para las ramas de los árboles obtenidos.

2.2.3.4.2.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique).

Se utilizará la misma matriz que en el análisis anterior pero por incapacidad del programa a utilizar de manejar datos faltantes, los mismos serán considerados ausentes.

2.2.3.5. Programas de computación utilizados.

BOOT: Programa para análisis de "bootstrapping" para estimación de intervalos de confianza mediante el método de máxima parsimonia para caracteres discretos. Programa perteneciente al paquete PHYLIP (Ver sección 2.2.1.6.)

CLIQUE: Programa para análisis de compatibilidad. Programa perteneciente al paquete PHYLIP (Ver sección 2.2.1.6.)

CONTREE ver. 3/1/86: Cálculo de árboles de consenso. Programa acompañante del PAUP.

PAUP, ver. 2.4.1: Cálculo de los árboles de máxima parsimonia realizado por Swofford (1985). Programa ya compilado por D. Swofford. Se utilizaron mismas opciones que se detallan para este programa en la sección 2.2.2.6.

2.2.4. Análisis Espermático

2.2.4.1. Procesamiento de los especímenes y preparados.

Los animales fueron sacrificados con éter sulfúrico. Se utilizaron los mismos analizados citogenéticamente. Se extrajeron ambos epidídimos mediante tijera y los mismos fueron fijados en formol 10% (Vitullo et al., 1986). Posteriormente los epidídimos fueron cortados con tijera varias veces para permitir la salida de espermatozoides y su mantenimiento como suspensión. Los preparados se realizaron sobre portaobjetos bien limpios (ver sección 2.2.3.1.) realizando un frotis de suspensión espermática y dejándolos secar al aire. Posteriormente se lo tiñó con Giemsa. De cada preparado se analizó por animal el tipo de espermio.

RESULTADOS Y DISCUSION PARCIAL

3. RESULTADOS Y DISCUSION PARCIAL.

3.1. Resultados de morfología craneana.

3.1.1. Machos.

Como primer paso en el análisis morfológico fueron medidas en todos los individuos analizados las 24 variables craneométricas, cuyas medias aritméticas y desvíos estándar se muestran en la Tabla 3.1.1.I.

DTU	L TOT CR	L COND B	L COND N	L NASAL	A NASAL	A BINEAT	A RICIGG	A BIMAST
ARGENTIN	45.44333	41.02222	41.39056	15.95667	7.10000	25.96036	29.44036	25.12000
	2.20613	2.26756	1.75186	1.06987	0.68753	1.06862	1.76870	0.90143
AUSTELAR	53.71800	49.70200	52.23600	21.96200	7.96800	31.40800	31.77200	29.93800
	3.53533	3.36971	2.77428	1.21913	0.64651	1.74002	2.39173	1.20767
AUSTMER	50.36250	46.49625	49.78250	19.76075	7.49125	31.96000	29.77375	29.43500
	2.96063	2.69136	2.87201	1.26957	0.82476	3.24257	1.49227	1.15609
AUSTNECO	52.69125	48.61875	50.62250	20.67375	8.16438	31.99938	30.87063	29.96688
	4.16240	3.93001	3.85419	1.64704	0.86259	1.87993	2.37597	1.67995
AUSTORIE	56.73500	51.96500	54.08000	22.20000	8.18000	34.20500	33.17000	31.68000
	0.88145	1.56290	0.94390	0.63381	0.28950	0.53825	0.80964	0.44476
BONETTOI	44.18667	40.74667	41.46667	15.68000	7.33333	25.74000	26.74667	24.37333
	1.31012	1.77295	1.14648	0.70115	0.68663	1.41537	1.86592	1.47314
CURUZU	47.60167	43.83300	44.15933	16.82833	7.44667	27.94333	29.40333	26.65500
	1.20696	1.22715	1.14012	0.44712	0.39210	0.61754	0.84243	0.80255
DORBIGNY	50.44143	45.44333	45.62905	17.14048	8.29095	29.74810	32.17333	28.29143
	2.04783	1.90664	1.93415	0.77907	0.53411	1.00374	1.56187	1.01242
DORBINOR	48.68889	43.93556	44.41111	16.67778	7.75556	28.36667	30.22222	26.83333
	1.86592	1.44971	1.40380	0.55136	0.48888	0.98336	0.90277	0.54772
DORBUR	49.38333	44.18333	45.36667	17.10000	7.35000	28.75000	29.85000	27.40000
	1.91466	1.76341	1.41738	1.23696	0.47749	1.16990	1.13954	0.80000
KNIGHTII	43.21000	39.14000	40.98000	14.11500	5.92500	27.05000	26.00000	24.97000
	3.20741	2.68413	2.46527	1.08624	0.80373	1.89581	2.14160	1.62045
LAIRO	40.63000	36.76000	37.64500	12.73125	6.28625	25.07125	26.11125	23.85000
	2.77273	1.89848	2.13030	0.82420	0.09866	1.19000	2.07018	1.17581
MAGELLAN	50.61833	46.02167	47.59333	18.11833	7.19333	29.40333	27.96000	28.00500
	0.94870	0.68923	1.47764	2.16713	0.37242	1.86937	1.77570	1.92256
MENDOZIN	45.12500	40.73417	42.48333	15.25417	6.14750	27.44417	27.34917	25.63933
	0.95325	1.09712	1.31627	0.80003	0.49584	0.55366	0.61183	0.69979
OCCULTUB	40.63667	36.61667	37.07667	13.78000	6.53333	24.55000	25.95667	23.32333
	2.73364	2.24342	1.97656	0.85121	0.71433	1.32481	1.68848	1.09269
OPIMUS	47.63667	43.47333	45.87667	15.70333	7.30000	30.40333	30.59000	29.31667
	1.53935	1.62229	1.45390	0.91862	0.49329	0.91240	1.00862	1.03088
FERRENSI	49.90000	45.56471	46.04118	17.51176	7.92353	29.28233	31.69412	27.22941
	3.56187	3.20602	3.07859	1.39174	0.76079	1.43535	2.55053	0.83291
PORTEDUS	43.25667	39.31111	40.62111	15.26111	6.67556	26.74278	25.43222	26.27167
	1.60680	1.48565	1.80424	0.75102	0.33935	0.86967	0.85521	0.70832
ROIGI	47.91286	42.81952	43.96381	17.22857	7.71286	27.45095	30.44143	26.08057
	1.91961	1.75368	1.73788	0.93703	0.42099	1.20951	1.44414	1.13366
SANROQUE	46.28667	42.11333	43.00333	16.80667	7.68000	27.15667	29.23000	26.04667
	2.55547	2.34614	2.04089	0.76036	0.50128	1.44882	1.51665	0.96776
TALAMABD	43.43909	39.80045	39.77909	15.34227	7.03364	24.62591	26.10455	23.17227
	1.95676	1.40507	1.14710	0.55728	0.47675	1.96866	1.31996	1.32856
TALAMARC	42.17381	38.68476	39.15143	14.51143	6.52429	23.91619	26.04048	22.48905
	0.94980	1.23764	0.97029	0.49613	0.39742	0.78732	0.69112	0.77344
TUCOMAXC	53.03800	48.21800	48.15400	18.21600	8.28200	32.03600	32.97200	31.62400
	4.29093	3.80134	3.93170	1.86117	0.93393	2.39912	2.28262	1.71221
TUCOMAXI	57.44600	51.28800	52.32200	20.43000	9.09200	34.45000	36.33400	31.88800
	6.12840	5.36482	3.90423	2.07611	1.07644	2.31910	4.30810	2.41075
TUCUMANU	46.03500	41.35833	41.13833	15.33667	6.37917	27.66583	29.29083	25.90583
	3.58389	2.49812	2.19029	1.23958	0.93100	1.33895	2.78706	1.52747
YATAYTI	47.30750	42.88500	43.52500	16.48250	7.41250	28.03750	30.13750	26.04000
	8.35800	7.93374	7.04278	2.82136	1.49200	4.48306	3.93151	3.25269
YOLANDLP	44.97222	40.76667	41.71667	16.35556	6.95000	26.18889	26.33333	24.67444
	3.58503	3.04763	2.87085	1.01823	0.72125	2.24133	2.48902	1.28693

Tabla 3.1.1.I. Medias aritméticas y desvíos estándar de las 24 variables craneométricas medidas en machos para 27 DTUs.

Dir	A FRONTA	A ROBTRA	A CAJ CE	A FO PRE	L CON PR	L DIASTE	L BUL TI	A BUL TI
ARGENTIN	9.73889	11.48722	17.55667	10.14111	27.81667	13.55222	14.54889	5.91278
	0.74013	0.86003	0.99713	0.58915	1.13811	1.05146	0.66947	0.50410
AUSTCLAR	10.30600	12.75600	17.82200	10.50600	34.46400	15.76400	19.68800	9.65200
	0.69866	0.76383	0.54924	0.87888	1.62559	2.27259	0.47703	0.26902
AUSTMHER	9.58875	12.69250	18.56625	10.07125	32.66500	13.94250	18.35750	9.69250
	0.60115	0.61623	0.74965	0.73717	1.63412	1.34641	0.96860	0.40735
AUSTNECO	10.18563	13.00623	18.58063	10.89123	34.08750	14.65375	19.18063	9.44063
	0.64032	1.14001	0.68164	0.81530	2.55162	1.67097	1.14668	0.68646
AUSTORIE	11.03300	14.03300	18.53300	10.90000	35.90300	16.33000	21.20300	10.31000
	0.44593	0.35496	0.55661	0.51575	0.66940	0.68313	0.60340	0.19567
BONETDOI	8.58000	11.08000	16.18667	9.02000	28.26667	12.66667	14.88667	7.56000
	1.25688	0.77133	0.71871	0.98378	0.54444	0.51075	0.62290	0.45693
CURUZU	9.47500	12.15500	18.79500	9.66000	30.37033	12.82333	15.64000	8.01833
	0.65675	0.50327	0.63289	0.46618	1.29433	0.64827	0.60354	0.56755
DORBIONY	10.93381	13.46190	20.05667	10.90429	31.53190	14.12333	17.26238	8.51619
	0.41366	0.79913	0.50249	0.73635	1.13444	0.83815	0.61847	0.37786
DORBINDR	10.31111	12.91111	19.10000	9.93333	30.27778	13.36667	16.00000	7.64444
	0.68823	0.80250	0.71391	0.52409	1.22216	0.73485	0.66458	0.21370
DORRISUR	10.11667	12.80000	18.98333	10.03333	31.01667	13.70000	16.61667	7.58333
	0.48249	0.44728	0.30179	0.52824	1.05393	0.87711	0.30242	0.35355
KNIGHTII	9.71000	10.26500	17.98000	8.72500	27.93000	11.64500	13.87500	7.92000
	0.79271	1.09767	0.80429	0.66503	1.59133	1.46535	0.88356	0.47724
LATRO	8.70250	9.20375	16.44750	8.64125	25.76750	11.29875	14.21500	7.43500
	0.49568	0.63343	0.88121	0.59405	1.14858	0.95639	0.75142	0.45982
MAGELLAN	9.37000	10.70833	18.74167	10.15667	31.25667	14.94333	18.34500	9.66933
	0.53725	0.71459	0.23180	0.31765	0.79185	0.17156	1.36097	0.91882
MENDUCIN	8.49583	10.12917	17.18500	8.69167	29.25083	12.03750	17.14167	9.55417
	0.41815	0.39834	0.63437	0.37992	0.71198	0.47897	0.53385	0.72208
OCCULTUS	8.72000	9.69667	16.05667	8.74000	24.89667	12.22333	14.14333	7.35333
	0.56153	0.66634	0.71640	0.52060	1.37907	1.05746	1.19614	0.62713
OPINUS	10.79333	11.58667	20.01333	10.14000	30.65667	12.97667	19.51667	9.65333
	0.43183	0.52482	0.72079	0.56392	0.99426	0.64640	0.44627	0.51999
FERRENGI	10.48824	13.53529	19.83529	10.90588	31.42353	14.37647	16.70000	8.45294
	1.09490	1.10666	0.47353	0.89187	1.63521	1.56959	0.78233	0.22517
PORTEOUS	8.21333	10.04167	16.46000	8.54056	27.80000	11.82167	16.72089	8.87167
	0.53459	0.40224	0.56759	0.45257	0.97459	0.65393	0.44385	0.27785
ROICI	9.59619	12.46714	19.33714	10.63361	29.73238	13.32333	15.69619	7.92857
	0.47253	0.48274	0.59105	0.42858	1.07486	0.86267	0.63686	0.49255
SALVADUE	10.68000	11.64000	19.05667	9.53667	29.24000	12.70000	16.07667	8.03000
	0.72227	0.78502	0.65641	0.80408	1.36230	1.00067	0.76608	0.57476
TALANAGO	8.89318	10.07818	15.89682	8.68409	27.93000	12.47091	15.29455	7.28091
	0.51407	0.53531	1.03886	0.79831	0.67000	1.21834	1.00353	0.38678
TALAMARC	8.38571	9.38571	15.15667	8.22619	27.12190	12.10667	14.53952	7.49095
	0.51399	0.30513	0.62549	0.45306	0.79632	0.68754	0.44707	0.63289
TUCONAXC	13.47600	13.90600	20.86200	11.56600	33.11600	15.07200	16.62000	9.28400
	1.13599	0.93444	0.52587	0.93671	2.23243	1.84422	1.45742	0.62317
TUCONAXI	13.09000	14.50000	21.85400	12.06600	34.90800	16.56000	17.87000	9.35000
	2.02227	1.92714	1.04234	1.82438	3.31277	2.15828	1.00357	0.59294
TUCUNANU	9.36667	10.64083	17.54333	9.46333	28.09083	13.73083	15.97250	8.02333
	1.07806	1.23122	1.13612	1.30216	1.19815	1.38688	0.96527	0.50388
YATAYTI	9.58000	12.29500	19.58250	10.21250	29.41500	13.54750	16.51000	7.62000
	2.20617	2.32638	1.24451	1.60513	4.65276	3.50018	2.26981	1.03238
YOLANDLP	8.72222	11.26111	16.27778	9.00556	28.43333	12.57222	14.51111	7.89444
	1.02530	1.12430	0.23335	1.04652	1.35057	1.92333	1.50614	0.19799

Tabla 3.1.1.1. Continuación.

Otu	A INCI	LARGOP4	L B MOLA	A HANDIE	ALTO CRA	L BASAL	L MANT 1	AL MANT 1
ARGENTIN	5.77167	3.44389	9.51056	35.89278	15.64389	44.33500	34.05778	13.63056
	0.77618	0.23843	0.49344	2.14342	0.89947	2.14795	2.03300	1.00806
AUSTCLAR	8.68200	4.07400	11.05400	42.93000	18.05600	53.14200	41.93200	14.18000
	0.67939	0.16319	0.41902	2.90824	1.24817	3.45043	2.96113	1.19440
AUSTMHER	7.99000	4.10250	11.06625	40.42500	17.26600	49.70500	38.04125	14.26125
	0.55328	0.18668	0.60226	3.45041	1.11773	3.04536	2.64211	0.76439
AUSTNECO	8.49375	4.20625	11.16313	44.18375	18.62375	51.93250	39.87750	15.52939
	0.90062	0.24808	0.82158	4.16707	1.31246	4.32294	3.20382	1.31512
AUSTORIE	8.65000	4.13000	11.32500	46.00000	19.23500	55.76000	42.77000	15.49500
	0.62103	0.18848	0.43039	1.35478	0.61968	1.01550	0.80504	0.55575
BONETTOI	6.96667	3.28667	9.06667	34.74000	14.84000	43.34667	31.06667	11.98000
	0.80051	0.13910	0.22004	2.33598	0.93950	1.42003	1.32124	1.29214
CURUZU	6.87833	3.53500	10.75833	36.16167	16.63333	46.09667	33.71667	13.32833
	0.36157	0.13649	0.36998	1.65076	0.63405	1.22901	0.93651	0.99754
DORRIGNY	7.75667	3.55762	10.63190	39.40524	18.53619	48.63762	36.33810	14.94000
	0.51988	0.12247	0.34601	1.23693	1.26205	2.15181	1.55063	0.00932
DORBINOR	7.15556	3.80000	10.64444	36.86667	16.95556	46.85556	34.57778	13.44000
	0.47610	0.20000	0.29744	1.69041	0.86641	1.92215	1.24097	0.65010
DORDISUR	7.43333	3.70000	10.68333	37.29333	17.36667	47.46667	34.80000	14.36667
	0.43030	0.25051	0.39747	1.44391	0.95054	1.90698	1.65950	0.69529
KNIGHTII	6.11000	3.24000	8.41000	33.69500	14.98000	42.34000	31.86000	10.57500
	0.71133	0.19810	0.44672	2.61091	0.98837	3.06479	2.47895	0.83370
LATRO	5.72875	3.34125	8.50975	32.76000	14.27250	39.37500	30.21625	10.53500
	0.72224	0.01000	0.11015	2.33424	0.56045	2.46110	2.00266	0.03606
MAGELLAN	6.93833	3.93833	10.27167	35.59333	16.62333	46.86333	37.87500	12.05000
	0.31182	0.14012	0.33006	2.23214	1.02065	0.98338	0.92261	0.65996
MENDOCIN	7.66167	3.56333	9.44033	33.01250	14.58750	43.76250	33.57917	11.63750
	0.44390	0.18865	0.33901	0.99779	0.42296	1.04350	0.71244	0.35199
OCCULTUS	3.76667	3.19000	8.25333	32.17333	13.61000	39.50333	30.50667	10.06000
	0.59224	0.25735	0.36228	1.58842	0.71567	2.56084	2.12152	0.76887
OFIMUS	6.84333	3.77667	10.05333	36.57667	17.05333	46.45667	35.81000	11.76667
	0.70851	0.14748	0.51753	1.58910	0.50396	1.67243	1.19492	0.58445
PERRENSI	7.94118	3.80588	10.96471	30.50588	16.15294	48.94706	36.95882	14.44706
	0.91534	0.09813	0.72843	3.09125	1.13697	3.49298	2.58063	0.64779
PORTIENS	6.84444	3.43833	5.89500	33.47444	14.73389	42.04500	32.02500	11.37556
	0.42437	0.17275	0.34654	1.36727	0.54852	1.68493	1.25558	0.54154
REIGI	7.22286	3.70381	10.44714	36.23000	17.21476	45.81333	34.08010	12.37000
	0.47384	0.18646	0.27193	1.70085	0.70938	1.97198	1.46496	0.93576
SANROQUE	6.79000	3.85333	10.17667	36.38000	16.97000	44.99333	34.05333	12.27333
	0.96779	0.28112	0.53384	3.13137	1.19963	2.65582	1.85307	0.70047
TALAMAGO	7.62364	3.53182	8.05364	31.99818	14.92045	42.82273	32.56364	10.88909
	0.85094	0.17802	0.47675	2.56787	0.77500	1.71507	1.45268	1.37356
TALAMAR	7.30714	3.46095	8.52714	31.92857	14.36190	41.45617	32.34762	10.75000
	0.58357	0.19174	0.31987	1.37712	0.56825	1.14224	0.85993	0.52521
TUCUMAN	8.99600	4.52400	12.00400	42.57400	19.05200	51.29600	40.78000	13.97200
	0.62598	0.34551	0.66104	4.13671	1.70471	4.92985	3.33119	1.12271
TUCUMAN	9.86600	4.72000	11.90400	45.82200	20.18400	55.32600	43.44200	15.01200
	1.62349	0.52996	1.67602	5.19915	2.89775	6.01743	5.06259	2.22197
TUCUMAN	7.61750	3.67500	9.12333	34.86750	15.75583	44.91750	34.70567	11.68750
	1.13730	0.40688	0.89436	4.43158	1.09194	3.22872	2.95694	1.32351
YACUATI	6.94500	3.85250	10.28750	36.78750	17.08750	45.71500	34.13000	13.70000
	1.68291	0.26870	1.34350	8.02566	2.65872	8.80126	6.50538	2.21324
YCLANDIA	5.99444	3.31667	9.37222	34.70000	15.40556	43.76667	31.97778	12.39444
	0.80610	0.12728	0.06364	5.09117	0.89803	3.35169	3.76181	1.15258

Tabla 3.1.1.1. Continuación.

3.1.1.1. Método de Burnaby.

El análisis de Burnaby (ver Sección 2.2.1.3.1.) se basó en la matriz de var-cov agrupadas dentro de grupo, cuyo análisis de componentes principales arrojó un primer componente que representó un 67.43% de la variación. Esto significa que en promedio, la variación debida a diferencias de tamaño dentro de cada grupo fue del 67.43%.

En la Tabla 3.1.1.II. se muestra el autovector correspondiente al primer componente principal. El valor esperado para cada elemento del vector si el mismo fuera isométrico (vector teórico que representa tamaño) es de 0.204124. La media de todos elementos del autovector es de 0.197625 ($\sigma=0.051098$) que se aproxima al teórico. La única variable con un valor muy bajo es el ancho de la caja cerebral.

L TOT CR	0.2027281	A FRONTA	0.2162172	A INCISI	0.2953576
L COND B	0.1999142	A ROSTRA	0.2363295	LARGOP4	0.1341060
L COND N	0.1776467	A CAJ CE	0.0918974	L S MOLA	0.1458158
L NASAL	0.2042778	A FO PRE	0.2309296	A MANDIB	0.2340066
A NASAL	0.2707473	L CON PR	0.1623898	ACTO CRA	0.1974471
A BINEAT	0.1696103	L DIASTE	0.3070798	L BASAL	0.2120943
A RICIGO	0.2023111	L BUL TI	0.1424609	L MAXI I	0.2148657
A BINAST	0.1446546	A BUL TI	0.1319669	AC MAX I	0.2181491

Tabla 3.1.1.II. Autovector del primer componente principal basado en la matriz de var-cov promediada dentro de grupo.

Se aplicó el método de Burnaby proyectando los logaritmos de las medidas originales sobre el espacio ortogonal al vector obtenido anteriormente, obteniéndose valores en los que el tamaño fue eliminado para ulteriores análisis.

3.1.1.2. Análisis de Factores

Se utilizaron los datos originales y tratados con el método de Burnaby en un análisis de factores con el objeto de reducir el número de variables a unas pocas, los factores, que representen sistemas de variables originales funcionalmente relacionadas.

Como se vió en la sección 2.2.1.3.3. existen estimadores de la adecuación de los datos. El valor obtenido para el estimador de Kaiser-Meyer-Olkin es de 0.07956.

Este valor esta muy lejos de lo aceptable. La correlación existente entre las variables no permite su reducción a un número razonablemente pequeño de factores interpretables, objetivo de ese análisis en este trabajo, por lo que no se continuará con el análisis de factores.

3.1.1.3. Estimación general de la divergencia basada sobre morfología craneana.

3.1.1.3.1. Estimación cuantitativa.

Utilizando los valores originales de las variables y los resultantes del método de Burnaby, se realizaron sendos análisis discriminantes, según se describe en la sección 2.2.1.3.4. Posteriormente se utilizaron los centroides de los diferentes OTUs como datos para la estimación de la divergencia general. La Tabla 3.1.1.III. muestra los valores de los centroides de los 27 OTUs analizados para los 22 funciones discriminantes que quedaron en el análisis cuando se utilizaron los valores sin el componente tamaño. La estimación de la divergencia general se realizó sobre la base de sendas matrices de distancias euclídeas (basadas en los dos tipos de análisis, con y

sin el componente tamaño respectivamente). Los fenogramas obtenidos se muestran en la Figura 3.1.1.III. y 3.1.1.IV. y son discutidos en la sección 3.1.1.5.1. En la Tabla 3.1.1 IV. se muestran las matrices de distancias obtenidas para los dos tipos de análisis.

ARGENTIN	-0.33335	0.38327	-2.74087	0.45826	1.73670	2.11210	1.73743	-1.53177	-0.26096	-2.44637	1.19571
	-0.12809	2.30077	1.62697	-0.56422	-0.33466	0.16445	0.04649	0.40686	-0.78940	-0.47669	-0.72251
AUSTCLAR	-1.48742	-0.97067	3.30409	2.93302	0.59089	-1.26005	-1.52909	3.57446	1.18378	0.76753	-1.09996
	3.88047	-0.91663	-1.95888	-1.25003	0.76619	-0.07908	-1.65178	0.90994	0.47634	-1.32693	0.37211
AUSTMHER	0.14560	0.01104	1.95361	1.45820	1.27521	-2.03651	-2.57198	4.02730	1.96409	1.77680	-1.51769
	2.25318	0.48711	-1.37498	-1.01242	2.47329	-0.97617	-1.76414	0.70405	1.30882	-1.59085	-0.28177
AUSTNECO	-0.30354	-0.50009	2.92291	1.31176	0.71863	-2.95314	-2.66139	2.54094	0.95759	0.64040	-1.43587
	1.63615	1.16658	-0.98617	-0.17109	1.03121	-0.95317	-1.18624	1.72181	1.35622	-1.10683	0.22805
AUSTRIE	-1.32070	0.40166	4.26739	1.56416	1.16509	-2.21840	0.57189	2.96159	0.81276	1.45899	-0.66618
	3.13756	0.26453	-2.24632	-0.50358	2.08743	-0.14228	-2.18960	1.25245	0.32791	-0.26331	0.57797
BONETTOI	-2.40339	0.94600	-1.09507	-3.35685	-1.02735	1.31159	-0.52099	-0.12640	-1.39765	-0.72204	-1.11121
	0.25796	0.12879	-0.50628	-0.95340	-0.72076	0.94037	1.70897	1.02007	-1.53556	0.37948	0.53570
CURUZU	1.40055	1.62328	-0.93446	-1.67406	0.46666	-1.21751	0.53032	0.21492	2.20245	0.13482	-0.06483
	0.41696	0.63157	-0.38959	1.06959	-0.14731	-0.18042	0.55636	0.21247	-1.17129	1.01378	1.40988
DORSIGNY	2.08144	1.86789	0.25038	-1.60092	0.75219	-1.52254	0.92951	-0.85683	0.76598	0.17056	1.00285
	-1.28931	1.71709	1.04035	1.90492	-0.35650	-1.46671	0.38411	-1.27612	0.26243	0.65415	0.10875
DORBINOR	1.47286	2.85881	-0.98362	-1.56037	0.42485	-0.82248	0.75179	-0.13531	1.26689	-0.95984	1.22612
	-0.43707	0.33232	-0.02763	0.83267	-0.09166	-0.51807	0.71297	0.01998	0.27186	1.35874	0.53760
DORBUSUR	1.05658	1.97431	0.23333	-2.12257	0.74515	-0.47941	-0.45835	0.52762	1.20693	-1.53070	0.40188
	-0.21470	1.62102	-0.30139	0.83510	-0.09612	-0.63149	-0.80254	-0.43468	-0.50713	1.46324	-0.18623
KNIGHTII	2.40225	0.10457	1.13914	0.95941	0.15344	-0.10219	-0.51438	0.99972	-2.39649	0.20204	2.76988
	-1.25826	-1.62885	0.84286	0.25099	2.80953	1.70282	-1.21417	0.94060	-0.44078	0.32143	-0.14688
LATRO	-0.36083	-2.32604	-1.25202	0.60963	0.02706	1.05748	2.25936	-0.83774	-0.89794	-0.08031	1.51237
	-3.31049	-0.53515	1.55673	0.17388	0.79608	0.17873	1.00384	1.89909	0.47346	0.08482	-0.39033
MAGELLAN	2.30809	-2.73363	3.08711	2.67146	1.27115	1.97934	-2.51647	2.75027	0.98677	2.52188	-0.10965
	1.25843	-1.23263	1.34023	-0.26553	1.56891	0.21689	-0.43320	-1.36865	1.59363	1.53401	0.72857
MENDOCCIN	-0.19978	-2.52155	2.29761	1.29919	-0.61560	-1.13965	-0.21990	1.09272	0.11435	2.83369	-1.32242
	-0.98739	-0.66203	-1.30449	-2.45675	1.07668	0.06175	-2.18428	-1.53221	0.02095	0.53147	-0.36970
OCCULTUS	-0.96273	-0.20473	-1.07368	0.80285	0.42623	4.34364	1.63075	-2.12562	-1.54119	-0.16879	1.46794
	-0.64325	-1.27319	1.69386	-1.08550	0.27683	0.74100	1.82703	1.67108	-0.34539	-0.23659	-0.70570
OPINUS	3.00306	-0.34023	5.01197	1.35988	3.22899	-1.29912	1.12650	2.40712	1.20761	1.96568	2.56558
	-2.74968	-2.29227	1.89819	0.83881	2.14471	-1.39076	-0.22282	-1.03660	0.94957	-0.59514	0.08854
PERRENSI	2.29430	2.35575	-0.27002	-0.84309	-0.75447	-0.79922	0.52882	-0.12868	1.36607	0.13558	0.32063
	-0.43675	0.99939	0.76572	1.45198	-0.44817	-0.34387	-0.40977	-0.78330	-0.50137	-0.58974	0.05987
PORTEOUS	-1.42878	-1.21535	2.18389	0.31444	2.01341	0.15301	-2.13173	-0.20346	-0.80589	1.63591	-1.53616
	0.13286	-0.49848	-0.72733	-0.97570	1.29223	-0.22058	0.32408	0.29536	-0.28557	-0.00468	-0.18997
ROIGI	2.22965	2.04753	-0.87356	-1.48463	-0.47734	-0.36037	1.44385	0.23725	1.07161	-0.10712	-0.24849
	0.46221	-1.13402	2.13231	1.79965	-1.22829	-1.05458	0.77715	-0.15613	-0.08658	0.67115	-0.25160

Tabla 3.1.1.III. Valores de los centroides de los 27 OTUs analizados para las 22 funciones discriminantes que quedaron en el análisis cuando se utilizaron los valores sin la componente tamaño.

SANROQUE	2.14780	0.42917	0.06938	-0.03639	-0.20092	-1.14145	0.75386	-0.24294	1.01181	0.09418	2.48076
	0.67256	-0.56062	-0.01018	1.69848	-0.63461	-0.54641	1.08656	0.65572	0.86073	-0.32858	0.21373
TALAMAGD	-2.11785	-1.87937	0.35288	0.61893	-2.71252	0.94694	-0.51274	-1.42969	-1.74960	-1.60099	-0.13723
	0.11898	-1.66791	-0.97983	-0.65816	-1.50770	1.74631	1.09082	-1.20551	-0.18059	-0.52664	0.22188
TALAMARC	-2.92552	-3.16110	-0.98128	2.11360	-3.01889	1.39730	1.02420	-0.83041	-1.99036	-0.66203	-0.62583
	-0.65845	-1.00663	-1.75555	-1.00722	-1.79312	1.41931	0.45908	-0.17952	0.06444	-0.65444	0.06371
TUCONAXC	2.60180	0.57788	-2.91297	2.29992	4.24492	-2.15181	-0.50059	-0.27962	2.84739	1.01673	4.36149
	-1.45072	-1.57792	0.71224	0.09403	1.04218	-2.73570	-1.38931	-0.19453	2.13649	-0.66098	0.10161
TUCONAXI	3.39003	-0.25220	-2.06938	1.86387	1.96113	-2.52963	0.88170	1.07873	0.89057	0.41946	2.28599
	-0.14580	-1.25807	0.10183	0.41282	1.77116	-2.04689	-1.08946	0.29591	2.46973	0.65253	-0.42667
TUCUMANU	0.17306	-1.84314	-0.19626	1.38621	0.67051	2.22508	1.90740	-2.20429	-1.59785	-0.35362	0.79899
	-0.91918	-0.93377	0.07294	-0.56959	0.89334	1.23798	-1.86072	-0.39626	0.63709	0.22079	-0.45131
YATAYTI	2.71778	1.72350	0.94452	-1.29928	-0.63591	0.45570	1.07898	-0.11044	0.72919	-1.00307	-0.16044
	-0.48280	1.36670	1.15411	1.44674	-0.24569	-0.92226	0.04253	0.32972	0.90867	0.21895	0.06218
YOLANDLP	-2.00159	1.30523	-2.36205	-1.83458	-0.78403	0.60265	-1.67984	-0.25825	-0.68218	0.17858	-0.87790
	1.49637	0.82261	-0.97772	-0.12873	-0.01069	1.12411	0.39532	0.71356	-1.62088	0.22762	-0.05308

Tabla 3.1.1.III. Continuación.

	ARGENTIN	AUSTCLAR	AUSTMHER	AUSTNECO	AUSTORIE	BONETTOI	CURUZU	DORBIGNY	DORBINDR
ARGENTIN		13.43339	12.84320	12.15901	13.83507	7.45426	7.76443	8.36119	7.41786
AUSTCLAR	12.67365		5.78184	5.83646	5.09424	12.59920	11.69358	13.52183	12.58362
AUSTMHER	12.53238	4.89736		4.34926	6.63601	12.18957	10.01283	11.49724	10.81105
AUSTNECO	11.47183	5.02320	3.73980		6.37995	11.39635	9.59478	10.51106	10.35427
AUSTORIE	12.50151	4.18251	5.24767	5.33324		13.03636	11.22322	12.36553	11.86288
BONETTOI	7.94617	11.58515	11.75722	10.57396	11.49011		7.00094	9.40466	7.38463
CURUZU	7.81495	10.48941	9.39972	8.57215	9.54837	7.18962		5.18633	3.27855
DORBIGNY	7.84372	12.23388	10.73843	9.54464	10.92022	9.03694	4.61670		4.12587
DORBINDR	7.19630	11.36580	10.19311	9.33381	10.28854	7.46030	3.14400	3.63267	
DORRISUR	7.26344	10.56788	9.27896	8.32601	9.54474	7.25041	3.81968	4.24252	3.24278
KNIGHTII	9.45512	10.50618	10.10851	9.42173	9.87096	10.05858	8.72402	8.57224	7.99230
LATRO	6.52251	12.71866	12.77233	11.42670	12.42967	8.83486	8.97907	8.64862	8.39444
MAGELLAN	12.40189	8.36558	8.49028	8.51206	9.38723	12.59332	10.60908	11.03231	11.04039
MENDOCIN	11.36791	7.60490	7.86784	7.41796	7.54703	10.28781	9.37849	9.92477	10.06532
OCCULTUS	6.05339	12.80413	13.45558	12.53010	12.95940	7.75018	9.71507	10.00412	8.97524
OPIMUS	13.04866	11.47105	10.51834	10.35331	10.39230	14.31355	10.79950	9.39694	10.27033
PERRENSI	7.46911	10.91358	9.56916	8.75852	10.11541	8.19179	3.77627	3.35145	3.61808
PORTEOUS	9.50580	7.40061	7.51790	6.40141	7.52691	7.72483	8.18002	8.95478	8.73818
ROIGI	7.96683	11.73737	10.90563	10.02837	11.22749	8.12916	4.58189	4.74710	4.16687
SANROQUE	7.93813	10.10581	9.73758	8.47278	9.64906	8.83009	4.94525	4.98117	4.38385
TALAMAGD	8.95978	10.48348	12.23516	10.62614	11.48924	6.73823	9.49312	10.28068	9.41610
TALAMARC	9.33644	10.96337	12.90479	11.39873	12.01127	8.15237	10.78866	11.70784	10.95493
TUCONAXC	10.73447	13.04727	11.36199	11.36650	12.89233	14.21775	9.87488	9.29292	9.23852
TUCONAXI	9.75386	10.90730	9.40633	9.15741	10.42964	12.38016	9.03954	7.72349	7.44434
TUCUMANU	6.59904	11.06110	11.76626	10.78868	10.85135	9.03596	9.07244	8.88057	8.56855
YATAYTI	7.34549	11.23890	10.12650	8.91719	10.30197	8.24439	4.98042	3.82993	3.97886
YOLANDLP	7.54996	10.41320	10.17185	9.32094	10.49119	3.62852	6.37581	8.66088	7.13912

Tabla 3.1.1.IV. Matrices de distancias euclídeas para machos, basadas en los centroides del análisis discriminante de los datos originales (arriba de la diagonal) y en los centroides del análisis discriminante de los datos transformados a logaritmos y luego procesados para la eliminación de la componente tamaño (abajo de la diagonal)

	DORBISUR	KNIGHTII	LATRO	MAGELLAN	MENDOCIN	OCCULTUS	OPIMUS	PERRENSI	FORTEOUS
ARGENTIN	7.53744	8.73779	6.19640	12.10321	10.91073	5.76245	13.10999	7.89893	8.89396
AUSTCLAR	11.75936	11.92596	13.95181	9.25152	9.35784	13.96711	12.80518	12.03768	9.31706
AUSTMHER	9.93562	10.86913	13.26300	8.83983	8.75976	13.94331	11.10596	10.20027	8.59842
AUSTNECO	9.23178	10.98530	12.49657	9.29065	8.84895	13.53478	11.31195	9.71393	8.09113
AUSTORIE	11.07113	12.04528	14.39950	10.83914	9.95431	14.77630	11.99877	11.50193	10.08666
BONETTOI	7.39497	9.15393	7.97104	12.39954	9.85376	7.05113	14.33580	8.47311	7.28906
CURUZU	4.10696	8.49189	8.86260	10.48583	9.35359	9.55999	11.10623	4.24227	8.15197
DORBIGNY	4.56924	9.10407	9.59734	11.40937	10.49939	10.74185	9.79946	3.65572	9.56164
DORBINOR	3.52659	8.02705	8.70810	11.14728	10.23286	9.16302	10.64239	3.89135	8.86958
DORBISUR	████████	8.19911	9.42891	10.74211	9.66262	10.09704	10.96139	4.43603	8.30913
KNIGHTII	8.27350	████████	6.52276	9.25242	8.21678	7.88698	9.15081	8.29432	7.44900
LATRO	9.15952	7.62214	████████	11.08092	9.04954	4.37468	11.23565	9.49891	7.61429
MAGELLAN	10.54288	8.74286	10.91357	████████	7.98219	11.56416	9.03398	10.75629	8.01860
MENDOCIN	9.32966	8.47121	9.65872	7.58128	████████	10.29699	9.96482	9.65355	5.68521
OCCULTUS	9.85846	8.63719	5.02478	11.45494	10.97503	████████	13.01482	10.04194	7.93594
OPIMUS	10.63995	8.31224	10.56520	8.64312	9.70606	12.57490	████████	10.40607	10.25031
PERRENSI	4.09233	7.89856	8.77656	10.49866	9.22008	9.44145	9.96820	████████	9.21893
FORTEOUS	7.96548	8.04905	8.54543	7.62558	5.80804	0.73790	9.96676	8.69692	████████
ROIGI	5.52697	8.74578	0.60309	10.73710	10.41430	8.92485	10.45656	3.84537	9.41587
SANROQUE	5.91133	7.10572	7.67346	9.68283	9.38832	8.59052	9.08073	4.31623	0.42631
TALAMAGD	9.43378	9.38855	8.47542	11.12421	8.68482	7.70715	13.51861	9.22003	7.83006
TALAMARC	11.03015	10.54899	8.10514	12.00724	8.74068	8.04219	14.55795	10.62353	8.89005
TUCONAXC	10.26538	10.16455	10.47915	11.71530	11.93153	12.23229	9.69833	9.65493	11.55063
TUCONAXI	8.43496	7.75977	8.98260	9.77184	9.62971	11.07451	8.74989	7.84419	9.92184
TUCUMANU	8.67730	6.85384	5.36520	9.65884	7.82344	5.74685	10.85083	8.41963	7.53904
YATAYTI	4.24597	7.97693	8.13716	10.15214	9.71711	8.88601	9.83790	3.29765	8.73879
YOLANDLP	6.62915	9.93827	9.39785	11.83921	9.70698	8.41008	14.29392	7.31793	7.25939

Tabla 3.1.1.IV. Continuación

	ROIGI	SANROQUE	TALAMAGD	TALAMARC	TUCONAXC	TUCONAXI	TUCUMANU	YATAYTI	YOLANDLP
ARGENTIN	7.95737	7.75490	8.48257	8.82931	11.98135	11.19745	6.34786	7.40788	7.17984
AUSTCLAR	12.86369	11.30107	11.56015	12.09712	14.61715	12.42608	12.12767	12.42859	11.43355
AUSTMHER	11.46100	10.35648	12.68313	13.30979	12.61463	10.74526	12.35114	10.72797	10.69195
AUSTNECO	11.00340	9.57605	11.55090	12.32955	12.70407	10.50799	11.75688	9.89678	10.23303
AUSTORIE	12.76185	11.38480	13.12337	13.71938	14.77500	12.09250	12.54109	11.89329	12.10220
BONETTOI	7.95359	8.39101	6.36389	7.68585	15.27878	13.70134	8.57506	8.17771	3.40512
CURUZU	4.66624	5.00718	9.37736	10.58407	11.40990	9.85650	9.12135	5.10709	6.34045
DORBIGNY	5.23115	5.68928	10.83641	12.21521	10.55088	9.06727	9.55261	4.28032	9.16602
DORBINOR	4.20086	4.60889	9.52375	10.99200	10.76227	9.12874	8.85491	4.13543	7.21212
DORBISUR	5.76342	6.23909	9.65369	11.19113	11.54637	9.99693	9.07020	4.48976	6.89837
KNIGHTII	8.74286	6.89726	8.55692	9.58189	11.65832	10.27848	6.68826	7.07073	8.68737
LATRO	8.73427	7.55108	7.61136	7.16067	12.38044	11.50859	5.27139	8.28372	8.52159
MAGELLAN	10.81029	9.69549	11.13172	11.95149	12.74845	11.09533	9.76844	10.18411	11.67759
MENDOCIN	10.37654	9.23734	8.23394	8.19478	13.35773	11.64173	7.65257	9.70981	9.32860
OCCULTUS	9.02938	8.37565	7.02485	7.17160	13.83875	13.07975	5.59429	9.01731	7.68533
OPIMUS	10.95368	9.46392	13.67999	14.60773	10.77138	10.33939	11.22100	10.05880	14.30836
PERRENSI	4.16178	5.08580	9.68539	11.03746	11.04582	9.27907	8.95261	3.65143	7.74769
FORTEOUS	9.37634	8.19606	7.31567	8.20224	12.93042	11.92805	7.18750	8.75897	6.85646
ROIGI	████████	4.94314	9.51821	10.85361	11.78600	9.62637	9.01645	4.20725	7.88719
SANROQUE	4.78705	████████	8.31416	9.54627	9.95127	8.22625	7.77989	4.98926	7.92120
TALAMAGD	9.52172	8.58662	████████	3.45096	15.05120	13.47783	6.47043	9.40930	6.82535
TALAMARC	10.95734	9.89393	3.74203	████████	15.60392	13.93246	6.54317	10.68196	7.91601
TUCONAXC	10.22624	8.35646	13.94330	14.45370	████████	6.27931	12.23255	12.01729	14.17124
TUCONAXI	8.02184	6.20321	11.95952	12.34214	5.07693	████████	10.66795	9.79192	12.72497
TUCUMANU	8.93751	7.89017	6.92345	7.02504	10.82030	8.92024	████████	8.20690	8.43060
YATAYTI	4.11584	4.87032	9.39224	10.76236	10.61622	8.20078	8.09603	████████	8.21675
YOLANDLP	7.96610	8.221	7.27093	8.43305	12.88734	11.16442	8.81301	8.21086	████████

Tabla 3.1.1.IV. Continuación.

3.1.1.3.2. Estimación cualitativa.

En esta sección se presentan los resultados del análisis explicado en la sección 2.2.1.4.2. de Métodos. Se muestran para cada especie o población los centroides de los diferentes análisis discriminantes (AD, 26 pasos o AD en total) que se realizaron para reconstruir la filogenia y al mismo tiempo estimar las principales diferencias respecto a las variables craneométricas utilizadas que existen entre los grupos que surgen de cada dicotomización. La Tabla 3.1.1.V. muestra los porcentajes de la varianza total explicadas por cada función discriminante en cada paso. Las dos funciones explican desde un 58.29 al 100 de la varianza. La Tabla 3.1.1.VI. muestra los valores de los centroides para las dos funciones discriminantes remanentes de cada AD y para cada OTU, y al mismo tiempo los grupos formados por cada paso o AD. Cada grupo es estimado en cada paso, como ya se dijo en Métodos, dividiendo en dos una red de Prim basada en las distancias euclídeas, a partir de los centroides de cada OTU para las dos funciones discriminantes analizadas. El punto de separación corresponde a la rama que conecte dos OTUs que tenga la distancia máxima para esa red. La Tabla 3.1.1.VII. muestra las correlaciones existentes entre las variables originales y los ejes canónicos en cada paso o AD. Para facilitar la visualización de las variables importantes se muestran los valores de aquellas que alcanzaron más de un 30% de correlación con algún eje canónico. La Figura 3.1.1.I. muestra la topología de la filogenia estimada a partir de los 26 procesos de dicotomización. A continuación se analizarán los 26 pasos teniendo en cuenta para simplificar la interpretación, las dos variables con más alta correlación con cada uno de los ejes:

Paso 1. La primera dicotomización (que corresponde a un 58.29% de la varianza total entre todas las especies, Tabla 3.1.1.V.) produce la siguiente composición de los dos grupos (Tabla 3.1.1.VI.): 1) *occultus*, *latro*, *tucumanus*, *argentinus*, *talarum* (las dos poblaciones), *bonettoi* y *yolandae*; 2) el grupo de Corrientes (las tres poblaciones de *dorbignyi*, *perrensi*, *roigi*, *sp.* San Roque, *sp.* Yataytí-Calle y *sp.* Curuzú Laurel), *knightii*, *tuconax* (las dos poblaciones), *opimus* y el grupo de especies con espermio asimétrico (las cuatro poblaciones de *australis*, *magellanicus*, *porteousi*, y *mendocinus*, (ver Gallardo, 1979; Vitullo *et al.*, 1988; para una lista total de los tipos de espermios de cada especie, incluidas las aquí estudiadas, véase la sección 3.4.). El grupo 1 posee valores negativos de los centroides, salvo en un caso positivo cercano a cero, para ambos ejes canónicos. En el grupo 2 *knightii*, *tuconax* y *opimus* poseen valores positivos para ambos ejes. El resto se divide en dos grupos. Por un lado el grupo de Corrientes que posee valores positivos para el primer eje y negativos para el segundo, y por otro el grupo de especies de

espermio asimétrico que posee valores negativos o cercanos a cero para el primer eje y valores positivos altos para el segundo. El primer eje está correlacionado positivamente con el ancho de la caja cerebral (0.557) y el ancho rostral (0.452). El segundo lo está, también positivamente, con la longitud de la ampolla auditiva (0.514) y el ancho de la ampolla auditiva (0.38). La formación del grupo 1 está basada principalmente entonces, en un menor tamaño relativo de estas cuatro variables. Dentro del grupo 2 las especies *knightii*, *tuconax* y *opimus*, que poseen valores siempre positivos, se caracterizan por un mayor tamaño relativo de las mismas variables. En situación intermedia se encuentran el grupo de Corrientes que se diferencia del grupo 1 solo por su mayor tamaño relativo del ancho de la caja cerebral y ancho rostral y el grupo de especies de espermio asimétrico que lo hacen por las otras dos variables, el ancho y largo de la ampolla auditiva.

Función	Eigenvalue	Varianza	Porcentaje
Paso 1			
1	13.29167	31.16	31.16
2	11.56767	27.12	58.29
Paso 2			
1	13.95296	43.93	43.93
2	11.63406	36.63	80.56
Paso 3			
1	20.40804	51.12	51.12
2	4.96522	12.44	63.55
Paso 4			
1	16.98254	63.01	68.01
2	4.00383	16.64	84.65
Paso 5			
1	6.85632	100.00	100.00
Paso 6			
1	18.13844	59.51	59.51
2	3.55324	11.67	71.18
Paso 7			
1	13.20831	46.15	46.15
2	6.44121	22.51	68.66
Paso 8			
1	8.64708	62.86	62.86
2	3.50843	25.51	88.37
Paso 9			
1	5.67416	100.00	100.00
Paso 10			
1	5.90339	48.46	48.46
2	2.79172	22.92	71.38
Paso 11			
1	3047.50815	89.95	89.95
2	336.63993	9.94	99.88
Paso 12			
1	17.11182	61.67	61.67
2	6.06397	21.85	83.52
Paso 13			
1	341.46189	86.09	86.09
2	55.15390	13.91	100.00

Función	Eigenvalue	Varianza	Porcentaje
Paso 14			
1	5.30449	40.28	40.28
2	3.49422	26.94	66.82
Paso 15			
1	5.30449	40.28	40.28
2	3.49422	26.94	66.82
Paso 16			
1	18.24631	59.77	59.77
2	6.23290	20.42	80.19
Paso 17			
1	28.66965	100.00	100.00
Paso 18			
1	5.08406	48.76	48.76
2	2.18492	20.95	69.71
Paso 19			
1	2962.73577	100.00	100.00
Paso 20			
1	47.36896	65.26	65.26
2	20.93826	28.85	94.10
Paso 21			
1	445.82870	100.00	100.00
Paso 22			
1	8.09888	69.58	69.58
2	2.43245	20.90	90.48
Paso 23			
1	26.43109	74.96	74.96
2	8.83074	25.04	100.00
Paso 24			
1	8.16272	71.91	71.91
2	3.18903	28.09	100.00
Paso 25			
1	6369.73994	100.00	100.00
Paso 26			
1	4.41277	100.00	100.00

Tabla 3.1.1.V. Porcentajes de la varianza total explicadas por cada función discriminante en cada paso (1 al 26).

Especie	Paso 1		Paso 2/3		Paso 4/5/6/7		Paso 8/9/10/11/12		Paso 13/14/15/16	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
OCCULTUS	-2.05839	-3.90663	1.65015	-2.84559	-2.48691	-1.95296	-.68966	1.68506	41.6358	12.50663
LATRO	-.80937	-2.57157	3.86807	-3.34350	-2.40918	-3.86167	-1.09614	3.24477	-13.1249	5.77699
TUCUMANU	-2.05828	-1.42447	4.04340	-2.53814	-1.44849	-3.11124	-3.54329	-1.93776	-1.6590	-6.97799
ARGENTIN	.69712	-4.05016	.19014	-5.30648	-5.99787	1.07792	2.96431	-.69779		
TALAMAGD	-4.98180	-2.04710	1.31429	3.87602	3.39336	1.98778	2.27252	#####		
TALAMARC	-6.38997	-2.10213	2.93488	3.40057	3.68684	.52158	-2.30073	#####		
BONETTOI	-2.02784	-3.05425	-4.96495	.45213	2.78010	#####				
YOLANDLP	-1.36844	-1.76113	-5.77284	-.13195	-2.31675	#####				
CURUZU	3.29752	-.57777	-2.31406	-1.77990	-.75130	.86668	-2.00014	1.40884	.62405	2.86243
DORBINOR	3.86237	-1.40149	-2.65666	-2.61961	-.18162	.30317	-2.16402	.56361	2.21034	.62994
DORBIGNY	4.75232	-1.05363	-3.50172	-2.78425	-1.55793	-1.51009	.25611	-2.93582	-1.62655	-2.22235
YATAYTI	3.54997	-1.03169	-2.74060	-2.02911	-2.21723	.31184	.50832	.45224	-.46168	-.46549
SANROQUE	2.72428	-.27539	-.72747	-2.32770	.91637	1.14133	-1.28308	1.90625	-1.64230	3.65123
FERRENSI	3.66415	-.83609	-2.76333	-1.92302	-1.06173	-.65763	-.98406	-.41763	-.87167	1.14807
DORBISUR	3.23944	-.45609	-2.22558	-1.30428	-.73335	-1.57830	-3.27515	-.54635	5.35206	-.79726
ROIGI	3.86262	-1.83502	-3.57853	-2.95174	-2.83637	3.62676	3.06165	2.41604		
KNIGHTII	.60699	1.23099	1.16860	.26750	4.58521	-2.33587	-33.3891	-33.0495	-68.8912	4.03133
TUCONAXC	5.31165	2.03011	3.46304	-4.64506	11.75318	-2.56203	52.6511	19.87213	35.4372	1.80728
TUCONAXI	4.00710	2.26649	2.27882	-3.05732	9.04470	-.76325	4.7573	-10.6007	-7.8807	-3.41981
OPIMUS	3.97944	4.99740	1.66246	-1.34026	4.61052	-5.03436	-73.4213	6.58075		
AUSTCLAR	-2.48358	6.98710	6.14372	4.34001	3.83700	-.19427	-3.17598	-.52692	3.15665	3.35575
AUSTMER	.83494	7.48242	5.70932	2.05748	3.56002	.61560	-4.07419	.49387	3.80467	-.56572
AUSTNECO	.16892	6.15843	5.11616	1.89789	3.02879	2.00480	-2.84033	1.83612	-.11271	-2.51842
AUSTORIE	-.49820	6.66450	4.15443	3.59596	2.94190	-.30084	-3.13259	.62405	-.47488	-.53433
MAGELLAN	-.46062	5.67922	4.05387	2.25622	-1.19650	2.18642	1.30897	-6.56575	-7.24458	4.85172
PORTEOUS	-2.13562	3.10373	1.65711	4.71866	-3.60237	1.16190	5.12945	.41401		
NENDOCIN	-2.53616	4.40086	.26739	6.51121	-2.49900	-5.78844				

Tabla 3.1.1.VI. Se muestran para cada especie o población los centroides de los diferentes análisis discriminantes (AD, 26 en total) que se realizaron para reconstruir la filogenia y al mismo tiempo estimar las principales diferencias. Ver explicación en la sección 2.2.1.4 de Métodos. Las líneas dobles separan cada AD o paso y las simples marcan el punto de mayor dicotomía creado en cada paso por una red de Prim utilizando los centroides.

Especie	Paso 17/18/19/20		Paso 21/22/23		Paso 24/25		Paso 26
	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1
OCULTUS							
LATRO	6.22126	#####					
TUCUMANU	-4.14730	#####					
ARGENTIN							
TALAMAGD							
TALAMARC							
BONETTOI							
YOLANDLP							
CURUZU	3.63750	-1.71190	-24.0744	#####			
DORBINOR	.86702	-2.88627	16.0496	#####			
DORBIGNY	-2.39104	.28678	-2.72721	-.68587	-1.18570	-.99044	-.07937
YATAYTI	-.92311	1.25600	-.16803	3.00196	1.29831	4.92646	4.61667
SANROQUE	3.63825	1.57068	1.78936	4.14071	6.56884	.36444	
PERRENGI	.78596	1.20526	3.09267	-.58981			
DORRIBUS							
ROIGI							
KNIGHTII							
TUCONAXC	48.6845	#####					
TUCONAXI	-48.6845	#####					
OPINUS							
AUSTCLAR	1.2184	-6.65127	2.38282	6.39396	-92.8636	#####	
AUSTMER	8.5458	.66397	6.78067	-1.38306	58.0397	#####	
AUSTNECO	-2.6952	3.17121	-4.13497	-1.30658			
AUSTORIE	-15.6678	-11.3973					
MAGELLAN							
ORTEOUS							
MENDOCIN							

Tabla 3.1.1.VI. Continuación.

Variable	Paso 1		Paso 2		Paso 3		Paso 4		Paso 5	Paso 6	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F1	F2
L TOT CR											
L COND B											
L COND N	-0.034	0.354 ¹			0.311 ²	0.091					
L NASAL							0.006	0.353 ¹			
A NASAL									0.277		
A BIMEAT			-0.005	-0.316 ³			-0.203	-0.408 ²			
A BICIGO											
A BIMAST	0.239	0.355 ³	-0.032	-0.433 ¹	0.306 ³	-0.018	-0.371 ²	-0.246			
A FRONTA					0.039	-0.323 ⁴					
A ROSTRA	0.452 ²	-0.238	-0.447 ¹	-0.250	-0.225	-0.339 ⁴	-0.348 ³	0.348 ³			
A CAJ CE	0.557 ¹	0.038	0.048	-0.314 ⁴	-0.076	-0.409 ¹					
A FO PRE											
L CON PR											
L DIASTE	-0.367 ³	-0.321 ³									
L BUL TI	-0.094	0.514 ¹			0.138	0.406 ²					
A BUL TI	-0.083	0.384 ²			0.110	0.342 ³	0.219	-0.418 ¹			
A INCTSI	-0.338 ³	-0.044	0.097	0.335 ²	-0.133	0.324 ³	0.332 ⁴	0.058			
LARGOP4											
L S NOLA	0.324 ⁴	0.107									
A MANDIB											
ALTO CRA											
L BASAL											
L MAXI 1	-0.340 ⁴	0.163	0.355 ²	0.089	0.316 ¹	0.208	-0.395 ¹	0.355 ¹		0.303 ¹	0.057
AL MAXI 1			-0.211	-0.307 ³							

Tabla 3.1.1.VII. Correlaciones existentes entre las variables originales y los ejes canónicos en cada paso o AD. Para facilitar la visualización de las variables importantes solo se muestran los valores de aquellas que alcanzaron más de un 30% de correlación con algún eje canónico. Los supraíndices indican el orden, de mayor a menor, de las variables sobre la base de su correlación con los ejes canónicos. Ver punto 2.2.1.4 de Métodos.

Variable	Paso 7		Paso 8		Paso 9	Paso 10		Paso 11		Paso 12		Paso 13	
	F1	F2	F1	F2	F1	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
L TOT CR												-0.256	0.028
L COND B													
L COND N	0.335 ³	-0.062				-0.182	0.369 ²			-0.321 ¹	-0.263		
L NASAL	0.419 ¹	0.130	0.154	-0.375 ³		0.020	0.422 ¹	0.259	-0.613 ¹				
A NASAL			0.197	0.401 ¹				0.345 ¹	0.521 ²				
A BIMEAT								-0.274	-0.476 ⁴				
A BICIGO						0.317 ²	-0.038	-0.110	-0.492 ¹				
A BIMAST													
A FRONTA													
A ROSTRA			0.395 ¹	-0.245	0.317 ²					-0.070	0.307 ³		
A CAJ CE													
A FO PRE						0.437 ¹	0.021						
L CON PR													
L DIASTE	-0.377 ²	0.075								0.280	-0.473 ¹		
L BUL TI			-0.497 ¹	0.002		-0.021	-0.307 ⁴						
A BUL TI			-0.405 ²	0.214									
A INCTSI	-0.204	-0.315 ¹											
LARGOP4													
L S NOLA													
A MANDIB			0.042	0.377 ²	-0.416 ¹			-0.335 ²	0.298	-0.044	0.379 ¹		
ALTO CRA													
L BASAL													
L MAXI 1						-0.198	-0.339 ¹	0.050	-0.424 ²	-0.074	-0.370 ¹		
AL MAXI 1										-0.176	0.453 ²		

Tabla 3.1.1.VII. Continuación.

Variable	Paso 14		Paso 15		Paso 16		Paso 17	Paso 18		Paso 19	Paso 20	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F1	F2	F1	F1	F2
L TOT CR	0.269	0.013	0.034	0.681 ¹				0.054	-0.347 ¹			
L COND R												
L COND M												
L NASAL			0.341 ²	-0.549 ¹								
A NASAL			-0.183	-0.318 ¹								
A BIMEAT												
A BICIGD			0.357 ¹	0.323 ²								
A BIMAST												
A FRONTA			-0.660 ¹	-0.210								
A ROSTRA			0.335 ¹	-0.616 ²								
A CAJ CE			0.391 ²	0.224								
A FO PRE												
L CON PR					0.317 ¹	-0.077						
L DIASTE					-0.215	0.534 ¹	-0.223					
L BUL TI												
A BUL TI												
A INCTSI												
LARGOP4			0.446 ²	0.052								
L S MOLA												
A MANDIB												
ACTO CRA								0.322 ¹	0.037	-0.593 ¹	-0.161	0.351 ¹
L BASAL												
L MAXI I			0.053	0.603 ¹	-0.068	0.369 ¹						
AC_MAX_I					0.058	-0.529 ²						

Tabla 3.1.1.VII. Continuación.

Variable	Paso 21	Paso 22		Paso 23		Paso 24		Paso 25	Paso 26
	F1	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F1
L TOT CR									
L COND R									
L COND M	-0.374 ²								
L NASAL						0.367 ¹	0.064		
A NASAL									
A BIMEAT	0.453 ¹								
A BICIGD									
A BIMAST		-0.233	-0.085						
A FRONTA									
A ROSTRA									
A CAJ CE				0.080	-0.347 ²				
A FO PRE									
L CON PR	-0.369 ²								
L DIASTE								0.355 ²	0.305 ²
L BUL TI									
A BUL TI									
A INCTSI									
LARGOP4									
L S MOLA									
A MANDIB									
ACTO CRA				-0.149	-0.105				
L BASAL	-0.310 ¹								0.323 ¹
L MAXI I									
AC_MAX_I				0.033	-0.399 ¹			-0.455 ¹	

Tabla 3.1.1.VII. Continuación.

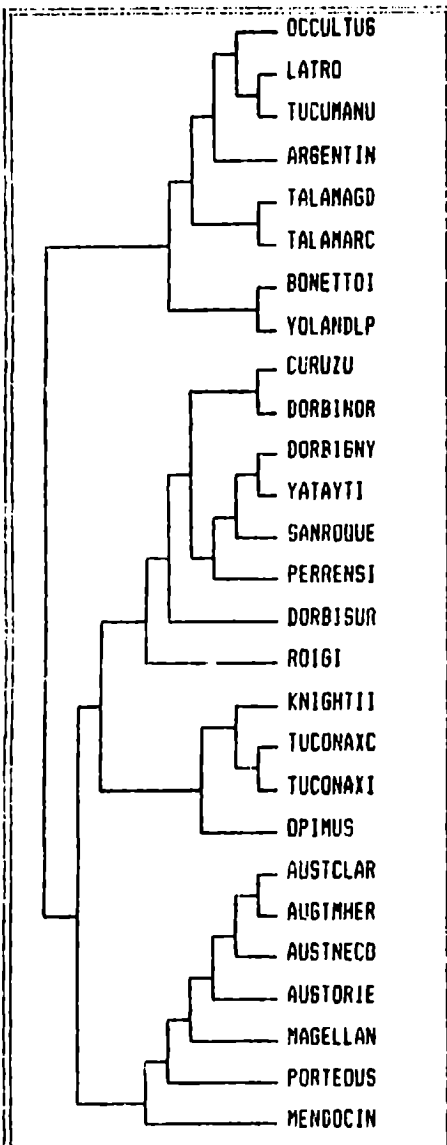


Figura 3.1.1.1. Topología de la filogenia estimada a partir de los 26 procesos de dicotomización

Paso 2. El segundo paso genera, a partir del grupo 1 del Paso 1, los grupos 1.1 con *occultus*, *latro*, *tucumanus*, *argentinus* y *talarum*, y 1.2 con *yolandae* y *bonettoi*. Para la primera función, el grupo 1.1 tiene centroides todos positivos, mientras que 1.2 los tiene negativos. Para la segunda función no existen tendencias netas que contrasten ambos grupos. Con la primera función están correlacionados el ancho rostral, negativamente, y la longitud del maxilar inferior, positivamente. Por lo tanto el grupo 1.1 está caracterizado por tener menor ancho rostral y menor longitud del maxilar inferior respecto del grupo 1.2.

Paso 3. El tercer paso se basa en el grupo 2 del Paso 1. Aquí los grupos formados son 2.1 (grupo de Corrientes más *knightii*, *tuconax* y *opimus*) y 2.2 (grupo de especies con espermio asimétrico). Para la primer función discriminante, el grupo de Corrientes posee valores negativos de centroides, mientras que en el resto de 2.1 son positivos, con valor máximo de 3.46304 en *tuconax*. En el grupo 2.2 los valores para esta función son positivos todos, la mayoría mayores que los valores positivos de 2.1, salvo los valores de *porteousi* y *mendocinus*. La segunda función, si bien

explica solo un 12.44% de la variabilidad, es más contrastante respecto de los dos grupos. En el grupo 2.1 los valores son negativos salvo el de *knightii* que es cercano a cero. Por el contrario en el 2.2 los valores son todos positivos y mayores a 1. Las variables correlacionadas con la primer función discriminantes son la longitud del maxilar inferior y la longitud cóndilo nasal, ambas positivamente. Con la segunda función, el ancho de la caja cerebral y la longitud de la ampolla auditiva, la primera negativa y la segunda positivamente. El grupo 2.1 se caracteriza entonces por un

menor tamaño relativo de la longitud del maxilar inferior y de la longitud cóndilo nasal, respecto del 2.2, principalmente el grupo de Corrientes. También poseen menor ancho de caja cerebral y longitud de ampolia auditiva.

Paso 4. Este paso se basa en los OTUs incluidos en el grupo 1.1 del Paso 2, *occultus*, *latro*, *tucumanus*, *argentinus* y *talarum*. La dicotomización separa *talarum* (1.1.2) del resto (1.1.1.). El primer eje canónico explica un 68% de la variabilidad y el segundo un 16%. Para el primer eje el grupo 1.1.1 tiene valores netamente negativos, mientras que 1.1.2 los posee positivos. El segundo eje no es tan distintivo en sus valores. El ancho bimastróideo y la altura del maxilar inferior están correlacionados negativamente con la primera función, por lo tanto el grupo 1.1.1 posee valores mayores que 1.1.2 del tamaño relativo de esas variables.

Paso 5. Aquí el análisis discriminante no es seguido por una búsqueda de máxima separación para la dicotomización ya que son solo dos especies las que hay que analizar, *yolandae* y *bonettoi*, del grupo 1.2 del Paso 2. Por esta misma razón solo hay una sola función discriminante que explica, obviamente, el 100% de las diferencias. Está correlacionado positivamente con esta función el ancho de los nasales, con un valor de solo 0.277. La especie con mayor valor de centroide para esta función es *bonettoi*, diferenciándose entonces esta especie por su mayor ancho de los nasales con respecto a *yolandae*.

Paso 6. Comprende los OTUs del grupo 2.1 del Paso 3. La dicotomización forma los siguientes grupos. El 2.1.1 con las especies del grupo de Corrientes y el 2.1.2 con *knightii*, *tucunax* y *opimus*. La primera función, que explica el 59.51% de la variabilidad, está correlacionado positivamente con solo una variable que supera el 30%, la longitud del maxilar inferior. Para esta función los centroides del grupo 2.1.1 están netamente diferenciados de los del grupo 2.1.2, con valores negativos o cercanos a cero, contra altos valores positivos del grupo 2.1.2. La segunda función explica un 11.67%, no posee ninguna variable con una correlación alta, y los centroides de ambos grupos no están netamente diferenciados. De acuerdo a lo expuesto, el grupo 2.1.1 se diferencia del 2.1.2 por poseer valores relativos de tamaño menores para la longitud del maxilar inferior.

Paso 7. Incluye los OTUs del grupo 2.2 del Paso 3, que se corresponden con las especies de espermio asimétrico. La dicotomización separa *mendocinus* del resto. De esta manera, quedan incluidos en un mismo grupo

(2.2.1) parte de los miembros del grupo *mendocinus* (Massarini *et al. en prensa*) que comparten todos el mismo cariotipo, con una especie de cariotipo totalmente diferente, *magellanicus*. La primera función aporta el 44.15% y la segunda el 22.51% de la varianza, por lo que el segundo eje es importante en la caracterización de los grupos. El primer eje diferencia netamente *mendocinus* (valor de centroide igual a -2.499) de *australis* principalmente (el menor valor de centroide para una población de esta especie es de 2.9419) y en menor medida de *magellanicus* (centroide igual a -1.1965). No sucede así con *porteousi*, que posee una tendencia opuesta a la de su grupo, respecto a *mendocinus* con un centroide de -3.60237. La segunda función posee centroides bien distintivos entre los dos grupos, siendo *porteousi* uno de los más discriminados respecto a *mendocinus*, lo que habría determinado la inclusión del primero en el grupo 2.2.1. Para esta función, *mendocinus* posee un valor mucho más bajo de centroide que los correspondientes al grupo 2.2.1. Correlacionados con el primer eje canónico están, positivamente, el largo nasal, y negativamente la longitud del diastema. Con el segundo eje, solo está correlacionado de manera importante el ancho de los incisivos, negativamente. El grupo 2.2.1 entonces se diferencia de 2.2.2, *mendocinus*, por una combinación de caracteres: mayor longitud del nasal, menor longitud del diastema y menor ancho de los incisivos, siempre en relación al tamaño relativo con otras variables.

Paso 8. Incluye el grupo 1.1.1 del Paso 4. Se separan aquí, *occultus*, *latro* y *tucumanus*, por un lado (1.1.1.1) y *argentinus* por otro (1.1.1.2). La primera función explica un 62.86% y la segunda un 25.51%, totalizando ambas un 88.37%. Los centroides del grupo 1.1.1.1 para la primera función son negativos y positivos para *argentinus*. Los centroides de la segunda función no tienen una tendencia neta en la diferenciación de los grupos. La distinción de los grupos está basada en el menor tamaño relativo en *argentinus*, del ancho y largo de la apolla auditiva, pues estas variables están correlacionadas negativamente con el primer eje canónico.

Paso 9. En este paso se comparan solo las dos poblaciones de *talarum*, y en consecuencia hay un único eje discriminante. Están correlacionados el ancho mandibular, negativamente y el ancho rostral, positivamente. La población de Magdalena posee un valor de centroide mayor que la de Camet Norte, por lo que la primera está caracterizada por un menor tamaño relativo del ancho mandibular y mayor del ancho rostral.

- Paso 10. Las OTUs que intervienen en este análisis son las del grupo de Corrientes (grupo 2.1.1 del Paso 6). Se separa aquí del resto (2.1.1.1), *roigi* (2.1.1.2). En ambas funciones, esta especie posee valores más altos y positivos de centroides que las demás. Las variables correlacionadas con los ejes canónicos son el ancho del forámen preorbitario y ancho bicigomático, con el primero, y la longitud nasal y la longitud cóndilo nasal con el segundo, en todos los casos positivamente. Por lo tanto *roigi* posee tamaños relativos más grandes que el resto del grupo para las cuatro variables mencionadas.
- Paso 11. Se comparan *knightii*, *tuconax* y *opimus* (2.1.2., Paso 6). Esta última especie (2.1.2.2) queda separada del resto (2.1.2.1). En este caso, el primer eje explica 89.95% mientras que el segundo prácticamente explica muy poco, solo 9.94%. Para el primero, *opimus* tiene el valor más bajo. Este eje, está positivamente correlacionado con el ancho nasal y negativamente con el ancho mandibular, indicando un menor y un mayor tamaño relativo de estas variables, respectivamente, para *opimus*, en relación a *knightii* y *tuconax*.
- Paso 12. Incluidos aquí estén *australis*, *magellanicus* y *porteousi* (2.2.1). Los grupos resultantes incluyen a *australis* y *magellanicus* por un lado (2.2.1.1) y a *porteousi* (2.2.1.2) por otro. Se evidencia aquí que es *australis*, la especie del grupo *mendocinus* causante de la formación de un grupo común con *magellanicus*. El primer eje explica un 61.67% y es el único que expresa claramente las diferencias entre ambos grupos. El grupo 2.2.1.1 posee valores mucho más bajos que *porteousi* para el eje. Una sola variable alcanza a superar el 30% de correlación, la longitud cóndilo nasal, que lo hace de forma negativa. De esta manera se indica que *porteousi* posee valores relativos más bajos que el grupo 2.2.1.1 para esa variable.
- Paso 13. Se analizan *occultus*, *latro* y *tucumanus* (grupo 1.1.1.1 del Paso 8). Claramente *occultus* se separa de las otras dos especies, con valores mucho más altos para ambas funciones que las otras dos. Sin embargo, una sola variable, el largo total, se correlaciona relativamente bien (-0.256) con alguna de ellas: la primera función. Esto indicaría que las diferencias no son debidas principalmente a alguna variable, y que la mayor diferencia reside en un largo total menor para *occultus*, esto es, esta especie tiene la relación largo/ancho del cráneo, relativamente un poco menor.
- Paso 14. Análisis hecho sobre el grupo 2.1.1.1 del Paso 10. Al igual que en este paso, uno de los grupos (2.1.1.1.2) posee un solo OTU, *dorbignyi* de Esquina, una de las tres poblaciones de esta especie

analizarlas. Quedan de esta manera separadas en grupos diferentes dos poblaciones de la misma especie que tienen el mismo cariotipo de $2n=70$, Esquina y Mbarigüí. Se desconoce el cariotipo de la tercera, de Loma Alta (ver Sección 3.2.). Para la primera función (40.28% de la varianza), *dorbignyi* de Esquina posee el valor más alto. Para la segunda (26.54%), el más bajo. Exactamente el mismo caso que en el Paso 13 ocurre aquí, en cuanto a la correlación de los ejes canónicos con las variables originales, aunque aquí la correlación del largo total del cráneo es positiva. Entonces la relación largo/ancho es relativa y escasamente mayor para *dorbignyi* de Esquina.

Paso 15. Se contrastan los OTUs del grupo 2.1.2.1, Paso 11, *knightii* (2.1.2.1.1) y las dos poblaciones de *tuconax* (2.1.2.1.2). Queda netamente separado *knightii* de las dos poblaciones de *tuconax* por ambas funciones, especialmente la primera. Para ésta, *knightii* posee valores muy bajos en relación a *tuconax*. Para la segunda, posee un valor de centroide más alto. Con el primer eje se correlacionan, negativamente, el ancho frontal y positivamente, el largo del P4. Con el segundo, mencionaré a tres, el largo total del cráneo, de forma positiva, el ancho rostral, negativamente, y la longitud del maxilar inferior, positivamente. Entonces, *knightii* posee, en tamaños relativos y respecto a *tuconax*: mayor ancho frontal, menor largo del P4, mayor longitud total, menor ancho rostral y mayor longitud del maxilar inferior.

Paso 16. Se comparan entre sí las cuatro poblaciones de *australis* y *magellanicus* (grupo 2.2.1.1, Paso 12). La dicotomización separa las poblaciones de *australis* (2.2.1.1.1) de *magellanicus* (2.2.1.1.2). Para la primera función (59.77%) *magellanicus* posee el valor de centroide más bajo y para la segunda (20.42%) el más alto. La longitud cóndilo premolar se correlaciona positivamente con el primer eje, mientras que la longitud de la diastema y la altura del maxilar inferior lo hacen con el segundo eje, de forma positiva y negativa respectivamente. Por lo tanto *magellanicus* se diferencia de *australis* por poseer menor longitud relativa de la distancia cóndilo-premolar, mayor longitud de la diastema y menor altura del maxilar inferior.

Paso 17. En este paso se comparan *latro* y *tucumanus*. Ninguna variable se correlaciona preponderantemente con la única función discriminante. La de mayor correlación es la longitud de la diastema, que lo hace negativamente con un valor de -0.223. Como *latro* posee un mayor valor de centroide que *tucumanus*, la primera posee menor tamaño

relativo que la segunda respecto de la variable mencionada, siendo esta la única diferencia.

- Paso 18. Se analiza aquí el grupo 2.1.1.1.1 del Paso 14. Los nuevos grupos formados están compuestos por *sp.* de Curuzú Laurel y *dorbignyi* de Loma Alta por un lado (grupo 2.1.1.1.1.1), y por el otro *dorbignyi* (Mbarigui), *perrensi*, y *sp.* de San Roque y de Yatayti-Calle (grupo 2.1.1.1.1.2). El primer eje (48.76% de la variabilidad) no refleja una tendencia neta en la diferenciación de los dos grupos. Más claro aparece en la distinción el segundo eje, con valores de centroides negativos para el grupo 2.1.1.1.1.1 y positivos para 2.1.1.1.1.2. La única variable con valor alto de correlación con el segundo eje es el largo total del cráneo, que lo hace negativamente. Por lo tanto el grupo 2.1.1.1.1.1 se diferencia del 2.1.1.1.1.2 por una mayor longitud total relativa del cráneo.
- Paso 19. Se comparan las dos poblaciones de *tuconax* (2.1.2.1.2, del paso 15). La única variable correlacionada con la función discriminante es el alto del cráneo, que lo hace negativamente. Esto indica que la población de Concepción por tener valor de centroide más alto en el eje canónico, posee menor alto del cráneo relativo que la población de El Infiernillo.
- Paso 20. La comparación se realiza entre las cuatro poblaciones de *australis* (2.2.1.1.1 del paso 16). La dicotomización separa una de las poblaciones de las demás, la población de Oriente (2.2.1.1.1.2). En ambos ejes esta población tiene valores de centroide más bajos que el resto (2.2.1.1.1.1), pero es solo en la segunda función que claramente se distingue una variable original importante en la discriminación, el alto del cráneo, con correlación negativa. Por lo tanto la población de Oriente se distingue por un mayor tamaño relativo del alto del cráneo.
- Paso 21. Se contrastan *sp.* de Curuzú Laurel y *dorbignyi* de Loma Alta (grupo 2.1.1.1.1.1 del Paso 18). El ancho bimeatal y la longitud cóndilo-nasal, se correlacionan con la función discriminante, la primera positiva y la segunda negativamente. El mayor valor de centroide le corresponde a *dorbignyi*, por lo que se infiere que esta especie se diferencia principalmente de *sp.* de Curuzú Laurel por el mayor ancho bimeatal y su menor longitud cóndilo-nasal relativas.
- Paso 22. Se comparan el grupo 2.1.1.1.1.2 del Paso 18, *dorbignyi*, *perrensi* y *sp.* de San Roque y Yatayti-Calle. Se formó un grupo (2.1.1.1.1.2.1) con *dorbignyi* y las dos *sp.* por un lado y *perrensi* (2.1.1.1.1.2.2) por otro. Esta especie tuvo el valor de centroide más alto para la primera función y el más bajo para la segunda. Con ninguna de estas

dos funciones hubo alta correlación con alguna variable. Solo el ancho bimastróideo alcanzó una correlación negativa de -0.233 con la primera función. Por lo tanto, *perrensi* se distinguiría del grupo 2.1.1.1.1.2.1 por un menor valor relativo para la variable señalada.

Paso 23. Se compara aquí uno de los grupos del Paso 20, que está formado por tres poblaciones de *australis* (2.2.1.1.1.1). La población que queda separada en este análisis es la de Necochea (2.2.1.1.1.1.2.). Las dos funciones discriminantes suman el 100% de la varianza, con 74.96% la primera de ellas. Si bien *australis* de Necochea posee los valores más negativos para ambas funciones, es la primera la que más claramente posee valores distintivos. Sin embargo no hay ninguna variable fuertemente correlacionada con ella, siendo el alto del cráneo, el que más lo hace, y de forma negativa. Con la segunda hay dos variables correlacionadas en más de un 30%, la altura del maxilar inferior y el ancho de la caja craneana, ambas negativamente. La población de Necochea, entonces, se separa de las otras dos (2.2.1.1.1.1.1.) por tener un más altos tamaños relativos para las tres variables mencionadas.

Paso 24. Comprende el grupo 2.1.1.1.1.2.1 del Paso 22. Incluidos están los siguientes OTUs, *dorbignyi*, sp. de Yataytí-Calle, y sp. de San Roque. Este último OTU (2.1.1.1.1.2.1.2) es el que se separa de los otros dos (2.1.1.1.1.2.1.1), en este análisis. La primera función (71.91%) es la que más evidencia las diferencias entre los centroides de ambos grupos, teniendo sp. de San Roque el valor más alto. La segunda función explica mucha menos variabilidad y los centroides de ambos grupos no están diferenciados. Una sola variable está correlacionada fuertemente, la longitud nasal, de manera positiva; de esta manera sp. de San Roque se caracteriza por un mayor tamaño relativo de esta variable.

Paso 25. Se contrastan las últimas dos poblaciones de *australis*, Claromecó y Monte Hermoso. La primera población posee un valor de centroide menor, para una función discriminante que está correlacionada negativamente con la altura del maxilar inferior y positivamente con la longitud de la diastema. Por lo tanto Claromecó se diferencia de Monte Hermoso por una mayor altura relativa del maxilar inferior y menor longitud relativa de la diastema.

Paso 26. Por último se comparan *dorbignyi* y sp. de Yataytí-Calle. La primera especie con valor de centroide menor que la segunda. Dos variables están correlacionadas positivamente con la única función discriminante, la longitud basal y la longitud de la diastema, separándose entonces morfológicamente ambos OTUs, por un menor tamaño

relativo de ambas variables en *dorbignyi*.

Para dar una idea de la importancia de cada variable en el total de las discriminaciones, se sumaron todas las oportunidades en que una variable participó con 30% o más de correlación con algún eje canónico. Si una variable participó en los dos ejes de un análisis se consideró como una sola participación. La Figura 3.1.1.II. muestra estos resultados. En la misma, las variables fueron separadas en cuatro secciones: (1)mandíbula, y variables que miden (2)alturas, (3)anchos y (4)largos del cráneo.

La media, por variable, de el total de participaciones de todas las variables es de 3.83±4. Un test de χ^2 , suponiendo como valor esperado la media de 3.83, dió como resultado el valor 31.5492 con 22 grados de libertad, y una $p=0.0854123$. Este valor de p está en el límite de lo aceptable para que la distribución de valores observados sea explicada por el azar.

De las cuatro secciones en que fueron separadas las variables, la mandíbula parece aportar mayor variabilidad entre los grupos formados. La media para mandíbula es de 6.33, el χ^2 incluyendo solo sus tres variables resultó significativo (7.17146, $p=0.0277164$). Otra sección cuyo χ^2 resultó significativo fué el largo del cráneo. En este caso, si bien la media de este grupo (3.1) ronda el valor esperado (3.88) aparecen variables que superan o están por debajo 2 o más unidades de la media general (o valor esperado).

Las variables que más aportaron a las 26 discriminaciones fueron, en el siguiente orden de importancia:

- 1)Longitud del maxilar inferior
- 1)Ancho rostral
- 2)Ancho de la mandíbula
- 2)Longitud del nasal
- 3)Longitud cóndilo-nasal
- 3)Longitud de la diastema

3.1.1.4. Estimación de la filogenia sobre la base de la morfología craneana.

Todos los métodos se basaron en las matrices de distancias euclídeas obtenidas a partir de los centroides. La Tabla 3.1.1.iv. muestra las matrices de distancias utilizadas en el análisis con y sin la componente tamaño. La excepción en la utilización de matriz de distancias es el método de máxima verosimilitud, que parte directamente de los centroides. Este método no es aconsejado para datos morfológicos (Felsenstein, 1981a). Seguramente las funciones discriminantes no han evolucionado según un modelo de movimiento Browniano, pero al menos tienen la particularidad de ser independientes entre sí, que es una condición del modelo para las variables a utilizar.

3.1.1.5.1. Aproximación del análisis cualitativo.

Como resultado de los 26 pasos de dicotomización, es posible la

construcción de una filogenia, pero cuyas longitudes de brazos no son determinables, debido a que tienen cada, una diferente escala, por haber sido armadas de forma independiente unas de otras (Figura 3.1.1.I.). Existen cuatro grupo claramente distinguibles. El primero lo forman *occultus*, *latro*, *tucumanus*, *argentinus*, *talarum*, *bonettoi* y *yolandae*. Este es el grupo más separado, que forma un grupo hermano con el resto de las especies. Un segundo grupo lo forman todas las especies de Corrientes. El tercer grupo, que se une al de Corrientes, está formado por *knightii*, *tucenax* y *opimus*. El cuarto grupo lo componen las especies de espermio asimétrico, que forma un grupo hermano a los dos anteriores.

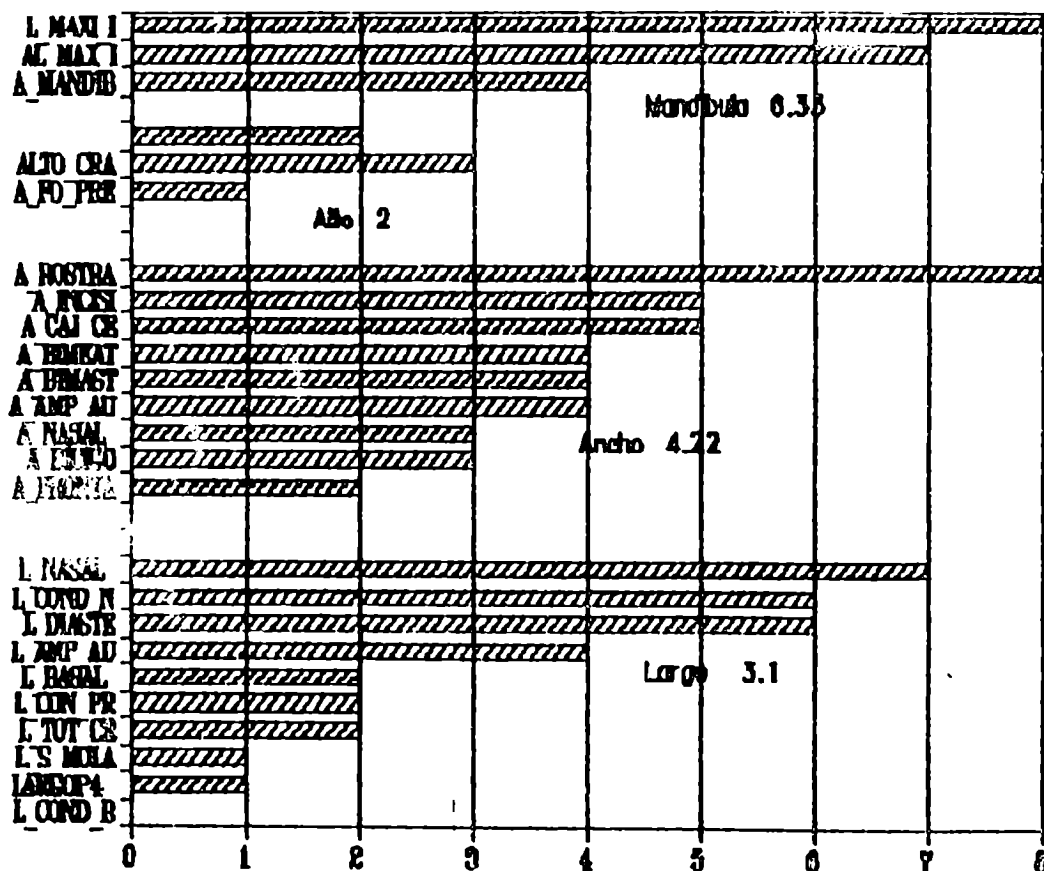


Figura 3.1.1.II. Suma de las participaciones de cada variable en los 26 Pasos discriminantes. Se consideraron solo aquellos casos en la variable tuvo un 30% o más de correlación con algún eje discriminante. Si una variable participó en los dos ejes de un análisis se consideró como una sola participación. Las variables fueron separadas en cuatro secciones: mandíbula, variables que miden alturas, anchos y largos del cráneo; se indican a la izquierda de cada rótulo la media por sección.

3.1.1.5.2. Aproximación fenética.

A partir de las matrices de distancias euclídeas que se muestran en la Tabla 3.1.1.IV. se construyeron sendos fenogramas utilizando el método de agrupamiento UPGMA. Debido a que existieron diferentes alternativas de unión de los subgrupos, durante el proceso de elaboración del fenograma, surgieron dos topologías diferentes en cada análisis, aunque con diferentes coeficientes

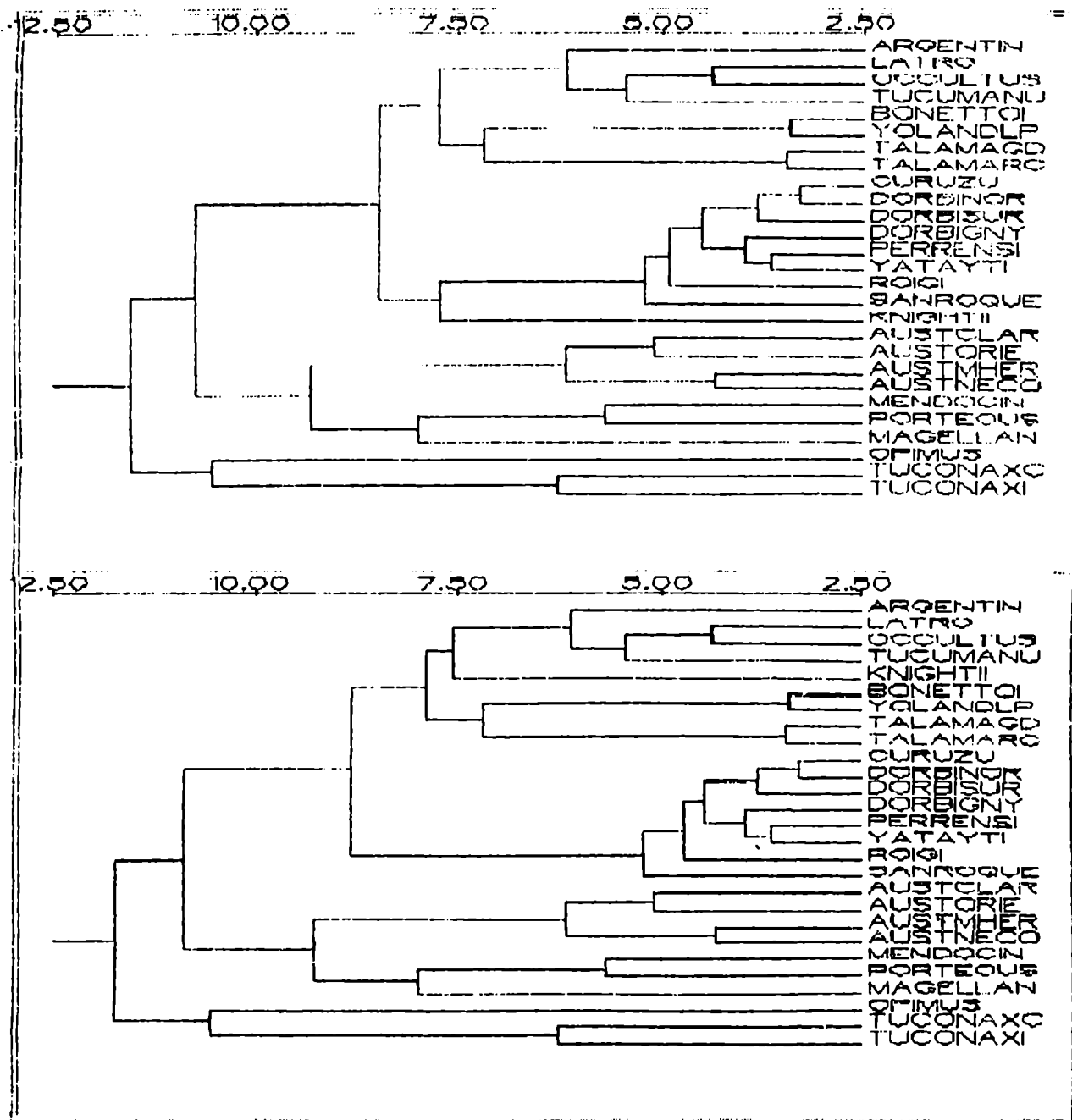


Figura 3.1.1.III. Fenogramas obtenidos a partir de la matriz de distancias euclídeas basada en los centroides para cada OTU del análisis discriminante global con datos de medidas directas de ejemplares macho. Arriba fenograma a, abajo fenograma b. Coeficientes de correlación cofenética, a.=0.83582, b.= 0.83685.

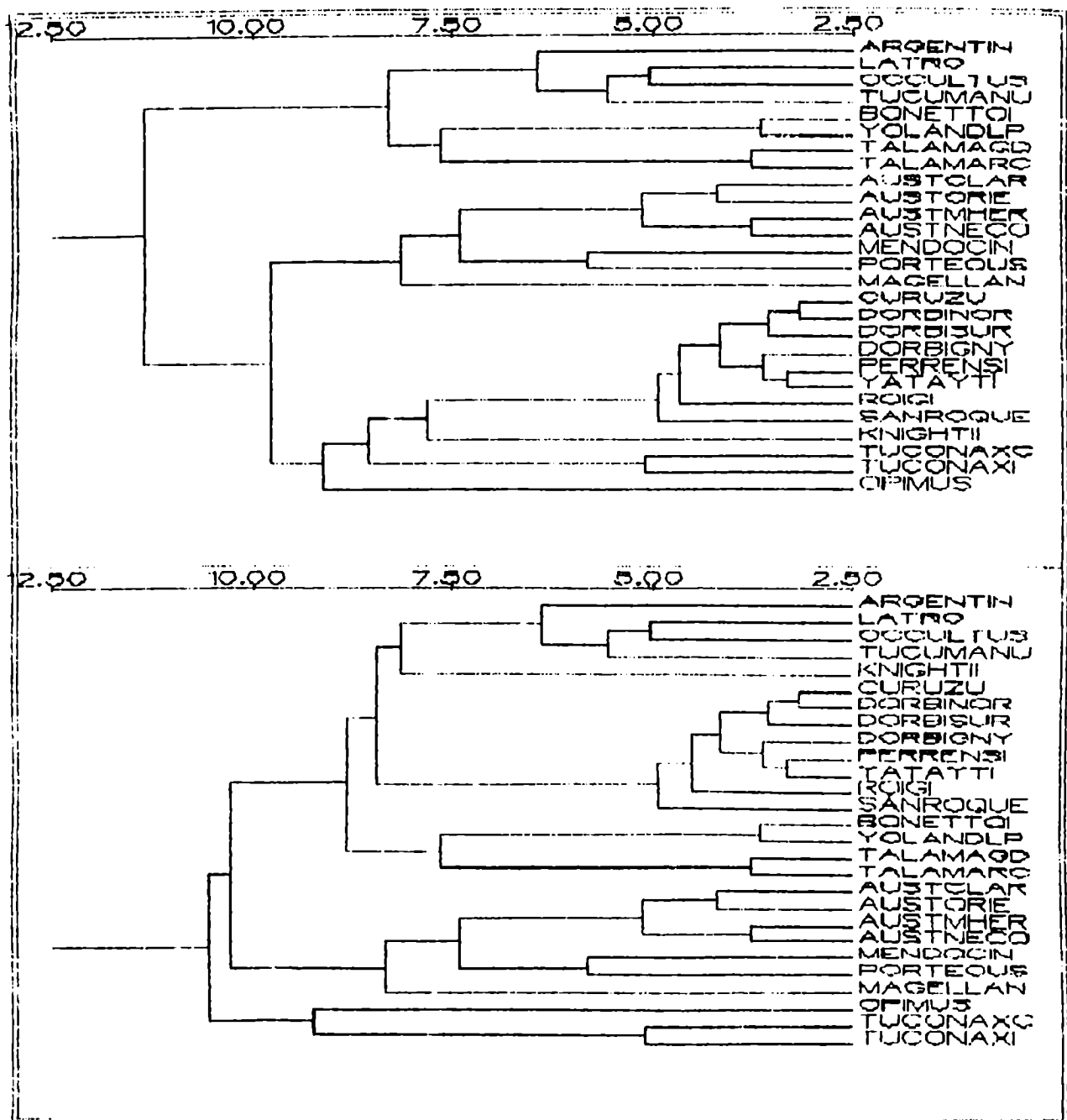


Figura 3.1.1.IV. Fenograma obtenidos a partir de la matriz de distancias euclídeas basada en los centroides para cada OTU del análisis discriminante global con datos procesado para la eliminación del tamaño en ejemplares macho. Arriba fenograma a, abajo fenograma b. Coeficientes de correlación cofenética, a.=0.75441, b.= 0.82916.

de correlación cofenética. Las Figuras 3.1.1.III. y 3.1.1.IV. muestran los resultados obtenidos para datos con y sin el componente tamaño respectivamente.

El resultado de los cuatro fenogramas es muy similar dentro de cada grupo, evidenciando que dentro de cada uno de ellos no existe influencia del

tamaño que enmascare diferencias de forma. Debemos referirnos sólo a los resultados obtenidos dentro de cada grupo debido a que si aparecen diferencias de relaciones entre los grupos por efectos del tamaño que cambian la ubicación relativa de determinados grupo, pero que no son suficientes para alterar las composiciones de OTUs de cada grupo formado. La excepción en la relación dentro de grupo es el compuesto por las especies de espermio asimétrico: las 4 poblaciones de *australis*, *mendocinus*, *porteousi* y *magellanicus*.

En el análisis en el que el factor tamaño permanece, *porteousi* y *mendocinus* forman un subgrupo con *magellanicus* separado de las poblaciones de *australis*. En el otro análisis, por otro lado, *magellanicus* aparece como el más apartado respecto a los demás dentro de este grupo. Massarini *et al.* (*en prensa*) muestran que *australis*, *mendocinus* y *porteousi* comparten el mismo cariotipo, al menos al nivel de bandas G. Este cariotipo es bien diferente del de *magellanicus*. Esto pone de manifiesto que existe un efecto distorsionador debido al mayor tamaño general de *australis* en el primer análisis, que altera la reconstrucción de las relaciones de parentesco.

La topología obtenida por ambos análisis define los mismos grupos, salvo las diferencias recién mencionadas, más las debidas a las diferentes relaciones de *knightii* y el subgrupo *opimus-tuconax*. Se pueden diferenciar cinco grupos permanentes en total. Un grupo está formado por 3 especies de la Provincia de Tucumán, Argentina y por una relativamente alejada, de la Provincia del Chaco, Argentina, *latro*, *occultus* y *tucumanus* por un lado *argentinus* por otro. Un segundo está compuesto por *bonettoi*, *yolandae* y las dos poblaciones de *talarum*. Los ocho OTU's de la Provincia de Corrientes, *perrensi*, *dorbignyi* (las tres poblaciones), *roigi*, *sp.* (Curuzi Laurel), *sp.* (Yatayti-Calle) y *sp.* (San Roque) forman otro grupo. El cuarto grupo lo forman las dos poblaciones de *tuconax* y *opimus*. Por último, está el grupo de especies con espermio asimétrico mencionado anteriormente.

Una diferencia entre las cuatro topologías de ambos análisis surge del agrupamiento que se une al grupo de *argentinus*, *latro*, *occultus* y *tucumanus*. En el análisis que excluye el tamaño, fenograma b, es el grupo de Corrientes el que se une al mismo, mientras que en las restantes tres topologías es el grupo de *talarum*, *bonettoi* y *yolandae* el que lo hace. Por lo tanto, estas diferencias en las topologías no se deben a efectos del tamaño, sino a una débil estabilidad de los resultados de este algoritmo en combinación con estos datos (vease los resultados de otros algoritmos).

La ubicación de *knightii*, como se dijo antes, es variable. En dos fenogramas, los "a" de los análisis con y sin tamaño, se une con el grupo Corrientes, mientras que en los "b", lo hace con el grupo de *latro*, *occultus*, *tucumanus* y *argentinus*. Estas variaciones, como antes, no pueden deberse entonces a problemas de tamaños relativos, sino a la forma de agrupar del

algoritmo.

Lo mismo ocurre con *opimus-tuconax*, que en tres fenogramas es el grupo que se une en último término al resto de las especies, mientras que en un fenograma se une, junto con *knightii* al grupo de Corrientes.

El fenograma "a" del análisis sin tamaño tiene una topología similar a la formada en el análisis cualitativo.

Si entrar en la descripción más detallada de las topologías es importante resaltar aquí algunos puntos de estos resultados. El primero, ya señalado, es que todas las especies de espermio asimétrico forman un grupo homogéneo. Segundo, en todos los casos las poblaciones de una misma especie aparecen más emparentadas entre sí. Tercero y muy importante, el nivel al que se diferencian poblaciones locales de *australis*, *tuconax* y *talarum* es igual o mayor que el nivel al que se diferencian especies bien caracterizadas, como es el caso de las existentes en el grupo de Corrientes, y entre *latro* y *occultus*. Debemos resaltar aquí los resultados obtenidos en el aspecto cromosómico, detallados en la sección 3.2. El grupo de Corrientes comprende especies y poblaciones que poseen un rango del número diploide de 42 a 70 y sin embargo sus diferencias morfológicas están por debajo de las de poblaciones de otras especies del género. Más aún, dos poblaciones de la misma especie, con el mismo cariotipo (ver sección 3.2.) quedan ubicadas en grupos diferentes.

3.1.1.5.3. Aproximación por Fitch & Margolinsh.

A partir de la matriz de distancias euclídeas basadas en el análisis donde se extrajo el componente de tamaño, se realizaron 10 estimaciones de la filogenia que variaron en el orden de entrada de los OTUs en el algoritmo. En la Figura 3.1.1.V. se muestra el árbol más corto obtenido. La Tabla 3.1.1.VIII. muestra los largos de los brazos entre OTUs y ancestros hipotéticos (AH).

El aspecto general de la topología del árbol obtenido con este método es similar al hallado con UPGMA. Sin embargo existen ciertas discrepancias. En el grupo de especies asimétricas, que aquí nuevamente forma un solo grupo, un ancestro hipotético ligado a *magellanicus* aparece intercalado entre *australis* y *mendocinus + porteousi*, indicando que la primera especie podría ser un derivado (siempre suponiendo que las especies de espermio simétrico son primitivas) del grupo homocariotípico denominado *mendocinus* (Massarini *et al.* en prensa). Este mismo resultado se obtuvo en el análisis de la sección 3.1.1.5.1., utilizando los resultados de los 26 AD. Aquí también, como en la sección mencionada recién y en varios fenogramas, *knightii*, aparece intercalado en el grupo de *opimus* y *tuconax*. En el grupo de Corrientes existen diferencias de relaciones intragrupalas. En este árbol

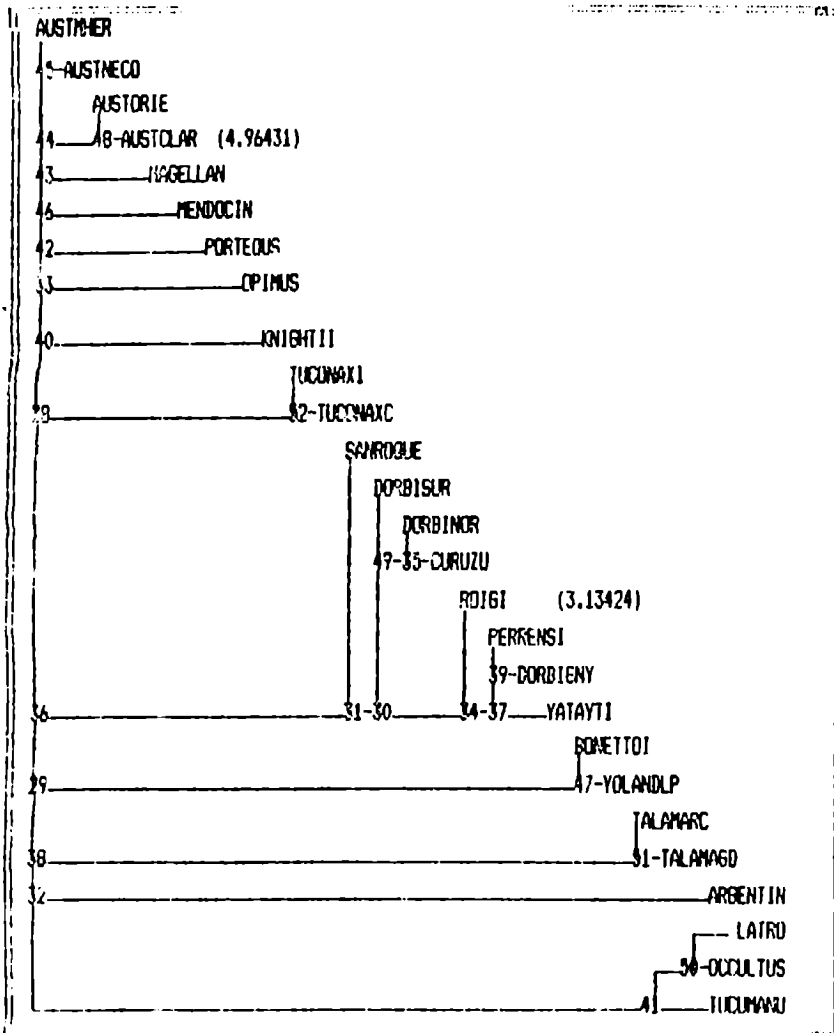


Figura 3.1.1.V. Árbol obtenido con el método de Fitch y Margoliash a partir de la matriz de distancias basada en el análisis sin el componente tamaño. A la altura de dos grupos (australis y Corrientes) se indican entre parentesis la distancia máxima que existe entre el ancestro común a de dichos grupos y algún miembro de los mismos. Las longitudes de las ramas no son proporcionales al largo de las mismas en la figura (consultese Tabla 3.1.1.IX).

OTU/AH	AH	Dist.	OTU/AH	AH	Dist.	OTU/AH	AH	Dist.	OTU/AH	AH	Dist.
ARGENTIN	32	3.09003	42	33	0.61113	OPINUS	33	5.23662	ROIGI	34	2.28604
41	32	0.35511	46	32	0.28506	52	28	2.50300	37	34	0.14785
50	41	0.63048	43	46	0.04144	TUCUNAXI	52	1.56327	39	37	0.07508
LATRO	50	2.29310	44	43	1.79696	TUCUNAXC	52	3.49373	PERRENSI	39	1.43946
OCULTUS	50	2.73190	45	44	0.36172	31	36	1.00933	DORBIENY	39	1.91134
TUCUMANU	41	2.41497	AUSTMER	45	2.17701	SANROQUE	31	2.11279	YATAYTI	37	1.80895
38	32	0.38954	AUSTNECO	45	1.56299	30	31	0.61395	47	29	1.83248
29	38	0.51138	48	44	0.78131	49	30	0.25155	BONETTOI	47	2.01500
36	29	0.70354	AUSTORIE	48	2.04876	DORBIUR	49	1.85001	YOLANDLP	47	1.61400
28	36	0.45717	AUSTCLAR	48	2.13424	35	49	0.08961	51	38	2.46748
40	28	0.08998	MAGELLAN	43	4.31355	DORBINOR	35	1.40590	TALAMARC	51	2.28528
KNIGHTII	40	3.63516	MENDOCIN	46	3.21988	CURUZU	35	1.73810	TALAMAGO	51	1.45672
33	40	0.63815	PORTEOUS	42	2.53232	34	30	0.23425	Total		81.2911

Tabla 3.1.1.VIII. Largo de los brazos del árbol obtenido con el método de Fitch y Margoliash a partir de la matriz de distancias basada en el análisis sin el componente tamaño. #=ancestro hipotético. Dist.=distancia o largo. Largo total=81.2911.

roigi se sitúa de forma más emparentada a *perrensi*, *dorbigny* y *sp.* de *Yatayti-Calle*, mientras que en el árbol basado en UPGMA se situaba como segunda especie más diferenciada del grupo, y en el análisis cualitativo la más alejada. Aquí es el grupo Corrientes el que más se emparenta al formado por *argentinus*, *tucumanus*, *latro* y *occultus*.

Esta aproximación coincide con los resultados del UPGMA en que las diferencias dentro del grupo Corrientes (con rango de 2n de 42 a 70) son menores que las de poblaciones locales en otras especies. Por ejemplo, la distancia máxima entre el ancestro hipotético de las cuatro poblaciones de *australis*

y la población más alejada a él es de 4.96431, mientras que la máxima distancia entre el ancestro hipotético común del grupo Corrientes y la especie más diferenciada es 3.13424 (ver Figura 3.1.1.V. y Tabla 3.1.1.VIII.). También aquí, las dos poblaciones

de *dorbignyi* con igual cariotipo de 70 se ubican cada una, más cercanas a otras especies que entre sí.

3.1.1.5.4. Aproximación por Máxima Verosimilitud.

A partir de los valores de los centroides de cada OTU obtenidos del análisis discriminante basado en los datos sin el factor tamaño, se obtuvo el árbol que se muestra en la Figura 3.1.1.VI. Los largos de las ramas y sus correspondientes intervalos de confianza se muestran en la Tabla 3.1.1.IX.

La topología del árbol obtenido por MV difiere bastante de las halladas por los anteriores métodos, quizá debido a lo ya señalado, que este método no es adecuado para el análisis de variables morfométricas, aunque en este caso se refiera a variables ortogonales (independientes) que representan los

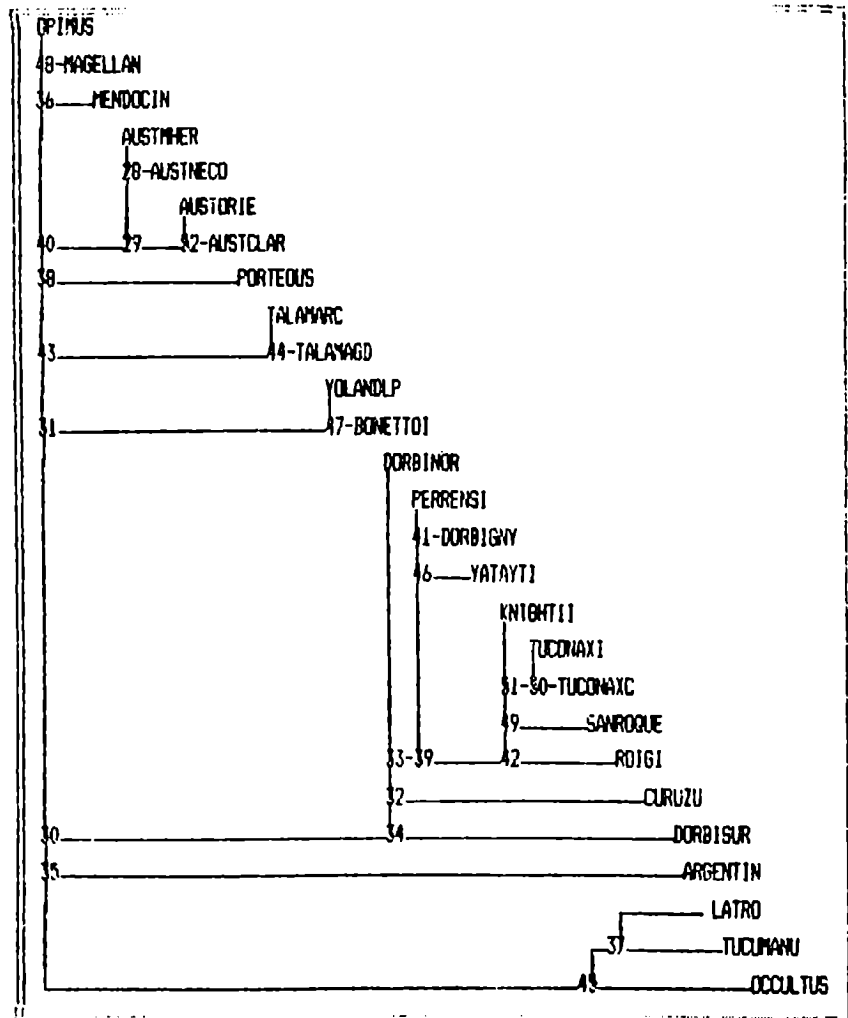


Figura 3.1.1.VI. Árbol obtenido por el método de máxima verosimilitud a partir de los valores de los centroides de cada OTU obtenidos del análisis discriminante basado en los datos sin el factor tamaño. Las longitudes de las ramas no son proporcionales al largo de las mismas en la figura (consultese Tabla 3.1.1.IX.).

centroides de los OTUs en los diferentes ejes canónicos.

Las diferencias son las siguientes. Incluido en el grupo de especies con espermio asimétrico aparece *opimus*, de espermio simétrico. Se mantiene la existencia del grupo formado por *latro*, *occultus* y *tucumanus*, con *argentinus* estrechamente ligado a ellos. También las especies de Corrientes se mantienen como un solo grupo, pero en este análisis aparecen incluidos *knighthii* y las dos poblaciones de *tuconax*. El grupo más cercano al formado por *latro*, *occultus*, *tucumanus* y *argentinus* es el de *yolandae*, *bonettoi* y *talarum* (dist

OTU/AH	AH	Dist.	Inter.Confi.	OTU/AH	AH	Dist.	Inter.Confi.	OTU/AH	AH	Dist.	Inter.Confi.	OTU/AH	AH	Dist.	Inter.Confi.
ARGENTIN	35	0.6362	0.076,1.386	MAGELLAN	48	0.8110	-0.031,1.940	TALAMAGD	44	0.000	-0.235,0.315	YATAYTI	46	0.322	0.123,0.588
45	35	0.5313	-0.068,1.334	OPIMUS	48	2.5845	1.037,4.557	47	31	0.463	-0.080,1.193	42	39	0.061	-0.142,0.335
37	45	0.1008	-0.286,0.620	MENDOCIN	35	0.7923	0.188,1.601	YOLANDLP	47	0.259	0.004,0.600	49	42	0.592	0.226,1.082
LAIRO	37	0.5573	0.136,1.121	29	40	1.0697	0.268,2.143	BORRITTOI	47	0.339	0.067,0.703	51	49	0.628	-0.027,1.509
TUCUMANU	37	0.7511	0.249,1.423	28	29	0.1700	-0.180,0.640	34	30	1.017	0.223,2.081	KNIGHTII	51	1.637	0.610,3.012
OCULATUS	45	0.5575	0.131,1.128	AUSTINER	28	0.3603	0.088,0.725	32	34	0.093	-0.103,0.359	50	51	1.099	0.314,2.152
30	35	0.8210	0.007,1.911	AUSTINCO	28	0.2751	0.028,0.605	33	32	0.036	-0.097,0.217	TUCONAXI	50	0.000	-0.336,0.450
31	30	0.5901	-0.278,1.285	52	29	0.3179	-0.070,0.839	DORRINOR	33	0.167	-0.003,0.257	TUCONAXC	50	1.171	0.584,1.958
43	31	0.2403	-0.416,1.120	AUSTORIE	52	0.4681	0.128,0.923	39	33	0.191	0.011,0.431	SANROQUE	49	0.023	-0.216,0.346
38	43	1.4343	0.503,2.681	AUSTCLAR	52	0.3270	0.032,0.721	46	39	0.057	-0.083,0.248	RO161	42	0.428	0.151,0.799
40	38	0.6692	0.119,1.406	FORTEOUS	38	0.0000	-0.345,0.453	41	46	0.003	-0.116,0.164	CURUZU	32	0.299	0.106,0.557
36	40	0.1148	-0.428,0.842	44	43	1.3521	0.458,2.550	PERRENSI	41	0.167	0.037,0.342	DORRISUR	34	0.258	0.042,0.537
48	36	0.9847	0.017,2.279	TALAMARC	44	0.6364	0.317,1.054	DORRIGNY	41	0.343	0.134,0.622	Total: 26.5461			

Tabla 3.1.1.IX. Largos de las ramas y sus correspondientes intervalos de confianza del árbol obtenido por el método de máxima verosimilitud.

AR30-AR31=0.39, con un intervalo de confianza que incluye distancia 0), con Corrientes un poco más alejado (dist AR30-AR34=1.02, con un intervalo de confianza cuyo límite inferior es mayor a 0).

Al igual que en los anteriores árboles existe una diferenciación mayor entre poblaciones locales de una misma especie que las diferencias existentes entre especies plenas del grupo de Corrientes. La distancia mayor al antecesor común de las poblaciones de *australis* es de 0.7860, mientras que la distancia máxima entre las poblaciones de Corrientes es de 0.974 entre *dorbignyi* (población norte) y *sp.* de San Roque, quedando la mayoría de las distancias del grupo Corrientes por debajo de las de *australis*. Nuevamente, también, las dos poblaciones de *dorbignyi* (Mbarigui y Esquina) con igual cariotipo $2n=70$, se asemejan más a otras especies que entre sí.

3.1.1.5.5. Aproximación por el Método del Vecino más próximo.

Utilizando la matriz de distancias basada en los datos sin la componente tamaño, se obtuvo con el método del vecino más próximo el árbol que se muestra en la Figura 3.1.1.VII.

La topología de este árbol se diferencia bastante de las observadas con otros métodos. Una diferencia notable es que el grupo de Corrientes queda como un grupo parafilético porque uno de sus OTUs, *sp.* de San Roque, aparece con un ancestro que da origen a OTUs no incluidos al mismo. En el resto de los árboles es siempre San Roque el que aparece como el más diferenciado del resto de las OTUs del grupo de Corrientes. En este caso esta mayor diferenciación provocó que quedara excluida del mismo.

Al igual que con el MV, *opimus* aparece incluido en el grupo de especies con espermio asimétrico, relacionado con *magellanicus*.

Parece existir una situación intermedia para la ubicación de *tucanax* y *knightii*, esta última más cercana a San Roque, que la primera (ver

longitudes de las ramas en la Figura 3.1.1.VII.). En los fenogramas "b" del UPGMA, *knightii* está relacionado al grupo de *occultus*, *tucumanus*, *latro* y *argentinus*, el que a su vez está más cercano al de Corrientes en algunos casos. Mientras tanto, *tuconax* forma un grupo con *opimus*. El comportamiento "errático" de *knightii*-*tuconax* puede obedecer a una mayor o menor preponderancia de la afinidad que existe entre *knightii*-San Roque por un lado contra la existente entre *tuconax*-*opimus*.

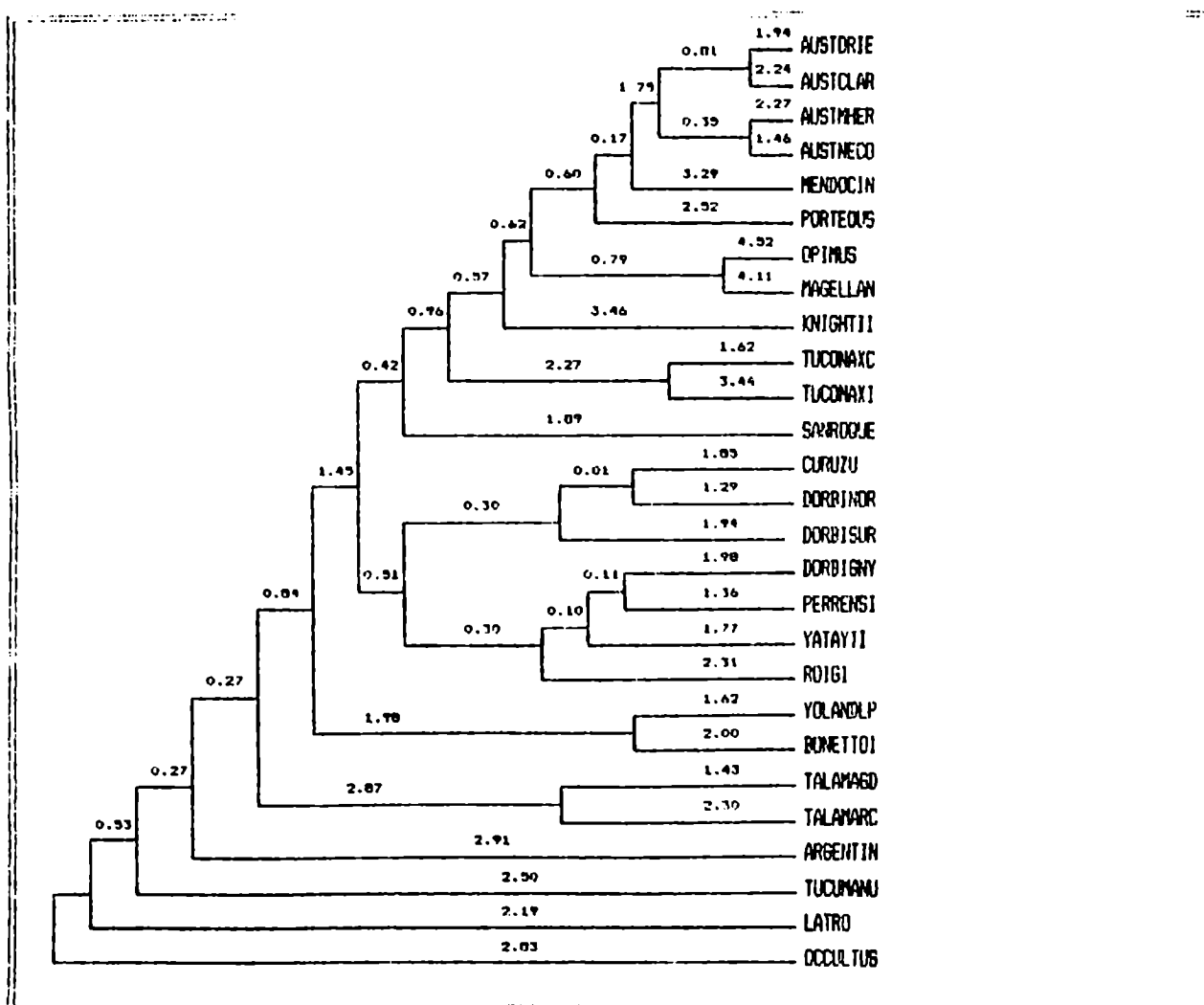


Figura 3.1.1.VII. Arbol obtenido con el método del vecino más próximo. Las longitudes de las ramas no son proporcionales al largo ilustrado, indicándose las mismas arriba de cada una.

En este análisis, otra vez son *talarum* y *yolandae-bonettoi* los más cercanos a el grupo de *argentinus*, *tucumanus*, *occultus* y *latro*. El promedio de distancias entre los OTUs de Corrientes (incluyendo San Roque) respecto de *argentinus* es de 4.96, mientras que los promedios de *talarum* y *yolandae-bonettoi* son 4.74 y 4.63 respectivamente.

También aquí la máxima distancia entre el antecesor común a las poblaciones de *australis* (3.05) es similar a la máxima distancia de un OTU del grupo de Corrientes (incluyendo San Roque) al antecesor común al mismo (3.12). Al igual de lo que sucede con todos los anteriores métodos, las dos poblaciones de *dorbignyi* se separan en diferentes grupos.

3.1.2. Hembras.

Como primer paso en el análisis morfológico, al igual que con los machos, fueron medidas en todos los individuos analizados las 24 variables craneométricas, cuyas medias aritméticas y desvíos estándar se muestran en la Tabla 3.1.2.1.

OTU	L TOT CR	L COND B	L COND N	L NASAL	A NASAL	A BIMEAT	A BICIS	A BIMA8T
ARGENTIN	42.30333	37.78524	38.48810	14.33932	6.23762	24.74238	26.70905	24.35619
	1.39004	0.77910	0.78240	0.62582	0.39847	0.77555	0.65292	0.59427
AUSTNECO	50.10174	46.34565	48.06087	18.45478	7.44870	29.69661	28.45733	28.46565
	1.89293	1.79943	1.64752	1.00938	0.45681	0.96039	1.13004	0.86789
BONETTOI	40.78235	37.61176	38.55294	14.44118	6.53329	24.21176	24.50000	23.18235
	0.56262	0.74740	0.74592	0.67644	0.34810	0.42261	0.45139	0.50650
CURUZU	46.07600	41.55000	43.11600	15.98800	6.63600	27.44600	29.28400	25.42400
	2.13126	1.77079	2.38496	0.74143	0.45632	0.76294	1.52017	1.20701
DORBIGNY	48.11421	43.67368	43.78316	16.39789	7.82789	27.90421	30.07684	27.21579
	1.01809	0.92065	0.90741	0.73142	0.58071	0.53198	0.61334	0.64400
DORBINOR	45.00714	40.56429	41.42143	15.36429	7.02857	26.57143	27.84286	25.05714
	0.84258	0.79286	0.66730	0.65116	0.51654	0.75185	0.52728	0.69361
DORBISUR	46.48333	41.48333	42.25833	15.56667	6.70000	26.63333	27.92500	25.29000
	2.05905	1.78826	1.53295	0.85847	0.73237	0.93550	1.10382	0.84100
LATRO	36.90190	33.10143	34.30048	12.01714	5.55095	22.80857	23.58905	21.90524
	0.88601	0.90861	0.96110	0.63231	0.36143	0.65508	0.56450	0.78119
MAGELLAN	49.78714	44.31571	45.66414	17.07143	7.26857	29.87286	29.24571	28.17286
	2.15692	1.75874	1.97170	0.93821	0.47904	1.16592	1.46435	1.17101
MENDOCIN	42.52188	38.76469	40.52588	14.58494	5.77594	26.33532	25.80541	24.65978
	1.11165	1.05655	0.82468	0.33611	0.26133	1.04337	1.11974	0.99608
OCCULTUS	38.46750	34.49500	35.47250	12.88500	6.14250	23.67250	24.55250	22.76500
	2.54547	2.37417	2.48723	1.39903	0.33272	2.21069	1.49431	1.68280
OPINUS	46.90250	42.14750	44.51500	17.40250	7.08500	30.10250	29.91500	28.49750
	1.41864	1.19543	0.99561	0.63434	0.42108	1.00871	1.08214	0.76172
PERRENSI	47.32200	43.09800	43.65333	16.33067	7.29667	27.67600	29.64267	25.61733
	2.25319	1.87342	2.09396	1.25924	0.57223	1.28185	1.06355	1.25755
PERTEOUS	40.89800	37.58158	39.31420	14.53315	6.01890	25.49300	24.36600	24.89380
	0.90563	0.92684	0.82659	0.60325	0.25823	0.63284	0.65479	0.61994
ROIGI	44.73571	40.25429	41.36952	16.15048	7.06048	25.99857	28.42333	24.65762
	0.33941	0.67175	0.99702	0.36062	0.52326	0.04950	0.88388	0.28284
SANROQUE	45.44000	40.77500	42.37500	16.87500	7.93000	27.03500	28.58500	24.80000
	1.95129	1.73534	1.58438	0.76199	0.34277	1.10700	1.14970	0.87529
TALAMAGO	39.39091	36.34200	37.15350	14.00114	6.44105	22.94682	23.94239	21.69893
	1.18340	1.15491	1.17287	0.66632	0.22731	0.50362	0.72156	0.50152
TALAMAR	37.71087	34.84370	35.27204	12.84443	5.88435	21.99115	23.49489	20.90261
	2.69223	2.30784	2.27098	1.31218	0.49243	1.76346	1.92619	1.14477
TUCONAXI	53.73333	47.39333	48.41667	18.09000	8.49667	32.51000	31.92333	30.62667
	1.28969	1.38818	1.55107	1.07872	0.63311	0.76061	0.83942	1.05014
TUCUMANU	41.16500	37.35275	37.35600	13.74357	5.67825	25.18480	26.26857	23.88993
	0.76080	0.74792	0.63822	0.63691	0.36119	0.33921	0.62143	0.65821
YATAYTI	46.99000	41.86333	43.01667	16.44333	7.11667	27.54667	29.34333	25.66000
	1.57296	1.87081	2.19372	1.25266	0.45791	1.21082	1.47985	1.08226
YOLANDLP	40.76667	37.80556	39.05556	14.87222	6.28889	24.57222	23.98333	23.18333
	2.20400	1.78374	2.12731	0.52374	0.69616	1.33974	2.58003	1.28889

Tabla 3.1.2.1. Medias aritméticas y desvíos estándar de las 24 variables craneométricas medidas en hembras para 22 OTUs.

OTU	A FRONTA	A ROSTRA	A CAJ CE	A FO PRE	L CON PR	L DIASTE	L RUL TI	A RUL TI
ARGENTIN	8.71476	10.03190	15.88857	9.56932	26.09143	11.92429	13.68048	6.42095
	0.60952	0.29277	0.55392	0.41374	0.52979	0.78737	0.58141	0.37233
AUSTINECO	9.31739	12.05478	18.07304	9.96696	33.32826	13.12913	18.10870	8.88391
	0.42736	0.48089	0.46630	0.44637	1.12299	0.79893	0.50377	0.28801
BONETTOI	7.84706	9.93329	13.71765	8.35294	26.52941	11.02333	14.02941	7.24118
	0.28310	0.23964	0.31669	0.44317	0.51571	0.70669	0.50592	0.28297
CURUZU	9.56600	11.24000	19.04800	9.54200	29.07400	12.74400	13.84800	8.03600
	0.50377	0.52134	0.63097	0.30186	0.97687	0.84834	0.76379	0.24835
DORBIGNY	10.00000	11.99709	19.27211	10.17033	30.38316	13.18158	16.39684	8.16000
	0.51316	0.36343	0.50045	0.36432	0.75649	0.58195	0.43330	0.38029
DORBINOR	9.15714	11.26429	18.32143	9.24286	28.65000	11.97857	13.18571	7.17143
	0.50340	0.34554	0.59637	0.35239	0.55988	0.42640	0.44869	0.40464
DORBISUR	9.36667	11.40833	18.25000	9.94167	28.90833	12.86667	13.67500	7.14167
	0.53485	0.46409	0.70000	0.65430	1.18740	1.01921	0.63264	0.26443
LATRO	7.89000	8.16857	13.86476	7.64667	23.70190	9.68952	13.20762	6.87000
	0.57200	0.35292	0.43398	0.29428	0.63510	0.43619	0.20907	0.24174
MAGELLAN	9.96143	11.03714	19.09000	10.01143	30.45143	14.12429	16.94000	9.07286
	0.49581	0.60675	0.53953	0.36988	1.82790	0.86649	0.98723	0.58341
MENDOCIN	7.99688	9.34931	16.87950	7.94325	27.77879	11.07925	16.33394	9.30231
	0.50868	0.38047	0.61674	0.42066	0.61397	0.43362	0.64820	0.60296
OCCULTUS	8.39230	8.77750	16.09500	8.02750	24.38250	11.01250	13.94500	7.39250
	0.65383	0.37274	0.25226	0.38888	1.47373	0.88379	1.09710	0.49257
OPINUS	10.19750	11.38000	19.44500	9.92750	29.76750	12.55750	18.66500	9.20250
	0.66913	0.60642	0.78963	0.56276	0.79676	0.57470	0.66263	0.50562
PERRENSI	9.66533	11.76533	18.81867	10.31600	30.02133	13.28000	13.96800	8.14933
	0.34686	0.58584	0.68827	0.44151	1.13693	0.87466	0.74431	0.44490
PORTEOUS	8.04200	9.28833	16.21758	7.95875	27.07108	10.89110	16.06890	8.60665
	0.39615	0.34679	0.55966	0.39525	0.51666	0.46896	0.51168	0.43835
ROBI	8.89333	10.98667	18.93233	9.84333	28.15000	12.22286	14.91095	7.52333
	0.86267	0.26870	0.08485	0.09899	0.36569	0.41012	0.27577	0.31820
SANROQUE	9.94000	10.89000	18.87000	9.28000	28.71000	11.94000	13.62500	7.76500
	0.53973	0.48780	0.56422	0.46019	1.07126	0.79718	0.62446	0.43493
TALAMAGD	7.95227	8.97975	13.35850	7.96759	26.11125	10.84436	14.40636	7.26364
	0.27310	0.31796	0.35718	0.39803	0.76703	0.48568	0.47418	0.39036
TALAMAR	7.50000	8.44083	14.77037	7.34400	24.81241	10.43391	13.93670	7.18761
	0.48813	0.84107	0.90433	0.72643	1.46358	1.09542	0.77047	0.53679
TUCONAXI	10.59000	13.31333	19.84333	11.16333	32.82667	14.65667	17.29333	9.05000
	0.52915	0.70854	0.31575	0.15275	1.10256	0.24705	0.45059	0.50402
TUCUMANU	8.67071	9.34600	15.04154	8.41414	25.91511	11.82514	14.72593	7.66654
	0.42183	0.47709	0.61848	0.41302	0.30586	0.33470	0.35002	0.37136
YATAYTI	9.40000	11.73667	18.97000	9.83333	29.05667	13.23667	15.83667	7.63667
	0.85287	0.89864	0.57018	0.21474	1.16931	0.66520	1.50584	0.85160
YOLANDLP	7.98333	10.20556	15.83889	8.30000	27.07778	10.65556	13.66111	7.54444
	0.54809	0.89540	0.47690	0.82367	1.69025	0.38553	0.32747	0.35511

Tabla 3.1.2.1. Continuación.

OTU	A INC181	LARBOP4	L B MOLA	A MANDIB	ALTO CRA	L BAGAL	L MAXI I	AL MAX I
ARGENTIN	5.81762	3.30762	9.17857	32.29905	14.57619	40.31667	30.12333	12.01524
	0.42810	0.20647	0.32220	1.33812	0.44167	0.88739	1.10453	0.31220
AUSTNECO	7.11589	4.45652	11.41826	41.02652	17.65826	49.14130	37.64957	14.83087
	0.48398	0.32168	0.68321	1.94132	0.69029	2.01380	1.70126	0.77398
BONETTOI	5.97059	3.20000	8.74118	31.75082	14.17647	39.75882	28.34706	11.27412
	0.58605	0.19039	0.48226	1.44701	0.39770	0.64329	0.72208	0.34905
CURUZU	6.28200	3.47800	10.00600	35.06200	16.48800	44.24400	33.03800	12.92000
	0.68001	0.12814	0.18325	1.28776	0.78187	2.01114	1.61060	0.94776
DORBIGNY	6.74611	3.86368	10.74421	36.80000	17.42789	46.31789	34.45895	13.94158
	0.25215	0.20042	0.39104	0.86346	0.42427	1.16260	0.67677	0.62411
DORBINOR	6.34286	3.60714	10.32857	34.40714	15.97857	43.28571	32.02143	12.00000
	0.20649	0.13281	0.31483	1.07950	0.62901	0.92724	1.58414	0.47356
DORBSUR	6.60833	3.64167	10.30833	34.14167	16.59167	43.99167	32.79167	13.06667
	0.55179	0.24664	0.43161	1.49208	0.96715	1.09663	1.59316	0.59665
LATRO	5.00286	3.06333	8.17048	28.62143	12.71239	35.34048	27.02333	7.32000
	0.31265	0.14072	0.39775	1.26113	0.42931	0.93041	0.96672	0.42833
MAGELLAN	7.26429	4.08571	10.82143	36.71571	16.60714	47.31286	37.55857	12.06000
	0.39989	0.18636	0.34118	1.50553	0.69135	2.09686	1.59316	0.59665
SENDOCIN	6.36850	3.41023	9.12190	31.21875	14.01875	41.24680	31.46250	10.42813
	0.08963	0.13961	0.28243	0.55853	0.39255	1.15286	1.16506	0.50744
OCCULTUS	5.20500	2.92250	7.89500	28.72250	13.14750	37.15250	28.71250	9.97500
	0.50016	0.16753	0.33176	2.82356	0.85668	2.46424	3.26833	1.23671
UPINUS	6.59750	3.78000	10.02000	35.58000	16.88500	44.98250	34.62500	11.44500
	0.46088	0.18401	0.41827	1.15602	0.65220	1.32868	1.08469	0.72639
PERRENSI	6.92467	3.68200	10.59333	35.98467	17.14933	45.89600	33.92200	13.37267
	0.37747	0.17613	0.36375	1.82323	0.78512	2.02533	1.52717	0.64216
FORTEOUS	6.11332	3.38776	8.63472	31.67950	14.02350	40.02300	30.27150	10.56650
	0.33087	0.15230	0.30534	0.95877	0.62545	0.86875	0.85270	0.38008
ROIGI	6.39048	3.58524	10.06333	33.92333	16.05524	42.68238	31.67048	11.38286
	0.03536	0.00000	0.26163	0.94045	0.10607	0.45962	0.14142	0.28591
SANROQUE	6.76500	3.91000	10.52500	33.89500	17.43500	43.48500	33.40000	11.75500
	0.36027	0.23060	0.31949	1.50408	0.62181	1.95310	1.50839	0.70287
TALAMAGD	6.64217	3.38396	8.51219	28.76884	13.71136	38.90682	29.70737	10.02620
	0.32097	0.23086	0.33256	1.22222	0.45982	1.26596	0.82673	0.34866
TALAMAR	6.63524	3.17115	8.05522	28.49985	12.99348	37.10870	28.83652	9.72609
	0.61362	0.21718	0.43223	2.53304	0.79625	2.64894	2.04432	0.78775
TUCOMAXI	9.04667	4.69333	11.95000	42.23000	18.25333	50.88667	40.76000	13.05667
	0.63310	0.05774	0.87094	0.90974	0.48429	1.20451	0.50013	0.93388
TUCUMANU	6.03384	3.50251	8.55441	31.76339	14.23714	39.91714	31.34929	10.32429
	0.42028	0.11827	0.37189	1.03287	0.42168	0.64426	0.71959	0.48806
YATAYTI	7.05333	3.76667	10.15333	35.82333	16.94667	44.81667	33.59333	13.27333
	0.55566	0.11603	0.39587	2.04684	0.40409	1.71739	0.94563	0.69142
YOLANDLP	6.06111	3.18889	9.07778	31.07222	13.93089	40.07222	28.56111	11.10556
	0.60583	0.37899	0.81062	2.23229	0.89534	2.61255	1.50921	0.80507

Tabla 3.1.2.1. Continuación.

3.1.2.1. Método de Burnaby.

El análisis de Burnaby (ver Sección 2.2.1.3.1.) se basó en la matriz de var-cov agrupadas dentro de grupo, cuyo análisis de componentes principales arrojó un primer componente que representó un 50.09% de la variación. Esto significa que en promedio, la variación debida a diferencias de tamaño dentro de cada grupo fue del 50.09%. El segundo componente solo explicó el 6.55%.

En la Tabla 3.1.2.11. se muestra el autovector correspondiente al primer componente principal. El valor esperado para cada elemento del vector si el mismo fuera isométrico (vector teórico que representa tamaño) es de .204124. La media de todos elementos del autovector es de 0.1991554 que se aproxima al teórico. La única variable con un valor muy bajo es, al igual que en machos, el ancho de la caja cerebral.

L_TOT_CR	0.1984126	A_FROTA	0.1847276	A_INCIBI	0.2621703
L_COND_B	0.1983473	A_ROSTRA	0.2246985	LARGOP4	0.1566909
L_COND_N	0.1762740	A_CAJ_CE	0.1028911	L_B_MOLA	0.1300386
L_NASAL	0.2538976	A_FO_PRE	0.2143887	A_MANDIB	0.2274768
A_NASAL	0.2593905	L_CON_PR	0.1721470	ALTO_CRA	0.2023109
A_BINEAT	0.1878388	L_DIASTE	0.3080633	L_BASAL	0.2085577
A_BIC160	0.1842185	L_BUL_TI	0.1667437	L_MAXI_I	0.2216675
A_BIMAST	0.1593348	A_BUL_TI	0.1518531	AL_MAX_I	0.2275864

Tabla 3.1.2.II. Autovector del primer componente principal basado en la matriz de var-cov agrupada dentro de grupo.

Se aplicó el método de Burnaby proyectando los logaritmos de las medidas originales sobre el espacio ortogonal al vector obtenido anteriormente, obteniéndose valores en los que el tamaño fue eliminado para ulteriores análisis.

3.1.2.2. Análisis de Factores

Por las razones expuestas para machos, en la sección 3.1.1.2., no se analizará bajo el modelo factorial los datos de hembras.

3.1.2.3. Estimación general de la divergencia basada sobre morfología craneana. Estimación cuantitativa.

Utilizando los valores originales de las variables y los resultantes del método de Burnaby, se realizaron sendos análisis discriminantes, según se describe en la sección 2.2.1.3.4. Posteriormente se utilizaron los centroides de los diferentes OTUs como datos para la estimación de la divergencia general. La Tabla 3.1.2.III. muestra los valores de los centroides de los 22 OTUs analizados para las 21 funciones discriminantes que quedaron en el análisis cuando se utilizaron los valores sin la componente tamaño. La estimación de la divergencia general se realizó sobre la base de sendas matrices de distancias euclídeas (basadas en los dos tipos de análisis, con y sin el componente tamaño respectivamente). Los fenogramas obtenidos se muestran en la Figura 3.1.2.I. y 3.1.2.II. y son discutidos en la sección 3.1.2.4. En la Tabla 3.1.2.IV. se muestran las matrices de distancias obtenidas para los dos tipos de análisis.

ARGENTIN	-2.05412 -1.71400	-1.49938 -0.97335	-0.34005 -0.21609	2.22896 1.14796	1.32892 0.49783	-2.46888 -1.48705	0.14395 1.36516	1.31977 -0.96871	1.72342 0.07933	0.16501 0.63145	2.82331
AUSTNECO	2.21823 1.69636	1.76227 2.42396	0.28406 0.84729	-3.86263 -1.43702	3.33806 1.39600	-0.00224 1.62180	0.47398 -1.44440	1.55893 1.91734	-2.67933 0.80026	0.69936 -0.17307	-0.61629
BONETTI01	-0.58297 -0.82522	-3.22757 -1.18414	-2.33488 -0.84292	0.65157 -1.19173	0.55842 0.99026	-0.41866 0.23883	1.23607 -0.13767	-0.67339 0.77268	-0.78811 0.79739	1.01257 0.53417	-0.70900
CURUZU	0.01560 -0.08428	-0.76839 1.16667	2.48504 0.87587	0.46057 1.34301	1.48533 -0.28660	0.28438 -0.61966	-2.03068 0.26869	0.93929 -0.63563	1.83323 0.37295	1.18648 -0.28443	0.25996
DORBINYI	-2.02183 0.29582	-1.13687 -0.09886	1.43191 0.71784	-1.44367 1.05982	1.46598 -0.18426	-0.45117 -0.68585	-1.67826 0.64552	0.87277 0.96952	0.61651 1.03576	1.11371 -0.86266	0.52511
DORDINOR	-0.26966 -0.02950	-1.02671 -0.40137	1.46184 1.53616	-0.97334 0.62587	-0.24017 0.49926	-2.08422 -0.32831	-1.53537 0.63189	-0.06317 0.09681	0.41181 0.73008	1.78534 -0.12339	0.10201
DORRISUR	-0.73335 0.31708	-1.04691 1.07482	1.27704 1.03694	0.33262 0.89160	1.77073 -1.07344	-2.19785 -0.59290	-1.79672 1.38369	-0.63005 0.26166	-0.06405 -0.33302	1.43954 -0.57808	0.46392
LATRU	0.40278 -0.34709	0.44532 -0.72200	-0.23603 -0.69760	1.58294 1.12954	-1.29815 1.59864	0.34175 -0.60560	0.02292 0.53198	0.42236 -1.60153	0.99153 0.47175	-1.51947 -0.17502	0.48783
MAGELLAN	3.17709 -0.82690	3.38750 2.27465	2.63131 1.48675	-0.28767 0.84896	-1.41942 -1.19249	1.22200 -1.14805	-0.25628 1.20244	2.35240 -0.52651	-0.97245 -0.24729	-1.50493 -0.56815	0.52639
MENDOCIN	4.05869 1.53220	2.14157 1.34586	0.47713 0.38025	-0.48759 -1.21100	-0.64717 -1.30529	3.76555 0.85114	1.33078 -0.37791	0.48840 0.10114	-0.01551 -1.20429	-1.15767 -0.34013	-1.97757
OCCULTUS	-0.60537 -0.80283	0.80657 -1.78745	-0.81869 -1.52203	3.68465 1.90057	-1.95927 -0.08854	1.31154 -0.66521	0.70752 0.65180	0.66794 -2.60423	0.81955 1.07501	-0.59517 0.40050	0.18410
OPINUS	3.68531 4.14530	0.65258 2.39260	2.47915 0.65670	-1.02561 1.90366	-2.49560 -0.84933	-1.42915 -0.95140	-2.28386 -0.51796	2.71216 -0.81201	0.71764 0.47054	1.17377 1.50562	1.00134
PERRENSI	-1.16172 -0.41884	-1.42301 0.06228	1.32234 1.25626	-0.32664 0.72100	0.99641 -0.62761	-0.14170 -0.46195	-1.76577 0.19150	-1.48027 0.00140	1.08162 0.07403	0.91512 -0.49119	1.18779
PORTEOUS	2.47532 2.19338	0.72446 0.64672	-0.93210 -0.97894	-0.21467 -0.88826	-0.18766 0.13300	2.47054 1.00396	1.51460 -1.17975	1.76661 -0.01785	-1.86231 -0.45043	-0.75057 0.11732	-1.57226
ROIGI	-1.61830 -0.94569	-1.44585 0.52900	2.87549 1.05426	-0.20696 0.05055	-1.65398 0.33317	-1.08548 -0.89708	-2.48396 0.78299	-0.64714 -0.73540	1.82121 0.64661	0.94052 1.40230	1.94644
SANROQUE	-0.55405 -0.50010	0.26292 0.93509	2.00444 1.12810	-3.07881 1.61777	-1.75601 -1.15820	-1.37254 -1.76093	-3.91424 0.41136	-1.74345 -0.96271	0.20166 1.13462	-0.64274 0.81937	-0.39969
TALAMAGD	-1.69191 -0.00432	1.11296 -1.16153	-2.17211 -1.22996	0.13277 -0.83875	-1.71013 -2.11950	-0.65849 0.93734	1.71532 -1.19914	-2.43823 -0.37177	-0.70393 -0.96523	-1.93525 -0.32596	-0.88155
TALAMAR	-2.14663 0.28704	-1.93143 -1.26719	-2.83206 -1.56331	1.55976 -1.13720	-1.03621 -0.34394	0.30593 0.70969	-1.76202 -1.06962	-2.87457 -0.36487	0.49201 -0.89249	-1.98094 -0.82971	-1.79385
TUCONAXI	3.26937 -1.64716	3.16071 2.89525	1.64250 1.95113	-3.64273 0.14252	-2.58370 0.21221	-0.22939 -0.61932	-0.42735 1.45393	3.36362 -0.45682	-1.34618 -1.32996	0.68302 -2.04189	0.74895
TUCUMANU	0.60712 -0.04863	2.13456 -1.09082	0.29599 -1.72379	2.31058 1.14082	-1.16242 0.71846	1.05692 -0.58393	-0.84097 0.56238	0.51566 0.28680	1.08506 -1.57214	-1.17366 -0.23177	0.49312
YATAYTI	-0.79945 -0.21508	-1.26907 0.83909	2.02554 0.08555	-0.04650 0.30161	1.12032 -0.26023	-1.16723 -1.20023	-1.69630 1.08410	-1.11049 -1.14631	0.91221 -0.51933	1.21250 -0.06074	0.53314
YOLANDLP	-1.02397 -2.17267	-2.37477 -1.06717	-1.70396 0.36019	-0.30699 -0.63423	0.40006 -0.13667	0.49524 0.95631	1.80605 -0.45841	-0.49345 0.61226	-1.90604 0.26863	1.90147 1.30067	-0.82897

Tabla 3.1.2.111. Valores de los centroides de los 22 OTUs analizados para las 22 funciones discriminantes que quedaron en el análisis cuando se utilizaron los valores sin la componente tardo.

	ARGENTIN	AUSTNECO	BONETTOI	CURUZU	DORRIGNY	DORRIGNOR	DORRIGUR	LATRO	MAGELLAN	MENDOCIN	OCULTUS
ARGENTIN		14.76249	7.23334	7.34332	8.10842	7.20989	7.06724	6.98260	12.26168	12.64207	7.23141
AUSTNECO	12.92426		12.60936	11.78944	10.38026	11.07593	11.15600	15.05142	11.20882	11.27341	16.25099
BONETTOI	7.53780	10.24838		9.86913	8.95639	7.25027	8.15145	7.05095	13.23239	10.18516	7.75429
CURUZU	6.93629	9.81437	8.54171		4.74903	4.79373	4.53240	9.04332	8.90239	9.98699	9.55593
DORRIGNY	6.78217	9.10504	7.42091	4.07506		4.69915	4.63772	10.89823	10.45635	11.80781	11.36339
DORRIGNOR	6.83682	9.29529	6.96120	4.51644	3.70379		4.05173	8.47237	9.56686	10.54765	9.52854
DORRIGUR	6.52964	9.67689	7.62793	4.27902	4.00231	3.75299		9.67189	10.07149	11.13059	10.38898
LATRO	6.38383	11.05151	7.14687	6.42962	7.22287	6.53683	7.51019		11.66363	9.05726	3.73351
MAGELLAN	11.09985	9.84115	11.97268	7.89512	9.38166	8.87355	9.17315	7.80601		8.54089	11.89097
MENDOCIN	12.98808	8.78336	10.54480	9.37549	10.60258	10.25630	10.60931	8.58418	6.86683		9.78313
OCULTUS	7.34833	13.58843	8.28310	8.33764	9.24415	8.87783	9.43985	4.01354	9.57745	10.02795	
OPIMUS	12.59190	10.57498	12.73709	8.18031	9.64090	9.02401	10.00924	9.67330	7.76962	8.03809	11.45633
PERRENSI	6.46251	10.13169	7.08009	3.76548	3.48663	3.70939	3.45071	6.57870	9.26354	10.08860	8.53473
PORTEOUS	11.42515	7.33516	8.06324	9.05829	9.40111	9.26138	9.77805	7.38199	8.14454	4.50063	8.83283
ROIGI	6.84222	12.09999	8.87980	5.25087	5.66133	4.55495	5.83749	7.08400	9.63049	11.72807	8.91436
SANROQUE	10.04926	11.35380	10.54421	6.99569	6.72429	3.84548	6.86120	8.38780	8.91506	11.18262	10.49895
TALAMAGO	9.87092	11.56502	7.41627	10.52952	9.52705	9.10968	9.23772	7.42257	10.91443	9.28605	7.96729
TALAMAR	10.20353	12.08627	7.63421	10.72653	10.11721	9.99689	10.67656	7.33585	11.75632	9.50098	7.75943
TUCUMAXI	12.57795	9.56056	12.84072	9.75427	10.22705	9.29428	10.33966	10.06030	5.40727	9.19177	12.35256
TUCUMANU	7.75937	11.41317	8.53753	7.07247	8.00252	7.78116	8.03515	3.86337	7.60250	8.06442	5.29057
YATAYTI	6.19540	10.32004	7.48187	3.57824	4.31225	3.82058	2.91318	6.49060	9.02139	10.24743	8.50896
YOLANDLP	8.95314	9.38401	3.77697	8.72048	8.13203	7.22669	8.12350	8.06402	10.81331	9.38132	8.92879

Tabla 3.1.2.IV. Matrices de distancias euclídeas para hembras basadas en los centroides del análisis discriminante de los datos originales (arriba de la diagonal) y en los centroides del análisis discriminante de los datos transformados a logaritmos y luego procesados para la eliminación de la componente tamaño (abajo de la diagonal)

	OPIMUS	PERRENSI	PORTEOUS	ROIGI	SANROQUE	TALAMAGO	TALAMAR	TUCUMAXI	TUCUMANU	YATAYTI	YOLANDLP
ARGENTIN	13.35761	7.44855	10.95328	7.20480	10.73928	9.44673	9.82603	15.75075	7.43874	7.10436	8.65869
AUSTNECO	11.94364	11.48884	10.28793	13.82758	13.09971	14.09436	15.09704	11.46023	13.79184	11.65036	11.91947
BONETTOI	13.76806	8.32966	7.68079	9.20731	11.17628	6.95054	7.28626	16.12179	8.10002	8.45102	3.59264
CURUZU	9.11323	4.23080	9.70444	5.62017	7.60708	10.98672	11.65361	12.51906	7.93304	3.90897	9.32578
DORRIGNY	10.58190	3.78232	10.84406	6.49233	7.51610	11.21160	12.23118	12.49758	9.70758	4.70658	9.64233
DORRIGNOR	9.85380	4.33702	9.54265	4.75540	6.32780	9.49944	10.58836	12.26567	5.16213	4.34569	7.56164
DORRIGUR	10.88152	3.90152	10.29461	6.25984	7.41380	9.91492	11.04161	12.89129	8.73414	3.27298	8.64261
LATRO	12.78078	9.99549	7.62885	9.09709	10.83989	7.01780	6.37616	15.07076	4.68264	9.64541	7.94214
MAGELLAN	8.82043	10.23225	9.82593	10.77975	10.06319	12.46906	13.67411	7.30991	9.56655	9.86971	12.26714
MENDOCIN	10.25311	11.10461	4.48097	12.13578	12.05220	9.04131	9.35696	12.88424	7.93642	11.07867	9.10457
OCULTUS	13.37857	10.41539	6.45753	9.79371	11.72366	7.35769	6.86200	16.64844	5.15188	10.15366	8.45915
OPIMUS		10.75496	10.33693	10.52421	10.11074	14.35628	15.51298	11.34513	11.39575	10.48173	13.29354
PERRENSI	9.88664		10.67782	5.03900	6.82636	10.04931	11.21755	12.87877	8.82119	3.08862	8.74613
PORTEOUS	8.96631	9.56918		11.61765	12.00247	7.80912	8.15362	13.64777	7.23217	10.53783	7.19617
ROIGI	9.58666	4.44576	11.27488		6.22987	10.70628	11.76026	13.56312	8.77506	4.84656	9.78948
SANROQUE	8.82043	6.17469	11.16897	5.79504		10.88637	12.50529	12.44967	10.31105	6.72369	11.22459
TALAMAGO	13.01957	8.54432	8.13067	10.22342	9.91413		3.41745	15.94972	7.23106	10.17498	7.45821
TALAMAR	13.97356	9.29496	8.38543	11.11293	11.31302	3.37014		17.49361	6.78312	11.29831	8.40373
TUCUMAXI	9.01779	10.64082	9.83422	10.73324	9.79628	12.44841	13.53376		14.16503	12.56974	15.03179
TUCUMANU	9.81896	7.41173	7.52814	8.24867	9.33173	7.73241	7.25047	10.23128		8.54009	8.72573
YATAYTI	9.64619	2.82931	9.63759	4.32820	6.17103	9.02791	9.77164	10.31761	7.34221		9.05684
YOLANDLP	12.15494	7.52235	7.49229	9.41319	10.46483	7.91124	8.82831	11.48160	9.18081	8.10879	

Tabla 3.1.2.IV. Continuación.

3.1.2.4. Estimación de la filogenia basada sobre morfología craneana. Aproximación fenética.

La única estimación de la filogenia basada en las hembras estudiadas se realizará mediante fenogramas, basados en las matrices de distancias euclídeas, obtenidas a partir de los centroides de los análisis discriminantes de los datos con y sin la componente tamaño. Al igual que con los machos, de cada análisis surgieron dos fenogramas (ver sección 3.1.1.5.2.).

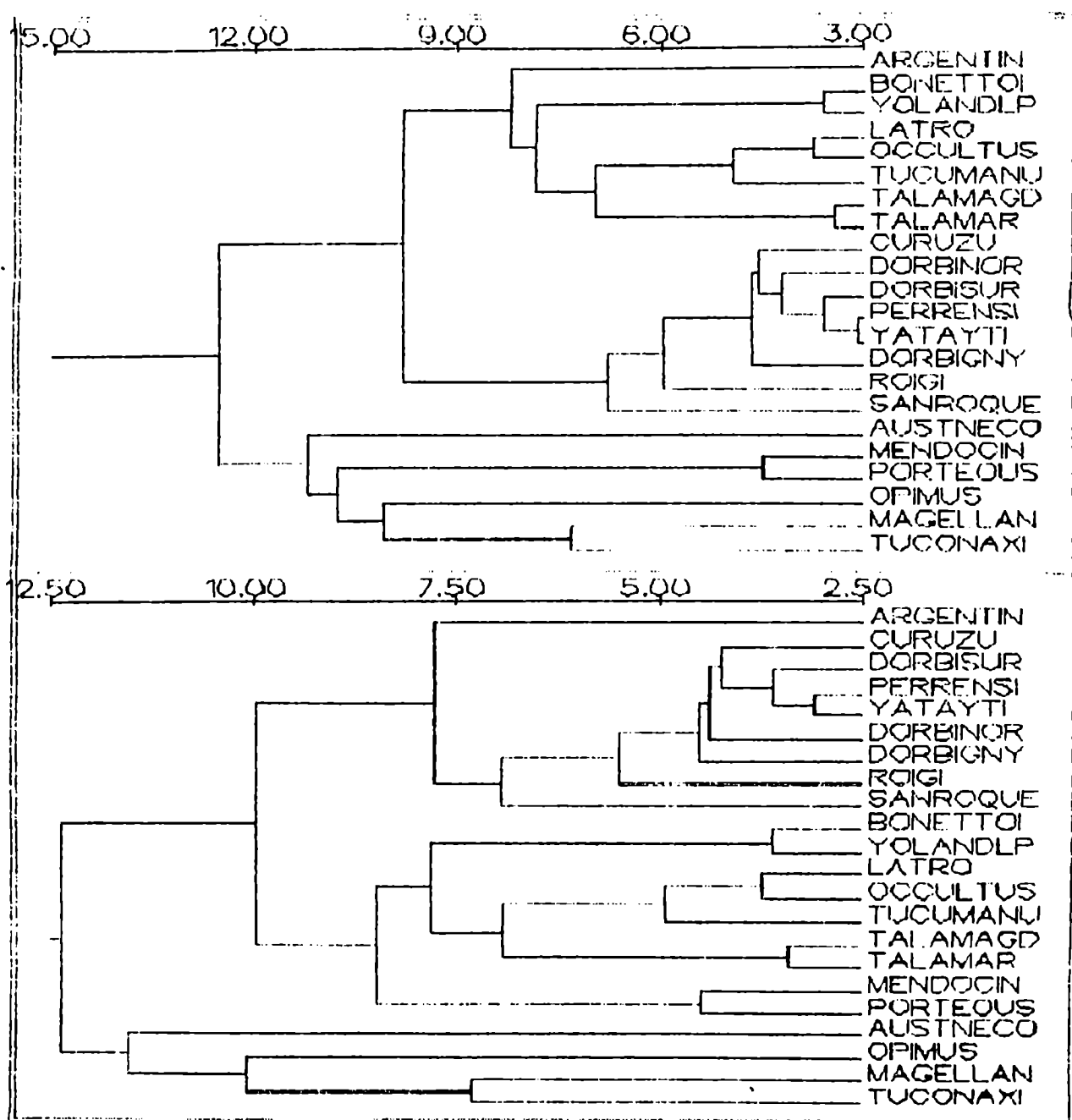


Figura 3.1.2.1. Fenogramas obtenidos a partir de la matriz de distancias euclídeas basada en los centroides para cada OTU del análisis discriminante global con datos de medidas directas de ejemplares hembras. Arriba fenograma a, abajo fenograma b. Coeficientes de correlación cofenética, a.=0.80971, b.= 0.86416

Las Figuras 3.1.2.I y 3.1.2.II. muestran los resultados obtenidos para datos con y sin el componente tamaño respectivamente. Las topologías obtenidas con los fenogramas basados en los datos originales de las hembras son bastante diferentes a los de los machos. En el fenograma a (ver Figura 3.1.2.1.) se aprecia que *talarum*, *yolandae* y *bonettoi* son las especies que

más se aproximan al grupo *latro*, *occultus* y *tucumanus*, los que en machos estaban firmemente ligados a *argentinus*, ahora relacionada a todas ellas, pero como la especie más diferenciada (recuérdese que no se pudieron incluir ejemplares hembra de *knightii* en este análisis). A este grupo se une el formado por las especies de Corrientes. La diferencia más notable es la unión cercana de *tuconax* y *magellanicus*, en un grupo, separado de los dos anteriores, donde se mezclan especies de espermio simétrico y asimétrico. Sin embargo, este fenograma a, que posee un coeficiente de correlación cofenética (0.80971) más bajo que el b (0.86416) posee una topología que todavía tiene cierto parecido a las obtenidas con los machos. El fenograma b se aleja mucho más de lo hasta ahora obtenido. En este, *argentinus* y el grupo de Corrientes están unidos en un grupo (véase el cladograma basado en bandas G de la sección 3.2.). Como en el anterior fenograma, a *latro*, *occultus* y *tucumanus* se le unen *talarum*, primero, y luego *bonettoi-yolandae*. Sorprendentemente, las especies más ligadas a este último grupo son, *mendocinus* y *porteousi*, dos especies de espermio asimétrico. En ningún análisis anterior se habían relacionado ambos grupos. Por último queda, como el más alejado, el mismo grupo que en el fenograma a, ahora sin *mendocinus* ni *porteousi*.

Cuando se analizan los fenogramas basados en los datos sin el componente tamaño, vemos que se corrigen las distorsiones más grandes, pero quedan presentes ciertas diferencias con las topologías obtenidas con machos. Las topologías de los fenogramas a se corresponden básicamente en los dos análisis, y lo mismo se puede decir de los b. La extracción del componente tamaño en el fenograma a, provoca que otra vez *argentinus* sea la especie más ligada a *occultus*, *tucumanus* y *latro*, quedando relacionadas, pero como grupo hermano, *talarum*, *yolandae* y *bonettoi*. Como antes, a ellos se unen las especies de Corrientes en primer término. Queda intacto el resto de la topología, manteniéndose incluso la unión de *tuconax* con *magellanicus*. La extracción del tamaño en el fenograma b solo produce una sola modificación, quizá la más esperable, esto es, la reubicación de *mendocinus-porteousi* con *australis*, en el mismo grupo más diferenciado que en los fenogramas anteriores. Se mantiene la mayor relación de *argentinus* con el grupo de Corrientes.

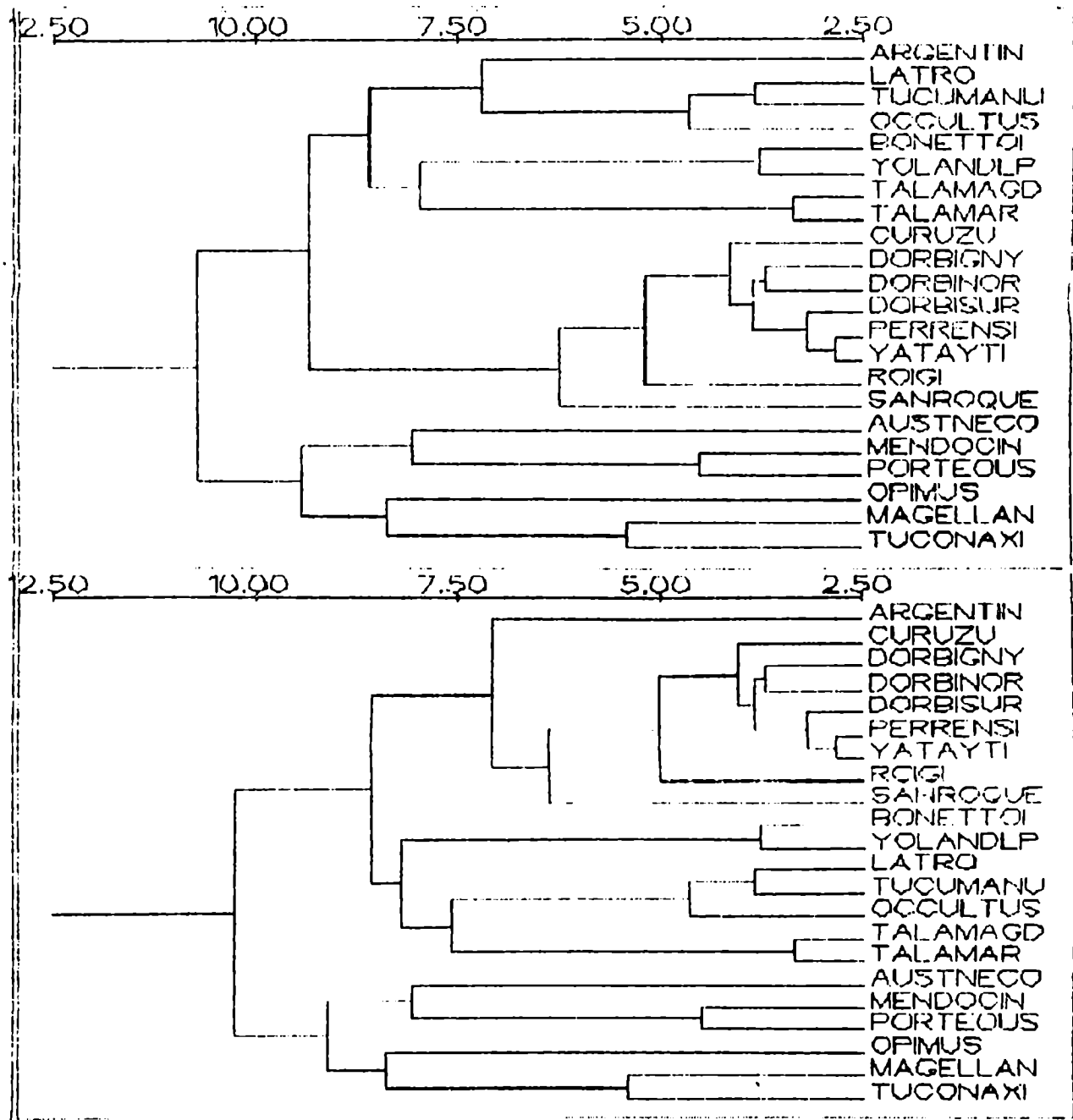


Figura 3.1.2.II. Fenogramas obtenidos a partir de la matriz de distancias euclídeas basada en los centroides para cada OTU del análisis discriminante global con datos procesado para la eliminación del tamaño en ejemplares hembra. Arriba fenograma a, abajo fenograma b. Coeficientes de correlación cofenética, $a = 0.83125$, $b = 0.84593$.

3.2. Resultados de electroforésis.

3.2.1. Frecuencias alélicas.

La Tabla 3.2.1. muestra las frecuencias alélicas obtenidas para los 26 loci presuntivos en 17 OTUs pertenecientes al género *Ctenomys* y a *Octodontomys gliroides*. A cada alelo encontrado (un total de 42) se le asignó un número serial utilizado posteriormente en los análisis cladísticos. Dentro de cada locus, se le asignó a cada alelo una letra, como se explicó en la sección 2.2.2.2. de Métodos. En alguno de los loci, la denominación de los alelos comienza en la letra B, debido a que los OTUs estudiados aquí, fueron comparados con ejemplares de *Ctenomys porteousi*, que en estos casos fue la especie que tuvo el alelo más rápido. Algunos alelos en diferentes loci, posee la denominación F. La misma indica aquellos casos en que el sistema o locus no fue detectado. En la mayoría de los casos esta situación fue fija para el OTU correspondiente, pero en otros se mostró polimórfica. Esto fue detectado en dos especies, en *argentinus* (Pep-1 y Pep-4) y en *latro* (Est-2H). Curiosamente, estas dos especies se muestran muy ligadas filogenéticamente sobre la base de los datos morfológicos (sección 3.1.) y cromosómicos (sección 3.3.). Los ejemplares que mostraron esta particularidad, fueron analizados en más de diez corridas electroforéticas repetidas para dichos loci. La existencia del fenómeno de la falta de un sistema puede deberse a la deficiencia total o parcial del segmento codificante del correspondiente locus. Como hemos visto, en ciertos casos puede ocurrir en estado polimórfico, denominándose alelos nulos. Otra explicación de la ausencia de expresión de un locus, puede encontrarse en la existencia de efectos epistáticos. Algunos loci se presentan fijados en todos los OTUs para este estado, debido también a que solo fueron detectados en *Ctenomys porteousi*. El fenómeno recién expuesto, reduce el número de alelos "activos" a 38.

Algunos OTUs no pudieron ser estudiados en algunos sistemas debido a la falta, en dichos OTUs, de los tejidos en donde se revelan los loci faltantes. Esto ocurrió en *magellanicus*, para los sistemas de plasma, y en *occultus* y *tucumanus*, para los sistemas de hígado. En *Octodontomys* algunos de los loci de plasma no fueron incluidos debido a que los resultados no fueron satisfactorios (probablemente por no tener *Ctenomys* y *Octodontomys* las mismas condiciones experimentales óptimas, por ejemplo, respecto a los "buffers" de las corridas) para en ninguna de las repeticiones de las corridas electroforéticas realizamos hasta acabar el material tisular. Estos casos se indican con asteriscos en la Tabla 3.2.1. Lo recién expuesto, trajo aparejado problemas en las comparaciones inter-OTU, impidiendo la misma entre *magellanicus* y *occultus-tucumanus*. Por esta razón varios de los análisis que siguen en las próximas secciones se realizaron con dos grupos diferentes de datos, incluyendo por un lado todos los OTUs menos *magellanicus* y todos los OTUs menos *occultus* y *tucumanus* por otro. En otros casos, como en el cálculo

de distancias genéticas, las mismas involucraron menor cantidad de loci, cuando intervino alguna de las cuatro especies mencionadas.

Nº de Carácter	LOCUS	Especie																	
		1 argen	2 dorb	3 knig	4 latr	5 sage	6 occu	7 opia	8 perr	9 raigi	10 sp 23	11 sp 27	12 sp 28	13 sp 29	14 sp 30	15 sp 33	16 tuco	17 tuco	18 Octo
1	Es-1H (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	2
	F	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
2	Es-2H (N)	4	11	4	3	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	2
	A	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	#####	0.667	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.000
	B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	#####	0.000
	D	0.000	1.000	1.000	0.333	0.000	#####	0.333	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750	#####	0.000
3	Es-3H (N)	4	11	4	3	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	2
	A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.667	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.000
	B	0.000	0.000	0.000	0.333	0.000	#####	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.000
	C	1.000	1.000	1.000	0.667	1.000	#####	0.333	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	0.500
9	Es-4H (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	2
	F	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
10	Es-5H (N)	4	11	4	3	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	2
	A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.000	0.167	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000	0.200	0.167	0.500	#####	0.000
11	B	1.000	0.818	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	0.833	1.000	0.833	1.000	1.000	1.000	0.800	0.833	0.500	#####	1.000
	C	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
12	AaT-1 (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
13	AaT-2 (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
14	Xdh (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
15	Em (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	0.750	1.000	1.000	0.750	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	0.333
	B	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	#####	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.333
16	C	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.333
17	66pdh (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
18	H6pdh (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
19	B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	#####	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	#####	0.000
20	To (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
21	Lap (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000
22	Lap (N)	4	11	4	4	1	0	3	6	1	9	3	4	1	5	3	4	0	3
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	#####	1.000

Tabla 3.2.1. Frecuencias alélicas obtenidas en 26 loci para 17 OTUs de *Ctenomys* (1-17) y para *Octodontomys gliroides* (18). Códigos de los loci igual que en la Sección 2.2.2.2. de Métodos.

Nº de Carácter	LOCUS	Especie																	
		1 argen	2 oorb	3 knig	4 latr	5 nage	6 occu	7 opia	8 perr	9 roiq1	10 sp 25	11 sp 27	12 sp 28	13 sp 29	14 sp 30	15 sp 33	16 tuca	17 tuca	18 Octo
23	Es-4P (N) A	3 1.000	10 1.000	1 1.000	4 1.000	0 #####	3 1.000	1 1.000	8 1.000	5 1.000	8 1.000	3 1.000	4 1.000	1 1.000	3 1.000	3 1.000	3 1.000	4 1.000	2 1.000
24	Es-3P (N) A	3 1.000	10 1.000	1 1.000	4 1.000	0 #####	3 1.000	1 1.000	8 1.000	5 1.000	8 1.000	3 1.000	4 1.000	1 1.000	3 1.000	3 1.000	3 1.000	4 1.000	2 1.000
25 26	Es-2P (N) A B	3 0.500 0.500	10 0.450 0.550	1 0.500 0.500	4 0.500 0.500	0 ##### #####	3 0.500 0.500	1 0.500 0.500	8 0.250 0.750	5 0.500 0.500	8 0.438 0.563	3 0.500 0.500	4 0.250 0.750	1 0.500 0.500	3 0.500 0.500	3 0.333 0.667	3 0.500 0.500	4 0.625 0.375	0 ##### #####
27 28	Es-1P (N) A B	3 1.000 0.000	10 1.000 0.000	1 1.000 0.000	4 1.000 0.000	0 ##### #####	3 1.000 0.000	1 1.000 0.000	8 0.875 0.125	5 1.000 0.000	8 0.875 0.125	3 1.000 0.000	4 0.750 0.250	1 1.000 0.000	3 1.000 0.000	3 1.000 0.000	3 1.000 0.000	4 1.000 0.000	0 ##### #####
29	PT-1 (N) A	3 1.000	10 1.000	1 1.000	4 1.000	0 #####	3 1.000	1 1.000	8 1.000	5 1.000	8 1.000	3 1.000	4 1.000	1 1.000	3 1.000	3 1.000	3 1.000	4 1.000	0 #####
30	PT-2 (N) A	3 1.000	10 1.000	1 1.000	4 1.000	0 #####	3 1.000	1 1.000	8 1.000	5 1.000	8 1.000	3 1.000	4 1.000	1 1.000	3 1.000	3 1.000	3 1.000	4 1.000	0 #####
31	PT-3 (N) A	3 1.000	10 1.000	1 1.000	4 1.000	0 #####	3 1.000	1 1.000	8 1.000	5 1.000	8 1.000	3 1.000	4 1.000	1 1.000	3 1.000	3 1.000	3 1.000	4 1.000	0 #####
32 33	PT-4 (N) A B	4 0.125 0.875	10 0.500 0.500	1 0.500 0.500	4 0.500 0.500	0 ##### #####	3 0.500 0.500	1 0.500 0.500	8 0.500 0.500	5 0.500 0.500	8 0.500 0.500	3 0.500 0.500	4 0.500 0.500	1 0.500 0.500	3 0.500 0.500	3 0.500 0.500	3 0.500 0.500	4 0.500 0.500	0 ##### #####
34	PT-5 (N) A	3 1.000	10 1.000	1 1.000	4 1.000	0 #####	3 1.000	1 1.000	8 1.000	5 1.000	8 1.000	3 1.000	4 1.000	1 1.000	3 1.000	3 1.000	3 1.000	4 1.000	0 #####
35 36	Pep-1 (N) A B	4 0.250 0.750	11 0.000 1.000	4 0.000 1.000	4 0.000 1.000	1 0.000 1.000	0 ##### #####	3 0.000 1.000	6 0.000 1.000	1 0.000 1.000	9 0.000 1.000	3 0.000 1.000	4 0.000 1.000	1 0.000 1.000	5 0.000 1.000	3 0.000 1.000	4 0.000 1.000	0 ##### #####	3 0.000 1.000
37 38 39	Pep-2 (N) A B C	4 0.250 0.750 0.000	11 0.000 1.000 0.000	4 0.000 0.750 0.250	4 0.000 1.000 0.000	1 0.000 1.000 0.000	0 ##### ##### #####	3 0.000 1.000 0.000	6 0.000 1.000 0.000	1 0.000 1.000 0.000	9 0.000 1.000 0.000	3 0.000 1.000 0.000	4 0.000 1.000 0.000	1 0.000 1.000 0.000	5 0.000 1.000 0.000	3 0.000 1.000 0.000	4 0.000 0.875 0.125	0 ##### ##### #####	3 0.000 1.000 0.000
40	Pep-3 (N) A	4 1.000	11 1.000	4 1.000	4 1.000	1 1.000	0 #####	3 1.000	6 1.000	1 1.000	9 1.000	3 1.000	4 1.000	1 1.000	5 1.000	3 1.000	4 1.000	0 #####	3 1.000
41 42	Pep-4 (N) A F	4 0.750 0.250	11 1.000 0.000	4 1.000 0.000	4 1.000 0.000	1 1.000 0.000	0 ##### #####	3 1.000 0.000	6 1.000 0.000	1 1.000 0.000	9 1.000 0.000	3 1.000 0.000	4 1.000 0.000	1 1.000 0.000	5 1.000 0.000	3 1.000 0.000	4 1.000 0.000	0 ##### #####	3 1.000 0.000

Tabla 3.2.1. Continuación.

3.2.2. Medidas de la variabilidad genética.

La Tabla 3.2.11 muestra los valores obtenidos para los diferentes estimadores de la variabilidad. Se calcularon incluyendo y excluyendo los loci correspondientes a esterusas (de hígado y de plasma) debido a que las mismas suelen evidenciar una mayor variabilidad que el resto de los loci, haciendo

que los valores de estos estimadores no sean directamente comparables con los obtenidos en otros trabajos, en donde no se analizaron éste tipo de loci (ver Selander, 1976).

Nº	Población	Tamaño muestra por locus	Con esterazas				Sin esterazas			
			Número de alelos por locus pro- medio	Porcentaje de loci po- limórficos (.95,.99,sc)	Heterocigosis media		Número de alelos por locus pro- medio	Porcentaje de loci po- limórficos (.95,.99,sc)	Heterocigosis media	
					Recuento directo	Esperada			Recuento directo	Esperada
1	<i>C. argentinus</i>	3.7 (0.1)	1.2 (0.1)	19.0	0.060 (0.047)	0.081 (0.039)	1.2 (0.1)	20.0	0.017 (0.017)	0.074 (0.041)
2	<i>C. dorbignyi</i>	10.6 (0.1)	1.1 (0.1)	12.5	0.094 (0.056)	0.037 (0.032)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.031 (0.031)
3	<i>C. knightii</i>	2.8 (0.1)	1.1 (0.1)	12.5	0.083 (0.058)	0.101 (0.059)	1.1 (0.1)	11.8	0.059 (0.059)	0.034 (0.063)
4	<i>C. latro</i>	3.9 (0.1)	1.2 (0.1)	17.4	0.116 (0.065)	0.072 (0.043)	1.1 (0.1)	11.8	0.059 (0.059)	0.059 (0.041)
5	<i>C. magellanicus</i>	1.0 (0.0)	1.0 (0.0)	0.0	0.000 (0.000)	0.000 (0.000)	1.0 (0.0)	0.0	0.000 (0.000)	0.000 (0.000)
6	<i>C. occultus</i>	3.0 (0.0)	1.2 (0.1)	20.0	0.200 (0.133)	0.120 (0.080)	1.2 (0.2)	16.7	0.167 (0.167)	0.100 (0.100)
7	<i>C. opimus</i>	2.2 (0.2)	1.2 (0.1)	16.7	0.083 (0.058)	0.128 (0.063)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.059 (0.059)
8	<i>C. perrensi</i>	6.8 (0.2)	1.2 (0.1)	16.7	0.087 (0.047)	0.061 (0.030)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.031 (0.031)
9	<i>C. roigi</i>	2.5 (0.4)	1.1 (0.1)	8.3	0.083 (0.058)	0.046 (0.032)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.033 (0.033)
10	<i>C. sp. P25</i>	8.6 (0.1)	1.2 (0.1)	16.7	0.093 (0.054)	0.066 (0.033)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.031 (0.031)
11	<i>C. sp. P27</i>	3.9 (0.0)	1.1 (0.1)	8.3	0.083 (0.058)	0.050 (0.035)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.034 (0.034)
12	<i>C. sp. P28</i>	4.0 (0.0)	1.1 (0.1)	12.5	0.083 (0.049)	0.060 (0.033)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.035 (0.035)
13	<i>C. sp. P29</i>	1.0 (0.0)	1.1 (0.1)	8.3	0.083 (0.058)	0.087 (0.058)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.059 (0.059)
14	<i>C. sp. P30</i>	4.2 (0.2)	1.1 (0.1)	12.5	0.100 (0.059)	0.065 (0.037)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.035 (0.035)
15	<i>C. sp. P33</i>	3.0 (0.0)	1.1 (0.1)	12.5	0.083 (0.050)	0.061 (0.035)	1.1 (0.1)	5.9	0.059 (0.059)	0.035 (0.035)
16	<i>C. tuconax</i>	3.5 (0.1)	1.2 (0.1)	20.8	0.156 (0.070)	0.102 (0.043)	1.1 (0.1)	11.8	0.074 (0.060)	0.050 (0.037)
17	<i>C. tuconanus</i>	4.0 (0.0)	1.2 (0.1)	20.0	0.173 (0.118)	0.111 (0.074)	1.2 (0.2)	16.7	0.167 (0.167)	0.095 (0.095)
18	<i>Octodontomys</i>	2.6 (0.1)	1.2 (0.1)	11.1	0.056 (0.056)	0.081 (0.056)	1.2 (0.1)	11.1	0.056 (0.056)	0.081 (0.056)

Tabla 3.2.11. Valores de los estimadores de variabilidad para los OTUs estudiados de *Ctenomys* y *Octodontomys*. Se muestran los valores calculados incluyendo o excluyendo los loci correspondientes a esterazas. Los valores de porcentaje de loci polimórficos resultaron los mismos utilizando los criterios de 99% y de 95%, o sin criterio.

Tampoco se incluyeron en los cálculos, los loci que presentaron el "alelo" F (de faltante), en los OTUs en que dicho carácter fue detectado. En la Tabla 3.2.111, se muestra, por OTU, información de los loci que resultaron

Espece	Locus	Heterocigotas Obs	Esp	Indice de Fijación F	Chi ²	GL	P
<i>C. argentinus</i>	Em	0	1.500	1.000	4.000	1	.046*
	Es-2P	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
	PT-4	1	.875	-.143	.082	1	.775
	Pep-2	0	1.500	1.000	4.000	1	.046*
<i>C. dorbignyi</i>	Es-5H	4	3.273	-.222	.543	1	.461
	Es-2P	9	4.950	-.818	6.694	1	.010*
	PT-4	10	5.000	-1.000	0.000	1	.002*
<i>C. knightii</i>	Es-2P	1	.500	-1.000	1.000	1	.317
	PT-4	1	.500	-1.000	1.000	1	.317
	Pep-2	0	1.500	1.000	4.000	1	.046*
<i>C. latro</i>	Es-5H	2	1.333	-.500	.750	1	.386
	Em	0	1.500	1.000	4.000	1	.046*
	Es-2P	4	2.000	-1.000	4.000	1	.046*
	PT-4	4	2.000	-1.000	4.000	1	.046*
<i>C. occultus</i>	Es-2P	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
	PT-4	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
<i>C. opimus</i>	Es-2H	0	1.333	1.000	3.000	1	.083
	Es-5H	0	1.333	1.000	3.000	1	.083
	Es-2P	1	.500	-1.000	1.000	1	.317
	PT-4	1	.500	-1.000	1.000	1	.317
<i>C. perrensi</i>	Es-5H	2	1.667	-.200	.240	1	.624
	Es-2P	4	3.000	-.333	.889	1	.346
	Es-1P	2	1.750	-.143	.163	1	.686
	PT-4	8	4.000	-1.000	8.000	1	.005*
<i>C. roigi</i>	Es-2P	5	2.500	-1.000	5.000	1	.025*
	PT-4	5	2.500	-1.000	5.000	1	.025*
<i>C. sp., C. laurel</i> P25	Es-5H	1	2.500	-.600	3.240	1	.072
	Es-2P	1	3.938	-.778	4.840	1	.028
	Es-1P	2	1.750	-.143	.163	1	.686
	PT-4	8	4.000	-1.000	8.000	1	.005*
<i>C. sp. Saladas</i> P27	Es-2P	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
	PT-4	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
<i>C. sp. Saladas K7</i> P28	Es-2P	2	1.500	-.333	.444	1	.505
	Es-1P	2	1.500	-.333	.444	1	.505
	PT-4	4	2.000	-1.000	4.000	1	.046*
<i>C. sp. Saladas K14</i> P29	Es-2P	1	.500	-1.000	1.000	1	.317
	PT-4	1	.500	-1.000	1.000	1	.317
<i>C. sp. San Roque</i> P30	Es-5H	2	1.600	-.250	.313	1	.576
	Es-2P	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
	PT-4	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
<i>C. sp. Yatayti</i> P33	Es-5H	1	.833	-.200	.120	1	.729
	Es-2P	2	1.333	-.500	.750	1	.386
	PT-4	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
<i>C. tuconax</i>	Es-2H	2	1.500	-.333	.444	1	.505
	Es-5H	4	2.000	-1.000	4.000	1	.046*
	Es-2P	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
	PT-4	3	1.500	-1.000	3.000	1	.083
	Pep-2	1	.875	-.143	.082	1	.775
<i>C. tucumanus</i>	Es-2P	3	1.875	-.600	1.440	1	.230
	PT-4	4	2.000	-1.000	4.000	1	.046*
<i>Octodontomys</i>	Es-5H	2	1.000	-1.000	2.000	1	.157
	Em	0	2.000	1.000	6.000	3	.112
					3.000	1	.083

Tabla 3.2.III. Heterocigosidad observada y esperada por OTU, para aquellos loci donde efectivamente hubo variabilidad. Se muestran para cada uno de ellos el índice de fijación F de Wright, el valor del estadístico Chi² con los correspondientes grados de libertad (GL) y probabilidad (P) asociados. Se marcan con un asterisco (*) aquellos loci en que el desvío de las frecuencias de heterocigotas observados fue significativo. Ver sección 2.2.2.3 de Métodos.

variables. Esta información consta del número de heterocigotas esperados y observados por locus, el índice de fijación correspondiente y la prueba de bondad de ajuste con lo esperado teóricamente para el número de heterocigotas y su probabilidad asociada.

En el análisis comparativo que sigue daremos mayor importancia a los resultados obtenidos con alguno de los OTUs estudiados por diversas razones. No podemos considerar como datos concluyentes y sobre los que se pueden generar discusiones, a este respecto, a aquellos basados en pocos ejemplares y/o en pocos loci. El problema del tamaño muestral es, en *Ctenomys*, muchas veces difícil de superar. Esto es debido a que, o la población tiene un tamaño exíguo, que impide obtener un número elevado de ejemplares, o que la misma puede representar un relicto de un reservorio genético casi extinguido, que en ciertos casos pueden corresponder a especies plenas. Cuando existió *a priori* sospecha de la existencia de este último caso, se limitó la captura a unos pocos ejemplares (*C. sp.* P25, *C. roigi*). Otro problema que surgió varias veces fue la dificultad de captura

y/o la alta mortalidad durante el traslado al laboratorio.

Teniendo en cuenta lo recién expuesto, consideraremos como los resultados más confiables, en relación a la variabilidad intraespecífica en *Ctenomys*, aquellos obtenidos en *dorbignyi*, *perrensi*, sp. (P25) y en menor medida, sp. (P30).

Las heterocigosidades observadas de los cuatro OTUs promediaron 0.094 incluyendo esterasas y 0.059 sin ellas. Los valores esperados por su parte promediaron 0.062 con y 0.032 sin esterasas. Considerando todos los OTUs, exceptuando *Octodontomys*, el valor medio de la heterocigosidad observada fue de 0.098 con y de 0.067 sin esterasas, mientras que los valores medios de heterocigosidad esperada fue de 0.076 con y 0.050 sin esterasas. Pero analizando más detalladamente, vemos que los valores de heterocigosidad (cuando se excluyen las esterasas) se basan sobre un sólo locus, el de Proteínas totales 4 (PT-4). Todos los individuos, en los cuatro OTUs mencionados, fueron heterocigotas. Esto mismo se extiende al resto de los OTUs, en donde se pudo estudiar este locus. La excepción fue *argentinus*, en el que, de los cuatro ejemplares estudiados, solo uno fue heterocigota. Es justamente por lo hallado en este último OTU, que cada banda revelada en los supuestos heterocigotas (en todos los OTUs), fue considerada como pertenecientes al mismo sistema, y no, a diferentes loci. Si descartamos entonces también este locus (además de las esterasas) la heterocigosidad en todas las especies, con excepción de *tuconax*, es cero (Tablas 3.2.II y 3.2.III). Cuando se comparan (Tabla 3.2.II.) los valores de heterocigosidad observada con la esperada, los mismos resultados se obtienen con o sin esterasas. Los OTUs *argentinus*, *knightii* y *Octodontomys* poseen menor valor de heterocigosidad observada que esperada. *C. latro*, no posee diferencias entre ambos valores, tanto incluyendo como no, a las esterasas. Los OTUs *dorbignyi*, *perrensi*, *roigi*, sp. (P25, P27, P28, P29, P30 y P33) y *tuconax*, poseen mayores valores de heterocigosidad observada que esperada, ya sea que se consideren o no las esterasas. Pero como se dijo antes, en el caso en que no se consideran las esterasas, la heterocigosidad esperada es mayor solo sobre la base de la existente en PT-4 (con excepción de *tuconax*). Sólo *opimus* varió, observándose menores valores observados que esperados con esterasas, pero equivalentes cuando éstas son excluidas.

Analizando la Tabla 3.2.III. en los casos en que las diferencias por locus, entre heterocigosidad observadas y esperada fue significativa (marcada con asteriscos), se observan dos condiciones diferentes. Los excesos de heterocigotas solo son observados en esterasas (Est) y proteínas totales (Pt), mientras que las deficiencias de heterocigotas solo son observadas en aquellos loci que no corresponden ni a esterasas, ni a proteínas totales. Esto podría indicar que existen dos tipos de fuerzas opuestas. Por un lado, aquellas que de manera general, disminuyen la heterocigosidad de forma homogénea en todos

los loci, y por otro, aquellas, que en algunos loci específicos (algunas esterasas y PL-4), generan una enorme variabilidad, que no puede ser contrarrestada por la primera.

El número medio de alelos por locus (Tabla 3.2.II.) varió entre 1 y 1.2, con esterasas (considerando solo los cuatro OTUs más confiables, entre 1.1 y 1.2), y entre 1 y 1.2 sin ellas (considerando los mismos cuatro OTUs mencionados el valor fue siempre de 1.1).

El porcentaje de loci polimórficos fue igual respecto a los tres criterios utilizados (95%, 99%, y sin criterio), y varió entre 0 y 20.8 con esterasas (considerando solo los cuatro OTUs más confiables, entre 12.5 y 16.7), entre 0 y 20.0 sin ellas (considerando los mismos cuatro OTUs mencionados el valor fue siempre de 5.9).

Considerando todos los loci y todos los OTUs de *Ctenomys* examinados, se evidencia poca homogeneidad en los valores de los diferentes estimadores de la variabilidad genética. Esto mismo fue observado en el trabajo de Sage *et al.* (1986). En el mismo se analizaron 34 loci alozímicos en 12 poblaciones de tuco-tucos, pertenecientes a 6 especies diferentes (dos de esas especies, *argentinus* y *dorbignyi* fueron analizadas en esta tesis) y se observó un amplio rango de valores de heterocigosidad, con valores de 0 (*argentinus*) a 0.13 (*mendocinus*, población de Paramillo), una media de 0.0625. El porcentaje de loci polimórficos también varió enormemente, de 0 a 24, respectivamente en las mismas especies recién mencionadas. El número medio de alelos por locus varió entre 1 (varias poblaciones, incluyendo *argentinus*) y 1.4 (*mendocinus*, Mercedes).

Tanto los valores obtenidos en esta tesis, como aquellos obtenidos por Sage *et al.* (1986), resultan más altos que el promedio para mamíferos de vida subterránea, que es de 0.035 (Nevo *et al.*, 1984) o, más específicamente, que el de roedores subterráneos, que es de 0.0311 (Nevo *et al.*, 1990). Sin embargo, existen diferencias notables entre los resultados obtenidos en las especies estudiadas en común, *argentinus* y *dorbignyi*. El número muestral trabajado aquí, exactamente duplica al de Sage *et al.* (1986); 4:2 para *argentinus* y 10:5 para *dorbignyi*. En Sage *et al.* los valores de heterocigosidad, porcentaje de loci polimórficos y número promedio de alelos por locus fue de 0, 0 y 1 respectivamente. Estos valores se deben a que no se encontró más de un alelo en ninguno de los loci. Un panorama completamente diferente fue hallado en los 4 ejemplares estudiados aquí. La heterocigosidad, si bien fue la más baja de las obtenidas en esta tesis (exceptuando la de *magallanicus*, del que se obtuvo un valor de 0, pero sobre la base de un solo ejemplar) alcanzó un valor de 0.060 con esterasas y 0.017 sin ellas. Pero estos valores son más bajos que los esperados teóricamente de 0.081 y 0.074 respectivamente, siendo *argentinus*, una de las especies con más alto porcentaje

de loci polimórficos, 19.0 y 20.0 para estimaciones con y sin esterazas respectivamente. Asimismo, fue una de las especies con más alto número de alelos por locus (1.2). El trabajo de Sage *et al.* y el presente incluyen en el análisis 7 loci posiblemente comunes. Cuatro loci de peptidasas fueron detectados en los dos trabajos, con resultados muy diferentes para *argentinus*. Como se aclaró antes, en el trabajo de Sage *et al.* los cuatro resultaron monomórficas en *argentinus*. En esta tesis, de los cuatro loci de Pep, Pep-1, sólo fue detectado en *porteousi* (no está incluida esta especie en esta tesis, en el aspecto electroforético) y en 1 ejemplar de *argentinus*. En el resto de los OTUs no se detectó. Pep-2, fue detectada en todos los OTUs, y *argentinus* fue el único polimórfico para el mismo. Pep-3, fue detectado en todos los OTUs. Por último Pep-4, fue detectado en todos los OTUs, pero en *argentinus*, un ejemplar careció del mismo. En el trabajo de Sage *et al.*, solo se detectó un sistema de esterazas, mientras que aquí cinco, en hígado (además de cuatro en plasma). Est-1H y Est-4H, sólo fueron detectados en *porteousi* (que como se dijo, no se incluye aquí). Est-2H no fue detectado en ningún ejemplar de *argentinus* (tampoco en 2 de *latro*). Est-3H fue detectado en todos los OTUs, y se mostró monomórfico en *argentinus*. Por último Est-5H fue detectado en todos los OTUs, y resultó monomórfico en *argentinus*. Por lo tanto, respecto a *argentinus*, se detectó un solo locus más de esteraza, y al igual que en Sage *et al.*, fue monomórfico. En este trabajo se detectaron dos sistemas de Aspartato amino transferasa (Aat), mientras que en Sage *et al.* sólo uno. De cualquier manera, en ambos casos, los loci fueron monomórficos. El último de los loci posiblemente compartidos, glucosa-6 fosfato deshidrogenasa, (G6pdh), resultó monomórfico en ambos trabajos.

En el penúltimo de los loci mencionados, Aat, aparece una de las diferencias entre los trabajos, respecto a *dorbignyi*. Aquí, tanto *argentinus* como *dorbignyi*, están fijadas para el mismo alelo, mientras que en Sage *et al.*, *argentinus* está fijado para un alelo, que es distinto al fijado en el resto de las especies estudiadas allí. De las cuatro peptidasas (Pep) reveladas aquí, tres están presentes en *dorbignyi*, y de manera monomórfica. En el trabajo de Sage *et al.*, *dorbignyi* evidenció cuatro Pep, una de las cuales, en estado polimórfico. Iguales fenotipos tuvieron *argentinus* y *dorbignyi* en los loci G6pdh y Est, en el trabajo de Sage *et al.*

Las razones de las diferencias en el número de sistemas encontrados para un mismo tipo enzimático, entre el trabajo de Sage *et al.* y el presente, obedece, seguramente, a diferencias en las técnicas. Pero a pesar de esto, es innegable que diferentes conclusiones se pueden sacar de la variabilidad en *argentinus*, que de ninguna manera es nula, como muestran Sage *et al.* Simon & Archie (1985) muestran empíricamente que las estimaciones de la variabilidad medidas para las mismas especies por distintos laboratorios, dan resultados

totalmente diferentes, al usar diferentes loci. Evidentemente, este puede ser uno de esos casos.

Existe aún, más evidencia de la poca homogeneidad en los resultados obtenidos sobre la variabilidad genética de *Ctenomys*. En un trabajo en preparación, Apfelbaun, Massarini, Daleffe & Reig encontraron heterocigosis que varían entre 0% (en la población de Necochea de *C. australis*) a alrededor de 11.2% (en la población de Bonifacio de *C. porteousi*). El resultado obtenido con *australis* es impactante, ya que además, está basado en una muestra numerosa. Aquí hemos hallado valores mínimos y máximos de heterocigosidad similares a los apuntados recién (*magellanicus*, $H=0\%$; *occultus*, $H=20\%$; *tucumanus*, $H=17.5\%$) pero están basados en muestras pequeñas y pocos loci (Tablas 3.2.I. y 3.2.II.). De cualquier manera, los cuatro ejemplares de *tucumanus*, mostraron una heterocigosidad (basada en los 26 loci) relativamente alta de 15.6%.

¿Cuál es la explicación del grado de variabilidad encontrada en *Ctenomys*? Dos hipótesis alternativas intentan explicar de manera general la variabilidad genética en los mamíferos subterráneos. Una postula que dicha variabilidad está ligada a la estructura poblacional (Patton & Young, 1977), mientras que la otra predice que la variabilidad está en función inversa a la homogeneidad ambiental (Nevo et al., 1984). Siendo el nicho subterráneo muy homogéneo, la segunda hipótesis predice que la variabilidad debe ser baja y semejante en todos. Uno de los estimadores de la variabilidad, H , puede tomar valores bajos por causas diferentes. Si el ambiente homogéneo tiende a mantener solo aquellos alelos mejores adaptados a dicho ambiente, la heterocigosis será baja por falta de alelos. Por otro lado, si no existe este tipo de selección, la heterocigosis sólo será baja si la estructura poblacional favorece el apareamiento entre individuos emparentados, disminuyendo el número de heterocigotas posibles en dicha población. Otra posibilidad es que la estructura poblacional sea también la causa que las muestras de individuos sea deficiente en heterocigotas por efecto Wahlund. Los resultados obtenidos en esta tesis son en parte contradictorios a este respecto. Si tenemos en cuenta los valores de heterocigosidad incluyendo las esterasas y Pt-4, es evidente que la hipótesis de la homogeneidad del nicho es insostenible. Esto es así porque nada indica que el ambiente subterráneo no sea realmente homogéneo, pero siendo esto cierto, no se explica la existencia de tanta variabilidad. Por otra parte, de existir selección, debería ser fuertemente sobredominante (hay exceso significativo de heterocigotas en las esterasas y Pt-4), hecho no explicable en un ambiente homogéneo. Entonces si la selección no explica la variabilidad debemos suponer una estructura poblacional que favorezca notablemente la exocruza, un hecho que no parece ser cierto en las poblaciones de *Ctenomys* (ver Sección 1.2. de Introducción).

Llegamos a la conclusión entonces que ninguna de las dos hipótesis explica la realidad así descrita.

Podemos por otra parte considerar a la genética de las esterazas y la muy particular Pt-4 como un problema no resuelto (lo que es muy probable), y no considerarlas en la contabilización de la variabilidad. En este caso, la heterocigosis fue a 0 (salvo en *tuconax*). Pero sin embargo, encontramos dos casos diferentes de $H=0$. El caso más simple y menos útil para decidir entre las dos hipótesis, es la falta de alelos alternativos. Cuando esto ocurre (en los datos de esta tesis, en todos los OTUs de *Ctenomys* salvo en *argentinus*, *latro* y *tuconax*, cuando se eliminan las esterazas y Pt-4), ninguna de las dos hipótesis puede ser desechada lógicamente, ya que la falta de alelos puede ser el resultado de procesos históricos o también de selección, y existir además una estructura poblacional que favorezca la disminución de heterocigosis, que por la falta de alelos no pueda evidenciarse. Pero cuando existen alelos alternativos, hay una forma de decidir, y la misma ya se explicó anteriormente. La hipótesis de la homogeneidad del nicho predice valores de H bajos por el solo hecho de la existencia de algún tipo de selección direccional que tiende a fijar a los alelos más aptos a un ambiente. Pero de existir más de un alelo esperamos que el más adaptado esté en mayor frecuencia, y también que en mayor frecuencia estén el genotipo homocigótico para el mismo. No existe ninguna razón para pensar que de los genotipos alternativos, sea el heterocigótico el que deba estar en menor frecuencia, sino más bien, el homocigota alternativo. Los datos de la Tabla 3.2.III. muestran que en 3 casos (Em y Pep-2 en *argentinus*; Em en *latro*) hay deficiencias significativas de heterocigotas.

Esto solo puede ser explicado en este caso por una estructura poblacional que favorezca la endocruza. El efecto Wahlund, es difícil de aplicar por razones observacionales: los individuos son muestreados en áreas muy pequeñas, inclusive en cuevas adyacentes.

El hecho que la variabilidad en mamíferos subterráneos no pueda ser explicada por la hipótesis de la homogeneidad del nicho, tiene apoyo en los datos de otros géneros. Es cierto que existen muchos ejemplos donde se muestra muy baja o nula variabilidad en mamíferos subterráneos, como en *Geomys tropicalis* (Selander *et al.*, 1974), en especies de *Bathyergus* y de *Cryptomys* (Nevo *et al.*, 1987) tres especies de *Pappogeomys* (Honeycutt & Williams, 1982). Pero existen muchos otros contraejemplos de mamíferos subterráneos con una variabilidad muy alta, como en *Thomomys bottae jacinteus*, con un $H=0.169$ (Patton & Yang, 1977). El ambiente subterráneo, no es por cierto, el único estable. Los fondos marinos se suponen también como muy homogéneos. Sin embargo se ha observado variabilidad muy alta en asteroideos (Ayala *et al.*, 1975), ofiuroideos (Ayala & Valentine, 1974), braquiópodos (Valentine & Ayala,

1974) y moluscos (Ayala *et al.*, 1973; Campbell *et al.*, 1975).

Estos resultados parecen apoyar la hipótesis de que la cantidad de variabilidad genética está regulada preferentemente por la estructura poblacional, más que por fenómenos selectivos.

3.2.3. Estimación de distancias genéticas.

La Tabla 3.2.V. muestra las distancias genéticas calculadas entre los 18 OTUs estudiados electroforéticamente. Como ya se adelantó en la sección 3.2.1., algunas comparaciones no pudieron ser realizadas, indicándose este hecho con una serie de asteriscos. Arriba de la diagonal se muestran las distancias de Rogers y abajo las de Nei. Las distancias de Nei calculadas mediante el método de "jackknife" Mueller & Ayala (1982), resultaron más bajas que las que se muestran en la Tabla 3.2.V. Esto no resultaría problemático sino fuera que para algunos pares de OTUs, dicha distancia resultó igual a cero, mientras que con el cálculo tradicional no lo fueron. Como en los casos en que el método de "jackknife" arrojó valores de distancias por encima de cero fueron siempre proporcionales a los calculados de la manera tradicional, se utilizarán para la construcción de fenogramas, estos últimos, ya que proporcionan información que acota el número de topologías, en relación a las posibles, cuando existen muchas distancias iguales a cero.

La distancia de Nei máxima entre dos OTUs fue de 0.158, entre *Octodontomys gliroides* y *C. tuconax*. La distancia máxima obtenida, dentro de *Ctenomys*, fue de 0.144, entre *argentinus* y, otra vez, *tuconax*. La distancia mínima fue de cero, y esto ocurrió entre varios pares de OTUs.

OTU	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 <i>argentinus</i>	—	0.052	0.051	0.011	0.125	0.038	0.059	0.054	0.049	0.052	0.047	0.053	0.051	0.047	0.049	0.093	0.050	0.071
2 <i>dorbignyi</i>	0.100	—	0.002	0.018	0.074	0.005	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.041	0.018	0.126
3 <i>anighlia</i>	0.071	0.019	—	0.019	0.078	0.000	0.035	0.004	0.000	0.001	0.000	0.003	0.001	0.000	0.000	0.048	0.013	0.129
4 <i>latro</i>	0.079	0.057	0.058	—	0.092	0.000	0.024	0.020	0.015	0.018	0.013	0.019	0.017	0.015	0.015	0.062	0.013	0.064
5 <i>magellanicus</i>	0.077	0.067	0.068	0.055	—	0.000	0.063	0.073	0.063	0.073	0.063	0.063	0.063	0.075	0.073	0.158	0.097	0.097
6 <i>occulatus</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	—	0.000	0.038	0.000	0.019	0.000	0.030	0.000	0.017	0.000	0.013	0.000	0.000
7 <i>opimus</i>	0.112	0.060	0.061	0.057	0.030	0.000	—	0.036	0.031	0.034	0.029	0.035	0.033	0.030	0.031	0.078	0.013	0.050
8 <i>perrensi</i>	0.112	0.013	0.030	0.069	0.066	0.000	0.072	—	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.044	0.050	0.125
9 <i>raigi</i>	0.091	0.009	0.010	0.048	0.065	0.000	0.051	0.021	—	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.046	0.013	0.115
10 <i>sp. P25</i>	0.105	0.006	0.023	0.062	0.066	0.000	0.065	0.007	0.014	—	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.031	0.125
11 <i>sp. F27</i>	0.091	0.009	0.010	0.048	0.065	0.000	0.051	0.021	0.000	0.014	—	0.019	0.000	0.000	0.000	0.044	0.013	0.115
12 <i>sp. P28</i>	0.111	0.024	0.029	0.067	0.065	0.000	0.071	0.011	0.019	0.018	0.000	—	0.001	0.000	0.000	0.050	0.050	0.115
13 <i>sp. P29</i>	0.091	0.009	0.010	0.048	0.065	0.000	0.051	0.021	0.000	0.014	0.000	0.019	—	0.000	0.000	0.048	0.000	0.115
14 <i>sp. F30</i>	0.099	0.003	0.017	0.056	0.067	0.000	0.057	0.016	0.008	0.008	0.008	0.027	0.008	—	0.000	0.037	0.013	0.127
15 <i>sp. P33</i>	0.104	0.005	0.022	0.061	0.065	0.000	0.064	0.008	0.013	0.009	0.013	0.019	0.013	0.008	—	0.039	0.029	0.125
16 <i>tuconax</i>	0.144	0.067	0.072	0.107	0.139	0.000	0.111	0.080	0.072	0.073	0.072	0.071	0.072	0.064	0.072	—	0.013	0.200
17 <i>tucumanus</i>	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.020	—	0.000
18 <i>Octodontomys</i>	0.020	0.089	0.090	0.011	0.130	0.000	0.055	0.088	0.086	0.088	0.086	0.086	0.066	0.066	0.088	0.087	0.158	0.000

Tabla 3.2.V. Matriz de distancias genéticas. Arriba de la diagonal distancias de Rogers (1972). Abajo de la diagonal distancias de Nei (1978). Los asteriscos indican aquellas comparaciones que no fueron posibles realizar debido a la falta de loci analizados en común.

3.2.4. Estimación general de la divergencia y estimación fenética de la filogenia.

La estimación de la divergencia está basada en dos aspectos

relacionados. En primer lugar se tienen en cuenta las topologías resultantes de los análisis de agrupamientos basados en las distancias de Nei y Rogers (Tabla 3.2.V.). Estas topologías, por ser fenogramas, muestran directamente el grado relativo de diferenciación genética alcanzado entre todos los OTUs. En segundo lugar, y utilizando la metodología sugerida por Mueller & Ayala (1982), se ponen a prueba estadísticamente las distancias genéticas entre los grupos formados en los fenogramas, es decir, se calculan los intervalos de confianza de los nodos. Este último procedimiento se realiza también, para poner a prueba la significación de la diferenciación genética entre grupos de OTUs formados en otros análisis, específicamente en el análisis cladista de los datos de cromosomas bandeados.

Debido a razones ya expuestas en las secciones 3.2.1. y 3.2.3, la falta de datos de distancia entre algunos pares de OTUs obligó a realizar dos análisis de agrupamientos diferentes. En uno se excluyó a *magellanicus* y en el otro a *occultus* y *tucumanus*. En cada uno de ellos se utilizaron ambos índices de distancias genéticas calculados.

La Figura 3.2.I. muestra los dos fenogramas, de un total de 12 obtenidos (el número máximo posible, aparentemente, es muy superior), con mayor coeficiente de correlación cofenética (ccc), utilizando el índice de Nei y excluyendo a *magellanicus*. La cantidad de fenogramas obtenidos depende del número de nodos no resueltos. El OTU más problemático fue *occultus*, por la simple razón que todas las distancias del mismo con otros OTUs fueron iguales a cero con este índice. En cada uno de los fenogramas, *occultus* se unió a un OTU diferente, por lo que su ubicación en el fenograma es incierta. Se distinguen claramente dos grupos, uno formado por *argentinus*, *latro* y *Octodontomys*, y el otro por el resto de los OTUs. Estos grupos se unen a una distancia de aproximadamente de 0.07. Cuando se analiza estadísticamente la distancia entre estos dos grupos utilizando el método de Mueller & Ayala (1982), resulta no significativa. Por lo tanto, la topología obtenida no puede considerarse como fundamento para ninguna conclusión terminante. Teniendo en cuenta esto podemos, sin embargo, hacer notar algunas coincidencias con otros resultados. Dos especies que en otros análisis aparecieron juntas, *argentinus* y *latro*, aquí aparecen de la misma manera, junto a *Octodontomys*. Si tenemos en cuenta que la ubicación de *occultus* es, según los datos de distancias electroforéticos, incierta, el resultado anterior es coherente con el hecho que esta especie estuvo siempre relacionada con *argentinus* y *latro*, y que a su vez, según el análisis cladístico de los cromosomas bandeados (ver en la sección 3.3.), es la más cercana a *Octodontomys*. Otro hecho coherente con los resultados anteriores es la ubicación, de forma muy estrecha, de los OTUs de Corrientes. Incluidos en el mismo grupo, están *tucumanus* y *knightii*. *C. tucumanus* fue analizados en pocos loci, por lo que su ubicación está menos

fundamentada. Este no es el caso de *knightii*, y su relación con las especies de Corrientes, fue mostrada también en otros análisis, como en el morfológico (Figuras 3.1.1.IIIa., 3.1.1.IV.a, 3.1.1.VII. y 3.1.1.VIII). También en estos análisis se observó estrecha relación entre *tuconax* y *opimus*, y en algunos casos *knightii* con *tuconax*.

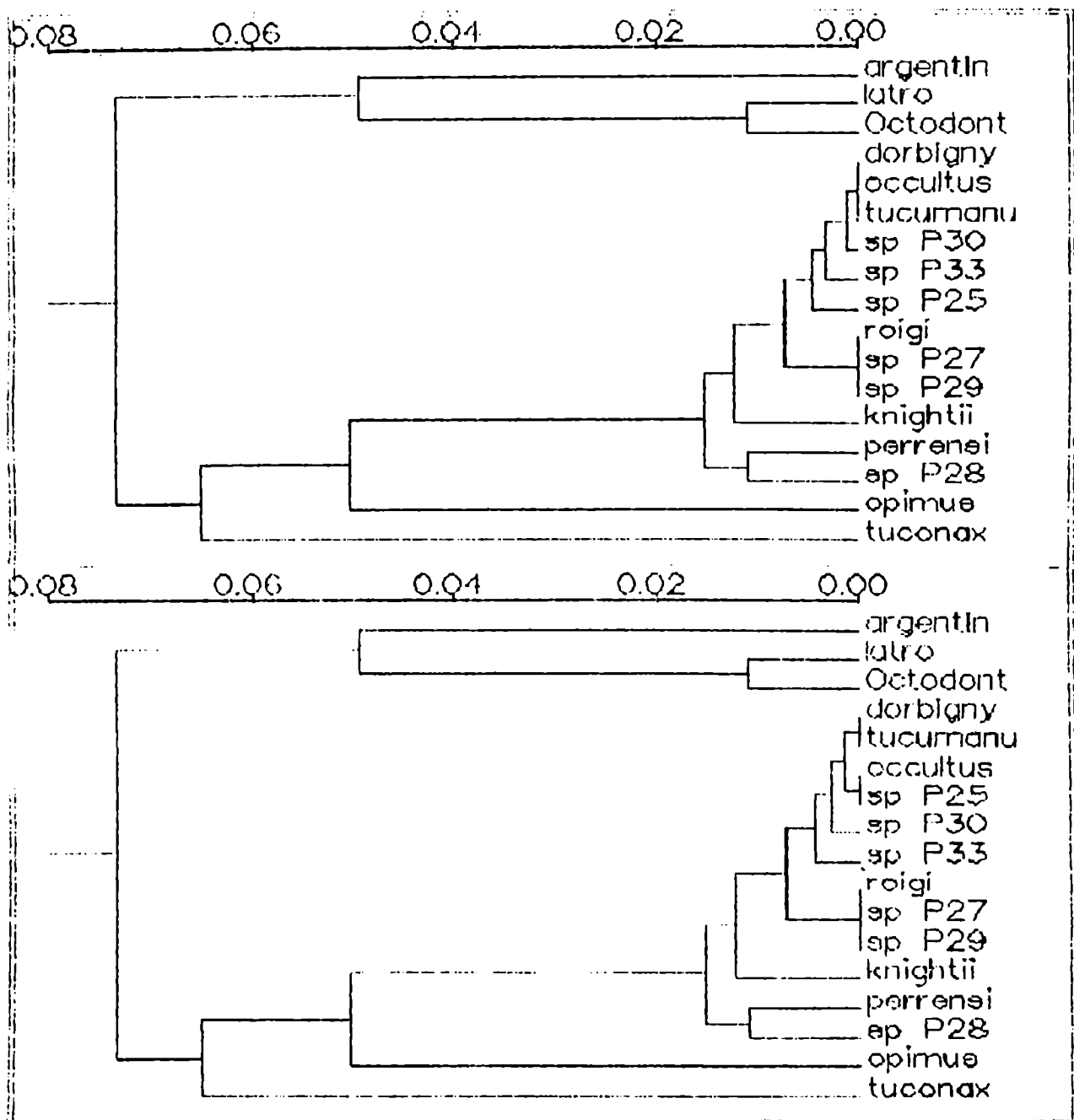


Figura 3.2.1. Los dos fenogramas con mayor coeficiente de correlación cofenética (ccc), obtenidos con UPGMA, y basados en los valores de distancia de Nei, que se muestran en la Tabla 3.2.V. Se excluye aquí a *magellanicus* (ver Tabla 3.2.V.). Arriba ccc=0.77096. Abajo ccc=0.77091.

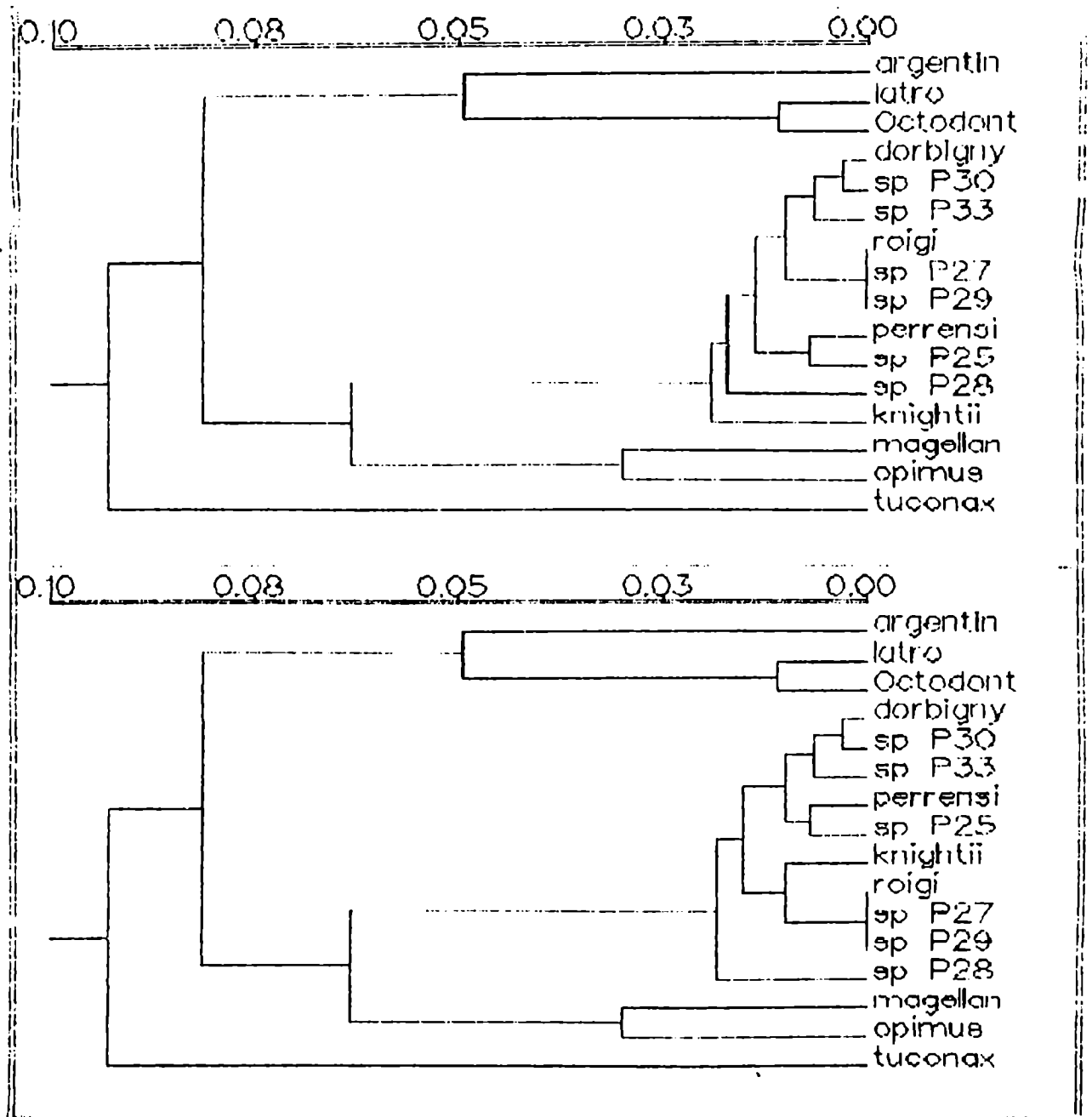


Figura 3.2.11. Los dos fenogramas con mayor coeficiente de correlación fenética (ccc), obtenidos con UPGMA, y basados en los valores de distancia de Nei, que se muestran en la Tabla 3.2.V. Se excluyen aquí a *occultus* y *tucumanus* (ver Tabla 3.2.V.). Arriba ccc=0.89227. Abajo ccc=0.89199.

La Figura 3.2.11. muestra las dos topologías con mayor ccc de las 8 obtenidas con Nei pero excluyendo a *occultus* y *tucumanus*.

La topología es algo diferente, que cuando se excluyó a *magellanicus*. *C. tuconax* aparece como la especie más diferenciada. El resto de

los OTUs se diferencian a su vez en dos grupos, similares en composición a los dos de la Figura 3.2.I. Las dos especies más cercanas a *Ootodontomys* siguen siendo *latro* y *argentinus*. Esta tres forman al igual que antes, uno de los dos grupos.

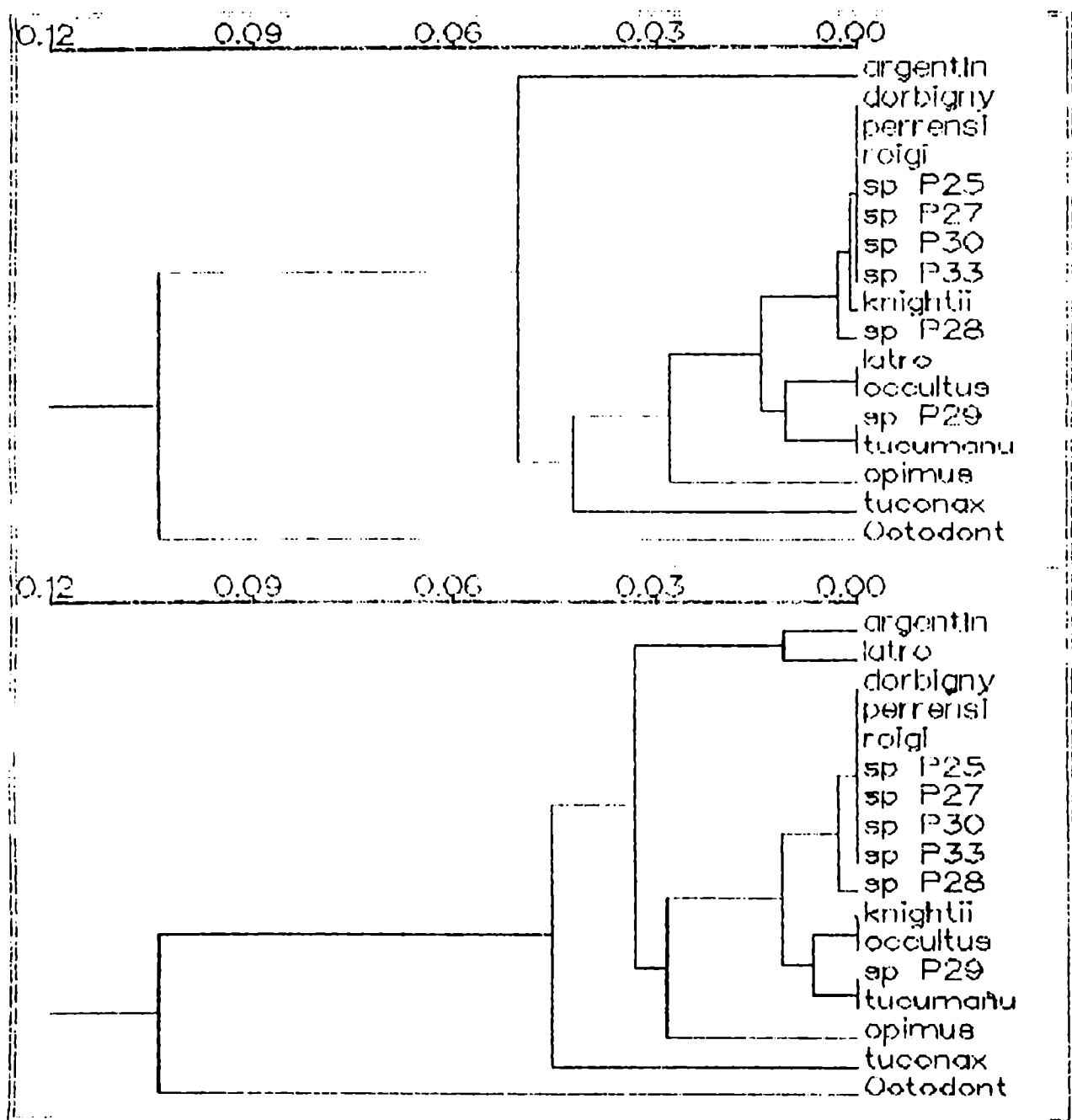


Figura 3.2.III. Los dos fenogramas con mayor coeficiente de correlación cofenética (ccc), obtenidos con UPGMA, y basados en los valores de distancia de Rogers, que se muestran en la Tabla 3.2.V. Se excluye aquí a *magellanicus* (ver Tabla 3.2.V.). Arriba ccc=0.84860. Abajo ccc=0.82473.

El otro grupo lo forman el resto de las especies. Cuando se analizan

estadísticamente las distancias entre *tuconax* y el resto, y entre los dos grupos restantes, las mismas no son, igual que antes, significativas. Otra vez aquí aparecen todas las especies de Corrientes estrechamente agrupadas, apareciendo en el mismo grupo *knightii*, qué en el fenograma con más ccc resulta ser el más diferenciado.

Un grupo interesante es el formado por *opimus* y *magellanicus*. Esta última especie, es la única con espermio asimétrico de todas las incluidas en el análisis electroforético. Coincidente con este resultado, estas dos especies están incluidas en un mismo clado en el análisis cladístico de cromosomas con bandas G, y dentro de ese clado aparecen como grupos hermanos (ver más adelante en las Figuras 3.3.3.II., 3.3.3.III, 3.3.3.IV y 3.3.3.VI.).

La Figura 3.2.III. muestra las dos topologías con mayor ccc de las 4 obtenidas con el índice de Rogers, excluyendo a *magellanicus*. Las topologías obtenidas son interesantes. En todos los fenogramas *Octodontomys* aparece como el más diferenciado de todos los OTUs. En el fenograma con mayor *argentinus* es el que le sigue en diferenciación. *C. latro*, alterna entre ubicarse con *argentinus*, o con *occultus* y *tucumanus* (se une a estos últimos uno de los OTUs de Corrientes, P29, como consecuencia quizá, no por afinidad de parentesco, sino más bien debido a la poca significación que han evidenciado los nodos) El grupo de Corrientes otra vez aparece homogéneamente

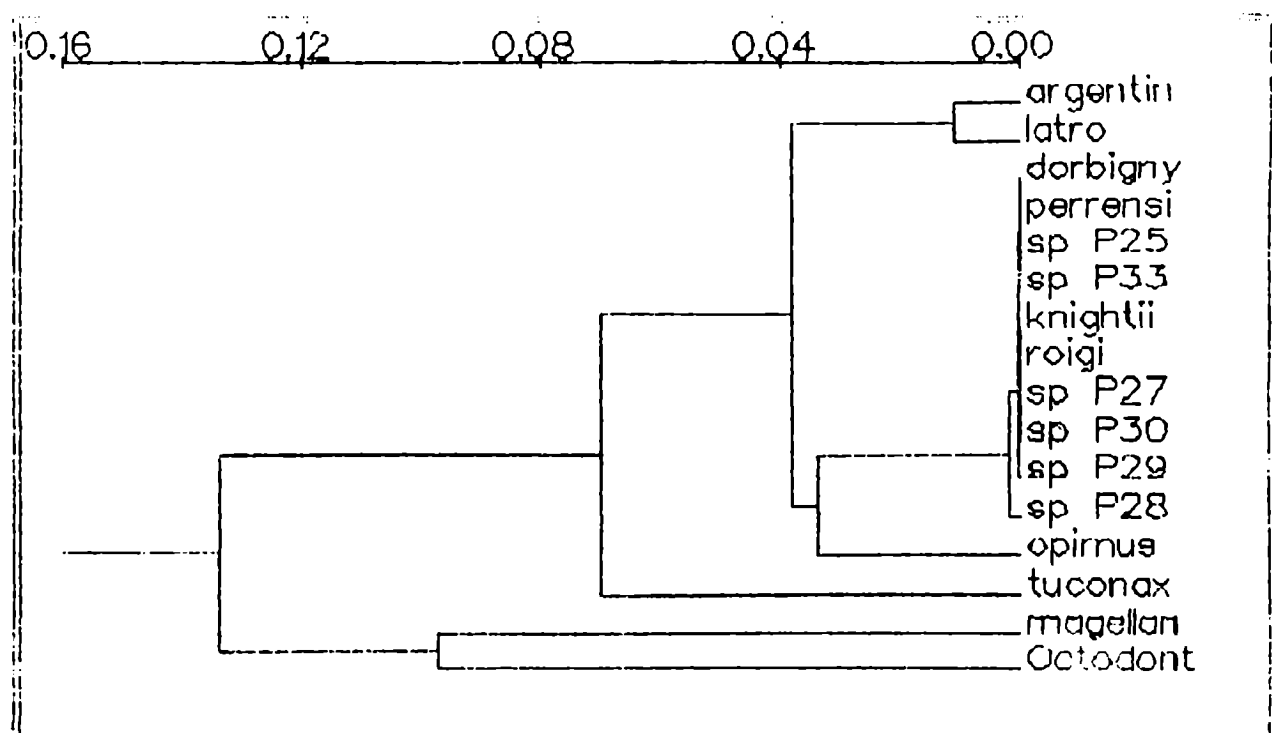


Figura 3.2.IV. Fenograma con mayor coeficiente de correlación cofenética (ccc), obtenido con UPGMA, y basados en los valores de distancia de Rogers, que se muestran en la Tabla 3.2.V. Se excluyen aquí a *occultus* y *tucumanus* (ver Tabla 3.2.V.). ccc=0.89614.

unido (salvo P29) en una caso con *knightii* incluido o como "antecesor" del mismo. En uno de los fenogramas *tucumanus* es el más diferenciado, después de *Octodontomys*, y en el otro, se muestra relativamente cercanos a *opimus*. Estos resultados obtenidos con la distancia de Rogers, poseen mayor coherencia con los obtenidos con otro tipo de datos y en cuanto a la ubicación del extragrupo. Los resultados que coinciden con los obtenidos con la D de Nei ya fueron discutidos.

La Figura 3.3.IV. muestra uno de los fenogramas obtenidos utilizando Rogers cuando se excluyen a *occultus* y *tucumanus*. Otra vez, *latro* y *argentinus* forman un grupo, el grupo Corrientes forma otro, *knightii* incluido, pero en este caso, y a diferencia de lo obtenido con la distancia de Nei, *opimus* no forma un grupo con *magellanicus*, uniéndose los mismos al grupo Corrientes-*knightii* y *Octodontomys* respectivamente.

Se puso a prueba también estadísticamente la distancia entre *Octodontomys* y *Ctenomys* (excluyendo a *occultus-tucumanus* y excluyendo a *magellanicus*), la que fue no significativa.

Al margen de las topologías obtenidas en esta sección, se utilizaron las obtenidas en la siguiente basadas en cromosomas bandeados. De particular interés para la puesta a prueba de la hipótesis de especiación cromosómica (ver más adelante en las Figuras 3.3.3.III., 3.3.3.III, 3.3.3.IV y 3.3.3.VI.), es el subárbol donde aparece *argentinus* como grupo hermano del grupo de Corrientes. También, dentro del grupo de Corrientes, el subárbol que muestra a *perrensi*, *roigi* y sp. (P25) como grupo hermano del formado por *dorbignyi* y las sp. P27, P29 y P30. No resultaron significativas las distancias entre *argentinus* y las siete especies de Corriente estudiadas con cromosomas bandeados, ni tampoco la distancia entre *argentinus* y todas las especies de Corrientes estudiadas alozímicamente. Tampoco fue significativa la distancia entre *perrensi*, *roigi* y sp. (P25) por un lado y el grupo hermano del formado por *dorbignyi* y las sp. P27, P29 y P30. El promedio de las distancias de Nei entre todos estos siete OTUs es de 0.010773, mientras que incluyendo todos los OTUs de Corrientes es de 0.011528.

En el trabajo de Sage *et al.* (*op. cit.*), las distancias de Nei calculadas entre los 11 OTUs examinados fueron bajas, aunque mayores que las halladas aquí. En el análisis de agrupamiento realizado por estos autores se distinguen cuatro grupos. Uno, el más diferenciado, está compuesto por *C. sociabilis* (Pearson & Christie, 1995; en el trabajo de Sage *et al.* denominado sp.), a una distancia de 0.35. El segundo grupo está compuesto también por una especie, *argentinus*, a una distancia de 0.20. *C. dorbignyi* forma, también exclusivamente, el tercer grupo, a una distancia de 0.14. Por último, el cuarto grupo, lo forman todas las poblaciones de *mendocinus* (en un subgrupo), *haigi* y *bonettoi*. La escasa cantidad de OTUs estudiados en este trabajo y la

falta de estimación de confianza estadística de la longitud de los nodos en primer lugar, junto con el bajo tamaño muestral salvo en *mendocinus* (*haia*3, N=4; *mendocinus*, N=31; *bonettoi*, N=2; *dorbignyi*, N=5; *argentinus*, N=2; *sociabilis*, N=1), no permiten, sin menos que con los datos electroforéticos de esta tesis, elaborar hipótesis filogenéticas con los resultados presentados.

3.2.5. Aproximación cladística.

3.2.5.1. Análisis basado en máxima parsimonia

El análisis de máxima parsimonia fue realizado excluyendo los OTUs *occultus* y *tucumanus*, que son aquellos de los que tenemos menor cantidad de datos por el número bajo de loci estudiados en ellos. Utilizando el programa PAUP (ver sección 2.2.2.6., de Métodos) habían sido hallados 100 árboles igualmente parsimoniosos, al momento de alcanzar el límite de memoria del programa. Estos árboles tuvieron un índice de consistencia de 0.762. Por lo tanto, se procedió a calcular el árbol consenso de todos ellos, el que utilizaremos para analizar la filogenia, sin tener en cuenta ninguno de los árboles particulares obtenidos.

La Tabla 3.2.IV. muestra la lista de apomorfias de OTUs y HTUs, correspondientes al árbol consenso de la Figura 3.2.V. C.

OTU o HTU	Car.
<i>argentinus</i>	35
	37
	42
<i>dorbignyi</i>	--
<i>knightii</i>	--
<i>latro</i>	7
<i>magellanicus</i>	--
<i>opimus</i>	--
<i>perrensi</i>	--
<i>roigi</i>	--
sp. P25	--
sp. P27	--
sp. P28	--
sp. P29	--
sp. P30	--
sp. P33	--
<i>tucunax</i>	3
	20
17	17
18	5
19	39
20	2

Tabla 3.2.IV.
Listado de
apomorfias de OTUs
y HTUs. Car.
Número del
caracter.

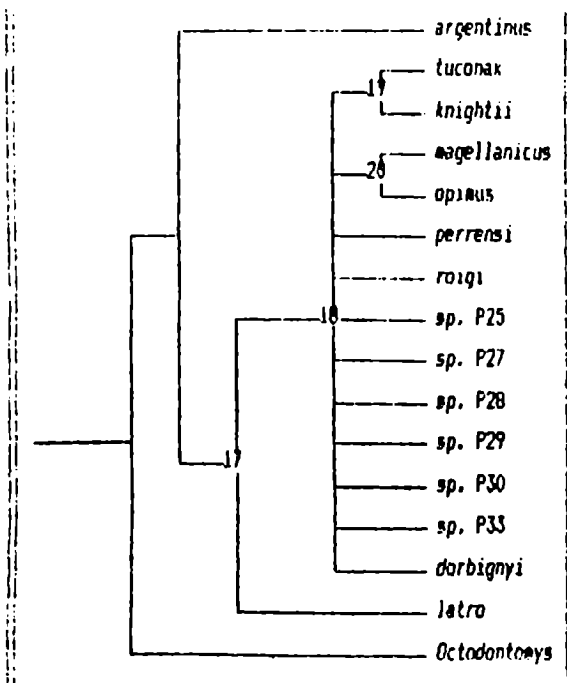


Figura 3.2.V. Árbol consenso de todos los árboles más parsimoniosos obtenidos con el programa PAUP, excluyendo *occultus* y *tucumanus*. Los números de los nodos corresponden a los de la Tabla 3.2.IV.

argentinus, posee dos alélos que no poseen ninguna de las otras OTUs, en Pep-1 y Pep-2 respectivamente. La tercera apomorfia de este OTU es la aparición, en estado polimórfico, de un alelo nulo en Pep-4. *C. latro* posee un alelo en Est-3H no compartido por otra especie. Finalmente, en cuanto a los OTUs, *tucunax* posee dos apomorfias, que corresponden a alélos propios de esta especie en los loci Est-2H y Hex. El árbol consenso de la Figura 3.2.V. está fundamentado en las siguientes apomorfias de los HTUs (o sinapomorfias de los OTUs derivados de los HTUs). *C. argentinus*, no es distinguible cladísticamente de *Octodontomys*. El resto de los OTUs, se diferencian de ambas especies por la pérdida del alelo c del locus Em. El nodo 18 está justificado por un hecho interesante, en Est-2H. En *Octodontomys* y

en *argentinus*, este sistema falta. En *latro* aparece en forma polimórfica. Luego, en todos los OTUs derivados del nodo 16, aparece fijado. Recordemos, que, como se dijo en 3.2.4. (ver análisis de Figura 3.2.II.) y en las referencias dadas allí a otras partes de esta tesis, tanto *argentinus* como *latro* están ligadas estrechamente al ancestro de *Ctenomys*, conjuntamente sobre la base de los datos cromosómicos y morfológicos. El resultado, aquí obtenido, es también coincidente. Por último, existen dos pares de OTUs ligados por sendos alelos únicos de dichos pares. El par

formado por *knightii* y *tuconax*, cuya relación fue discutida ya en la sección 3.2.4. (ver discusión de la Figura 3.2.I.), comparten ellos solos el alelo c de Pop-2. Por su parte, el par *magellanicus* y *opimus*, comparten ellos solos el alelo a de Est-2H. La relación entre ambos fue ya discutida en la sección 3.2.4. (ver discusión de la Figura 3.2.II.). Es necesario recordar, que los bajos números muestrales, pueden derivar en topologías erróneas (tanto en el análisis fenético como en el cladístico, ver sección 1.1.2. de Introducción), pero los resultados recién descritos parecen estar en concordancia con los obtenidos con otros tipos de datos.

Otro análisis realizado, fue el estimar la confiabilidad de los cladogramas resultantes mediante la técnica de "bootstrap" (ver sección 1.1.2.5. de Introducción) y bajo el principio de máxima parsimonia, pero utilizando el programa BOOT del paquete PHYLIP (ver sección 2.2.2.6., de Métodos). Se procedió a realizar 200 réplicas. La topología obtenida, junto con la cantidad de réplicas que apoya a cada nodo se muestra en la Figura 3.2.VI. Nuevamente, de *Octodontomys* derivan *argentinus* en primer lugar y *latro* en segundo. Aparece también la dupla *opimus-magellanicus*, pero esta vez, a diferencia del análisis con PAUP, diferenciada del grupo de Corrientes, *knightii* y *tuconax*. Sin embargo esta separación tiene un escaso margen de confiabilidad, ya que está apoyada por solo 11 réplicas. Dentro del grupo de Corrientes, como se dijo,

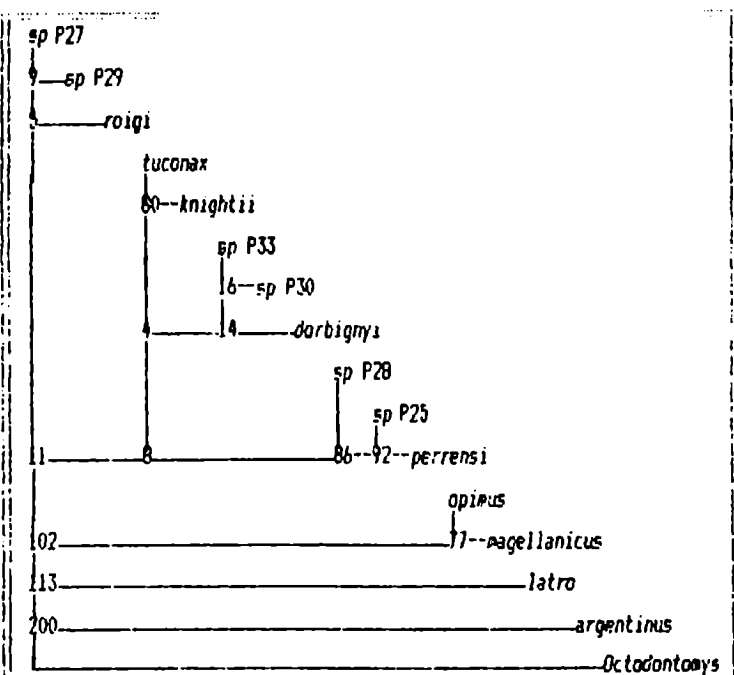


Figura 3.2.VI. Topología obtenida con el método de Wagner utilizando la técnica de bootstrap para la estimación de confiabilidad de los cladogramas. El número de réplicas total fue de 200, y en los nodos se muestra el número de réplicas en que se basa cada uno.

está la dupla *knightii-tuconax*, cuyo nodo está apoyado por 80 réplicas, pero su unión con algunos OTUs de Corrientes está basada únicamente en 4 réplicas.

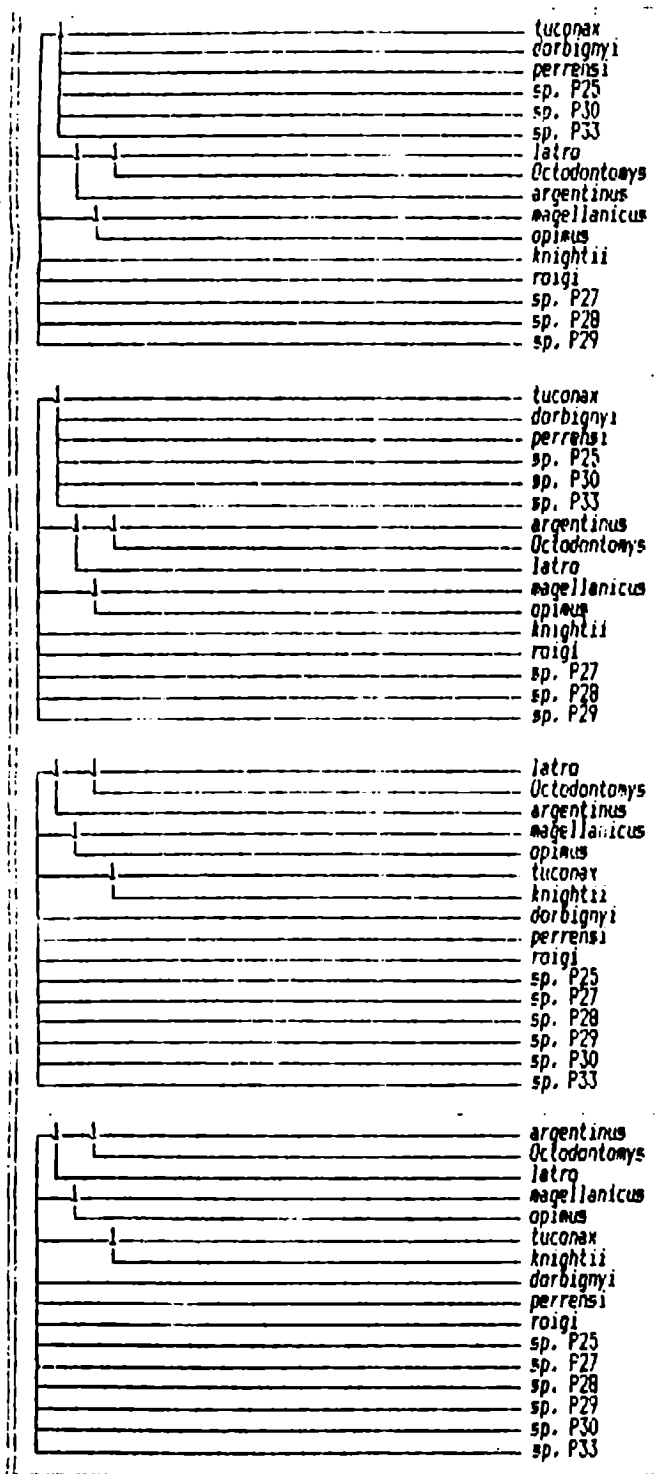


Figura 3.2.VII. Topologías basadas en los cuatro grupos de caracteres compatibles encontrados. En cada nodo se indica la cantidad de caracteres compatibles que apoya cada nodo.

Dentro del grupo de Corrientes existen un par de clados con bastante significación. Estos son los formados por *sp. P25* y *perrensi* (92 réplicas) y por estos dos OTUs más *sp. 28*. (86 réplicas). El clado formado por *sp. P25* y *perrensi*, está también apoyado por los datos de cromosomas bandeados (ver más adelante en las Figuras 3.3.3.II., 3.3.3.III., 3.3.3.IV y 3.3.3.VI. de la sección 3.3.).

3.2.5.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique)

El análisis de compatibilidad fue realizado sobre la base de los alelos encontrados en hígado, debido a que para algunos OTUs no se tiene información sobre los alelos de plasma. La Figura 3.2.VII. muestra las cuatro topologías basadas en los cuatro diferentes grupos máximos de caracteres compatibles hallados. Existen dos diferencias básicas que derivan en la obtención de cuatro topologías. En dos de los árboles, el grupo de Corrientes está separado en dos subgrupos, cada uno de ellos ligado a una especie que no pertenece al mismo. En un subgrupo, *tuconax*, y en el otro *knightii*. En la topología alternativa, el grupo Corrientes no está subdividido, con *tuconax* y *knightii*, formando un grupo separado.

Estas dos topologías

tienen a su vez dos formas alternativas. En una, hay un grupo formado por *Octodontomys*, *latro*, y *argentinus*, con *latro* y *Octodontomys* formando un subgrupo. En la otra forma, estas tres especies están también formando un grupo, pero el subgrupo lo forman *Octodontomys* y *argentinus*.

Los grupos más conspicuos son mantenidos en este análisis: *Octodontomys-latro-argentinus*, *opimus-magellanicus*, y en el 50%, el grupo Corrientes y *tuconax-knightii*.

3.2.6. Aproximación por Máxima verosimilitud.

Este análisis no pudo ser completado por razones no muy claras. El programa del paquete PHYLIP que se utilizó, CONTML, se interrumpió antes de concluir las diferentes corridas alternativas que se intentaron. Esto es posible que se haya debido a las frecuencias muy similares o iguales de muchos OTUs, que indujeron errores en los cálculos que realiza el programa.

Como síntesis parcial de los resultados relacionados con la estimación de la filogenia utilizando datos alozímicos, podemos decir que, debido a la similitud general entre los diferentes OTUs, en frecuencias y alelos compartidos, poca es la información obtenida de las relaciones generales, aunque existe información significativa para algunos OTUs en particular (*tuconax-knightii*, *magellanicus-opimus*). Pero a pesar de esto, las relaciones obtenidas concuerdan con los resultados obtenidos con otros tipos de datos y serán utilizadas para una interpretación global con el conjunto de la información en Discusión.

3.3. Resultados de Cromosomas.

3.3.1. Descripción de cariotipos novedosos y presentación de cariotipos bundleados.

3.3.1.1. Cariotipos normales

La investigación de diversas poblaciones aún no estudiadas de *Ctenomys*, confirmó la gran variabilidad cromosómica del género, habiéndose encontrado 17 cariotipos nuevos y habiéndose redefinido otro descrito anteriormente.

En la Tabla 3.3.1.I. se muestran un resumen para *Ctenomys* de los

numeros dipoides y fundamentales conocidos, incluidos aquellos datos presentados en esta tesis.

El siguiente es un listado donde se presentan por localidad, los resultados obtenidos de cariotipos no descritos aún en la literatura, con la descripción de los mismos. Entre paréntesis se indica la numeración de la población (P) utilizada en la sección 2.1.3. de Materiales.

C. argentinus (1): 3 hembras y 1 macho. Todos los ejemplares con $2n=44$, $NF=54$ (Figura 3.3.1.Ib). Cariotipo compuesto por 17 pares de autosomas telocéntricos, 4 medianos y 13 pequeños, uno de los cuales posee constricción secundaria; 1 subtelocéntrico mediano; 1 submetacéntrico mediano y 2 metacéntricos pequeños. El X es un metacéntrico mediano y el Y un metacéntrico pequeño.

C. conoveri (7): 1 macho $2N=50$, $NF=64$ (Figura 3.3.1.Ic). Cariotipo compuesto por 17 pares de autosomas telocéntricos 1 mediano y 16 pequeños; 6 subtelocéntricos medianos y 1 metacéntrico pequeño. El X es un metacéntrico mediano y el Y un telocéntrico pequeño. El cariotipo de

Especies	2N	FN	REF	G	REF	C	REF
<i>C. steinbachi</i>	10	16	[7]	Y	[15]	Y	[15]
<i>C. occultus</i>	22	40	[4]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. mulinus</i>	26	50	[6]	N		Y	[10]
<i>C. opius</i>	26	52	[4]	Y	[1]	Y	[1-10]
<i>C. fulvus</i>	26	52	[4]	N		Y	[10]
<i>C. robustus</i>	26	52	[4]	N		Y	[10]
<i>C. fodex</i>	28	46	[1]	Y	[1]	N	
<i>C. sp. (Lonquimay, Chile)</i>	28	52	[4]	N		N	
<i>C. tucumanus</i>	28	56	[4]	Y	[1]	Y	[14]
<i>C. boliviensis</i>	34-46	44	[7]	Y	[15]	Y	[15]
<i>C. magellanicus</i>	34-36	68	[4-6]	Y	[1]	Y	[10]
<i>C. knightii</i>	36	68	[1]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. latro</i>	40-42	50	[1-4]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. sp. (San Miguel, Arg)</i>	42	80	[1]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. argentinus</i>	44	54	[1]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. torquatus</i>	44-46	76	[2-3]	Y	[2]	Y	[2]
<i>C. porteus</i>	47-48	78	[4-5]	Y	[5]	Y	[5]
<i>C. azarae</i>	47-48	78	[5]	Y	[5]	Y	[5]
<i>C. mendocinus</i>	47-48	80	[5]	Y	[5]	Y	[5]
<i>C. australis</i>	48	80	[5]	Y	[5]	Y	[5]
<i>C. flamarioni</i>	48	76	[9]	N		N	
<i>C. talarum</i>	46-50	84	[4-8]	Y	[3-5]	Y	[5-12]
<i>C. minutus</i>	46-55	74-78	[13]	N		N	
<i>C. roigi</i>	48	80	[1]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. conoveri</i>	48-50	62	[1-7]	Y	[15]	Y	[15]
<i>C. rionegrensis?</i>	48-56	72-74	[1]	N		N	
<i>C. rionegrensis</i>	50	72	[3]	N		N	
<i>C. yolandae</i>	50	78	[1]	N		N	
<i>C. haigi</i>	50	?	[10]	N		Y	[10]
<i>C. sociabilis</i>	56	7	[10]	N		Y	[10]
<i>C. perrensis</i>	50-56	84	[1]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. pearsoni</i>	56-70	84	[3]	Y	[11]	N	
<i>C. sp. (Saladas, Arg)</i>	58	84	[1]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. tuconax</i>	58-61	84	[1-4]	N		N	
<i>C. sp. (San Roque)</i>	62	84	[1]	Y	[1]	Y	[1]
<i>C. dorbignyi</i>	70	84	[1]	Y	[1]	Y	[1]

Tabla 3.3.1.I. Datos citogenéticos del género *Ctenomys*. 2N, número diploide; FN, número fundamental; G, información de Bandas G; S, existente; N, no existente; C, información de Bandas C, S and N como en G; REF, referencias: [1] Esta tesis, [2] Freitas & Lessa, 1984, [3] Kiblsky et al., 1977, [4] Reig & Kiblsky, 1969, [5] Massarini et al., (en prensa), [6] Gallardo, 1979, [7] Anderson et al., 1987, [8] Ortells et al., 1984, [9] Freitas & Travi, 1982, [10] Gallardo, 1988, [11] Novello & Lessa, 1986, [12] Vidal-Rioja, 1983, [13] Freitas & Mattevi, 1986; [14] Massarini et al. (1990); [15] Cook & Yates, 1990.

C. conoveri fue descrito anteriormente para una localidad de Bolivia por Anderson *et al.* (1987), siendo este muy similar ($2n=48$; $NF=70$) al que describimos aquí para la localidad típica. Probablemente la diferencia en el NF se deba también a diferencias en la interpretación de los brazos cortos. El par sexual determinado por Anderson *et al.* para esta especie difiere en morfología del determinado por nosotros, ellos presentan un X subtelocéntrico y un Y submetacéntrico.

C. dorbignyi (8): 6 hembras y 5 machos $2n=70$, $NF=84$. (Figura 3.3.1.IIe). Cariotipo compuesto por 28 pares de autosomas telocéntricos pequeños, 2 de los cuales (pares 15 y 24) poseen constricción secundaria; 1 subtelocéntrico mediano; 2 submetacéntricos y 3 metacéntricos pequeños. El X es un metacéntrico mediano y el Y un subtelocéntrico pequeño. Nos referiremos a esta población como "norte" en esta sección.

C. dorbignyi (10): 2 hembras $2n=70$, $NF=84$. Cariotipo similar al de P8. Nos referiremos a esta población como "sur" en esta sección.

C. fodax (11): 1 hembra con $2n=28$, $NF=46$ (Figura 3.3.1.V.). Cariotipo compuesto por 5 pares de cromosomas autosómicos telocéntricos, 2 medianos y 3 pequeños; 8 pares de bibrachiados: 4 subtelocéntricos, 2 medianos y 2 pequeños, 1 submetacéntrico y 3 metacéntricos 1 mediano y 2 pequeños, uno de los cuales posee una constricción secundaria. Un telocéntrico mediano y los 3 telocéntricos pequeños poseen una zona subpionótica evidente en la región centromérica. El X es un metacéntrico mediano.

C. knightii (12): 1 hembra y 2 machos de $2n=36$, $NF=68$ (Figura 3.3.1.VI). Cariotipo compuesto por 2 telocéntricos pequeños; 2 subtelocéntricos pequeños, 5 submetacéntricos, 1 grande y 4 medianos y 8 metacéntricos, 1 grande (el más grande y conspicuo del complemento), 3 medianos y 4 pequeños, uno de ellos con constricción secundaria. El X es un submetacéntrico mediano y el Y un submetacéntrico también mediano.

C. latro (13): 1 hembra y 1 macho $2n=42$, $NF=48$, y un macho $2n=40$, $NF=48$ (Figura 3.3.1.Ia). El primer cariotipo es similar al descrito por Reig & Kiblicky (1969) para la misma localidad, con la diferencia de que el cromosoma Y que en los ejemplares machos estudiados por mí fue metacéntrico, fue descrito por ellos como telocéntrico. Salvo esta última diferencia, el cariotipo de $2n=42$ del trabajo de Reig & Kiblicky es el mismo que el encontrado para esta especie en esta y otra localidad (14). Tampoco se halló el polimorfismo hallado por ellos en uno de los pares autosómicos, en el que en dos ejemplares, una hembra y un macho, uno de los miembros del par era telocéntrico (como en los otros ejemplares estudiados por ellos) y el otro metacéntrico. Quizá la diferencia en la interpretación de la morfología del Y y la ausencia en los ejemplares aquí estudiados de este polimorfismo pueda explicarse conjuntamente si suponemos que el cromosoma metacéntrico

"polimórfico", en realidad sea el Y hallado aquí, suponiendo también algún tipo de confusión en cuanto al número de ejemplar y sexo de los ejemplares estudiados cromosómicamente por Reig & Kiblicky. Esto concuerda con el hecho de que en los animales "polimórficos" se mantiene el mismo número diploide de 42, aunque la pérdida de brazos cortos en *Ctenomys* no es rara (Massarini *et al.* *en prensa*). Una última diferencia se refiere al cromosoma 7, en el cariotipo presentado por Reig & Kiblicky, que es considerado subtelocéntrico con un índice de brazos de 11.9. El mismo no fue hallado, pero se debe seguramente a una interpretación diferente de la existencia de los brazos cortos. El cariotipo de $2n=40$ se diferencia del anterior por una fusión céntrica, que forma un metacéntrico grande. Este reordenamiento es identificable por bandas G de una manera indirecta: los brazos de este metacéntrico corresponden a cromosomas telocéntricos, en las especies emparentadas. También, el par 4 de cromosomas acrocéntricos se presentó heteromórfico en un ejemplar debido a la presencia de un muy pequeño brazo corto heterocromático (Figura 3.3.1.XIV).

C. occultus (18): 2 hembras y 1 macho de $2n=22$, $NF=40$ (Figura 3.3.1.VII.). Cariotipo compuesto por 1 par cromosómico telocéntrico grande; 1 subtelocéntrico mediano con una evidente constricción secundaria en el brazo largo; 1 submetacéntrico grande; 7 metacéntricos, 3 grandes (el primero el más conspicuo por su tamaño del complemento), 2 medianos y 2 pequeños. El X es un telocéntrico mediano y el Y un subtelocéntrico pequeño. Esta especie fue descrita en su cariotipo también por Reig & Kiblicky (*op. cit.*) sobre la base de un ejemplar hembra, pero lo ilustran solamente mediante un idiograma tentativo. Este idiograma propone un $2n$ igual al encontrado en este trabajo, pero el NF no sería de 44 como habían propuesto estos autores, sino más bajo ($NF=40$) debido a algunas diferencias importantes. En primer lugar no aparece el único cromosoma telocéntrico del complemento autosómico; quizás este fue interpretado como el subtelocéntrico grande que aparece en el idiograma como par 5. Tampoco ilustran el único subtelocéntrico autosómico, que además es el que posee la constricción secundaria. El cromosoma X es tentativamente propuesto como uno de los metacéntricos; aquí se demuestra que es un telocéntrico, que en la hembra estudiada tendría que haber aparecido como par.

C. perrensi (21): 5 machos y 5 hembras. Todos los ejemplares con $2N=50$, $NF=84$ (Figura 3.3.1.IIa). Cariotipo estándar compuesto por 8 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 1 subtelocéntrico mediano; 3 submetacéntricos, 1 mediano y 2 pequeños; 12 metacéntricos, 6 medianos y 6 pequeños, uno de los cuales posee constricción secundaria en el brazo largo. El X es un metacéntrico mediano y el un submetacéntrico pequeño.

C. roigi (23): 4 hembras y 3 machos. Cariotipo $2n=48$, $NF=80$ (Figura 3.3.1.IIIb), compuesto por 8 pares de telocéntricos; 2 pares de submetacéntricos medianos; 13 pares de metacéntricos de tamaño mediano a

pequeño, uno de los cuales posee una constricción secundaria. El X es un metacéntrico mediano y el Y un metacéntrico pequeño.

C. sp. (24): 2 machos y 1 hembra. Sólo se corroboró el número diploide de $2n=48$ informado por Reig & Kiblicky (1969).

C. sp. (25): 8 hembras y 4 machos de $2n=42$, $NF=76$ (Figura 3.3.1.IIIa). Cariotipo compuesto por 4 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 2 subtelocéntricos medianos, 1 submetacéntrico mediano; 13 metacéntricos, 1 grande, 4 medianos, uno de los cuales posee constricción secundaria y 8 pequeños. El X es un metacéntrico mediano y el Y un metacéntrico pequeño.

C. sp. (26): 1 macho $2n=52$, $NF=74$ (Figura 3.3.1.IVc). Cariotipo compuesto por 15 pares de cromosomas telocéntricos pequeños; 3 subtelocéntricos, 1 mediano y 2 pequeños; 4 submetacéntricos, 3 medianos y 1 pequeño; 3 metacéntricos pequeños. El X es un submetacéntrico mediano y el Y un telocéntrico pequeño.

C. sp. (27): 1 hembra $2n=54$, $NF=84$, 1 macho $2n=55$, $NF=84$ (Figura 3.3.1.IIb), 1 macho $2n=56$, $NF=84$. Cariotipo $2n=54$ compuesto por 12 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 1 subtelocéntrico mediano, 2 submetacéntricos, 1 mediano y 1 pequeño; 11 metacéntricos, 4 medianos y 7 pequeños, uno de los cuales posee constricción secundaria en el brazo largo. El cariotipo $2n=55$ posee 2 cromosomas telocéntricos pequeños más que en el cariotipo anterior $2n=54$ y un metacéntrico pequeño menos respecto al anterior, mientras que el de $2n=56$ posee 4 cromosomas telocéntricos pequeños más y 2 metacéntricos pequeños menos. Todas estas variantes se deben a la existencia en esta población, de un polimorfismo de tipo robertsoniano (ver bandas G en la Figura 3.3.1.XIa). El X es un metacéntrico mediano y el Y un submetacéntrico pequeño.

C. sp. (28): 2 hembras $2n=56$, $NF=84$ y 1 macho y 1 hembra $2n=58$, $NF=84$. Los cariotipos hallados son indistinguibles de los encontrados con el mismo número diploide $2n=56$ en P27 y $2n=58$ en la localidad siguiente P29 por lo que aquí no se ilustran. Es posible que aquí también existan polimorfismos robertsonianos que expliquen esta coexistencia de cariotipos, a pesar de no haberse hallado ejemplares con $2n=57$.

C. sp. (29): 1 macho y 1 hembra $2n=58$, $NF=84$ (Figura 3.3.1.IIc). Cariotipo compuesto por 16 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 1 subtelocéntrico mediano, 1 submetacéntrico pequeño; 10 metacéntricos, 4 medianos y 6 pequeños, uno de los cuales posee constricción secundaria en el brazo largo. El X es un metacéntrico mediano y el Y un submetacéntrico pequeño.

C. sp. (30): 2 hembras y 2 machos. Cariotipo $2n=62$ $NF=84$ (Figura 3.3.1.IId) compuesto por 20 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 1

subtelocéntrico mediano, 1 submetacéntrico mediano; 8 metacéntricos 2 medianos y 6 pequeños, uno de los cuales posee constricción secundaria. El X es un metacéntrico mediano y el Y un subtelocéntrico mediano.

C. sp. (31): 1 macho $2n=62$, $NF=84$. Cariotipo similar al de *C. sp.* (P30).

C. sp. (32): 1 macho $2N=56$, $NF=78$ (Figura 3.3.1.IVb). Cariotipo compuesto por 17 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 5 subtelocéntricos, 2 medianos y 3 pequeños; 2 submetacéntricos medianos y 2 metacéntricos pequeños. El X es un submetacéntrico mediano y el Y un telocéntrico pequeño.

C. sp. (33): 1 macho y 1 hembra $2n=54$, $NF=84$ y 1 macho $2N=53$, $NF=84$. Cariotipo $2n=54$ compuesto por 12 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 1 subtelocéntrico mediano, 2 submetacéntricos, 1 mediano y 1 pequeño; 11 metacéntricos, 3 medianos y 8 pequeños, uno de los cuales posee constricción secundaria en el brazo largo. El cariotipo $2n=53$ posee un cromosoma telocéntrico pequeño menos y un metacéntrico pequeño más respecto al anterior. El X es un metacéntrico pequeño y el Y un metacéntrico pequeño. El cariotipo $2n=54$ de esta localidad es indistinguible del de $2n=54$ de la localidad de Saladas (27) por lo que no se lo ilustran. Al igual que en las anteriores poblaciones, la existencia de un polimorfismo robertsoniano parece explicar esta situación.

C. yolandae (41): 1 macho y 1 hembra $2N=50$, $NF=78$ (Figura 3.3.1.IVa). Cariotipo compuesto por 10 pares de autosomas telocéntricos pequeños; 6 subtelocéntricos, 2 mediano y 4 pequeños; 3 submetacéntricos pequeños y 4 metacéntricos pequeños. El X es un submetacéntrico mediano y el Y un telocéntrico pequeño.



Figura 3.3.1.1. Cariotipos normales de A) *Ctenomys latro*, B) *Ctenomys argentinus* y C) *Ctenomys conoveri*. La barra indica 10 μ .

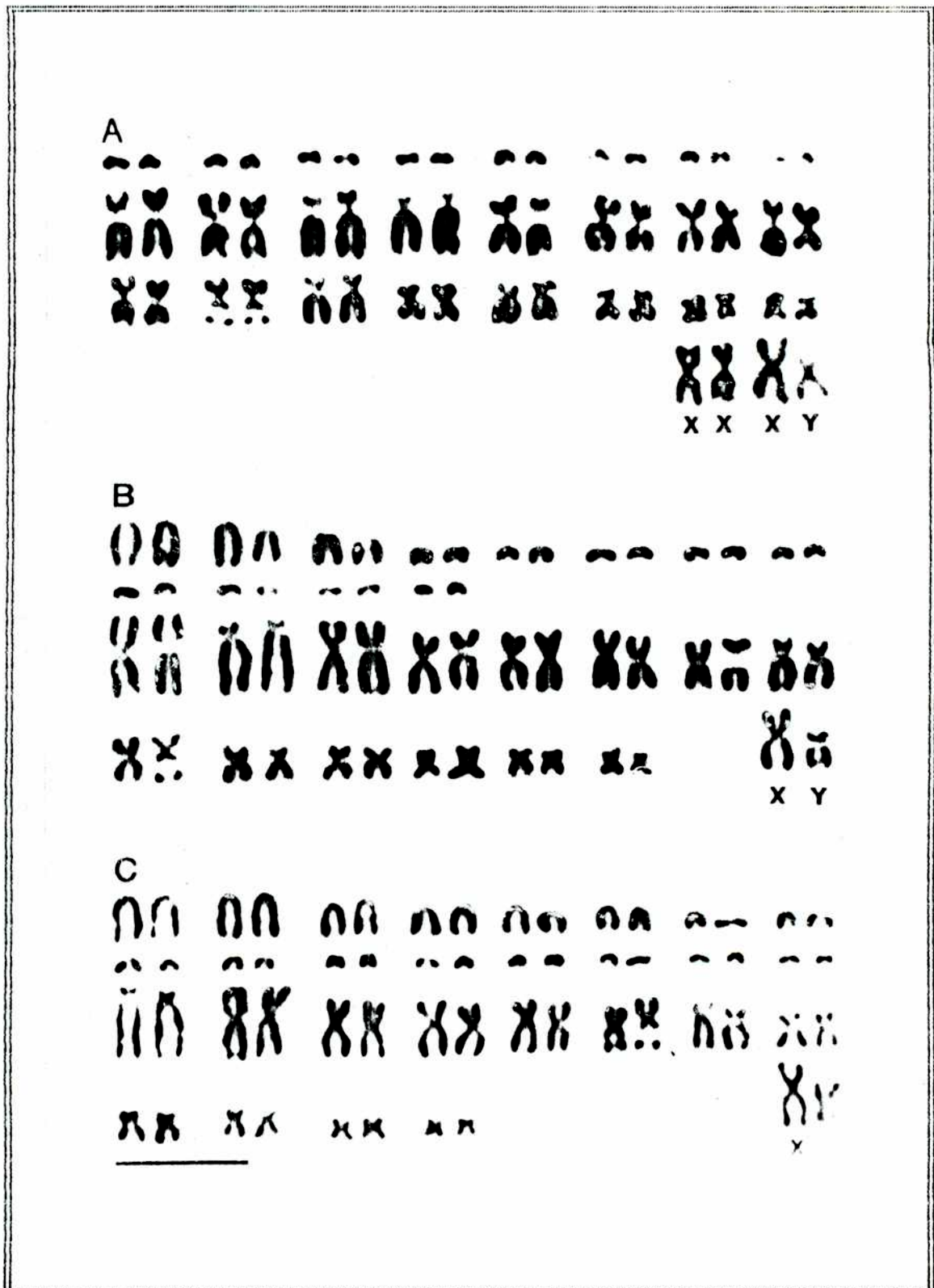


Figura 3.3.1.II. Cariotipos normales de A) *Ctenomys perrensi*, B) *Ctenomys* sp. (P27) y C) *Ctenomys* sp. (P29). La barra indica 10µ.



Figura 3.3.1.II. Continuación. Cariotipos normales de D) *Ctenomys sp.* (P30) y E) *Ctenomys darbignyi*. La barra indica 10 μ .

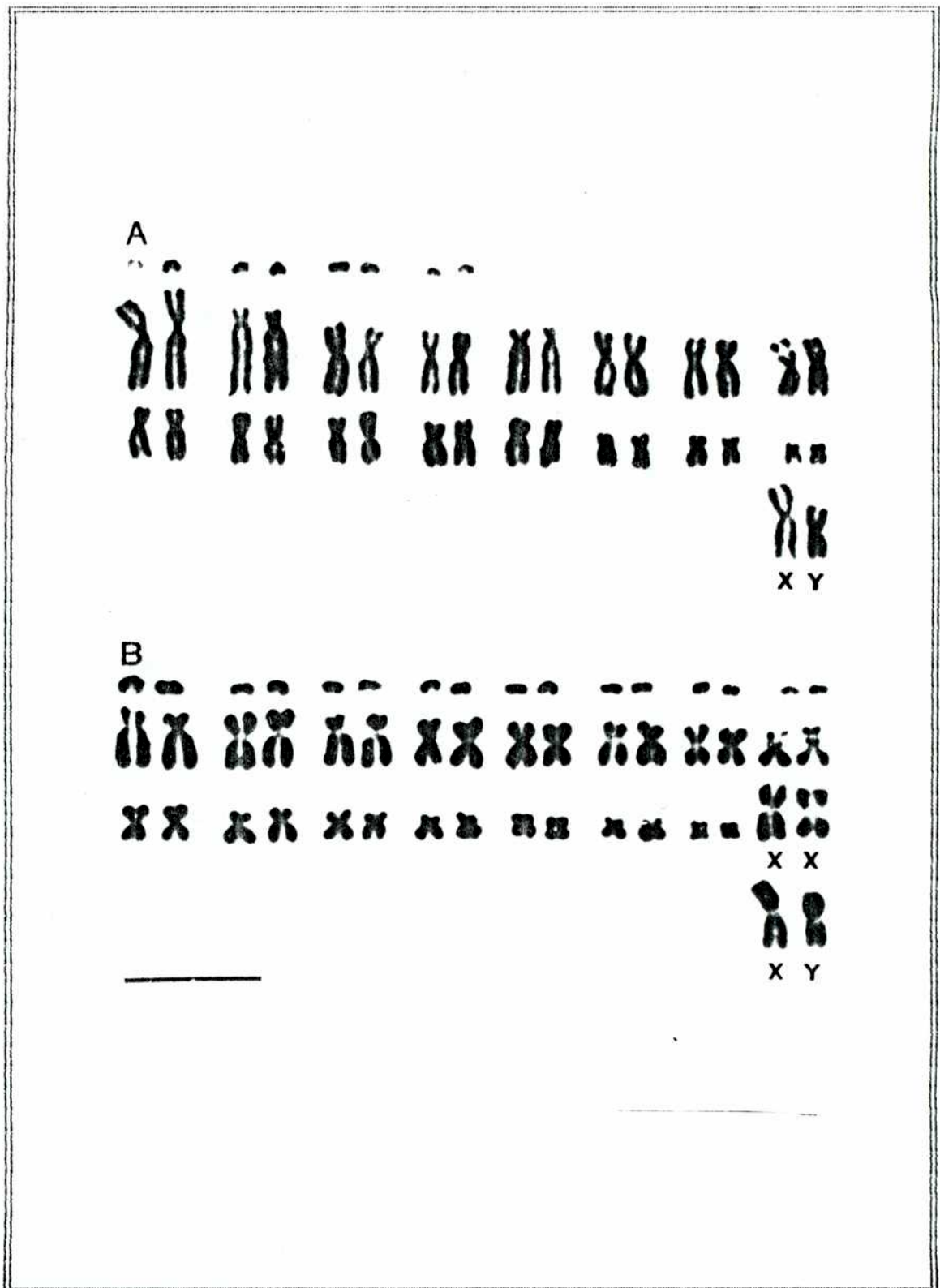


Figura 3.3.1.III. Cariotipos normales de A) *Ctenomys* sp. (25) y B) *Ctenomys roigi*. La barra indica 10 μ .



Figura 3.3.1.IV. Cariotipos normales de A) *Ctenomys yolandae*, B) *Ctenomys* sp. (P32) y C) *Ctenomys* sp. (P26). La barra indica 10µ.

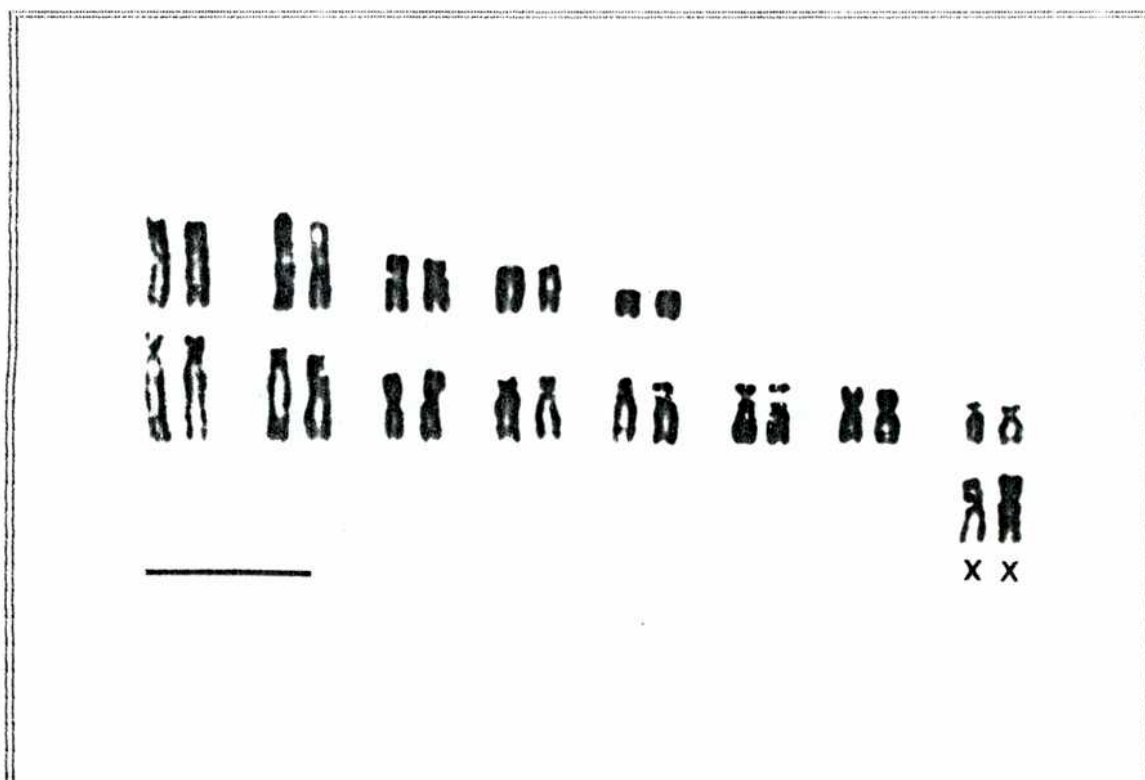


Figura 3.3.1.V. Cariotipo normal de *Ctenomys fodax*. La barra indica 10 μ .



Figura 3.3.1.VI. Cariotipo normal de *Ctenomys knightii*. La barra indica 10 μ .

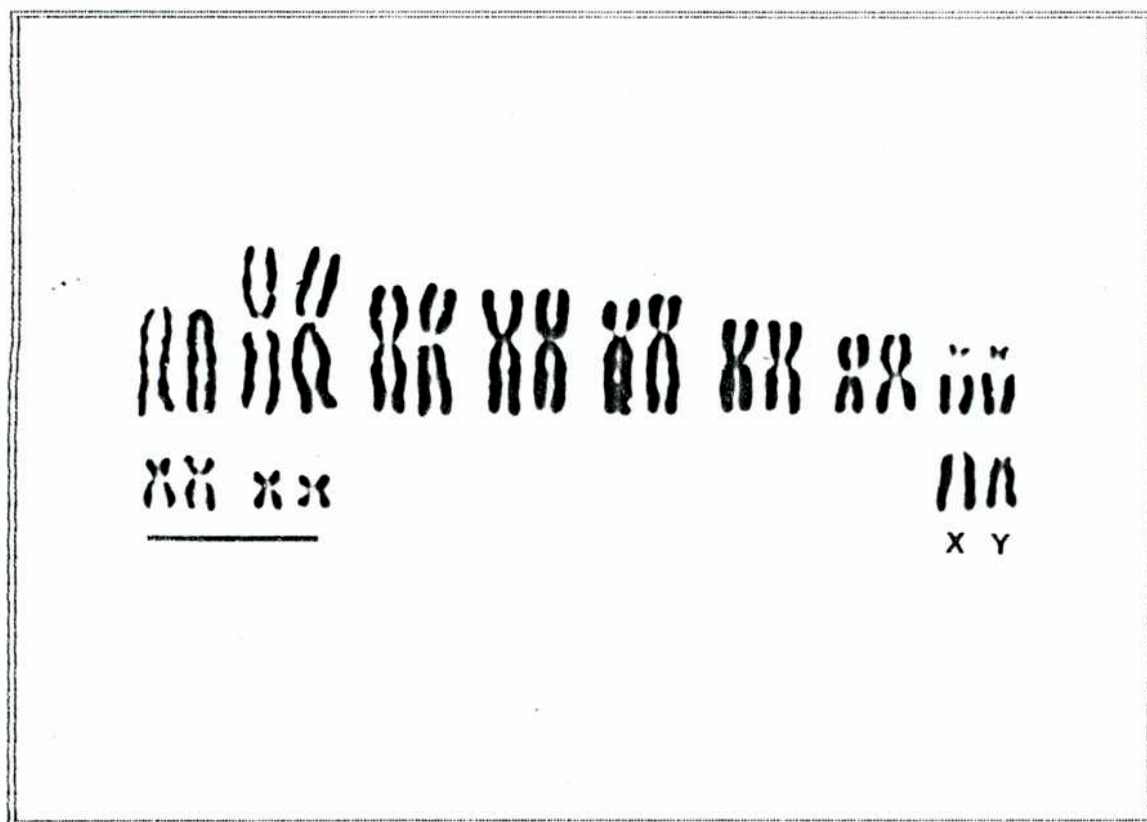


Figura 3.3.1.VII. Cariotipo normal de *Ctenomys occultus*. La barra indica 10 μ .

3.3.1.2. Cariotipos con Bandas G.

Se obtuvieron bandas G de 15 cariotipos de *Ctenomys* y del de *Octodontomys gliroides*. En conjunto con Alicia Massarini se obtuvieron las bandas G de *C. australis* y se reestudiaron las de *C. talarum*. En Massarini *et al.* (en prensa) se muestra que el mismo patrón de bandas G es compartido por *australis*, *mendocinus*, *porteousi* y *azarae*. Las Figuras 3.3.1.VIII a 3.3.1.XIII. muestran los resultados obtenidos.

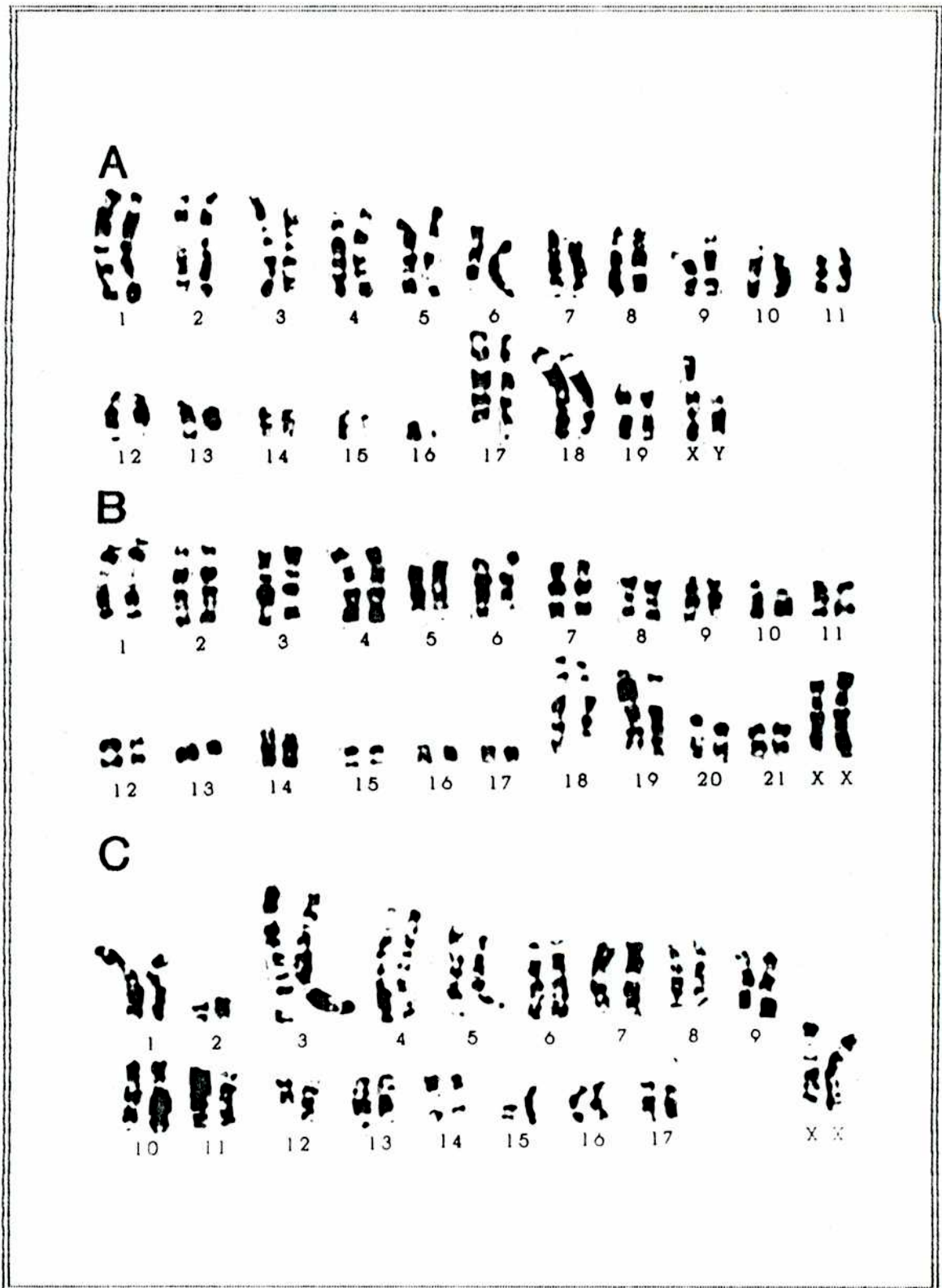


Figura 3.3.1.VIII. Cariotipos con bandas G de A) *Ctenomys latro* (el par 5 es metacéntrico); B) *Ctenomys argentinus*; C) *Ctenomys knightii*

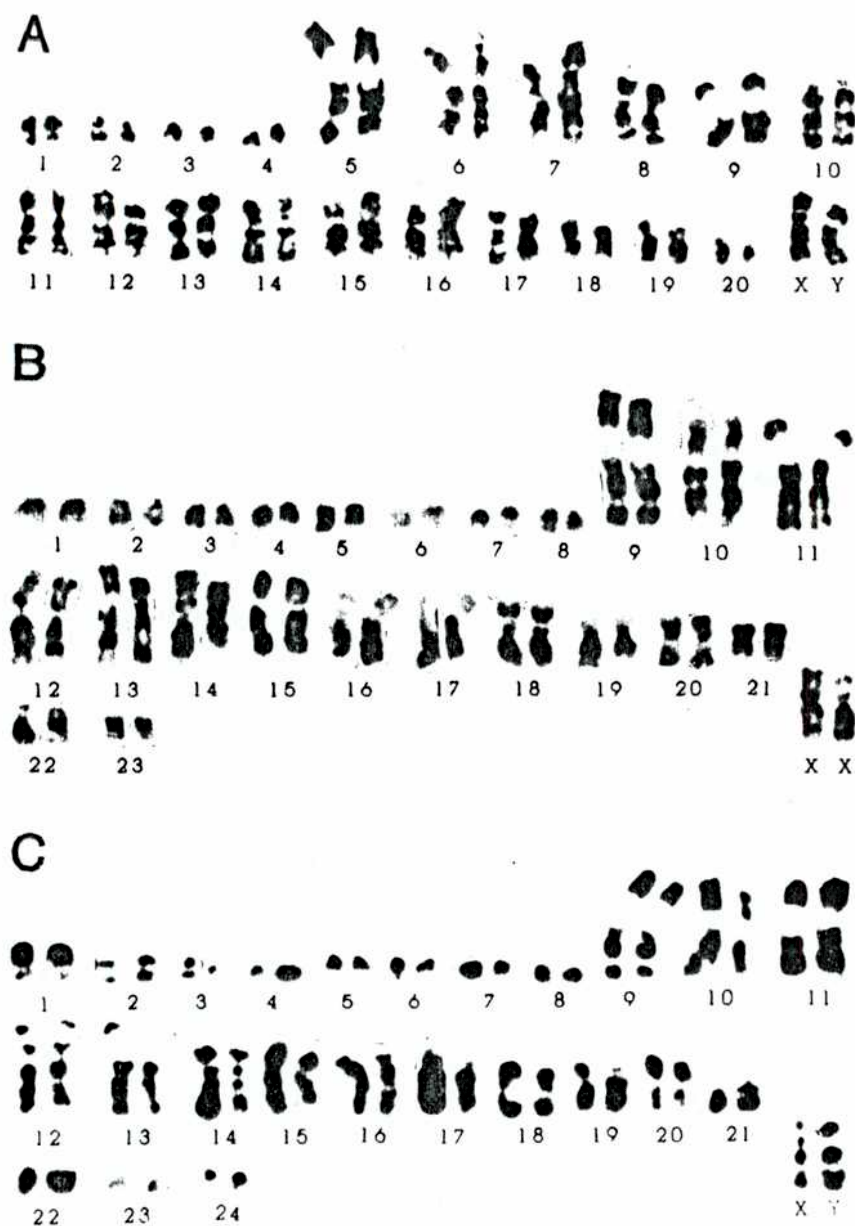


Figura 3.3.1.IX. Cariotipos con bandas 6 de A) *Ctenomys* sp. (Curuzú Laurel, Corrientes); B) *Ctenomys roigi*; C) *Ctenomys perrensi*

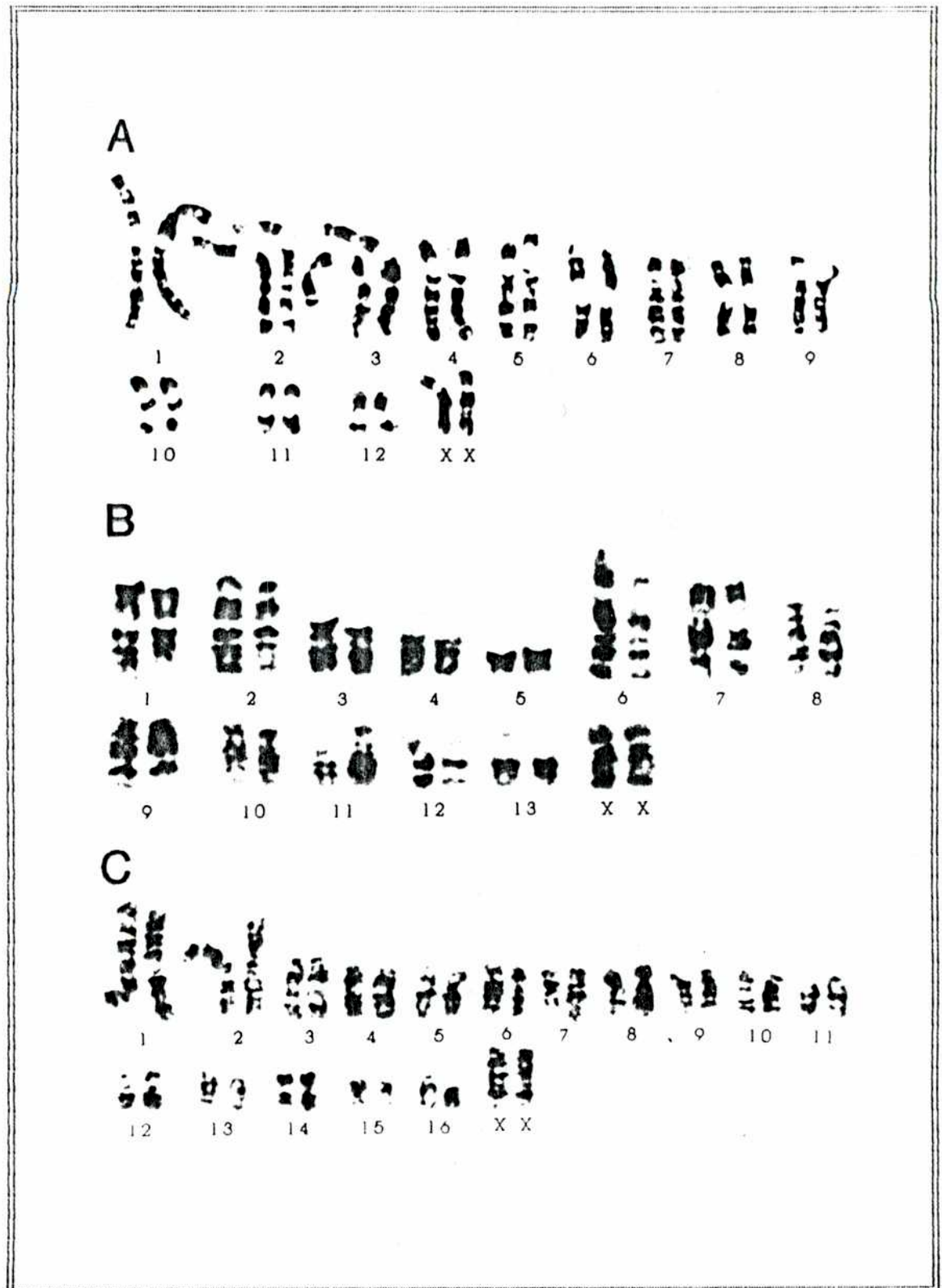
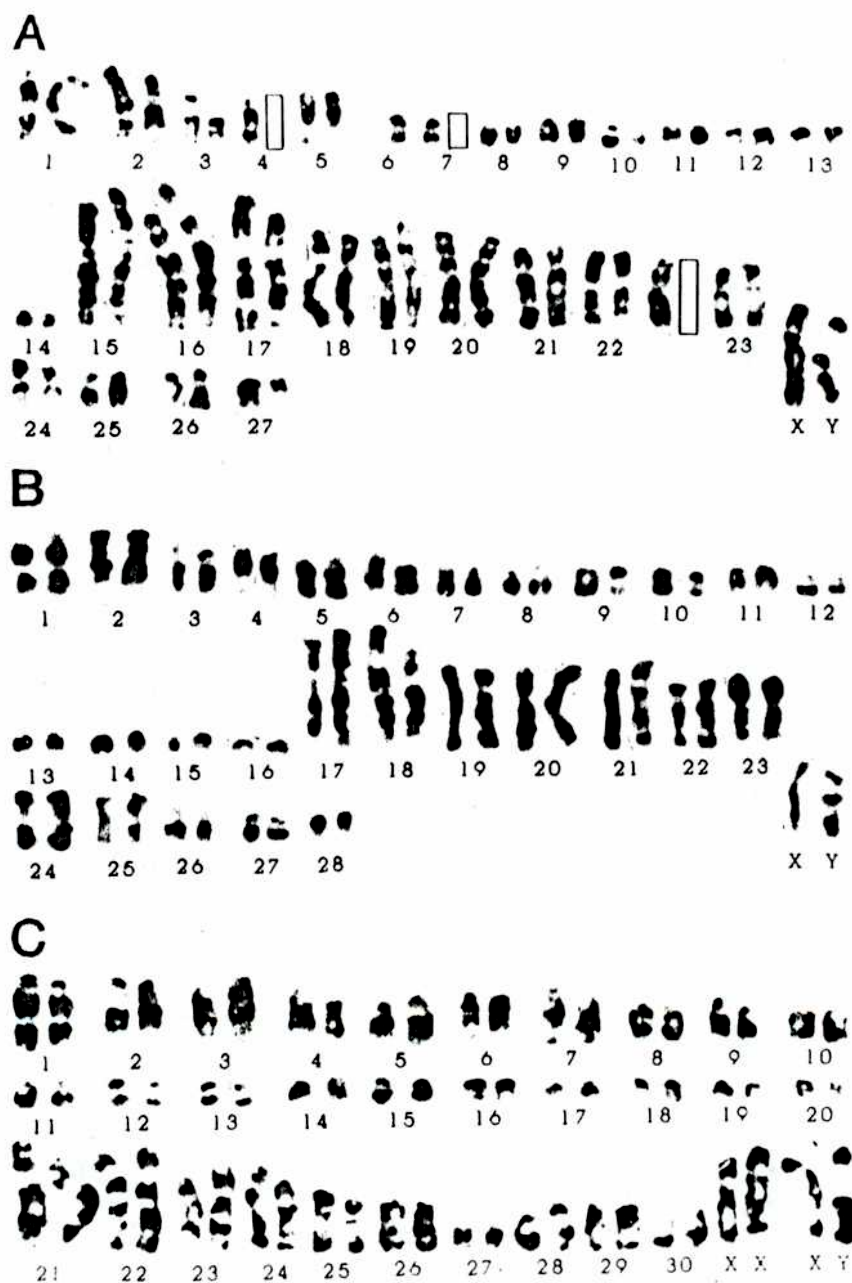


Figura 3.3.1.X. Cariotipos con bandas B de A) *Ctenomys opimus*; B) *Ctenomys fodax*; C) *Ctenomys magellanicus*



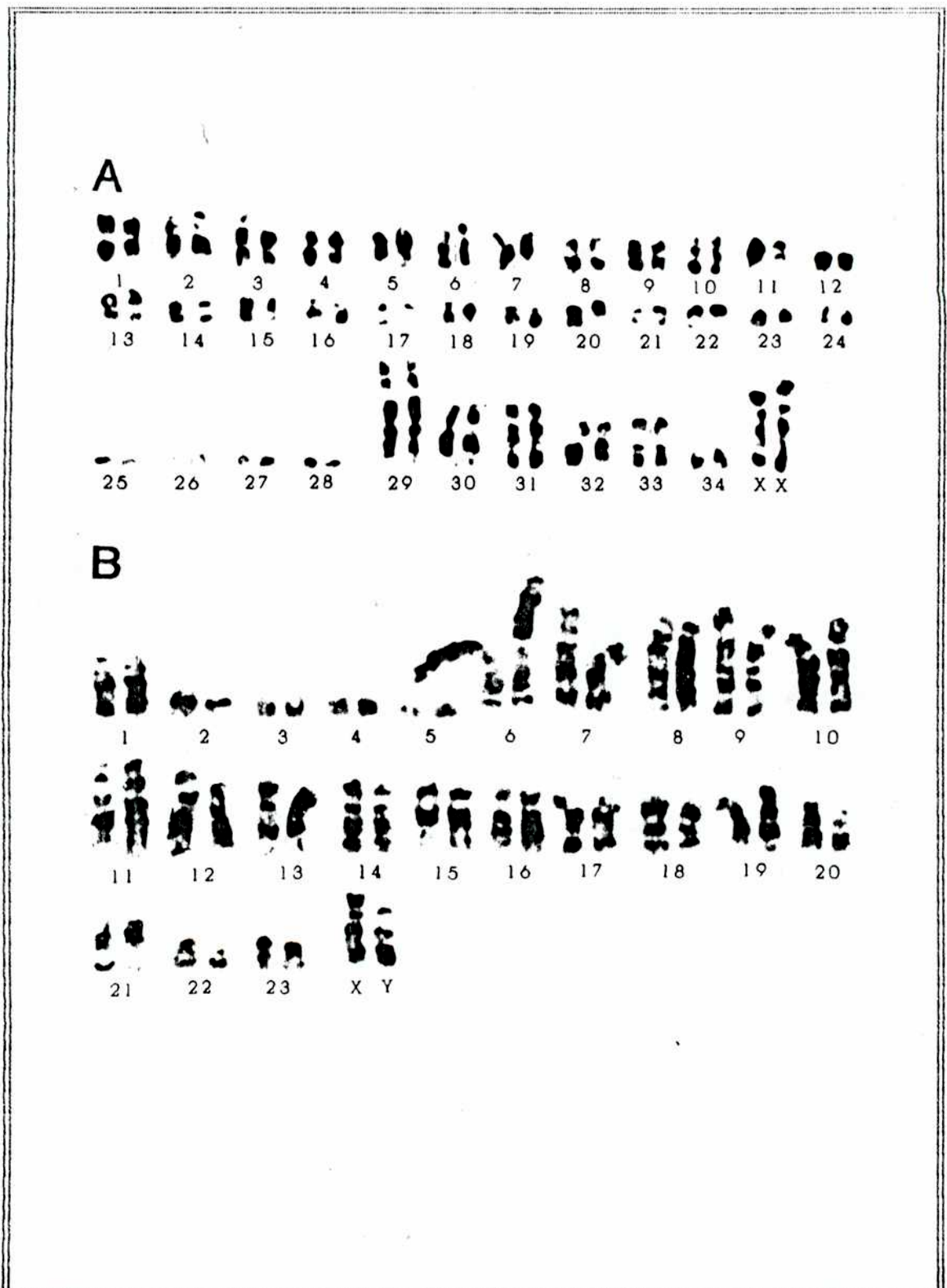


Figura 3.3.1.XII. Cariotipos con bandas G de A) *Ctenomys darbignyi*; B) *Ctenomys talarum*

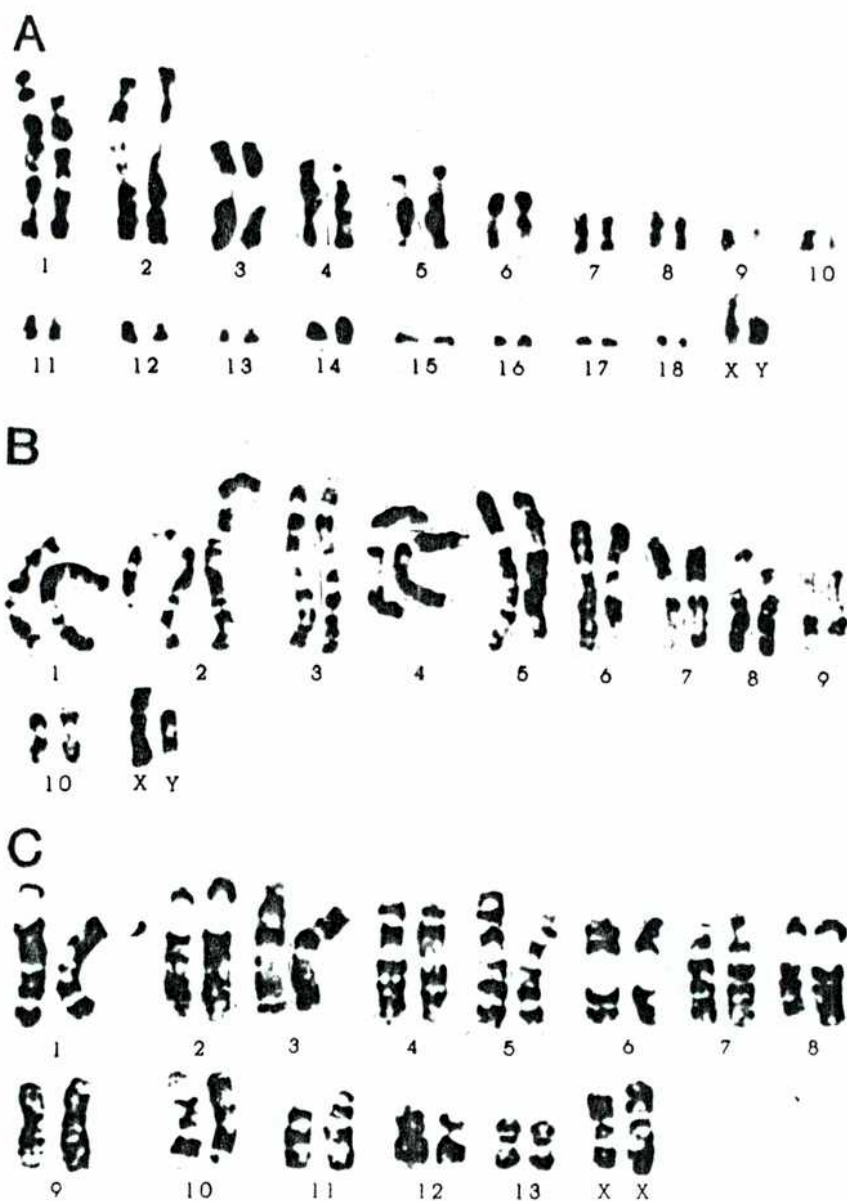


Figura 3.3.1.XIII. Cariotipos con bandas B de A) *Octodontomys gliroides*; B) *Ctenomys occultus*; C) *Ctenomys tucumanus*

3.3.1.3. Cariotipos con Bandas C.

La primera descripción de la distribución de la heterocromatina mediante la técnica de BC es la *C. torquatus* (Freitas y Lessa, 1984). Esta especie carece prácticamente de heterocromatina evidenciable por esta técnica. Vidal-Rioja (1985), publicó las BC de *C. talarum*, mostrando que la mayoría de los cromosomas poseen bloques discretos de heterocromatina centromérica, y en algunos ésta alcanza a los brazos cortos. Ningún otro cariotipo de BC ha sido publicada desde entonces. El resto de los datos que poseemos se presentan en esta tesis o fueron elaborados en nuestro laboratorio (Massarini *et al. en prensa*). En este trabajo, el patrón encontrado en *C. talarum* es similar al descrito por Vidal-Rioja, pero en el resto (las especies homocariotípicas: *mendocinus*, *australis* y *porteousi*) los brazos cortos son en su casi totalidad heterocromáticos, e incluso en un par el brazo largo. En esta tesis se han estudiado el patrón de BC en 11 especies más, variando las mismas de $2n=22$, $NF=40$ en *C. occultus* a $2n=70$, $NF=84$ en *C. dorbignyi* (Figuras 3.3.1.XIV-XVII). Si bien es difícil o arriesgado establecer algún patrón general, podemos clasificar a *Ctenomys* en 3 grupos según la presencia y distribución del bandeo C (Figuras 3.3.1.XVII):

1)Bandas C principalmente ausentes o escasas en la mayoría de los cromosomas, presentes sólo a nivel centromérico, en general en cromosomas bibrachiados. A este tipo pertenecen las especies con $2n$ (42-70) y NF (80-84) altos. Ejemplos: *C. torquatus*, *C. sp* [Curuzú Laurel. P25], *C. perrensi*, *C. dorbignyi*. En general todos los cromosomas bibrachiados son metacéntricos

2)Bandas C ausentes o presentes en forma de bloques conspicuos centroméricos, rara vez todo el brazo corto. A este grupo pertenecen especies con $2n$ bajo (22-44) y NF (40-68) relativamente bajos. Ejemplos: *C. occultus*, *C. opimus*, *C. knightii*, *C. latro*, *C. argentinus*; *C. talarum*, con $2n$ y NF altos, podría ser incluido en este grupo.

3)Bandas C presentes principalmente en los brazos cortos. A este grupo pertenecen las especies homocariotípicas *C. mendocinus*, *C. azarae*, *C. porteousi*, *C. australis* y *C. rionegrensis* de Concordia, Entre Ríos (Massarini *comun. pers.*).

En general, los cromosomas Y fueron heterocromáticos.

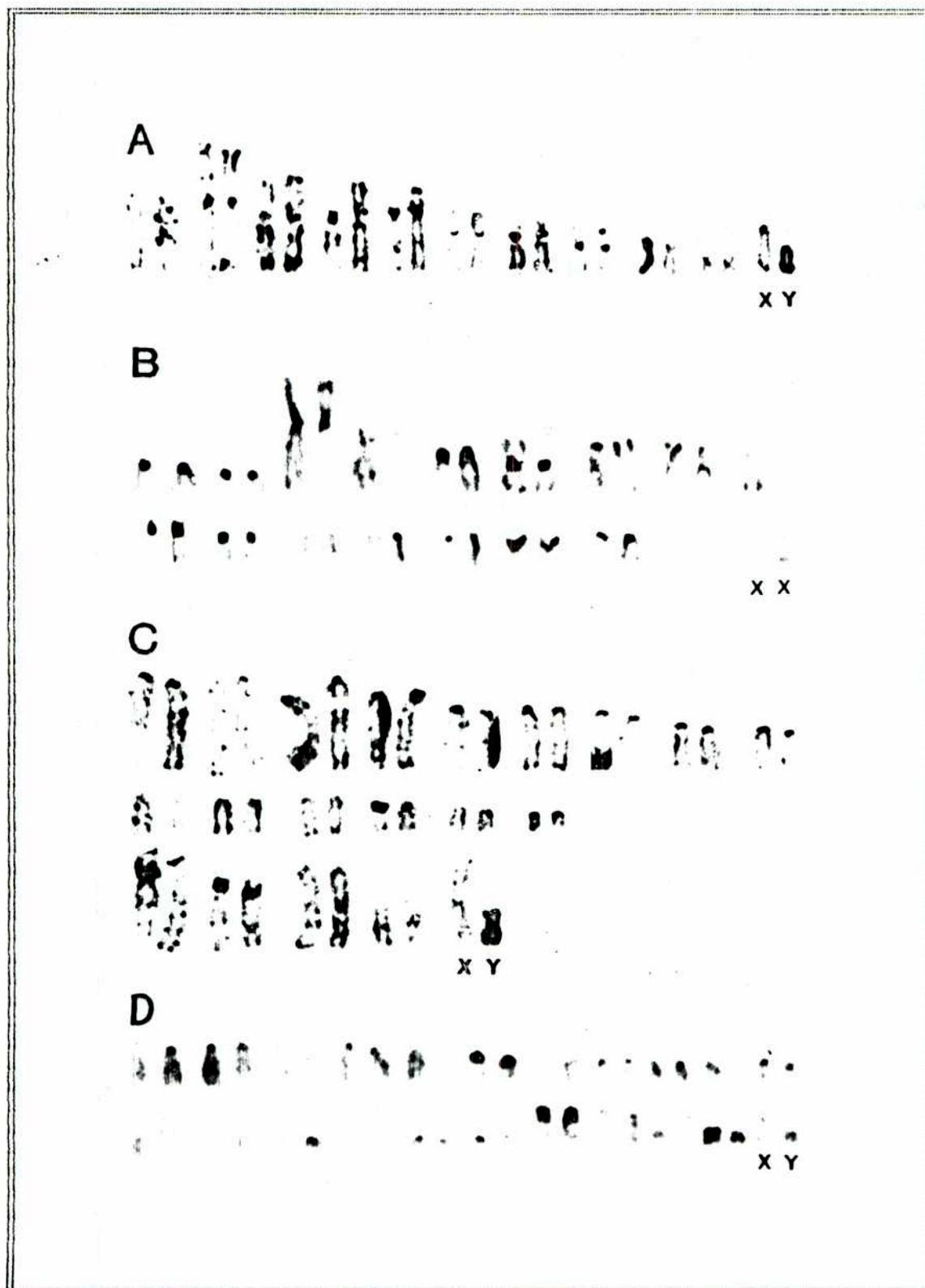


Figura 3.3.1.XIV. Cariotipos con bandas C de A) *Ctenomys occultus*; B) *Ctenomys knightii*; C) *Ctenomys latro*; D) *Ctenomys argentinus*

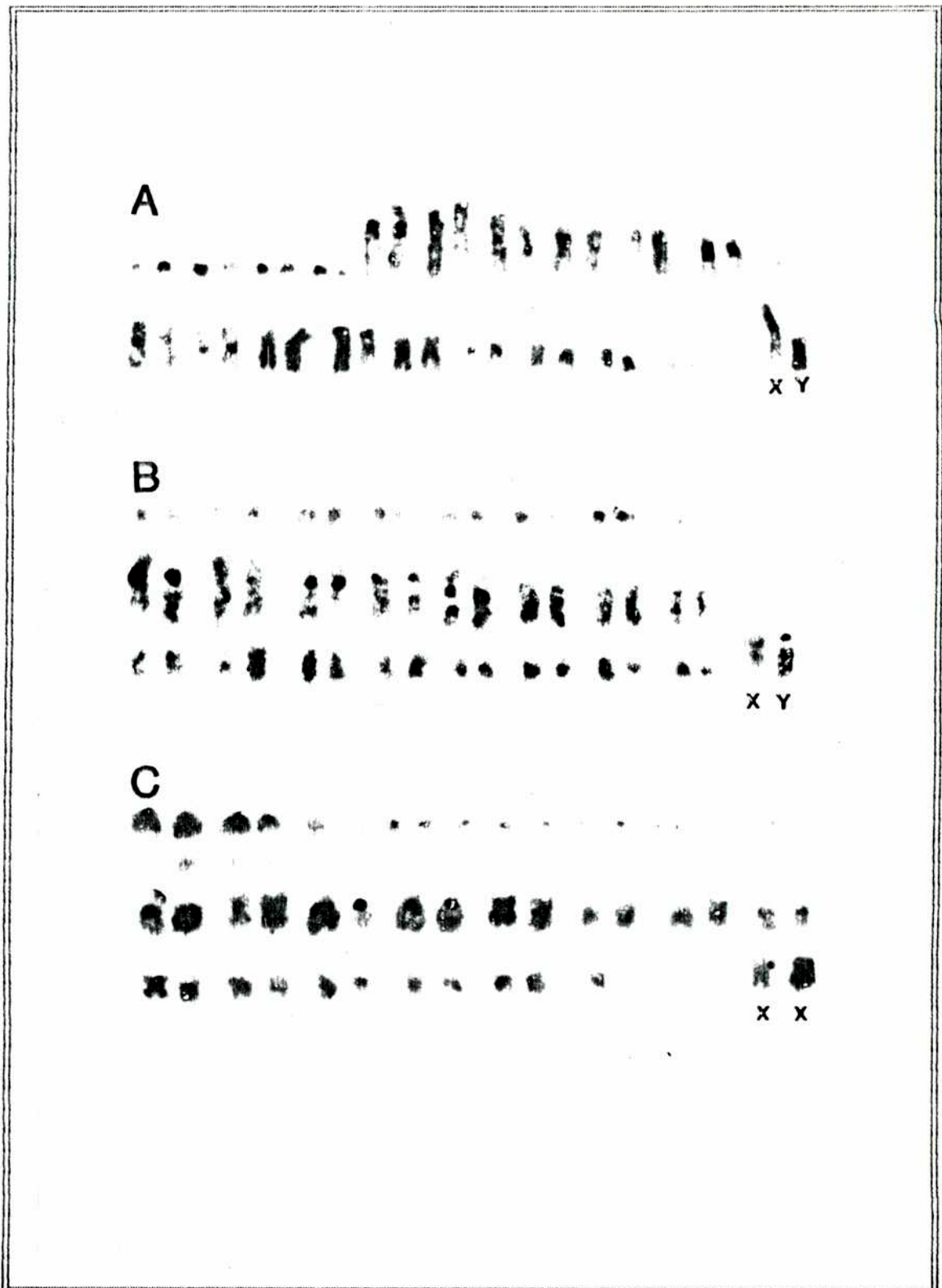


Figura 3.3.1.XV. Cariotipos con bandas C de A) *Ctenomys* sp. de Curuzú Laurel, Corrientes (P25); B) *Ctenomys perrensi*; C) *Ctenomys* sp. de Yatayti-Calle, Corrientes (P33)

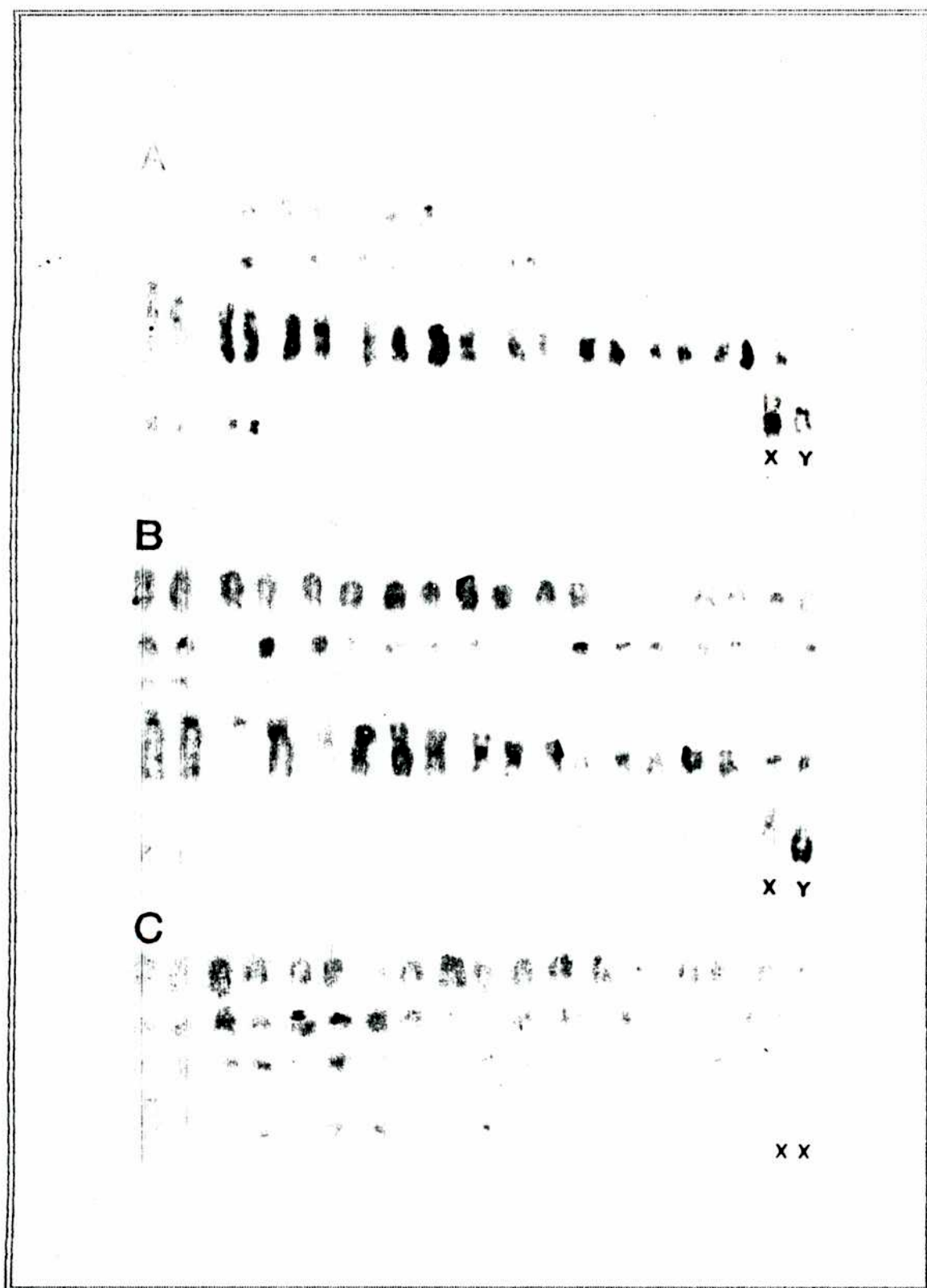


Figura 3.3.1.XVI. Cariotipos con bandas C de A) *Ctenomys* sp. de Saladas KM 14., Corrientes (P29); B) *Ctenomys* sp. de San Roque, Corrientes (P30); C) *Ctenomys darwinyi* (P8)

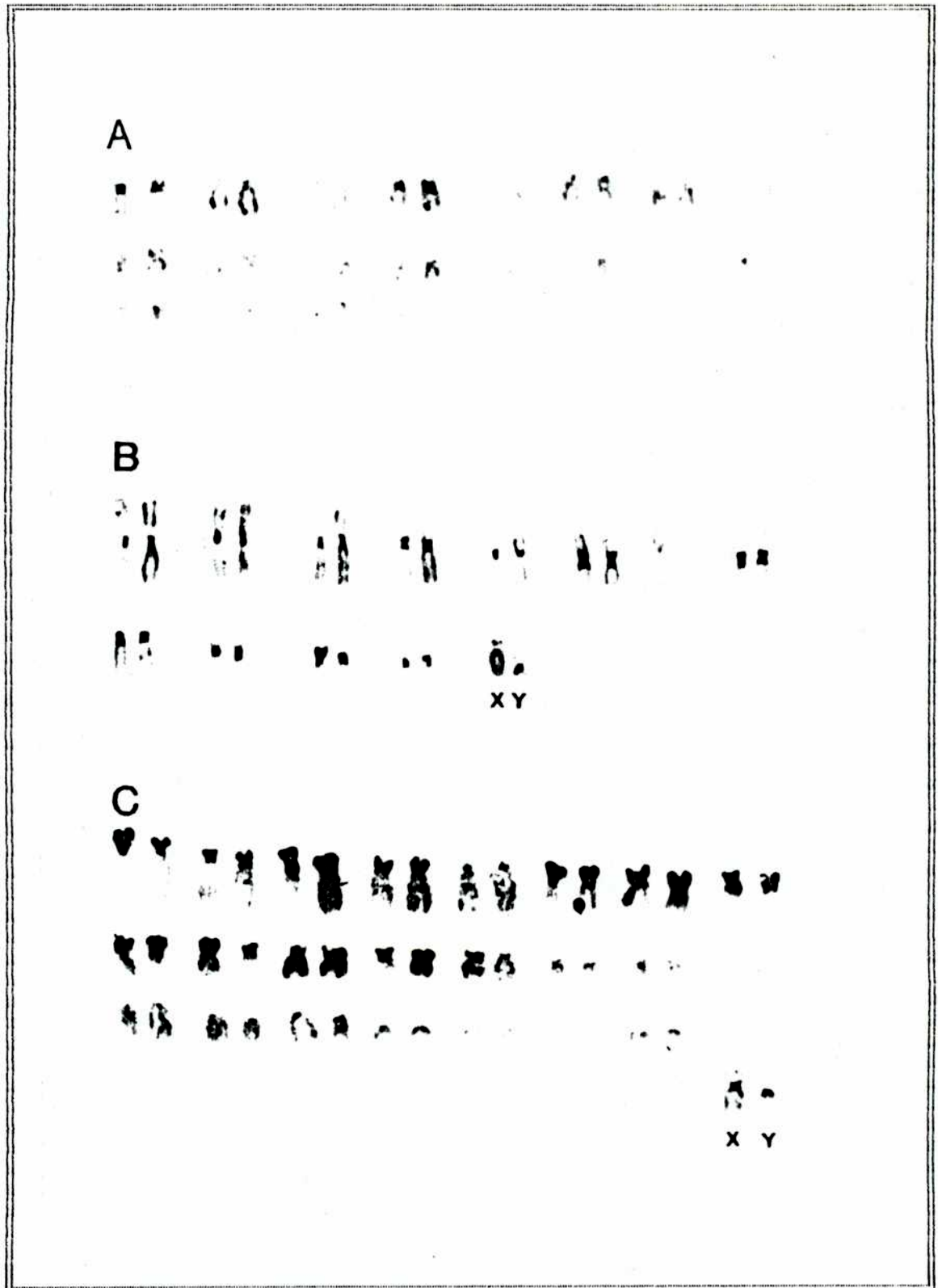


Figura 3.3.1.XVII. Cariotipos donde se comparan los tres tipos de bandas C A) *Ctenomys roigi*, tipo I; B) *Ctenomys opimus*, tipo II; C) *Ctenomys australis*, tipo III.

3.3.2. Estimación general de la divergencia y filogenia basada sobre cromosomas sin bandear.

La Tabla 3.3.2.1. muestra la matriz de distancias euclídeas basada en los datos que se muestran en la Figura 3.3.2.1. para una mejor relación de los mismos con el fenograma allí expuesto.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	0.00																				
2	18.03	0.00																			
3	20.98	6.71	0.00																		
4	22.45	7.81	2.83	0.00																	
5	24.25	8.77	6.00	3.46	0.00																
6	23.43	8.49	6.71	4.98	3.61	0.00															
7	29.48	14.14	18.47	18.25	16.64	16.73	0.00														
8	29.12	14.04	11.66	9.38	7.75	6.08	18.47	0.00													
9	13.60	10.00	10.25	12.04	14.18	15.10	22.89	21.00	0.00												
10	38.12	21.82	24.27	23.09	20.52	20.69	10.00	19.52	30.72	0.00											
11	34.35	18.25	16.61	14.83	13.27	11.87	18.47	6.63	26.40	17.12	0.00										
12	38.99	21.84	22.45	20.98	18.65	18.25	14.32	14.97	31.00	8.31	10.39	0.00									
13	34.53	18.89	18.76	17.66	16.61	14.59	17.35	10.95	28.02	16.64	6.00	10.20	0.00								
14	49.11	32.82	31.18	28.91	26.38	26.17	28.37	20.69	40.51	20.50	16.25	14.83	19.08	0.00							
15	49.40	32.94	31.62	29.39	26.76	26.63	27.66	21.35	40.80	19.72	16.85	14.14	19.39	2.00	0.00						
16	40.40	25.40	23.83	22.09	20.69	18.89	24.43	13.27	33.60	21.10	7.75	13.27	8.49	13.71	14.70	0.00					
17	53.59	37.27	36.00	33.82	31.30	30.94	31.58	25.46	45.35	23.26	20.49	17.66	22.27	5.29	4.90	16.73	0.00				
18	43.95	27.80	29.05	27.93	26.08	24.92	19.10	21.45	37.34	13.15	15.75	8.72	12.49	17.66	16.85	14.83	18.22	0.00			
19	47.04	30.66	31.58	30.15	27.95	27.06	21.63	23.09	40.20	13.86	17.35	9.64	15.39	14.87	13.75	15.63	14.59	4.58	0.00		
20	47.21	30.33	31.32	30.15	28.09	27.57	20.40	24.10	39.75	12.81	18.47	9.64	16.40	17.12	15.91	18.03	17.12	5.39	4.47	0.00	
21	52.76	36.84	35.21	33.11	30.92	30.15	32.45	24.33	44.91	25.08	19.08	18.33	20.59	6.63	7.48	13.66	4.90	18.22	15.39	18.25	0.00
22	48.22	32.62	34.25	33.18	31.32	30.07	22.98	26.63	42.47	16.61	20.90	13.75	17.35	20.52	19.52	18.89	19.72	5.39	6.00	6.93	19.92
23	45.92	29.87	30.41	29.48	28.09	26.76	22.72	22.91	39.40	17.89	16.64	12.21	12.85	18.89	18.47	14.32	19.10	5.39	8.00	8.25	18.03
24	48.71	33.11	33.30	32.08	30.55	28.98	26.68	24.43	42.57	21.07	18.03	14.87	14.87	17.35	17.12	13.45	16.64	8.31	8.72	10.95	14.87
25	56.82	40.64	42.01	40.66	38.33	37.68	29.60	33.90	50.20	20.98	28.23	19.72	26.17	21.66	20.12	25.87	18.89	14.04	10.95	11.14	20.90
26	55.64	39.15	39.50	37.95	35.72	34.94	30.15	30.33	48.51	21.66	24.25	17.66	22.80	16.12	14.97	20.59	12.96	12.49	8.77	10.44	14.14
27	59.17	42.01	41.67	39.80	37.47	36.62	34.48	31.37	51.00	25.87	25.33	20.98	25.14	14.00	13.27	20.59	9.38	17.32	13.45	16.16	10.20
28	48.74	33.42	33.59	32.62	31.43	29.75	27.51	25.46	42.81	22.91	19.08	16.73	15.23	20.30	20.20	14.70	19.80	10.00	11.53	12.85	17.56
29	50.12	34.71	34.76	33.59	32.19	30.55	28.65	25.92	44.10	23.26	19.49	16.97	16.25	18.65	18.55	14.42	17.66	10.39	10.82	12.85	15.47
30	57.48	41.73	41.09	39.29	37.26	36.07	35.40	30.39	50.69	27.66	24.98	21.73	23.83	14.83	14.70	18.55	10.95	17.55	14.59	17.58	9.38
31	50.43	44.31	44.50	42.66	40.30	39.36	36.40	34.23	53.67	27.66	20.43	23.41	27.64	17.20	16.37	23.41	12.49	18.97	15.13	17.80	13.42
32	54.53	39.66	40.15	38.83	36.95	34.74	31.32	31.18	49.24	24.10	24.82	19.49	22.18	19.60	18.87	20.30	16.85	12.33	10.44	12.21	16.37
33	57.34	41.44	42.61	41.38	39.34	38.33	31.32	34.29	51.16	23.60	28.21	20.98	25.46	22.72	21.54	24.82	19.60	13.71	11.53	12.21	20.59
34	60.60	44.96	46.90	45.78	43.59	42.86	33.06	39.50	54.64	25.24	33.88	25.14	31.11	28.35	26.83	31.62	25.46	18.65	16.64	16.16	27.28
35	62.03	46.36	48.17	46.90	44.59	43.87	34.60	40.30	56.01	25.32	34.70	26.08	32.25	27.93	26.38	32.12	24.66	19.90	17.35	17.55	26.68
36	61.85	46.04	46.74	45.09	42.72	41.76	36.55	37.11	53.53	27.78	31.26	24.84	29.68	21.56	20.42	26.85	17.23	19.21	15.62	17.66	18.57
37	53.78	39.26	39.24	38.31	37.51	35.40	33.90	30.92	48.31	29.34	24.66	23.24	20.88	24.49	24.58	19.08	23.07	16.25	17.12	18.68	20.39
38	28.93	14.70	18.03	17.35	15.13	16.73	8.94	19.31	20.69	13.42	21.28	18.25	22.56	29.48	28.79	28.09	33.30	25.24	26.61	25.61	34.83

	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
22	0.00																
23	7.21	0.00															
24	8.49	5.29	0.00														
25	10.39	15.75	15.36	0.00													
26	10.44	12.85	10.82	7.28	0.00												
27	15.16	17.35	13.75	13.15	6.93	0.00											
28	10.05	5.39	3.61	17.48	13.56	16.73	0.00										
29	10.05	6.71	2.24	16.40	11.66	14.14	2.83	0.00									
30	16.64	16.40	11.87	16.16	9.38	4.90	14.42	11.66	0.00								
31	16.88	19.10	15.39	12.53	7.75	3.46	18.22	15.62	6.63	0.00							
32	9.22	10.82	7.81	10.05	6.00	10.00	9.99	7.75	9.59	10.20	0.00						
33	9.22	13.75	12.53	9.39	6.93	12.65	14.14	12.96	14.14	11.83	6.00	0.00					
34	14.04	19.92	19.92	6.71	13.27	18.76	21.35	20.59	21.35	17.32	14.00	8.00	0.00				
35	15.39	21.28	20.71	6.71	12.96	17.66	22.45	21.35	20.59	15.87	14.28	8.49	2.83	0.00			
36	15.75	19.70	16.73	9.17	8.06	8.54	19.21	17.00	11.36	5.74	9.85	8.54	12.37	10.63	0.00		
37	14.87	11.87	8.77	20.52	16.37	18.22	6.63	6.63	14.83	18.97	10.95	15.87	23.24	24.03	19.82	0.00	
38	29.39	29.19	32.62	34.35	34.60	38.01	34.01	34.71	39.46	40.16	36.95	36.95	38.43	39.56	40.89	40.56	0.00

Tabla 3.3.2.1. Matriz de distancias euclídeas basada en las variables V1 a V4 de la Figura 3.3.2.1. En la primer fila y columna se indica el número de OTU correspondiente a la Figura 3.3.2.1.

Este análisis ha sido realizado bajo el supuesto que las formas de espermio asimétrico constituyen un grupo monofilético, es decir derivado una

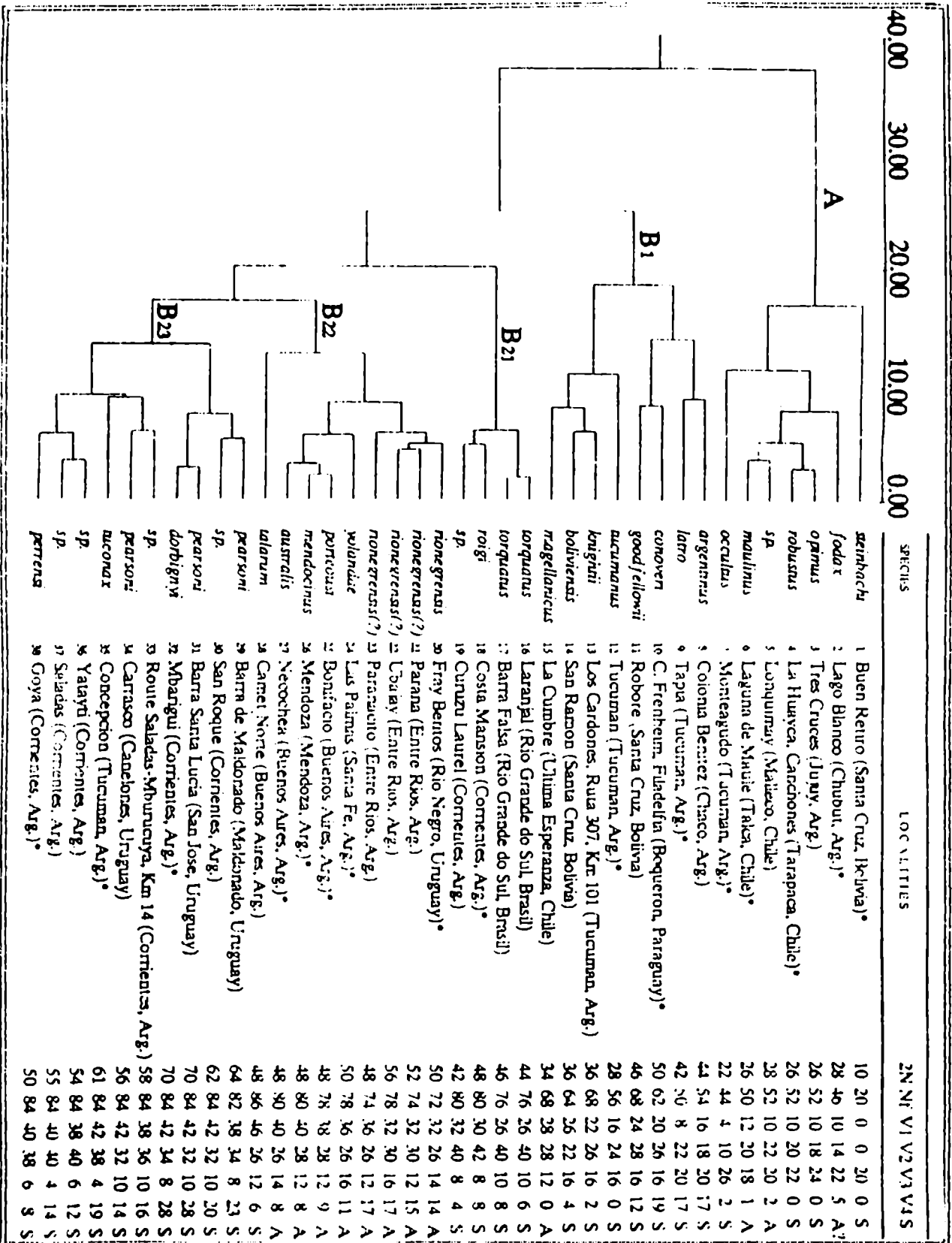
única vez de alguna especie "simétrica". Esto podría haber justificado la decisión de tratar a ambos grupos por separado, pero al hacerlo, se perdería información sobre el origen de la forma asimétrica y de las posibles formas ancestrales, como veremos más abajo. Existen además otras dos razones. Una obvia es que de algunas formas se desconocen el tipo de espermio. Otra es que resultaba necesario probar la capacidad de las variables elegidas y el método de agrupamiento utilizado para clasificar coherentemente. La puesta a prueba se basó en la capacidad de método de agrupar más frecuentemente especies con igual tipo de espermio a pesar de posibles convergencias. Por lo tanto el primer paso será analizar el fenograma 1 (Figura 3.3.2.I.) de este punto de vista. El grupo A está formado por 7 especies diferenciables por las variables (8 en total, considerando a *C. fulvus*). Cinco de ellas poseen espermio "S", 2 "A" y la restante, *C. fodax*, se desconoce. Sin embargo la misma, que tiene una distribución extremadamente meridional, cercana a la de *C. maulinus*, nos hace suponer un espermio "A" para ella. Entonces el grupo A se compone de 8 formas, 5 "S" y 3 "A".

El grupo B1 está compuesto por 8 especies, 7 de las cuales son formas "S" (simétricas) del norte argentino y del Paraguay, y 1 "A" (asimétrica) del extremo sur del continente.

El grupo B21, lo componen 3 especies, 2 de espermio "S" y una con espermio desconocido, *C. reigi*, pero con una distribución limitada por formas "S" y originalmente considerada *C. dorbignyi*, que es "S" (Contreras, 1988).

De las 9 formas del grupo B22 solo una, *C. talarum* posee espermio "S", siendo la misma la más diferenciada. A tres de dichas poblaciones, dos de las cuales son mencionadas como *sp.* en el resto de los análisis (P26 y P32), se los menciona aquí como *rionegrensis?*, por su cercanía geográfica y cromosómica con el topotipo de esa especie, y también por su similitud morfológica (Reig *et al.* 1965). Por último, B23 lo forman 10 especies, todas "S". Debido a que los tres últimos grupos de especies poseen un rango de 2n y NF muy amplio y similar, la inclusión de un grupo coherente de especies "A" como el B22 en un agrupamiento mayor dominado por el tipo opuesto no es de extrañar. Tampoco sería significativa la inclusión aislada de *C. magellanicus* en B1.

Figura 3.3.2.I. Fenograma 1 del cluster análisis de 37 formas de *Ctenomys*, utilizando una matriz de distancia Euclídea (Tabla 3.3.2.I.) basada en 4 variables V1, V2, V3 y V4. El método de agrupamiento fue el UPGMA. Coeficiente de correlación canónica=0.75961. Se indican con líneas verticales los clusters mencionados en el texto (B1, B21, B22 y B23). SPECIES: especies estudiadas. LOCALITIES: localidades de muestreo de las formas analizadas, Arg.=Argentina, 8=localidad típica (ver en el mapa de la Figura 3.3.2.III). la correspondencia con los números de la Tabla 2.2.1. para una ubicación detallada de las mismas. 2N: número diploide. NF: número fundamental. V1: número de brazos cromosómicos de 0 a 2X del complemento haploide femenino (CHF). V2: número de brazos cromosómicos de 2 a 4X del (CHF). V3: número de brazos cromosómicos de más de 4X del (CHF). V4: número de pares de cromosomas teló o acrocéntricos. B1: tipo de espermio. Las referencias (entre corchetes abajo) correspondientes a la fuente de información del 2N, NF, V1, V2, V3, y V4 (primer número) o al tipo de espermio (segundo número) se dan en la siguiente lista siguiendo el número de localidad de la figura: 1) 17, 12; 2) 1, 1; 3) 1, 1; 4) 6, 6; 5) 6, 6; 6) 6, 6; 7) 1, 1; 8) 1, 8; 9) 4, 1; 10) 1, 8; 11) 7, 12; 12) 4, 1; 13) 1, 1; 14) 7, 12; 15) 6, 6; 16) 2, 1; 17) 2, 1; 18) 1, 1; 19) 1, 1; 20) 3, 9; 21) 1, 8; 22) 1, 8; 23) 1, 8; 24) 1, 8; 25) 5, 8; 26) 5, 8; 27) 5, 8; 28) 3, 9; 29) 1, 8; 30) 3, 9; 31) 3, 9; 32) 1, 8; 33) 1, 1; 34) 3, 9; 35) 4, 1; 36) 1, 1; 37) 1, 1; 38) 1, 1. [1] Presente tesis; [2] Freitas & Lessa, 1984; [3] Kiblsky *et al.*, 1977; [4] Reig & Kiblsky, 1969; [5] Massarini *et al.*, en prensa; [6] Gallardo, 1979; [7] Anderson *et al.*, 1987; [8] Vitullo *et al.*, 1985; [9] Altuna *et al.*, 1985a; [10] Jones, 1975; [11] Altuna *et al.*, 1985b; [12] Cook *et al.*, 1990



Por lo que hasta aquí respecta, podemos concluir que las variables y el método de agrupamiento utilizados son buenos. Pero si tenemos en cuenta el grupo A, ¿debemos concluir lo contrario?, ¿o es posible una explicación ad-hoc?. Si admitimos que, (a) el tipo de espermio "S" es el primitivo y originó "A" una única vez y que (b) la diversificación espermática fue temprana, se pueden derivar las siguientes hipótesis: (1) de (a), existirán formas de diferente espermio que posean cariotipos muy similares, aun más quizá que respecto a especies de la misma clase, y (2) de (b), la especie viviente más ancestral del género será alguna de las especies predichas en (1) que tengan espermio simétrico, o en su defecto, una especie "S" muy emparentada a ellas.

La predicción (1) se puede observar en el grupo A, donde dos especies "A" (*C. maulinus* y *C. sp*) están muy cercanamente ligadas a 3 especies "S" (*C. opimus*, *C. fulvus* y *C. robustus*). Estas

5 especies tienen su distribución a lo largo de la Cordillera de los Andes. Según (2), una de estas especies es la más ancestral, o en su defecto *C. steinbachi* o *C. occultus* (ver más adelante sección 3.3.3).

En términos generales, el grupo A puede ser interpretado como el grupo de diferenciación temprana. A partir de formas ancestrales de espermio simétrico y de bajo $2n$ y NF, se diferencian las formas de espermio "A" pero con cariotipos conservados. De ambas ramas se van originando nuevas formas (*C. steinbachi* y *C. occultus*, a menos que ellas sean las primitivas como se sugiere en la sección 3.3.3., en la "S" y *C. fodax* muy probablemente en la "A") aún de bajo número cromosómico. Por

su parte, B, puede ser interpretado como la etapa de diversificación. Para el análisis del grupo B, utilizaremos para ilustrar mejor, los fenogramas 2 y 3, respetando la terminología de "clusters" del fenograma 1. En ambos casos, los grupos se mantienen. El grupo B₁ puede corresponderse, tanto para el

linaje de formas "S" como de formas "A", con la segunda etapa de la evolución cromosómica, y primera de la diversificación. Mientras que en las formas "A",



Figura 3.3.2.III. Se muestran aquí más detalladamente, las localidades de la región correspondiente a los grupos B₂₁ y B₂₃. Aparecen también, parte de las localidades mencionadas para B₂₂ y B₁. La numeración no se corresponde a la de la Figura 3.3.2.I. La correspondencia se muestra en la siguiente lista, indicando primero el número en el mapa y luego el del fenograma y/o, entre paréntesis, la numeración de las localidades de la Tabla 2.1.1. de Materiales, cuando es posible: 1=38(21); 2=37(27); 3=(20); 4=33(29); 5=36(33); 6=30(30); 7=(31); 8=32(8); 9=32(10); 10=19(25); 11=18(23); 12=8(1); 13=21(26); 14=22(32); 15=24(41); 16=10(7); 17=Médanos, Entre Ríos; 18=31; 19=34; 20=29; 21, Balto, Departamento de Salto, Uruguay; 22=16. *El número 17 no se analizó e incluyó en el fenograma debido a que se duda del NF del mismo, ya que fue determinado como NF=98, por técnicas de squash de testículo por Reig & Kiblicky, 1969. Siendo los mismos resultados preliminares, es preferible dejarlo como desconocido. La localidad 21, tiene el mismo cariotipo que la 22, por eso no fue incluida en el fenograma. Los números entre paréntesis, al lado de los de las localidades indican el número diploide primero y el NF después.

B₁ está formado solo por *C. magellanicus* del extremo sur, en las especies "S", el mismo se compone de 8 especies caracterizadas por pertenecer al área geográfica norte de la distribución del género. En B₁ el 2n y NF aumentan paralelamente en las dos líneas (las medias son para las formas "S": 2n=22, NF=43.2 en el grupo A, 2n=40.3, NF=60.3 en el B₁; para las formas "A": 2n=27.3, NF=49.3 en A, 2n=36, NF=68 en B₁). La diversidad mayor de especies "S" en el agrupamiento B₂ se da en B₂₃. En el, la única especie disarmónica geográficamente es *C. tuconax* de Tucumán, del NW de Argentina, muy alejada del resto, que pertenece a la Provincia de Corrientes (del NE de Argentina) y de Uruguay. Es probable que se una a este grupo por convergencia en las variables aquí utilizadas; su verdadera relación con las demás especies, desde el punto de vista cromosómico, no está clara. Sin embargo *tuconax* apareció en varios análisis (eletroforético [3.2.5.1., 3.2.5.2.] y morfológico [3.1.1.5.4.], ligado a especies de Corrientes). Del resto, es posible establecer una hipótesis filogenética. Geográficamente, el B₂₃ está separado en dos núcleos, uno septentrional, en Corrientes, y uno meridional no muy alejado, en Uruguay. *C. dorbignyi* y *C. pearsoni* de Barra de Santa Lucía (Uruguay) poseen cariotipos extremadamente similares (2n=70, NF=84). *C. dorbignyi* posee poblaciones en el extremo norte y en el sur del núcleo correntino, este último prácticamente equidistante de las poblaciones del norte y de *C. pearsoni* (más cercana a la primera, a 2/5 de la línea imaginaria que une las 3). Además 8 de las especies de B₂₃ poseen NF=84 y una NF=82. Por lo tanto, es posible que el principal (pero no el único) mecanismo de evolución cromosómica dentro del grupo sea el de fusiones céntricas a partir de una forma ancestral 2n=70, que formó independientemente en cada núcleo, especies de más bajo 2n. Ya se ha visto que algunas poblaciones de Corrientes son polimórficas para este tipo de reordenamiento: Yataytí-Calle y Saladas, 36 y 37 del fenograma respectivamente. Pero, como se verá en la sección 3.3.3., el análisis de bandas G arroja dudas sobre la generalidad de esta explicación, ya que el tratamiento cladista no permite concluir que el cariotipo de 2n=70 sea primitivo para las especies de Corrientes. De cualquier manera, aún siendo derivado, resulta plausible que el mismo se haya expandido enormemente en épocas pasadas, y esté reducido en la actualidad a los núcleos conocidos. Tampoco es descartable que el proceso de reducción del 2n se haya producido en Uruguay. En este mismo grupo, en la Pcia. de Corrientes, parece existir evidencia de una clina, en el número diploide, que aumenta de sur a norte (Figura 3.3.2.III.). Partiendo de la población monomórfica de *C. perrensi*, en Goya (número 1 del mapa), 42 km. al noreste aproximadamente, se encuentra la población de Yataytí-Calle, (5 del mapa), con 2n=53-54, que es morfológicamente muy afín a *C. perrensi* (ver sección 3.1. de Morfología craneana). Hacia el norte, 95 km aproximadamente, se encuentran una serie de

tres poblaciones (2, 4 y 3 del mapa), que si bien no se incluyeron por el bajo número de ejemplares en el análisis morfológico, podrían ser afines a *C. perrensi*, por compartir con Yataytí-Calle el mismo cariotipo $2n=54$. En ellas el $2n$ aumenta de 54-56 en la población 2 de Saladas, pasando por 56, 58 en la población que está 7 km hacia el noreste (4 del mapa), hasta sólo 58 en la población 3, 7 km más hacia el noreste. La existencia de esta clina podría ser invalidada por las poblaciones monomórficas $2n=62$ (6 y 7 del mapa) que se encuentran entre Yataytí-Calle y Saladas, llamadas San Roque y F.M. Mantilla. Sin embargo, estas poblaciones según el análisis morfológico están más alejadas de *C. perrensi*, pero como allí se discute, a un nivel por debajo del de poblaciones locales en otros grupos de *Ctenomys*. Las bandas G demuestran que solo es posible una clina entre las poblaciones 2, 3 y 4 (ver sección 3.3.3.) y posiblemente con Yataytí-Calle (5) también, aunque la mala calidad de bandas G obtenidas de esta población no permiten asegurar nada acerca de ello. *C. talarum*, B22 "3", está sola, indicando quizá sólo la falta de información de especies relacionadas a ella, o una alta tasa de evolución propia. B21 está estrechamente geográficamente relacionada a B23 (ocupa los mismos núcleos en Corrientes y Uruguay) y puede ser interpretado de dos maneras no excluyentes. Este grupo puede ser el grupo hermano de B23 (como aparece en el fenograma, si lo tomáramos como filogenia) o por el contrario, ser el resultado más extremo del proceso Robertsoniano descrito, más reordenamientos más complejos. Por lo dicho anteriormente, la segunda explicación quizá sea la menos plausible. Una tercera alternativa es que *C. sp.* y *C. roigi*, cercanas geográficamente, sean el grupo hermano y *C. torquatus* el resultado de B23 o viceversa; de estas dos es más probable la primera: *C. roigi* está muy cerca geográficamente de *C. argentinus*, un representante de lo que denominamos "segunda etapa" de la evolución cromosómica.

Por último, si *C. magellanicus* (B1 "A") es un representante de la segunda etapa, las especies de B22 "A", debe haber tenido su origen en las formas más sureñas del mismo. Estas son *C. australis*, *C. porteousi*, y *C. mendocinus*, indiferenciables cromosómicamente entre sí, salvo porque *C. australis* no comparte con las otras dos varios tipos de polimorfismos (Massarini et al. en prensa), y cuya distribución va, en conjunto, desde la Cordillera de los Andes (*C. mendocinus*) hasta el Océano Atlántico (*C. australis*). De ellos habrán derivado, probablemente de formas relacionadas a *C. porteousi* por su cercanía geográfica, *C. yolandae* y *C. rionegrensis*.

Los grupos B21 y B23 están caracterizados, hasta donde conocemos, por el tipo I de bandas C. El grupo B22, por el tipo III. Las especies restantes, incluyendo sólo las que conocemos por su patrón de bandeo C, se incluyen en el tipo II, y pertenecen a los grupos A y B1. Es probable entonces que este tipo II sea plesiomórfico.

Se compararon las bandas G de 17 cariotipos de *Ctenomys*, 16 de los cuales son descritos en esta tesis, y el cariotipo de *Octodontomys gliroides*, este último con el objeto de tener una referencia extragrupal. La Tabla 3.3.3.1. muestra la matriz de presencias y ausencias de caracteres elaborada según se explicó en la sección 2.2.3.3.2. de Métodos.

[illegible][illegible]

Tabla 3.3.3.1. Estados de carácter para cada OIU (para las SP se agrega el número de la Tabla 2.1.1.). Los números de caracteres (del 1 al 46) corresponden a brazos cromosómicos, dentro de ellos pueden aparecer, indicados con letras, reordenamientos para ese brazo. Los códigos de los reordenamientos son: 1) pérdida de brazo; 2) ganancia de brazo; 3) fusión centrálica; 4) fisión centrálica; 5) inversión paracentrica; 6) inversión pericentrica (genera nuevo brazo); 7) simplificación eucentrica; 8) simplificación heterocentrica; 9) duplicación; 10) inversión pericentrica (no genera nuevo brazo). Cuando un carácter involucra dos rearrreglos, estos se indican con números pequeños, uno arriba del otro.

Ca	OCT	OCC	LAT	INI	ARG	ZN55	ZN58	ZN62	DOR	ZN42	ROI	PER	TUC	TAL	OPI	MEN	FOD	MAG
1	1p	3p	8	9	7	1	1	1	1	5q	9q	9q	5q	7q	5q	10q	12q	-
2	1q	3q	4	6	2	18	19	22	10,12	10q	11	13	7q	10q	4q	11q	2	3
3	2p	7q	5	16	8	23	24	25	33	19	20	18	13	17q	2p	17q	4	12
4	2q	4q	6,14	2,3p	6,12	15q	17q	3,10	9,13	7q	14q	10q	2	8q	1q	16,22	5,10	7,8q
5	4	5q	3	3q	4	3	3	5	6	14	16	17	-	1	1p	2	-	9
6	5	9	7,18	7,8	5,17,19	2,12,17	2,14	2,20	2,24,30	3,12	7,15	7,11	9q	13,16	7q,11q	21	9	9
7	6	10	19	17	20	-	-	28	32?	-	-	20	-	-	-	-	-	-
8	-	1	2	1	1	19	20	23	3,8	8	12	15	3	6	3p	1	3	6
9	-	2p	17	5	10	16	18	21	29	6q	10q	12	4q	11	3q	13q	1	2q
10	-	2q	1	4	3,14	4,21	5,22	9,19,26	11,31	5p,13	9p,13	9p,16	1q	9	2q	9q	6q	1q
11	-	4p	12	13	13	5	4	7	7	-	-	-	10q	19q	6q	15q	11q	11
12	-	5p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	6p	11	15	9	6,13	9,15	13,17	17,20	-	-	-	9p	20q	6p	-	-	-
14	-	6q	5	10q	10,21	20q	21q	24q	4	-	-	-	8	12q	9q	12q	7	10
15	-	7p	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	8	3	13	16
16	-	8p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1p	-	9p	-	-	-
17	-	8q	9	12	-	-	-	-	-	17	18p	14	11q	14q	7q	14q	8q	4q
18	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4p	-	-	13p	-	2p
20	-	-	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	13	14	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	16	10p	16	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	15	7	10	12	14	1	3	3	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	6	29q	-	2	5	2	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	14	16	29p	25	4	21p	8	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	24	26	27	34	19	22	22	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	9	11	14	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	10	12	15	-	-	-	-	-	22q	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	8	8	11	16	-	-	-	-	3	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	25	25	30	21,23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	22	23	6,16	5,22	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	20p	21p	24p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	11	13	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	15p	17p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	27	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6p	10p	-	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7p	14p	10p	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	19	1,23	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	23	24	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11p	4	5	-	-	-	-	-	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9p	1	6	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10p	21q	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	18	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	8p	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9q	17q	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18q	19q	-	-	-	-	-	-

Tabla 3.3.3.11. Brazos y cromosomas de cada OTU que corresponden a cada uno de los 46 caracteres (Ca). OCT=Octodontomys; OCC=occultus; LAT=latro; INI=knightsii; ARG=argentinus; ZN55=sp.,P27; ZN58=sp.,P29; ZN62=sp.,P30; DOR=dorbignyi; ZN42=sp.,P25; ROI=roigi; PER=perrensi; TUC=tucumanus; TAL=talarum; OPI=opimus; MEN=menocinus; FOD=fodax; MAG=magellanicus.

La Tabla 3.3.3.II. muestra los brazos y cromosomas de cada OTU que corresponden a cada uno de los 46 caracteres diferentes encontrados. La Tabla 3.3.3.III. muestra la matriz de distancias de Manhattan basada en la matriz de presencias y ausencias de la Tabla 3.3.3.I.

	OCT	OCC	LAT	KNI	ARG	ZN55	ZN58	ZN62	DOR	ZN42	ROI	PER	TUC	TAL	OPI	MEN	FOD	MAG
OCT	0.000																	
OCC	0.171	0.000																
LAT	0.316	0.188	0.000															
KNI	0.347	0.235	0.049	0.000														
ARG	0.342	0.244	0.090	0.077	0.000													
ZN55	0.581	0.487	0.385	0.372	0.295	0.000												
ZN58	0.595	0.500	0.423	0.410	0.333	0.038	0.000											
ZN62	0.562	0.468	0.390	0.377	0.299	0.103	0.064	0.000										
DOR	0.574	0.451	0.338	0.324	0.239	0.097	0.111	0.111	0.000									
ZN42	0.521	0.467	0.400	0.387	0.333	0.306	0.264	0.234	0.238	0.000								
ROI	0.507	0.433	0.387	0.373	0.319	0.292	0.278	0.268	0.303	0.039	0.000							
PER	0.514	0.421	0.342	0.329	0.274	0.274	0.260	0.222	0.269	0.104	0.065	0.000						
TUC	0.333	0.198	0.222	0.273	0.297	0.486	0.473	0.452	0.418	0.451	0.465	0.458	0.000					
TAL	0.347	0.231	0.231	0.231	0.227	0.373	0.387	0.365	0.324	0.389	0.403	0.377	0.135	0.000				
OPI	0.270	0.137	0.181	0.228	0.250	0.447	0.434	0.427	0.391	0.397	0.411	0.405	0.114	0.171	0.000			
MEN	0.333	0.250	0.237	0.292	0.304	0.493	0.478	0.464	0.438	0.423	0.437	0.423	0.208	0.232	0.145	0.000		
FOD	0.323	0.247	0.247	0.290	0.333	0.515	0.500	0.485	0.459	0.448	0.463	0.456	0.205	0.258	0.151	0.056	0.000	
MAG	0.323	0.233	0.247	0.290	0.318	0.515	0.500	0.485	0.459	0.418	0.433	0.426	0.203	0.227	0.137	0.028	0.072	0.000

Tabla 3.3.3.III. Matriz de distancias de Manhattan basada en la matriz de presencias y ausencias de la Tabla 3.3.3.I.

3.3.3.1. Aproximación fenética.

Utilizando la matriz de distancias de Manhattan de la Tabla 3.3.3.III. (basada a su vez en la matriz de presencias y ausencias de la Tabla 3.3.3.I.) se construyó un fenograma UPGMA que se muestra en la Figura 3.3.3.I. Este fenograma incluye entonces, solamente los OTUs analizados en su patrón de bandeo G.

En el agrupamiento formado se distinguen claramente dos grandes grupos. Por un lado, todas las especies de la Provincia de Corrientes, dividida en dos grupos. Por otro, el resto de las especies de *Ctenomys*, más *Octodontomys*, también subdividido en dos subgrupos.

El OTU que posee el cariotipo más similar al del extragrupo es *occultus*, y los dos forman uno de los subgrupos mencionados para el conjunto de especies no correntinas. Este resultado es coherente con el de la sección 3.3.2.: *C. occultus* es una de las especies pertenecientes al grupo A, de la Figura 3.3.2.1. que fue postulado como ancestral.

El otro subgrupo está compuesto a su vez por otros tres pequeños. En coincidencia con los anteriores análisis morfológicos y con el tipo de espermio se unen en uno de ellos *mendocinus* y *magellanicus*. En el análisis filogenético basado en cromosomas sin bandeo, *magellanicus* había quedado en un agrupamiento diferente, hecho explicado en su momento por convergencia (sección 3.3.2.). Otra especie analizada en la sección recién mencionada es

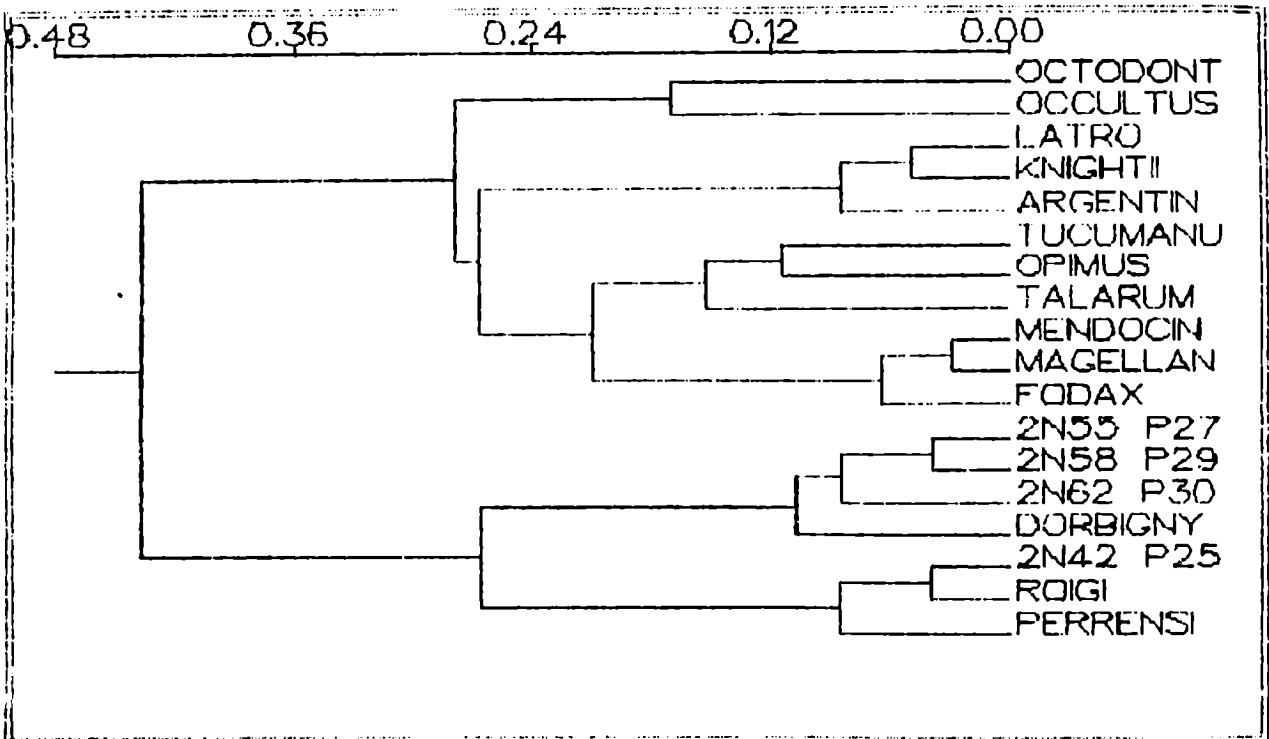


Figura 3.3.3.I. Fenograma construido utilizando la matriz de distancias de Manhattan de la Tabla 3.3.3.III. (basada a su vez en la matriz de presencias y ausencias de la Tabla 3.3.3.I.), e incluye a los OTUs analizados en su patrón de bandeó 6. Coeficiente de correlación cofenética=0.902779

Fodax, a la que se le atribuyó un tipo de espermio asimétrico por su distribución geográfica, ya que sólo se estudió un ejemplar hembra. Esta hipótesis podría quedar apoyada por encontrarse en el fenograma que estamos analizando, con dos especies de espermio asimétrico.

Los otros dos pequeños subgrupos están formados respectivamente por *tucumanus*, *opimus* y *talarum*, por un lado, y por *latro*, *knightii* y *argentinus* por otro. *C. knightii* ha sido la especie que más erráticamente se ha comportado en cuanto su ubicación en relación con el resto de las especies. En el análisis morfológico o en el alozímico se ubicó estrechamente, en diferentes análisis, a. 1) el grupo de Corrientes, 2) el grupo de *occultus*, *tucumanus*, *latro* y *argentinus*, y 3) *opimus* y *tuconax*. En el fenograma de la Figura 3.3.2.I. de la sección 3.3.2., *knightii* está en el mismo grupo, el B₁, con *argentinus*, *latro* y *tucumanus*. Aquí, las bandas G, apoyan una relación estrecha de *knightii* con *latro* y *argentinus*, y más alejada con *opimus*. Lamentablemente no hay información de *tuconax*. Una de las especies que siempre estuvo morfológicamente ligada a *latro* y *argentinus*, *C. tucumanus*, aparece estrechamente unida a *opimus*, y *talarum*. Esta última por su parte, estuvo también, aunque de forma más alejada y formando un agrupamiento diferente, relacionada en los análisis morfológicos con el grupo de *occultus*, *argentinus*,

latro y *tucumanus*. Por su parte *opimus*, se relacionó siempre con el grupo de especies de espermio asimétrico. Podemos inferir, entonces, que la mayor proximidad del trío *tucumanus-opimus-talarum* al grupo de especies de espermio asimétrico, se debe a la afinidad que éstas poseen con *opimus*. También que la afinidad de *talarum* con el grupo *occultus-argentinus-latro-tucumanus*, se debe a su afinidad con la última de esas cuatro especies.

El hecho más notable es que el grado de diferenciación cromosómica alcanzado entre OTUs de Corrientes, está al mismo o mayor nivel que el alcanzado por el resto de las especies del género entre sí (aún mayor que entre dos subfamilias). Esto es totalmente opuesto a lo concluido para la diferenciación morfológica y genética basada en alozimas. Analizando el grupo de Corrientes, vemos que se distinguen dos líneas. Como se verá más adelante, en la sección 3.3.3.2.1., estas pertenecen a grupos diferentes en cuanto a la cantidad de material genético.

De forma general, los grupos fenéticos formados en el análisis de esta sección no difieren de manera altamente contradictoria con los hallados en anteriores tipos de análisis. Hay que tener en cuenta también que aquí se ha utilizado una cantidad menor de especies en la comparación. El fenograma ilustrado en esta sección sirve también, para ilustrar que no existe relación entre mayor diferenciación de un grupo respecto a un carácter y ancestridad. El grupo más diferenciado es el de Corrientes, sin embargo *occultus* es la especie más similar a un extragrupo.

3.3.3.2. Aproximación cladística.

3.3.3.2.1. Análisis basado en máxima parsimonia.

El análisis de máxima parsimonia utilizando el programa PAUP (ver sección 2.2.3.5. de Métodos) sobre la matriz de presencias y ausencias de la Tabla 3.3.3.I. dió como resultado seis árboles igualmente parsimoniosos de 124 pasos cada uno, con un índice de consistencia de 0.710. Las diferentes topologías se debieron a ordenamientos equiparsimoniosos entre algunas de las especies de Corrientes y entre las especies que tienen o que suponemos que tienen espermio asimétrico, *mendocinus*, *magellanicus* y *fodax*. Como consecuencia de haber obtenido diferentes topologías, se construyó un árbol de consenso que refleja las relaciones de parentesco que se mantienen constantes en las topologías alternativas.

Las Tablas 3.3.3.IV., 3.3.3.V. y 3.3.3.VI. muestran respectivamente los largos de los brazos, lista de cambios de los caracteres y lista de apomorfías de OTUs y HTUs, para uno de los seis árboles obtenidos. La Figura 3.3.3.II. muestra la topología correspondiente al mismo árbol de las Tabla anteriores. En la Tabla 3.3.3.V., de cambios de estado de los caracteres, se puede apreciar que la mayoría de los cambios homoplásicos ocurren en nodos que

relacionan OTUs de Corrientes o de el grupo de espermio asimétrico. Todos los caracteres que son apomórficos para un OTU no fueron considerados en la construcción del fenograma (no aportan información cladística) ni fueron por lo tanto incluidos en el cálculo del índice de consistencia promedio del árbol (aumentarían artificialmente el mismo, ya que todos estos caracteres tienen lógicamente consistencia 1).

Tampoco se utilizaron como

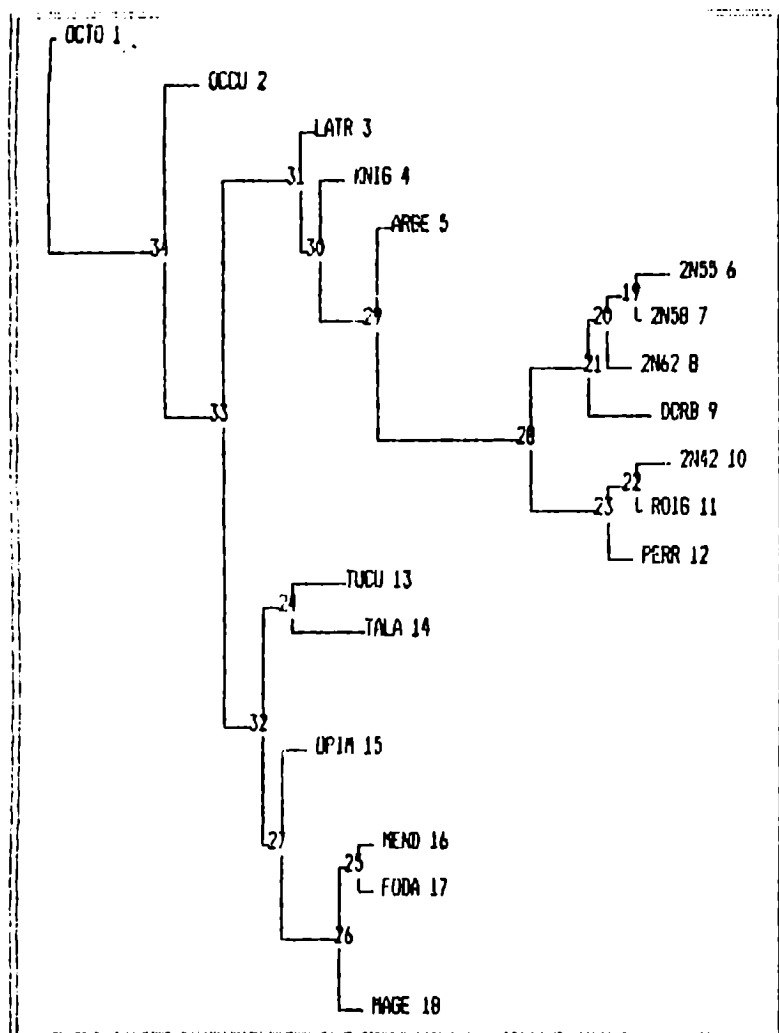


Figura 3.3.3.II. Una de las seis topologías igualmente parsimoniosas halladas. Los números indican el OTU o el HTU correspondiente a la Tabla 3.3.3.IV. Los largos de las ramas son proporcionales a los indicados en la Tabla 3.3.3.IV. La justificación de la topología se encuentra en la lista de apomorfías de cada nodo en la Tabla 3.3.3.VI.

Nodos	conectados	L	MI	MA
OCCULTUS	(2) con 34	3	1	4
LATRO	(3) con 31	0	0	1
KNIGHTII	(4) con 30	2	2	3
ARGENTINU	(5) con 29	0	0	1
ZN55, P27	(6) con 19	3	1	3
ZN58, P29	(7) con 19	0	0	2
ZN62, P30	(8) con 20	2	1	4
DCRBIGNYI	(9) con 21	5	2	6
ZN42, P25	(10) con 22	3	2	3
RO16I	(11) con 22	0	0	1
PERRENSI	(12) con 23	2	2	3
TUCUNANUS	(13) con 24	4	4	5
TALARUM	(14) con 24	6	6	6
OPINUS	(15) con 27	2	2	3
MENDOCINU	(16) con 25	1	1	2
FODAX	(17) con 25	3	2	3
MAGELLANI	(18) con 26	1	1	2
19	con 20	3	3	4
20	con 21	1	1	6
21	con 28	7	5	11
22	con 23	3	3	3
23	con 28	8	6	12
24	con 32	3	3	4
25	con 26	1	1	1
26	con 27	7	5	7
27	con 32	2	2	2
28	con 29	15	9	16
29	con 30	6	3	6
30	con 31	2	2	2
31	con 33	8	7	8
32	con 33	4	3	4
33	con 34	5	4	7
34 con OCTO (1)		12	12	12

Tabla 3.3.3.IV. Largo de los brazos del árbol cuya topología se muestra en la Figura 3.3.3.II. Se indica el largo asignado (L), el largo mínimo posible para la rama (MI) y el máximo posible (MA).

información en la construcción del árbol

algunos caracteres, cuyo fundamento en las bandas G fue dudoso. Estos caracteres están identificados en las tablas con un asterisco (*), y se incluyen solo para ser contabilizados como cambios ocurridos en la evolución del género, a pesar de su nulo o dudoso contenido de información cladística.

En la Tabla 3.3.3.VI., de apomorfías de OTUs y HTUs, se muestran las

justificaciones de cada nodo. Las apomorfias de un HTU, equivalen a sinapomorfias de los OTUs que derivan de él. Es decir, son los caracteres derivados compartidos por esos OTUs, que justifican la inclusión de los mismos en un clado común.

C	A	D	Rama	Cons.	C	A	D	Rama	Cons.	C	A	D	Rama	Cons.	C	A	D	Rama	Cons.
18	0	1	26 → MAGE	1.000	49	0	1	28 → 21	1.000	918	0	1	27 → 26	1.000	1308	0	1	22 → RDIG	1.000
2	0	1	OCTO → 34	1.000	508	0	1	34 → OCCU	1.000	919	0	1	25 → MEND	0.500	1318	0	1	22 → RDIG	1.000
3	0	1	34 → 33	1.000	518	0	1	30 → KNIG	1.000	928	0	1	OCTO → 34	1.000	1328	0	1	24 → TUCU	1.000
4	0	1	28 → 23	1.000	528	0	1	26 → MAGE	1.000	938	0	1	28 → 23	0.500	1338	0	1	25 → MEND	1.000
58	0	1	31 → 30	0.500	54	0	1	33 → 31	0.500	948	0	1	34 → 33	1.000	1348	0	1	25 → FODA	1.000
6	0	1	27 → OPIM	0.500	55	0	1	29 → 28	0.500	958	0	1	30 → KNIG	1.000	1358	0	1	26 → MAGE	1.000
6	0	1	30 → 29	0.500	56	0	1	21 → DORB	0.500	968	0	1	24 → TUCU	1.000	1368	0	1	OCTO → 34	1.000
78	0	1	25 → MEND	0.333	57	0	1	19 → ZN42	0.250	978	0	1	24 → TALA	1.000	1378	0	1	34 → 33	1.000
78	0	1	24 → TALA	0.333	58	0	1	30 → KNIG	1.000	988	0	1	27 → OPIM	1.000	1388	0	1	27 → 26	0.333
88	0	1	27 → OPIM	1.000	59	0	1	33 → 32	1.000	998	0	1	25 → MEND	1.000	1398	0	1	25 → FODA	0.333
108	0	1	24 → TUCU	1.000	60	0	1	28 → 21	1.000	1008	0	1	25 → FODA	1.000	1408	0	1	24 → TUCU	0.333
108	0	1	30 → KNIG	1.000	61	0	1	22 → ZN42	0.250	1018	0	1	26 → MAGE	1.000	1418	0	1	33 → 31	0.500
118	0	1	29 → 28	1.000	62	0	1	19 → ZN55	0.250	1028	0	1	34 → OCCU	1.000	1428	0	1	29 → 28	0.500
128	0	1	22 → ZN42	1.000	63	0	1	27 → 26	1.000	1038	0	1	OCTO → 34	1.000	1438	0	1	33 → 31	0.500
138	0	1	21 → DORB	1.000	64	0	1	24 → TUCU	1.000	1048	0	1	27 → 26	0.333	1448	0	1	29 → 28	1.000
148	0	1	21 → DORB	1.000	65	0	1	25 → FODA	1.000	1058	0	1	28 → 23	1.000	1458	0	1	29 → 28	1.000
158	0	1	21 → DORB	1.000	66	0	1	22 → ZN42	0.500	1068	0	1	34 → OCCU	1.000	1468	0	1	28 → 21	1.000
16	0	1	24 → TUCU	1.000	67	0	1	21 → DORB	1.000	1078	0	1	29 → 28	1.000	1478	0	1	21 → 20	0.500
17	0	1	24 → TALA	1.000	68	0	1	27 → OPIM	1.000	1088	0	1	21 → DORB	1.000	1488	0	1	24 → TALA	0.500
188	0	1	27 → OPIM	1.000	69	0	1	33 → 32	1.000	1098	0	1	21 → DORB	1.000	1498	0	1	28 → 21	0.500
198	0	1	25 → MEND	1.000	70	0	1	23 → 22	0.333	1108	0	1	24 → TUCU	1.000	1508	0	1	21 → DORB	1.000
208	0	1	26 → MAGE	1.000	71	0	1	20 → 19	0.333	1118	0	1	27 → OPIM	1.000	1518	0	1	28 → 21	1.000
22	0	1	OCTO → 34	1.000	72	0	1	OCTO → 34	1.000	1128	0	1	25 → MEND	1.000	1528	0	1	21 → 20	0.500
23	0	1	29 → 28	1.000	73	0	1	34 → 33	1.000	1138	0	1	30 → KNIG	1.000	1538	0	1	29 → 28	1.000
248	0	1	30 → KNIG	1.000	74	0	1	33 → 31	1.000	1148	0	1	29 → ARGE	1.000	1548	0	1	20 → 19	1.000
258	0	1	24 → TUCU	1.000	75	0	1	29 → 28	1.000	1158	0	1	29 → 28	1.000	1558	0	1	20 → 19	1.000
268	0	1	26 → MAGE	1.000	76	0	1	32 → 27	1.000	1168	0	1	21 → DORB	1.000	1568	0	1	23 → 22	1.000
278	0	1	34 → OCCU	1.000	77	0	1	32 → 27	1.000	1178	0	1	21 → DORB	1.000	1578	0	1	28 → 23	1.000
288	0	1	31 → LATR	1.000	78	0	1	21 → DORB	1.000	1188	0	1	24 → TALA	1.000	1588	0	1	28 → 23	1.000
298	0	1	27 → OPIM	1.000	79	0	1	21 → DORB	1.000	1198	0	1	24 → TUCU	1.000	1598	0	1	23 → PERR	1.000
31	0	1	OCTO → 34	1.000	80	0	1	21 → DORB	1.000	1208	0	1	27 → OPIM	1.000	1608	0	1	23 → PERR	1.000
32	0	1	20 → ZN62	1.000	81	0	1	27 → OPIM	1.000	1218	0	1	25 → FODA	1.000	1618	0	1	28 → 23	1.000
33	0	1	33 → 31	1.000	82	0	1	25 → FODA	1.000	1228	0	1	26 → MAGE	1.000	1628	0	1	28 → 23	1.000
34	0	1	33 → 31	1.000	83	0	1	26 → MAGE	1.000	1238	0	1	26 → MAGE	1.000	1638	0	1	28 → 23	1.000
358	0	1	30 → KNIG	1.000	84	0	1	OCTO → 34	1.000	1248	0	1	27 → OPIM	1.000	1648	0	1	32 → 24	1.000
368	0	1	21 → DORB	1.000	85	0	1	34 → 33	1.000	1258	0	1	24 → TUCU	1.000	1658	0	1	32 → 24	1.000
378	0	1	28 → 23	0.500	86	0	1	33 → 31	1.000	1268	0	1	34 → OCCU	0.333	1668	0	1	26 → 25	1.000
38	0	1	20 → 19	1.000	87	0	1	23 → 22	1.000	1278	0	1	OCTO → 34	1.000	1678	0	1	23 → 22	1.000
38	0	1	32 → 24	1.000	88	0	1	27 → OPIM	1.000	1288	0	1	31 → 30	0.500	1688	0	1	28 → 23	1.000
408	0	1	27 → OPIM	1.000	89	0	1	32 → 24	1.000	1298	0	1	34 → 33	1.000	1698	0	1	28 → 23	1.000
41	0	1	27 → 26	1.000	90	0	1	25 → MEND	1.000	1308	0	1	27 → 26	0.333	1708	0	1	28 → 23	1.000
42	0	1	27 → 26	1.000	91	0	1	26 → MAGE	1.000	1318	0	1	25 → FODA	1.000	1718	0	1	28 → 23	1.000
43	0	1	27 → 26	1.000	92	0	1	26 → MAGE	1.000	1328	0	1	26 → MAGE	1.000	1728	0	1	28 → 23	1.000
448	0	1	26 → MAGE	1.000	93	0	1	OCTO → 34	1.000	1338	0	1	27 → OPIM	1.000	1738	0	1	28 → 23	1.000
45	0	1	25 → FODA	0.500	94	0	1	34 → 33	1.000	1348	0	1	24 → TUCU	1.000	1748	0	1	28 → 23	1.000
46	0	1	OCTO → 34	1.000	95	0	1	30 → 29	1.000	1358	0	1	34 → OCCU	0.333	1758	0	1	28 → 23	1.000
47	0	1	33 → 32	1.000	96	0	1	29 → 28	1.000	1368	0	1	OCTO → 34	1.000	1768	0	1	28 → 23	1.000
48	0	1	29 → 28	1.000	97	0	1	20 → ZN62	1.000	1378	0	1	30 → 29	0.333	1778	0	1	28 → 23	1.000
					98	0	1	20 → ZN62	1.000	1388	0	1	28 → 23	1.000	1788	0	1	28 → 23	1.000
					99	0	1	24 → TUCU	1.000	1398	0	1	34 → 33	1.000	1798	0	1	28 → 23	1.000
					100	0	1	27 → OPIM	1.000	1408	0	1	27 → 26	1.000	1808	0	1	28 → 23	1.000

Tabla 3.3.3.V. Listado de estados de los caracteres en los OTUs y HTUs del análisis cladístico basado en bandas 6 de 17 OTUs de *Ctenomys* y *Octodontomys*. MAGE= *argentinus*; DORB= *dorbignyi*; FODA= *podax*; KNIG= *knightii*; LATR= *latro*; MAGE= *magellanicus*; MEND= *mendocinus*; OCCU= *occultus*; OPIM= *opimus*; PERR= *perrensi*; RDIG= *roigii*; ZN42= sp. (P25); ZN55= sp. (P27); ZN56= sp. (P29); ZN62= sp. (P30); TALA= *talarum*; TUCU= *tucumanus*.

Utilizando el método de Wagner, se calculó un árbol con las correspondientes estimaciones de confiabilidad de los clados formados,

Nodo	AI	C	A	D	Nodo	AI	C	A	D	Nodo	AI	C	A	D	Nodo	AI	C	A	D			
ARGE	29	109	0	1	OCCU	34	27	0	1	20	21	147	0	1	29	30	6	0	1			
DORB	21	13	0	1			50	0	1			152	0	1			85	0	1			
		14	0	1			101	0	1							126	1	0				
		15	0	1			103	1	0			21	28	49	0	1	129	1	0			
		36	0	1			121	1	0					56	0	1	139	1	0			
		54	0	1			125	0	1					146	0	1	142	0	1			
		60	0	1										148	0	1						
		69	0	1		OPIM	27	5	0	1				149	0	1	30	31	5	0	1	
		70	0	1				7	0	1				151	0	1			84	0	1	
		71	0	1				18	0	1				153	0	1			120	1	0	
		111	0	1				29	0	1												
		112	0	1				40	0	1			22	23	62	0	1	31	33	33	0	1
		117	0	1				61	0	1				78	0	1			34	0	1	
		141	0	1				79	0	1				154	0	1			54	0	1	
		143	1	0				90	0	1				157	0	1			65	0	1	
		150	0	1				97	0	1									77	0	1	
FODA	25	45	0	1			115	0	1			23	28	4	0	1			139	0	1	
		59	0	1			125	0	1				37	0	1			140	0	1		
		73	0	1									92	1	0			141	0	1		
		99	0	1		PERR	23	159	0	1				102	1	0	32	33	47	0	1	
		117	0	1				160	0	1				107	1	0			55	0	1	
		118	0	1										126	0	1			62	0	1	
		123	0	1		ROIG	22	150	0	1				137	0	1			122	0	1	
		134	0	1				151	0	1				158	0	1						
		138	1	0										161	0	1	33	34	3	0	1	
		10	0	1		2N42	22	17	0	1				162	0	1			64	0	1	
		24	0	1				56	0	1				163	0	1			76	0	1	
		33	0	1				60	0	1				168	0	1			93	1	0	
		51	0	1				168	1	0			24	32	39	0	1		127	1	0	
		55	0	1											60	0	1		137	0	1	
		94	0	1		2N55	19	54	0	1				164	0	1						
106	0	1				56	1	0				165	0	1	OCTO	34	2	0	1			
108	0	1				143	1	0									22	0	1			
128	0	1		2N58	19												31	0	1			
LATR	31	28	0	1	2N62	20	32	0	1			26	27	41	0	1			46	0	1	
								37	0	1				42	0	1			63	0	1	
								87	0	1				43	0	1			75	0	1	
								88	0	1				57	0	1			83	0	1	
								153	1	0				91	0	1			92	0	1	
														102	1	0			102	0	1	
						TALA	24	6	0	1				102	1	0			107	0	1	
								17	0	1				122	1	0			120	0	1	
								84	0	1				138	0	1			126	0	1	
								96	0	1									135	0	1	
								113	0	1												
								120	1	0												
								147	0	1												
								148	0	1												
		MEND	25	6	0	1	TUCU	24	8	0	1			28	29	11	0	1				
19	0			1				16	0	1				23	0	1						
81	0			1				25	0	1				47	0	1						
91	1			0				45	0	1				48	0	1						
98	0			1				58	0	1				54	1	0						
116	0			1				89	0	1				66	0	1						
133	0			1				95	0	1				85	0	1						
134	0			1				38	0	1				104	0	1						
144	0			1		19	20	62	0	1				105	0	1						
152	0			1				154	0	1				110	0	1						
153	0			1				155	0	1				146	1	0						
														141	1	0						
														143	0	1						

Tabla 3.3.3.VI. Listado de apomorfias de los OTUs y HTUs del análisis cladístico basado en bandas G de 17 OTUs de *Ctenomys* y *Octodontomys*. ARGE= *argentinus*; DORB= *dorbignyi*; FODA= *fodax*; KNIG= *knightii*; LATR= *latro*; MAGE= *magellanicus*; MEND= *mendocinus*; OCCU= *occultus*; OPIM= *opimus*; PERR= *perrensi*; ROIG= *roigii*; 2N42= sp. (P27); 2N55= sp. (P29); 2N58= sp. (P29); 2N62= sp. (P30); TALA= *talarum*; TUCU= *tucumanus*.

mediante la técnica del "bootstrap" (ver sección 1.1.2.5. de Introducción).

Se utilizó en este caso el programa BOOTH del paquete PHYLIP y la misma matriz de presencias y ausencias que antes, pero se eliminaron las autapomorfias, para disminuir el tiempo de procesamiento. La topología obtenida, que se muestra en la Figura 3.3.3.III., es muy similar a la obtenida anteriormente con PAUP. La única diferencia en la topología reside en la ubicación de *latro-knightii-argentinus*. En la filogenia obtenida con PAUP, estos tres OTUs pertenecen al mismo clado que el grupo de Corrientes, siendo el más primitivo *latro*, y *argentinus* el único miembro del grupo hermano al de Corrientes.

La topología obtenida con BOOT muestra a *latro-knightii-argentinus*, como grupo hermano al de Corrientes. Con el tratamiento PAUP, no fueron resueltos dos grupos, el formado por cuatro OTUs de Corrientes *dorbignyi*-sp. (P27, P29, P30), y el formado por *magellanicus-mendocinus-fodax*. Este programa obtiene una sola topología y la misma apoya la mayor relación de *fodax* con *mendocinus* que con

magellanicus. Esto no es coincidente con los resultados del análisis de morfología craneana, donde *magellanicus* resultó en algunos casos incluso más afín a una especie que posee el mismo cariotipo que *mendocinus* (*C. australis*), que *mendocinus* mismo.

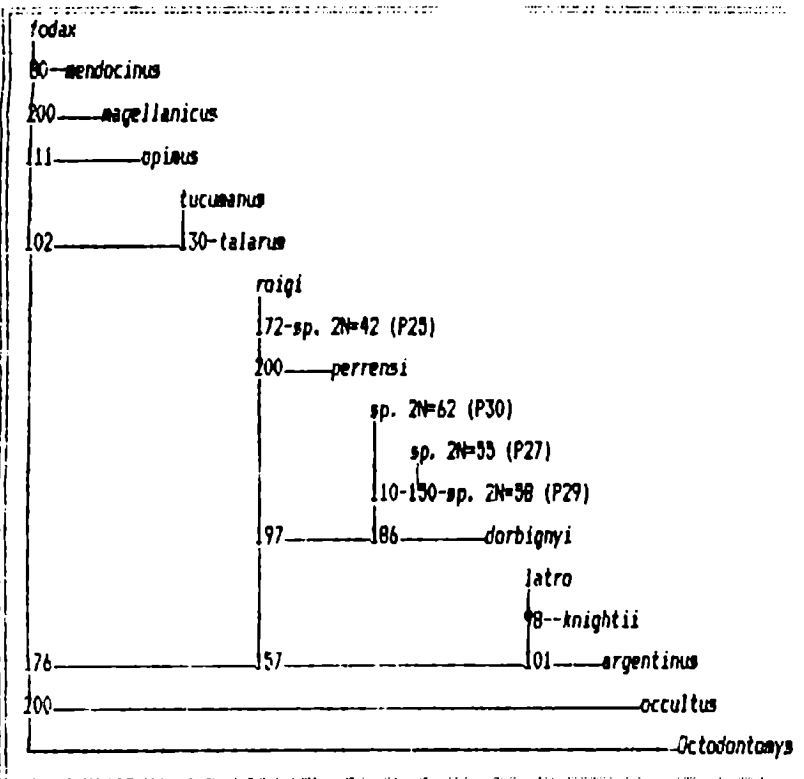


Figura 3.3.3.iii. Topología obtenida con el método de Wagner utilizando la técnica de bootstrap para la estimación de confiabilidad de los clados. El número de réplicas total fue de 200, y en los nodos se muestra el número de réplicas en que se basa cada uno.

Igual resultado se obtuvo en el análisis fenético de las bandas G (sección 3.3.3.1). En el grupo Corrientes queda como la más plesiomórfica, *dorbignyi*, siguiéndole *sp.* (P30), y las dos más emparentadas son *sp.* (P27 y P29). También se obtiene aquí un resultado similar al obtenido en la sección 3.3.3.1. En los nodos de la topología de la Figura 3.3.3.III. se muestra la cantidad de réplicas (de un total de 200) que apoyan a cada clado formado. Además del clado formado sólo por especies de *Ctenomys*, diferencian- dose de *Octodontomys*,

otros dos clados están apoyados por las 200 réplicas. Uno de estos es el de *perrensi*, *roigi* y *sp.* (P25), y el tercero es el formado por *mugellanicus*, *mendocinus* y *fodax*. El clado que está basado en menos réplicas es el de *fodax* con *mendocinus* con un total de 80. Uno de los clados formados aquí, que diferencia a las topologías obtenidas por PAUP y BOOT, el formado por *argentinus*, *knightii* y *latro*, solo está apoyado por 101 réplicas. Por otra parte, un clado que está apoyado por la mayoría de las réplicas (150) es el formado por las *sp.* P27 y P29, del grupo Corrientes. Este es también apoyado con los datos alozimicos en la sección 3.2.5.1, Figura 3.2.VI.

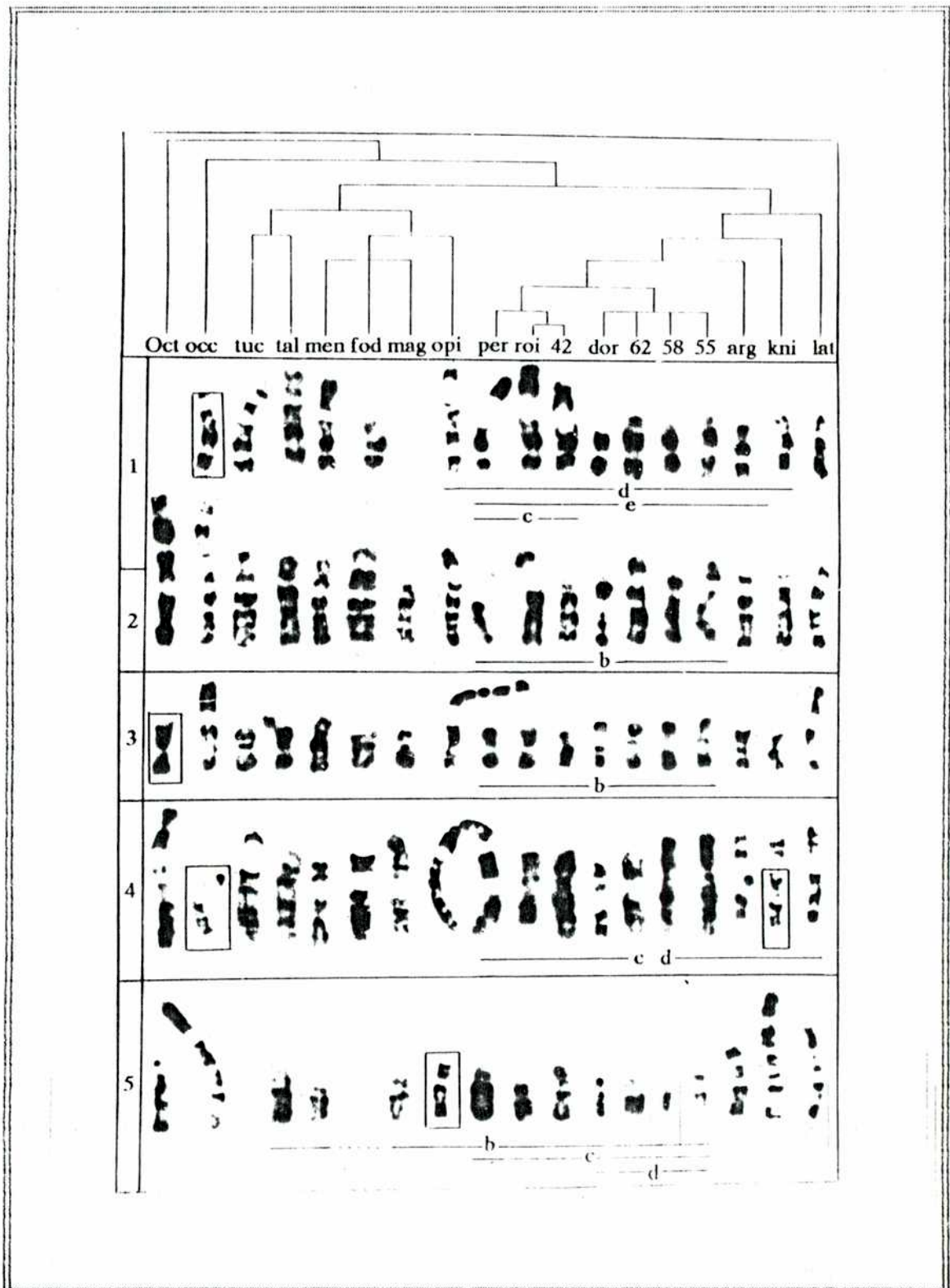
Las apomorfias del MTU 34 representan aquellas características cromosómicas que comparten todos los cariotipos de *Ctenomys* estudiados, y que los diferencian del de *Octodontomys*. Estas incluyen 6 ganancias de brazo, 2 fisiones céntricas, 1 inversión paracéntrica, 3 inversiones pericéntricas que generan brazo y 2 amplificaciones eucromáticas. Los cromosomas de *Octodontomys*

que no tuvieron ninguna homología con algún miembro de *Ctenomys* no fueron incluidos en la matriz de datos. Esto se debe a que no aportan información cladística, pero que serían clasificadas en todo caso como pérdidas de brazo. Deben tenerse en cuenta, entonces, también como diferencias con *Ctenomys*.

No detallaré los reordenamientos ocurridos en cada nodo, excepto aquellos del grupo de Corrientes. En este grupo hay varias poblaciones que no tienen asignados nombres específicos. El análisis morfológico de las mismas y el de las especies cercanas geográficamente mostró que el nivel de diferenciación de todas ellas, está por debajo del de poblaciones locales en otras especies de *Ctenomys* (ej. *talarum*, *tuconax* y *australis*). Más aún, no existe tendencia evidente de acercamiento morfológico de las poblaciones innominadas a alguna de las especies cuyo estatus taxonómico ya es conocido. Todos estos OTUs son perfectamente discernibles. Nuestro problema reside en saber que nivel taxonómico asignarles. Especies tales como *perrensi*, *dorbignyi* y *roigi* (Contreras & Contreras, 1984; Contreras, 1988), son diferenciables, pero como quedó establecido más arriba, son menos distantes morfológicamente entre sí, que lo que muchas poblaciones de la misma especie lo son entre ellas. El único hecho que apoya la asignación de estatus específico pleno a las mismas, es su diferenciación cromosómica. Pero este es un terreno en el que las predicciones teóricas no siempre son convincentes. Parece existir una gran variación en la predictibilidad de la infertilidad entre individuos con cariotipos diferentes. Cuando los mismos son muy dispares en número diploide y número fundamental, en general no surgen dudas sobre la efectividad de los cromosomas como barrera reproductiva (falta de pares homólogos, con los consiguientes problemas segregación meiótica). Pero cuando las diferencias son menores, hay que tener en cuenta la cantidad y tipo de reordenamientos que separan dos cariotipos.

Es de especial interés por lo dicho más arriba, realizar una descripción de las diferencias mínimas que separan los cariotipos de los OTUs de Corrientes, tomando como base la lista de apomorfías de la Tabla 3.3.3.VI. y el árbol consenso obtenido de las seis más parsimoniosos hallados. Este árbol consenso se muestra en la Figura 3.3.3.IV., donde también se ilustran algunos reordenamientos que justifican su topología.

Figura 3.3.3.IV. Árbol consenso y comparación de bandas G entre *Octodontomys gliroides* (oct), *C. occultus* (occ), *C. latro* (lat), *C. knightii* (knl), *C. argentinus* (arg), *C. sp.* de Saladas, Ctes. (55), *C. sp.* de Km. 14 Ruta Saladas-Mburucuyá, Ctes. (58), *C. sp.* de San Roque, Ctes. (62), *C. dorbignyi* (dor), *C. perrensi* (per), *C. roigi* (roi), *C. sp.* de Caa Cati, San Miguel, Ctes. (42), *C. talarum* (tal), *C. tuconax* (tuc), *C. opimus* (opi), *C. mendocinus* (men), *C. fodax* (fod) y *C. magellanicus* (mag). Los cromosomas encuadrados son brazos recortados pertenecientes a cromosomas bibrachiados. Los números a la izquierda indican el número de carácter y las letras entre líneas debajo de los cromosomas el reordenamiento.



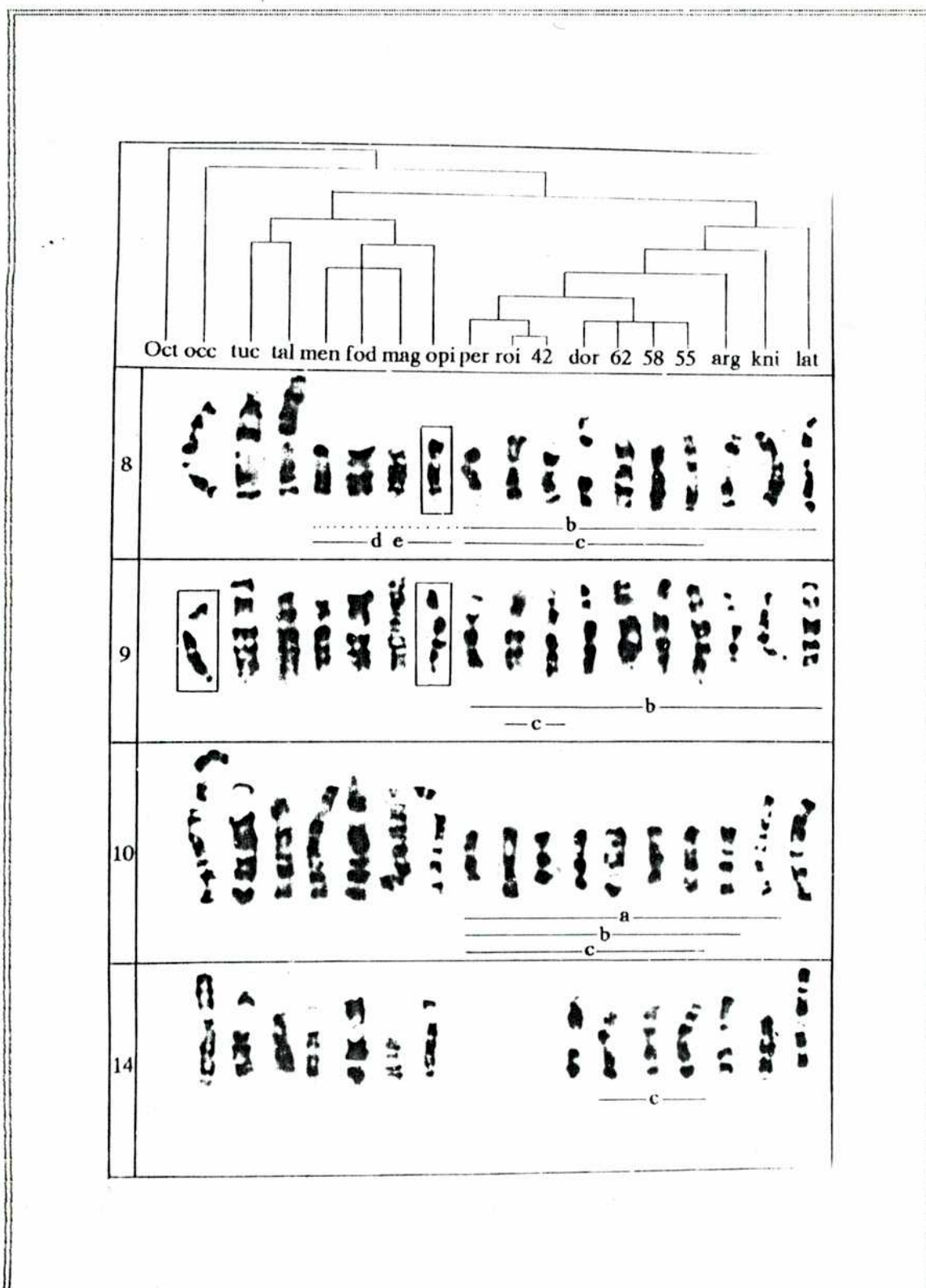


Figura 3.3.3.IV. Continuación.

El grupo de Corrientes está claramente separado en dos grupos. Un grupo lo forman *perrensi*, *roigi* y una posible especie aún no designada (P25), que poseen cariotipos de 50, 48 y 42 cromosomas respectivamente. El NF de los mismos es de 84 el primer OTU, y 80 los dos restantes.

El segundo grupo lo componen *dorbignyi* y tres presuntas especies innominadas (P27, P29 y P30), con números diploides de 70, 54-56, 58 y 62 respectivamente. Todos poseen NF=84. Este grupo posee topologías alternativas igualmente parsimoniosas, por lo que en el árbol consenso aparece como una tetratomía. Para simplificar el análisis, solo utilizaremos de estos cuatro OTUs sus apomorfías. La Tabla 3.3.3.VII. muestra un cuadro donde se expresan la cantidad y tipo de reordenamientos que diferencian los siete cariotipos. Se utilizan entonces, las apomorfías de los siete OTUs, y las apomorfías de los HTUs 21,22 y 23. Para el análisis de las diferencias entre pares de cariotipos hay reordenamientos que son equivalentes. Cuando los OTUs difieren en ganancias o pérdidas de brazos, ello implica que no comparten dichos brazos. Igualmente las fisiones y fusiones céntricas, son en general, cambios robertsonianos.

OTU	sp. (2n=42,P25)	<i>roigi</i>	<i>perrensi</i>	sp. (P27)	sp. (P29)	sp. (P30)	<i>dorbignyi</i>
sp. P25 2n=42		PI+CR (6) HM (2,17)	PI+CR (6) HM (2,9)	PI+CR (6) HM (2,9)	HM (2,9)	PI+CR (10) HM (2,9)	HM (9)
<i>roigi</i>	FH(1),CR(4) 6(1)		HM (9,17)	HM (9)	HM (9)	HM (9)	HM (9)
<i>perrensi</i>	FH(4),CR(4) 6(2)	FH(3),CR(4) 6(1)				PI+CR (10)	
sp. P27 2n=54-56	FH(19),CR(7) 6(2),9(1)	FH(18),CR(7) 6(1),9(1)	FH(15),CR(5) 6(2),9(1)			PI+CR (10)	
sp. P29 2n=56	FH(18),CR(6) 6(2)	FH(17),CR(6) 6(1)	FH(14),CR(4) 6(2)	FH(1),CR(1) 9(1)		PI+CR (10)	
sp. P30 2n=62	FH(19),CR(7) 6(4),10(1)	FH(18),CR(7) 6(3),10(1)	FH(15),CR(5) 6(4),10(1)	FH(2),CR(2) 6(2),9(1),10(1)	FH(1),CR(1) 6(2),10(1)		PI+CR (10)
<i>dorbignyi</i>	FH(20),CR(12) 6(9),9(1)	FH(19),CR(12) 6(8),9(1)	FH(16),CR(10) 6(9),9(1)	FH(3),CR(7) 6(7),9(2)	FH(2),CR(6) 6(7),9(1)	FH(3),CR(7) 6(9),9(1),10(1)	

Tabla 3.3.3.VII. Reordenamientos que diferencian los siete OTUs del grupo de Corrientes. Debajo de la diagonal se muestran los tipos de reordenamientos en que difiere cada par de OTUs y la cantidad de los mismos entre paréntesis. Arriba de la diagonal se detalla en algunos casos, algún aspecto importante de los reordenamientos, aclarándose entre corchetes el correspondiente número de carácter de la Tabla 3.3.3.I., en la escala 1-46. FH= falta de homología entre brazos (equivale a los reordenamientos 1 y 2); CR= cambio robertsonianos (equivale a los reordenamientos 3 y 4); PI= inversión pericéntrica (equivale al reordenamiento 6); HM= homología monobraquial en CR. Los códigos 9 y 10 corresponden, al igual que en la Tabla 3.3.3.I., a duplicación e inversión pericéntrica II (no genera brazo nuevo).

Una de los OTUs innominados, la P25 de Curuzu Laurel, difiere de la especie más emparentada, *C. roigi*, en que no comparten 1 brazo cromosómico, en una inversión pericéntrica y cuatro cambios robertsonianos, dos de ellos con homología monobraquial. Además, la inversión pericéntrica ocurre en un brazo involucrado en un cambio robertsoniano. Por su parte *perrensi* difiere de sp. P25, en la falta de homología de 4 brazos, cuatro cambios robertsonianos (dos

con homología monobraquial) y dos inversiones pericéntricas, una de las cuales es la misma mencionada antes, involucrada en el mismo brazo que interviene en un cambio robertsoniano. A su vez, *perrensi* y *roigi* difieren en la falta de homología de tres brazos, cuatro cambios robertsonianos (dos con homología monobraquial), y una inversión pericéntrica.

Otros dos OTUs que evidencian estar muy relacionados, *sp.* P27 y *sp.* P29, difieren entre sí por un brazo no homologable, un cambio robertsoniano y una aparente duplicación de todo un brazo en P27 (el patrón de bandas G en el carácter G así lo sugiere; de no ser duplicación, diferirían en todo caso, en un brazo cromosómico de considerable tamaño). Los cariomorfos de $2n=56$, similar al de P27 y de $2n=58$, similar al de P29, fueron detectados en la misma localidad, P28, pero no fueron hallados ejemplares $2n=57$. Obviamente, esto puede adjudicarse al bajo tamaño muestral, pero también es cierto que en P27 se capturaron solo 3 ejemplares, y con números diploides de 54, 55 y 56 respectivamente. En P29, los dos ejemplares hallados tenían el mismo cariotipo $2n=58$.

El resto de las diferencias entre OTUs no serán detalladas (ver las mismas en Tabla 3.3.3.VII.), pero destacaremos los aspectos que pueden ser más importantes. En primer lugar, si bien todas las especies difieren en parte en cambios robertsonianos, estos no son, ni los únicos, como se esperaría de la constancia del NF-84 (salvo en dos OTUs), ni los reordenamientos más importantes. La falta de homología de muchos brazos permite inferir la existencia de reordenamientos no detectados, más allá de los evidenciables por bandas G. Junto con los cambios robertsonianos (con homologías monobraquiales en algunos casos) y los brazos no homólogos, las inversiones pericéntricas son el tercer tipo de cambio cromosómico en importancia.

Existen dos temas centrales en relación a las diferencias y a los cambios cromosómicos entre poblaciones. Por un lado se discute en qué medida, las diferencias cromosómicas entre dos OTUs producen aislamiento reproductivo (ver más abajo). Por otro, se discute, suponiendo que los cambios cromosómicos producen aislamiento reproductivo postcigótico una vez fijados, si los mismos pueden ser la causa primaria de ese aislamiento, es decir, de especiación (ver sección 1.1.1. de Introducción).

Respecto al primer tema, se sabe que las inversiones pericéntricas pueden ser la causa de alteraciones cromosómicas durante la meiosis, en los individuos heterocigotas para el reordenamiento, como la producción de fragmentos di- y acéntricos (ver resumen en Kaiser, 1988). Se sabe también que los reordenamientos robertsonianos, especialmente cuando producen homologías monobraquiales, disminuyen la fertilidad del híbrido (ver resumen en Redi & Capanna, 1988 y también en sección 1.1.1. de Introducción). Pero existe también evidencia de que (a excepción de los casos de homología monobraquial)

estos mismos tipos de reordenamientos son neutros o casi neutros en ciertas poblaciones naturales (Greenbaum & Reed, 1984; Nachman & Myers, 1989). Pero estos últimos casos, se refieren siempre a reordenamientos que se encuentran como polimorfismos poblacionales, y que se han mantenido por muchas generaciones. King (1987), advierte con razón que cuando se consideren cuestiones de especiación y el papel de los cromosomas en el dicho proceso, solo deben tenerse en cuenta aquellos rearrreglos que están en estado **monomórfico**, y que tengan un efecto heterótico negativo demostrable. En las OTUs de Corrientes, el único tipo de polimorfismo detectado, fue un cambio robertsoniano en P27, y otro probable en P33. Debemos entonces hacer una acotación importante. Actualmente, está claro que no necesariamente un cambio cromosómico (inversión pericéntrica, cambio robertsoniano, etc.) implica alteraciones que modifiquen la fertilidad de los portadores heterocigotas. Pero lo contrario tampoco es cierto, es decir, los reordenamientos cromosómicos pueden producir efectivamente alteraciones deletéreas en los heterocigotas. Puede inferirse, que un reordenamiento particular que no altere la fertilidad (por el lugar de ruptura o de translocación, o por cualquier otra causa), pueda mantenerse, al menos, como polimorfismo transitorio. Por otro lado, si un reordenamiento altera negativamente la adecuación darwiniana del portador, su probabilidad de permanencia en la población, se verá disminuida (pero no será necesariamente igual a cero). Podemos entonces esperar que, en la escala de los tiempos históricos, se detecten con más facilidad ejemplos del primer caso.

Por el contrario, se puede inferir del número de especies diferenciadas cromosómicamente que *existen*, que la detección de reordenamientos del tipo alternativo, que puedan ser causa de aislamiento reproductivo, y por ende de especiación, resulta muchos más improbable.

Lo recién expuesto nos introduce al segundo tema, más arriba mencionado, la especiación. Se ha argumentado reiteradamente (ver citas en la sección 1.1.1 de Introducción) sobre la improbabilidad de la fijación de reordenamientos capaces de inducir aislamiento reproductivo, y se ha sinonimizado probabilidad baja con imposibilidad. Solo basta que a lo largo del tiempo, en la escala evolutiva, en algún momento, en *alguna* de las muchas poblaciones que puede tener una especie, se fijen este tipo de cambios. Si esto ocurriera frecuentemente, seguramente muchas más especies poblarían actualmente la tierra.

¿Podemos afirmar que los siete OTUs de Corrientes pertenecen a especies diferentes basándonos en sus cariotipos? Dicho de otro modo, ¿los reordenamientos cromosómicos que diferencian los siete OTUs, son suficientes para actuar como barreras reproductivas entre los mismos? Nótese, que no se está hablando de especiación, sino simplemente de aislamiento reproductivo. La

respuesta más probable es sí. En todos las comparaciones entre estos siete OTUs existen brazos no compartidos, los que implican cambios, quizá complejos, no detectados. En los casos en que los brazos compartidos no sean muchos, existen cambios tales como duplicaciones de brazos enteros u homologías monobraquiales. Además son constantes los cambios robertsonianos (hasta 12) y las inversiones pericéntricas (salvo un caso). Pero un hecho significativo es que, en ninguno de estos OTUs, estos reordenamientos existen en forma de polimorfismo (recordemos que el único existente, ya mencionado, es un reordenamiento robertsoniano, cuyos brazos involucrados, no aparecen diferenciando OTUs). De ser selectivamente neutros, deberíamos encontrar a alguno de ellos en forma de polimorfismo, hecho que no ocurre, a pesar de ser la cantidad de reordenamientos hallada, muy elevada.

Es plausible, entonces, asignar a todos los OTUs de Corrientes estudiados cromosómicamente con bandas G, estatus de especies plenas. Quizá, la única excepción, serían las sp. P27 y P29, cuyo grado de diferenciación no es grande, a pesar de diferir en un brazo no homologable, un cambio robertsoniano y una duplicación, y además fueron encontrados en simpatria.

Una de las preguntas que surgen al analizar globalmente la gran variación en los números diploides y fundamentales en *Ctenomys* (ver Tabla 3.3.1.1.) es la que se refiere a los tipos de reordenamientos que hicieron posible las transformaciones hacia tan diferentes cariotipos. El análisis cladístico realizado nos permitió inferir polaridades no conocidas de algunos reordenamientos (ver sección 2.2.3.3.2.), y por ende discernir, por ejemplo, entre fisión o fusión céntrica.

La Figura 3.3.3.V. muestra las frecuencias absolutas de los reordenamientos encontrados. La misma muestra una dominancia de las inversiones pericéntricas I, que generan brazos nuevos. Las mismas equivalen al 26.37% de todos los rearrreglos detectados. Otro de los "rearrreglos", las ganancias de brazos, equivalen al 21.43%. Consignamos entre comillas a este tipo de rearrreglo debido a que, dada la topología obtenida, los brazos involucrados no derivan mediante un rearrreglo típico, de un brazo cromosómico ya existente. Estos dos tipos de reordenamientos deben explicar el aumento (de acuerdo a la polaridad inferida del cladograma, Figuras 3.3.3.III. y 3.3.3.IV.) en el número de brazos cromosómicos ocurrido en *Ctenomys*. De la segunda cantidad, podría restarse el 6.04% de la clase "pérdida de brazo" (esto es, parte de los brazos que se consideran "ganados" serían aquellos [6.04%] que se consideran "perdidos", definidos así por no encontrar un segmento cromosómico homólogo en un OTU que deriva de un ancestro hipotético [AH] que sí lo tenía), quedando un total neto del 15.39%.

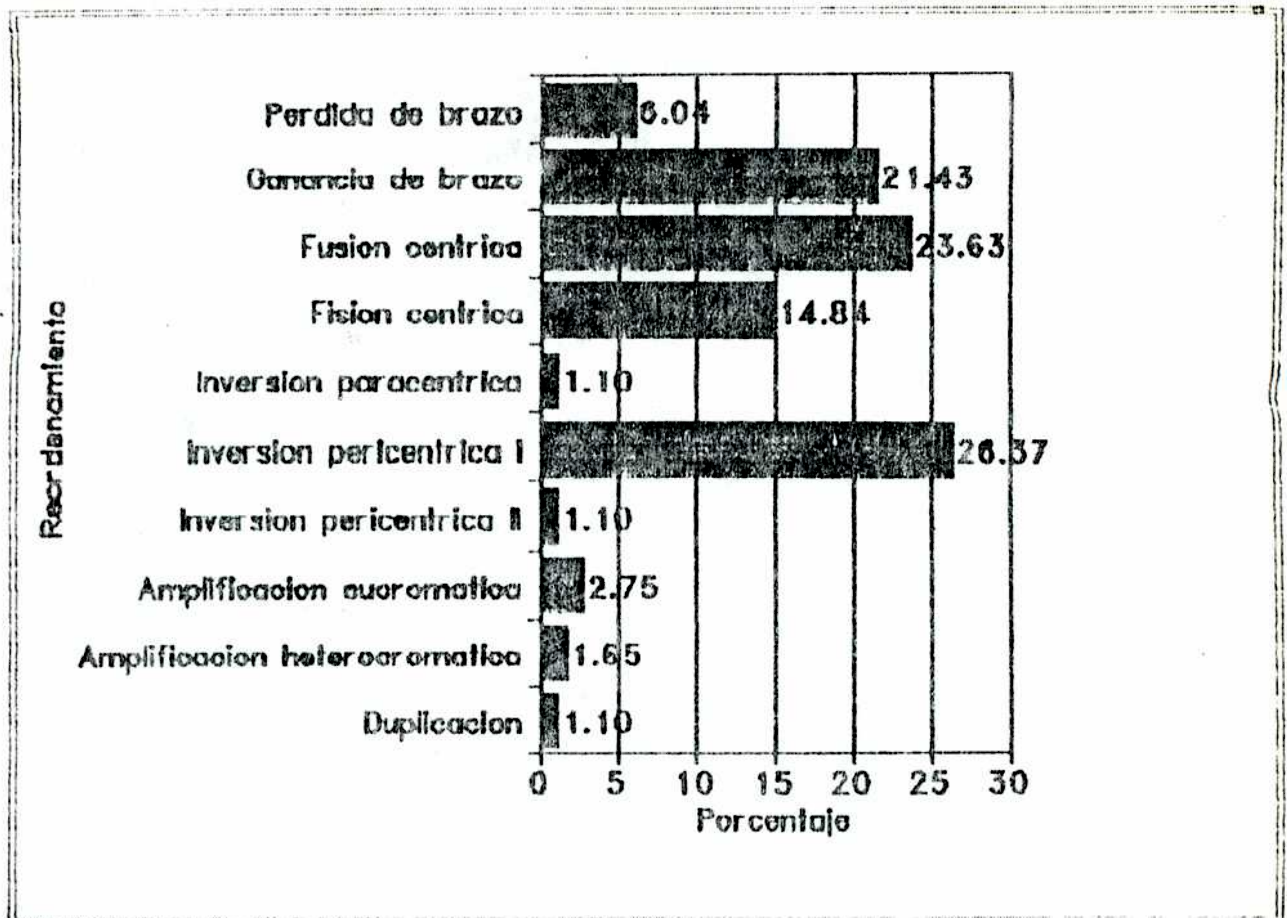


Figura 3.3.3.V. Frecuencias de los diferentes reordenamientos cromosómicos detectados mediante bandas G en la evolución de 17 cariotipos de *Ctenomys*, tomando como extragrupo a *Octodontomys gliroides*. Ver Tabla 3.3.3.I.

Un hecho llamativo es el NF máximo alcanzado por las especies de *Ctenomys*. Si bien el máximo absoluto lo alcanza *talarum* (86), por debajo de este hay muchas especies que poseen NF=84 (véase Tabla 3.3.1.I. y Figuras 3.3.2.I y 3.3.2.III.). Este número es casi constante en el grupo B23 de la Figura 3.3.2.1. Si observamos los cladogramas de las Figuras 3.3.3.II. y 3.3.3.IV. y la Tabla 3.3.3.I. de reordenamientos, vemos que el mismo NF=84 es alcanzado por reordenamientos diferentes en al menos 5 especies (*perrensi*, spp. P27, P29 y P30, y *dorbignyi*) cuyos $2n$ varían de 50 a 70. En la sección 3.3.2. se vió que en, principio, la explicación más lógica para las diferencias en el número diploide, a igual NF, son cambios robertsonianos. Sin embargo, analizando las bandas G, vemos que la explicación de esta igualdad en el NF, no es tan simple. Algunos de las diferencias en el número diploide se deben a cambios robertsonianos, pero la mayoría no. ¿A que se debe entonces esta convergencia tan notable? Quizá la explicación deba buscarse en el nivel molecular (Yates & Moore, 1990). Se sabe actualmente que los telómeros de vertebrados poseen una secuencia nucleotídica particular, (TTAGGG) $_n$, altamente

conservada (Meyne *et al.*, 1989) y que esta secuencia no siempre se encuentra en los telómeros, sino que a veces está incluida en diversas partes de los cromosomas, incluidos los centrómeros (Moyzis, 1988; Meyne *et al.*, 1990). El número máximo de copias por genoma de esta secuencia limita el número máximo de telómeros, y por ende de brazos cromosómicos. Esta cifra sería para el grupo mencionado de 84. Para el resto de las especies existen dos posibles alternativas, que posean también 84 secuencias de telómeros, pero por razones históricas o de selección permanezcan incluidas en partes no terminales de los brazos, o quizá, que las diferencias en las tasas de aumentos de brazos cromosómicos, estén correlacionadas con una cantidad variable de secuencias. A más secuencias ganadas durante la evolución de un grupo, mayor su chance de aumentar el NF.

Por último, volviendo a la Figura 3.3.3.V., aparece un porcentaje algo contradictorio. Existe un 23.63% de fusiones céntricas contra un 14.84% de fisiones. Sin embargo, la tendencia es hacia el aumento del $2n$, además del NF. Este hecho se explica de la siguiente manera. En muchos casos, un mismo brazo cromosómico aparece unido a otros varios diferentes brazos. Por lo tanto, solo necesitamos para explicar esto acudir a una sola fisión céntrica (suponiendo que uno de los estados fusionados es primitivo), y tantas fusiones como el número de brazos diferentes unidos al brazo en cuestión (menos uno, suponiendo también, que uno de los estados fusionados era primitivo).

El resto de los reordenamientos no ha tenido gran importancia en la modificación del cariotipo, de forma global, en el género *Ctenomys*.

3.3.3.2.2. Análisis basado en compatibilidad (Clique).

Para realizar el análisis de compatibilidad, y debido a limitaciones del programa utilizado, los estados de caracteres que se indicaban como desconocidos, fueron reemplazados por el estado ausente. Esto si bien es algo arbitrario, es más lógico que la alternativa de transformarlos a presencias. Esto es así porque los caracteres que tuvieron el estado desconocido para algún OTU, son reordenamientos, que los OTUs en cuestión actualmente efectivamente no poseen. Esto es debido a la ausencia del brazo o cromosoma involucrado en esos OTUs. Por eso, se deja la libertad de suponer que el OTU tuvo en algún momento tanto el brazo o cromosoma, como el reordenamiento.

La Figura 3.3.3.VI. muestra las dos topologías obtenidas, las que se diferencian sólo por las diferentes relaciones encontradas, por los dos más grandes grupos de caracteres compatibles, en el grupo de especies de espermio asimétrico: *mendocinus* y *magellanicus*, más *fodax*, que probablemente posea este tipo de espermio (ver sección 3.3.2.). En cada nodo de las topologías de la Figura 3.3.3.VI. se muestran la cantidad de caracteres compatibles que sustentan cada grupo.

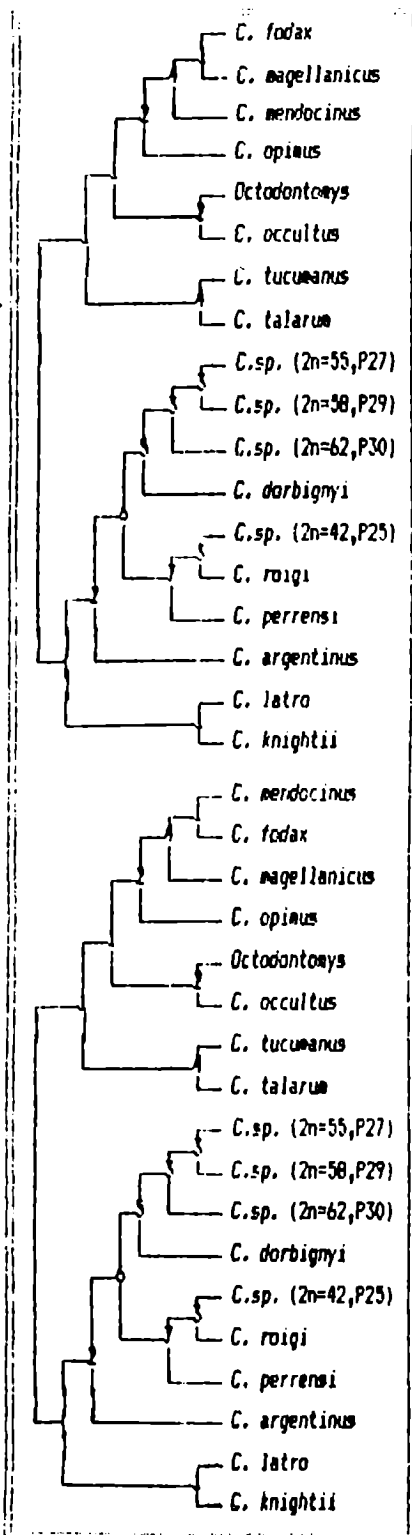


Figura 3.3.3.VI. Topologías basadas en los dos grupos de caracteres compatibles encontrados. En cada nodo se indica la cantidad de caracteres compatibles que apoya cada nodo.

Teniendo en cuenta que aquí no se muestra una raíz para los árboles obtenidos, podemos afirmar que las topologías son similares a las obtenidas con el método de máxima parsimonia, obteniéndose los mismos grupos. Una diferencia se observa en relación a *knightii* y *latro*, que aquí forman un clado hermano a *argentinus* y el grupo de Corrientes, cuyos OTUs en el análisis de parsimonia no tuvieron un ancestro común no compartido por estos últimos. Otra diferencia, pero no de topología, ocurre en el subgrupo de Corrientes formado por *dorbigny*, y las tres *sp.* (P27, P29 y P30). El análisis de parsimonia de PAUP no resolvió las relaciones entre los miembros de este grupo produciendo en el árbol consenso una tetratomía. Aquí, ambos grupos de caracteres compatibles, correspondientes a los dos árboles de la Figura 3.3.3.VI., muestran la misma topología para los OTUs mencionados, la que coincide con la obtenida para este subgrupo en el análisis fenético de la sección 3.3.3.1. y en parte con la obtenida con el programa BOOT.

Como se dijo al principio, y al igual que en el análisis de parsimonia, tampoco se resuelve la tricotomía *mendocinus-magellanicus-fodax*.

3.4. Resultados de espermios

Los resultados acerca de la morfología espermática se muestran en la sección 3.3.2. de cromosomas, en la Figura 3.3.2.1., conjuntamente con la información existente de morfología espermática de todas el género.

Fueron confirmadas las morfologías espermáticas de *opimus*, *talarum*, *magellanicus*, *dorbignyi* y *perrensi*. Por el contrario, se observó una morfología diferente a la originalmente descrita para *latro* y *tucumanus*, ambas especies estudiadas en esta tesis, a partir de ejemplares de las respectivas localidades típicas. Los primeros en informar la morfología espermática de las mismas fueron Feito & Gallardo (1982), los que las describen como asimétricas. Los ejemplares estudiados para esta tesis tuvieron todos espermio de tipo simétrico. Más aún, esos autores citan como fuente de información del tipo de espermio de estas dos especies a una comunicación personal de O.A. Reig, quien nunca estudio los espermios de estas especies (O.A. Reig, comunicación personal). Es indudable entonces que estas dos especies poseen exclusivamente espermios de tipo simétrico.

Se informan de manera original los espermios de *occultus*, *knightii*, *tuconax* y las sp. P25, P27, P28, P29 y P33.

También se estudió el espermio de *Octodontomys gliroides*, el resultó de tipo simétrico. Este tipo de espermio fue hallado en otros caviomorfos, incluyendo otros Octodontidae (Berrios *et al.*, 1978; Herrera *et al.*, 1978).

DISCUSSION

4. DISCUSION

4.1. Filogenia de *Ctenomys*.

Las diversas aproximaciones que hemos utilizado en esta tesis con el objeto de estimar las relaciones de parentesco entre las especies de *Ctenomys*, tuvieron rasgos en común y diferencias específicas. Es indudable que muchas de las diferencias surgieron, no solo por los distintos algoritmos empleados, sino además, por haber utilizado distintos OTUs en las diferentes aproximaciones. Esto se debió, por supuesto, a la disponibilidad de los distintos tipos de datos para los diferentes OTUs, lo que implica una seria dificultad al intentar compatibilizar los distintos resultados con el objeto de armar una filogenia única para el género. Por un lado, el análisis de parsimonia basado en datos discretos que, a mi parecer (ver Introducción, sección 1.1.2) estima con mayor fiabilidad la topología del árbol, fue utilizado sobre un número bajo de especies. Es necesario reconocer que el criterio de parsimonia es un criterio metodológico general (Crisci, 1982), es decir no está basado en algún supuesto particular sobre el tipo de evolución de *Ctenomys*. Este análisis fue realizado sobre los datos de cromosomas bandeados y sobre los datos electroforéticos. Estos últimos aportaron muy poca información cladística para la reconstrucción de la filogenia global de los OTUs involucrados en ese análisis. Los primeros, por otra parte, se comportaron razonablemente bien en la discriminación entre OTUs y aportaron excelente información cladística. El árbol obtenido utilizando el programa PAUP con los cromosomas bandeados (Figura 3.3.3.IV.) puede servir de base de una topología general, si suponemos que el mismo es el que mejor refleja la topología verdadera respecto de los OTUs involucrados.

Una forma de unir la información en un solo árbol, es incorporar al obtenido por los cromosomas bandeados los OTUs no utilizados en ese tipo de análisis, en el clado que incluye alguna especie con la que apareció relacionada en el resto de los análisis en mayor número de veces, o en el clado indicado por algún otro dato relevante. También es posible utilizar información biogeográfica para dar apoyo a alguna relación filogenética más que a otras.

Resulta obvio que el cladograma que se obtuvo sobre la base de los cromosomas bandeados (Figura 3.3.3.IV.) no necesariamente es correcto. Por lo tanto, cuando existan incompatibilidades con un gran número de árboles basados en otros datos y/o algoritmos, es posible realizar modificaciones a la topología del mismo, mientras esos cambios no alteren radicalmente las relaciones de parentesco globales obtenidas, ya que partimos de la base que ellas son las más adecuadas.

La Figura 4.1. muestra una posible representación de la filogenia de todas las especies tratadas en esta tesis. Las líneas gruesas representan el esqueleto básico de la topología obtenida en el análisis cladístico basado en cromosomas con bandas G (Figura 3.3.3.IV.). Se agregan aquí aquellas especies

homocariotípicas de *mendocinus*: *australis* y *porteousi*. Las líneas finas representan las filadas y especies agregadas.

Comenzaremos la descripción y justificación de esta filogenia partiendo de *Octodontomys* (1). Para una más rápida identificación de las especies, se utilizará aparte del nombre, el número que aparece a la izquierda de cada OTU en la Figura 4.1. El análisis cladístico basado en bandas G (Figura 3.3.3.IV.) indicó que *occultus* (2) es la especie más relacionada con el extragrupo. En el análisis basado en los cromosomas sin bandear (Figura 3.3.2.I.), esta especie era también una de las candidatas por encontrarse en el grupo considerado más primitivo. Este grupo incluía también otras siete especies. Dos de ellas, *opimus* (41) y *fodax* (38), también fueron estudiadas cladísticamente mediante sus bandas G y ambas resultaron más derivadas (Figura 3.3.3.IV.). Junto a *opimus* (41), de espermio simétrico, aparecieron en el análisis con cromosomas normales (Figura 3.3.2.I.), *fulvus* (40) y *robustus* (39),

- 1 *Octodontomys*
- 2 *occultus*
- 3 *steinbachi*
- 4 *beliviensis*
- 5 *goodfellowi*
- 6 *conoveri*
- 7 *latro*
- 8 *argentinus*
- 9 *knightii*
- 10 *tucunay*
- 11 sp. P30
- 12 sp. P29
- 13 sp. P28
- 14 sp. P27
- 15 *pearsoni* (2n=56)
- 16 *pearsoni* (2n=64)
- 17 *pearsoni* (2n=70)
- 18 *darbignyi*
- 19 *torquatus*
- 20 *reigi*
- 21 sp. P25
- 22 *perrensi*
- 23 sp. P33
- 24 *tucumanus*
- 25 *talarum*
- 26 *bonettoi*
- 27 *yalandae*
- 28 *riogregensis?* P26
- 29 *riogregensis?* P32
- 30 *riogregensis?* (2n=48)
- 31 *riogregensis*
- 32 *mendocinus*
- 33 *porteousi*
- 34 *australis*
- 35 *magellanicus*
- 36 *maulinus*
- 37 sp. (Longinay)
- 38 *fodax*
- 39 *robustus*
- 40 *fulvus*
- 41 *opimus*

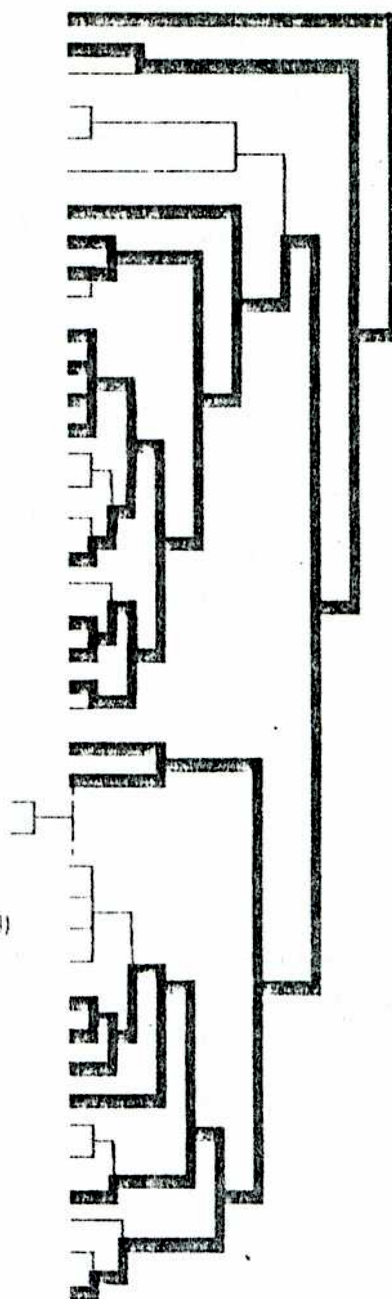


Figura 4.1. Filogenia de *Octodontomys* basada en la interpretación conjunta de todos los datos analizados, tomando como base la topología obtenida con PAUP utilizando datos de cromosomas con bandas G. Esta topología base, se destaca en la figura con un trazo más grueso de línea. Las líneas más finas corresponden a los OTUs agregados sobre la base de otro tipo de información. Para detalles de la fundamentación ver en el texto.

que también poseen el mismo tipo de espermio. Por esta razón se las agrupa en una misma filada, más relacionadas *opimus* (41) y *fulvus* (40), por presentar los mismos valores de las cuatro variables utilizadas en el análisis filogenético

con cromosomas normales (Figura 3.3.2.I.). Por su parte, junto a *latax*, por pertenecer a también a el grupo primitivo en el análisis basados en cromosomas normales (Figura 3.3.2.I.) y por poseer espermio asimétrico, se ubican *maulinus* (36) y *sp.* (37, Lenquimay, Chile).

La especie restante, y la más diferenciada en el grupo primitivo mencionado, *steinbachi* (3), con su cariotipo de 10 cromosomas, es posible que esté tanto o más relacionada al antecesor común como *occultus* (2), o por el contrario, que sea una forma derivada (extrema) más. Provisoriamente, y con el único fundamento de pertenecer al mencionado grupo primitivo, se la ubica junto a *occultus* (2).

Tres especies, *goodfellowi* (5), *conoveri* (6) y *boliviensis* (4), se mostraron relacionadas en un mismo grupo, en el análisis de cromosomas normales (Figura 3.3.2.I.), a otras tres especies incluídas en el análisis con bandas (Figura 3.3.3.IV.): *latro* (7), *argentinus* (8) y *knightii* (9). En el primero de los análisis, *conoveri* (6) y *goodfellowi* (5), por un lado, y *argentinus* (6) y *latro* (7), por otro, formaron un subgrupo distinguible del formado por *knightii* (9), *boliviensis* (4), *tucumanus* (24) y *magellanicus* (35). Estas dos últimas especies quedaron incluídas en clados diferentes al resto en el análisis con bandas, por lo que se respetará dicha topología. Por razones geográficas, parece más razonable considerar como un grupo hermano a los formados por *conoveri* (6), *goodfellowi* (5) y *boliviensis* (4), por un lado (todos habitan la región más norteña de la distribución del género) y *latro* (7), *knightii* (9) y *argentinus* (8) por otro (las dos primeras habitan en la Provincia de Tucumán, y la tercera en la misma latitud aproximadamente, en la Provincia del Chaco). En el primer grupo, se consideran a *conoveri* (6) y *goodfellowi* (5) más emparentados sobre la base del fenograma de cromosomas sin bandas (Figura 3.3.2.I.). Una modificación a la topología del segundo grupo hermano recién discutido es la existente entre *knightii* (9) y *argentinus* (8). En análisis con bandas G (Figura 3.3.3.IV.), se ve que de *latro* (7) deriva primero *knightii* (9) y luego se desprende *argentinus* (8). Este último queda como grupo hermano del formado con las especies de Corrientes. Pero en varios análisis morfológicos, es *knightii* (9) el que más cercano aparece al grupo de Corrientes. Además, en el análisis también basado en cromosomas bandeados, pero utilizando el programa BOOT (Figura 3.3.3.III.), *latro* (7), *argentinus* (8) y *knightii* (9), aparecen como el grupo hermano del de Corrientes. Por lo tanto, es razonable no volcarse por ninguna de las dos alternativas, y dejar a ambas especies como pertenecientes al grupo hermano de las especies de Corrientes. A estas dos se les une *tuconax* (10), que en el análisis electroforético formó un clado con *knightii* (9), y en la mayoría de los análisis morfológicos resultaron ambas especies muy relacionadas (Figuras 3.1.1.I., 3.1.1.IIIa., 3.1.1.V., 3.1.1.VII., 3.1.1.VIII.). En algunos análisis estuvo más relacionado *tuconax* (10) con *opimus* (41), pero la evidencia parece

favorecer con más fuerza la primera relación mencionada. Los ejemplares capturados de *knightii* (9) provienen de una localidad cercana en pocos kilómetros de aquella donde se obtuvieron algunos ejemplares de *tuconax* (10). Una de las poblaciones analizadas del denominado grupo "*pearsoni*", tiene un cariotipo prácticamente igual al de *dorbignyi* (18) cuando se los compara con tinción normal (Figura 3.3.2.1.), y es muy probable que no difieran demasiado en la secuencia de bandas G. En el análisis filogenético basado en cromosomas sin bandear (Figura 3.3.2.1.) aparecen, por supuesto, juntas. Como se vió al analizar comparativamente las bandas G del grupo de Corrientes, el cariotipo de *dorbignyi* (18) difícilmente pueda ser considerado como el más primitivo de ese grupo (Figura 3.3.3.IV.). Pero quedó abierta la posibilidad de que el mismo (o mas bien, el de *pearsoni* (17) de $2n=70$) si lo sea para el complejo "*pearsoni*", y que los cariotipos de sus diferentes miembros deriven por fusiones céntricas (principalmente). Esta hipótesis se refleja en la anexión de los tres OTUs del complejo "*pearsoni*" (15, 16 y 17) dentro del conjunto de especies que viven en Corrientes. *C. pearsoni* (17) de $2n=70$ se ubica como grupo hermano de *dorbignyi* (18), y los otros dos OTUs (15 y 16), como grupo hermano de los dos OTUs de $2n=70$. En el otro subgrupo de especies de Corrientes, formado por *perrensi* (22), sp. P25 de Caruzá Laurel (21) y *roigi* (20) sobre la base de los cromosomas bandeados, se agrega *torquatus* (19) al subgrupo *roigi*-sp. (P25). Esto se fundamenta en el análisis basado sobre cromosomas normales (Figura 3.3.2.1.), ya que en el mismo estos tres OTUs forman un grupo bien diferenciado. Asimismo, se agrega sp. P33 (23) de Yatayti-Calle de Corrientes, como OTU hermano de *perrensi* (22), ya que ambos OTUs aparecieron juntos en la mayoría de los análisis morfológicos (Figuras 3.1.1.III-VIII., 3.1.2.1-II).

En análisis de cromosomas normales (Figura 3.3.2.I.), tres OTUs (28 [P26], 29 [P32], 30) cuyo estatus taxonómico se desconoce, se unieron en un mismo grupo a *riogregensis* (31), por lo que se asigna provisoriamente a la misma. Se las ubica como grupo hermano del compuesto por *mendocinus* y *porteousi* como aparece en el fenograma de la Figura 3.3.2.I. Respecto a este fenograma, se excluye *yolandae* (27) por razones que se explican más abajo. Se mantiene la topología que considera al grupo *porteousi*-*mendocinus* (32-33) como hermano de *australis* (34), no solo por la topología de la Figura 3.3.2.1., sino también porque *porteousi*-*mendocinus* (32-33) comparten un polimorfismo cromosómico no compartido por *australis* (34), descrito por Massarini *et al.* (en prensa).

El aspecto más problemático de la filogenia es la ubicación de dos especies, *yolandae* (27) y *bonettoii* (26). En el análisis de cromosomas sin bandear (Figura 3.3.2.1.), *yolandae* (27) se ubica incluida en el grupo de especies con espermio asimétrico (al igual que *talarum*), caracterizados por poseer una extensión nuclear caudal. De hecho, esta especie posee un tipo de espermio, que en principio pertenece a esta clase, pero difiere en poseer dos

extensiones caudales. Pero en todos los análisis morfológicos, tanto *yolandae* (27) como *bonettoi* (26), se ubican con *talarum* (25), que posee espermio simétrico, y en conjunto se ubican (morfológicamente) con las especies más plesiomórficas (*occultus* [2], *latro* [7], *argentinus* [8] y *tucumanus* [24]). Desconocemos el tipo de espermio de *bonettoi* (26), pero por la estrecha afinidad demostrada con *yolandae* (27) es muy probable que sea el mismo (quizás, además, debería analizarse con más detalle la distinción específica de ambas). Si bien la principal distribución geográfica actual de *talarum* está confinada a la región Atlántica de la Pcia. de Buenos Aires, existen manchones aislados en el centro y en el oeste de esta provincia. Más aún, se han detectado poblaciones pertenecientes probablemente a *talarum* en La Pampa y Córdoba (Sergio Tiranti, com. pers.). Una hipótesis probable del origen de *yolandae-bonettoi*, es que derive efectivamente de un antecesor común con *talarum*, y el tipo de espermio que posee no esté relacionado con el denominado clásicamente asimétrico, sino que haya surgido de manera independiente del mismo. Otra hipótesis posible del origen de *yolandae-bonettoi* es que ambas especies deriven de procesos de hibridización ocurridos entre alguna población de *talarum* (o de una especie antecesora de la misma) y alguna población de una especie de espermio asimétrico. La especie más probable, por su ubicación geográfica, sería *riohugrensis* (28-31). El tipo de espermio que posee *yolandae* (27) probablemente se deba a una alteración en el programa de desarrollo normal del tipo asimétrico, causada por la interacción con genes que producen el tipo alternativo.

4.2. Especiación en *Ctenomys*.

De acuerdo a lo expresado en la Sección 1.1.1. de la Introducción, un grupo de especies que sea adecuado para el estudio de los mecanismos que derivaron en el aislamiento reproductivo de las mismas, es aquel en que las posibles causas (conocidas) de dicho aislamiento sean distinguibles. La gran diversidad cariotípica de *Ctenomys*, ha influido para que se adjudicara un papel especiogénico importante a los cromosomas (Reig & Kiblicky, 1969; Reig, 1989; Reig *et al.*, 1990). Sobre la base de los resultados obtenidos en esta tesis, podemos distinguir solo dos grupos donde es posible discutir sobre los mecanismos de especiación. El primer grupo lo conforman el grupo de especies de Corrientes, en donde los cromosomas aparecen como los únicos responsables del aislamiento reproductivo. El segundo grupo lo conforman aquellas especies que no son distinguibles cromosómicamente, *australis*, *porteousi* y *mendocinus*, que se diferencian notablemente en sus características morfológicas, principalmente *australis*.

4.2.1. Especiación cromosómica.

Como se ha señalado varias veces, los modelos y la posibilidad misma de especiación cromosómica, han sido apoyados y refutados en muchos trabajos. Como se vió en Introducción (sección 1.1.1.) y en los Resultados de cromosomas (sección 3.3.3.2.1.), aspectos teóricos, que se refieren a la dificultad de fijamiento de los reordenamientos cromosómicos con heterosis negativa, restringen la posibilidad de especiación cromosómica a grupos en los que se den condiciones tales como tamaño poblacional efectivo muy bajo, alta endocruza o poblaciones altamente estructuradas. También se vió que estas condiciones pueden ser menos restrictivas si existe algún mecanismo, más probablemente en el nivel molecular, que haga que las mismas mutaciones cromosómicas se originen en más de una oportunidad, que es lo supuesto en la teoría genético-poblacional en la que se basan las restricciones teóricas. Antes de evaluar los datos obtenidos en esta tesis, respecto al tema que estamos tratando, haremos una revisión de algunos casos en que, con los datos disponibles de los grupos de organismos correspondientes a los mismos, se apoya o refuta el papel especiogénico de los cromosomas.

4.2.1.1. Ejemplos de la literatura.

4.2.1.1.1. Arvicolidae.

Los arvicolinos (Mammalia, Rodentia, Muridae) presentan una diversidad cromosómica muy grande, con números diploide de 17 a 64 (Reig, 1989). Ford (1937), estudió las bandas G de 22 especies de arvicolinos pertenecientes a 3 géneros. En ese trabajo, la discusión de los mecanismos de especiación involucrados, no tuvo en cuenta más que aspectos biogeográficos. Más aún, este autor solo discute un modelo de especiación cromosómica, el estasisipátrico (White, 1968). Como conclusión, establece que en los arvicolinos estudiados en ese trabajo (y en general, en la Familia Arvicolidae), el principal mecanismo especiogénico es el alopátrico. Según el mismo autor, sólo un ejemplo de especiación estasisipátrica es posible que exista, en la especie *Dicrostonyx torquatus*, estudiada por E. A. Gileva, que posee gran cantidad de polimorfismos intra- e interpoblacionales. Varios aspectos hacen a estas conclusiones inválidas. En primer lugar, Modi solo pone a prueba uno de los varios modelos de especiación cromosómica existentes, al que rechaza como válido, por razones biogeográficas. Esta falsificación, no invalida de forma general el papel especiogénico de los cromosomas, ya que aún en alopatria, pueden ser ellos los que inician el aislamiento reproductivo (King, 1981; Capanna, 1982). Sites & Moritz (1987) sugieren descartar como método, la correlación entre las distribuciones geográficas predichas por los distintos modelos de especiación, debido a que más de un modelo puede predecir el mismo patrón geográfico, y porque la distribución actual de los organismos poco puede tener que ver con las

existentes en el momento del proceso especiogénico. Por otra parte, el único caso en que según Modli (1987) existe posibilidad de que haya tenido lugar la especiación estasisipátrica, se basa en poblaciones que poseen gran cantidad de polimorfismos. Como hemos visto en la Sección 3.3.3.2.1. de Resultados de Cromosomas, King (1987), recomienda no tener en cuenta ningún reordenamiento que se encuentre en estado polimórfico. Como se dijo en esa misma sección, esto es lógico, ya que los mismos, por el solo hecho de estar en estado polimórfico, tienen mayor probabilidad de ser o neutrales o heteróticos positivos. Tampoco se comparó directamente el grado de diferenciación cromosómica con la morfológica, alozimica, etc.

Basándonos en lo antedicho, podemos afirmar que aparte de constatar una estrecha correlación entre los taxones con muchas especies y su diversificación cromosómica, no es posible concluir nada sobre el papel de los cromosomas en los procesos de especiación en Arvicolidae, debido a la manera en que se ha planteado hasta el momento la discusión.

4.2.1.1.2. *Spalacidae*.

Este es un grupo de mamíferos subterráneos (Rodentia), uno de cuyos miembros, la superespecie *Spalax* (*Nannospalax*) *chrenbergi*, ha sido objeto de estudios evolutivos multidisciplinarios bastante detallados (Nevo, 1986). Este complejo, que habita en Israel, está compuesto por cuatro formas cromosómicas, ($2n=52, 54, 58$ y 60). El mecanismo de especiación propuesto para el conjunto es el peripátrico. En demos aislados en la periferia de la distribución de una raza primitiva, se fijan en alopatria cambios cromosómicos que en estado heterocigota son seleccionados negativamente. Este modelo está favorecido en principio, en esta superespecie, por el tipo de estructura poblacional que tiene lugar en los extremos marginales de las distribuciones. Aunque los heterocigotas entre esas razas cromosómicas, son parcialmente fértiles, (Nevo & Bar-El, 1976; Wahrman *et al.*, 1985), estudios de híbridos de la zona $2n=52-58$ presentan alteraciones meióticas que sugieren una reducción en la fertilidad en machos que darían cuenta parcial de la selección en contra de los mismos (Nevo, 1986). Según este autor, el surgimiento de un mecanismo de aislamiento reproductivo postapareamiento, precede al aislamiento preapareamiento, basándose en la falta de eficacia de este último, entre las formas de $2n=58$ y $2n=60$, que son las que más tardíamente han divergido. Las distancias genéticas entre las cuatro formas cromosómicas medidas por alozimas, revelan muy poca divergencia, con valores de identidad de Nei (I) de 0.931 a 0.988, y una media de 0.966. No existen, sin embargo, comparaciones entre poblaciones locales de una misma raza, que sirva de parámetro comparativo de la divergencia normal entre poblaciones vs razas cromosómicas (ver Sección 1.1.1. de la Introducción). Según Templeton (1980) las distancias entre especies originadas por diferencias cromosómicas, deberían ser grandes, a menos que respecto a un antecesor común, esta ya fueran pequeñas. No

existen sin embargo estimaciones de distancias o de variabilidad con algún ancestro hipotético del complejo *ehrenbergi*. De cualquier manera, si se conocen entre ellas, y conociéndose cual es la más primitiva, la misma puede tomarse como referencia ancestral. Las diferencias genéticas se habrían acumulado, de ser la hipótesis de especiación cromosómica cierta, *a posteriori* del aislamiento reproductivo. Morfológicamente, las cuatro razas cromosómicas son perfectamente distinguibles (Nevo *et al.*, 1988) mediante análisis discriminante. Las distancias morfológicas medidas sobre la base de las distancias de Mahalanobis, según los mismos autores, son bajas, pero no se establecen puntos de referencia a poblaciones locales. Solo se hace mención, sin cuantificación alguna, que las diferencias morfológicas dentro de cada especie cromosómica es, al menos, tan grande como entre ellas y que existe diversidad morfológica entre poblaciones y especies, sin mostrar neta distinción entre las últimas. Esto último, parece estar en contradicción con el resultado del análisis discriminante que, según los mismos autores, permite distinguir en un 94% y 100% las razas cromosómicas, en machos y hembras respectivamente. Se ha calculado también la divergencia a nivel de ADN de copia única entre las cuatro razas (Catzefflis *et al.*, 1989). Los resultados indican que las mismas difieren muy poco en sus ADN de copia única, con una diferencia de solo 0.2-0.6% entre las razas más jóvenes (2n=58-60).

Por lo expuesto, parecería que existe evidencia suficiente que indica que en el complejo de *Spalax (Nannospalax) ehrenbergi* los cromosomas han jugado un papel especiogénico.

4.2.1.1.3. Echimyidae.

Estos roedores (Caviomorpha) que habitan las selvas tropicales y subtropicales de centro y sudamérica, presentan un género, *Proechimys*, que ha sido objeto de diversos estudios evolutivos (Benado *et al.*, 1979; Reig *et al.*, 1980; Reig, 1980a; Aguilera *et al.*, 1989; Patton & Reig, 1980). Los más detallados se han llevado a cabo en un grupo de razas cromosómicas pertenecientes a la superespecie *P. guirae*. El rango de variación del número diploide para todo el género es de 14 a 65 (Reig, 1989), y en el caso específico de *P. guirae* de 42 a 62. Esta superespecie se caracteriza porque las distintas razas cromosómicas forman una clina que varía gradualmente en el número diploide (42, 44, 46, 48, 50, 52 a 62). Estas formas cromosómicas, distribuidas parapatricamente, tendrían el estatus de semiespecies o de especies plenas. Se ha propuesto para ellas un modelo de especiación por alopatría cromosómica primaria (Reig, 1980a, 1989). Los únicos híbridos naturales hallados, son unos pocos F1 entre las razas 48 y 50 (Reig, 1980a) y entre las razas 42 y 44 (Zambrano, 1983), sin que existan estudios meióticos de los mismos. Los reordenamientos cromosómicos fueron inicialmente estimados sobre la base de cariotipos normales. Más recientemente, utilizando bandeo G, Aguilera *et al.* (1989) encuentran que las diferencias entre los diferentes cariomorfos son las

siguientes: entre la raza de $2n=42$ y de $2n=44$ existen un cambio robertsoniano y una inversión pericéntrica; entre la raza de $2n=44$ y la de $2n=46$, un cambio robertsoniano; entre el cariomorfo de $2n=46$ y el de $2n=48$ también un cambio robertsoniano, al igual que entre las razas de $2n=48$ y $2n=50$, y $2n=50$ y $2n=52$. Estos resultados confirman lo predicho utilizando cromosomas sin bandeo (más el agregado del cariomorfo de $2n=52$), pero aún queda por analizar mediante bandas G los reordenamientos involucrados en la diferenciación con la raza de $2n=62$. Morfológicamente, todas las razas son difíciles de distinguir (Reig, 1980a, 1989), pero no hay hasta el momento, ningún estudio cuantitativo multivariado que apoye esta afirmación (existen en preparación, Aguilera, com. pers.). La diferenciación genética medida con alozimas muestra que las razas estudiadas ($2n=46, 48, 50$ y 62) son muy semejantes, con valores de D de Nei de 0.023 a 0.046 (más recientemente Patton & Reig, [1989] estimaron la distancia de Nei entre la raza de $2n=42$ y la de $2n=62$ en 0.052). Además, estas distancias están positivamente correlacionadas con la diferenciación cromosómica.

¿Existe suficiente evidencia de especiación cromosómica en este grupo? Las diferencias cromosómicas entre las razas son mínimas, por lo que el papel que juegan los cromosomas como barrera reproductiva no es claro al no existir estudios meióticos de posibles híbridos interraciales. Pero aunque aceptemos que los cromosomas actúan actualmente como barreras reproductivas, no implica que ellos hayan sido la causa de especiación. Más aún, si bien el grado de diferenciación genética entre las razas es bajo, el mismo es mayor que el hallado entre dos poblaciones locales de la raza de $2n=46$, que fue de 0.014 (Benado *et al.*, 1979). Por lo tanto no es posible distinguir entre una diferenciación pre- y postaleislamiento. Sumado a esto, la falta de buenos datos publicados acerca de la diferenciación morfológica, llevaría a la conclusión de que la base factual para una hipótesis de especiación cromosómica no es buena por el momento. Sin embargo, un dato a favor de esta hipótesis es la distribución parapátrica de las razas y el hecho que no existan polimorfismos (salvo para los cromosomas sexuales) en ninguna de ellas, por lo que los tipos de cambios cromosómicos que las diferencian no son mantenidos intrapoblacionalmente, indicando en cierta manera, una probable baja adecuación darwiniana.

4.2.1.1.4. Geomyidae.

Los roedores subterráneos pertenecientes al género *Thomomys*, han sido uno de los más estudiados en todos sus aspectos evolutivos (ver por ejemplo Patton & Yang, 1977; Patton, 1980; Patton & Sherwood, 1982; Patton & Smith, 1989; y citas en esos trabajos). Se ha visto que en este género existen dos grupos, cuyas características evolutivas difieren. El grupo denominado *bottae* se caracteriza por poseer brazos completos heterocromáticos, cuya variación en

número, constituye la principal diferencia entre las poblaciones que la constituyen, esto es, en el NF. Por otro lado se encuentra el grupo *talpoides*, cuyos cariotipos varían principalmente en el número diploide (Thaeler, 1968), y estarían relacionados con el aislamiento reproductivo. En ninguno de estos grupos fueron analizadas hasta el momento las bandas G.

En el grupo *bottae* se han estudiado las posibles causas que diferencian a tres especies (*bottae*, *townsendii* y *umbrinus*) pertenecientes al mismo. Filogenéticamente, *bottae* y *townsendii* poseen un antecesor común no compartido por *umbrinus* (Patton & Smith, 1981). Más aún, se demostró que *townsendii* forma un grupo hermano con un grupo de tres poblaciones de *bottae* (Patton, 1980), lo que sugiere que la primera deriva de un antecesor perteneciente a la especie *bottae*. La separación en dos especies de *bottae* y *townsendii* se fundamenta en que la producción de híbridos naturales se limita a la F1 (Patton *et al.*, 1984), pero el aislamiento reproductivo no parece basarse en aspectos citogenéticos (Patton & Smith, 1989). Más aún, la diferenciación medida por alozimas es muy baja, por debajo del nivel de poblaciones locales (Patton & Yang, 1977; Patton, 1980). Tampoco se diferencian en morfología craneana, solo en tamaño (Patton & Smith, 1989). Las causas del aislamiento reproductivo entre estas dos especies quedan, entonces, sin resolver (Patton & Smith, 1989). Más clara es la causa del aislamiento reproductivo entre *bottae* y *umbrinus*. Los híbridos entre estas dos especies están limitados a una F1 principalmente estéril (Patton, 1973); estos híbridos muestran cadenas de multivalentes, que indican diversas diferencias por translocaciones múltiples entre ambos taxones. Esta suposición está apoyada por bloques de heterocromatina intersticial en *umbrinus* en lugar del patrón de brazos totalmente heterocromáticos de *bottae*. La esterilidad es consecuencia de una incompleta espermatogénesis y deterioro de la espermiogénesis. Una evidencia de que las diferencias cromosómicas pueden haber sido la causa primaria del aislamiento reproductivo, es que las distancias genéticas, medidas por alozimas, entre poblaciones de *bottae* son mayores o están al mismo nivel que la distancia entre *bottae* y *umbrinus* (Patton & Feder, 1978; Patton, 1980).

En el grupo *talpoides*, se observa que a mayores diferencias cromosómicas, mayores diferencias genéticas, medidas por alozimas. Pero si bien las diferencias cromosómicas son indicadores de niveles específicos diferentes, estas no serían un requisito para la especiación (Thaeler & Nevo, 1973).

Parece probable entonces, que en la diferenciación *bottae-umbrinus*, los cromosomas hayan tenido un papel primario.

4.2.1.1.5. Iguanidae.

El complejo *Sceloporus grammicus* (Sauria: Iguanidae), ha sido la fuente de inspiración del modelo de especiación cromosómica en cascada (Hall, 1983; ver Introducción, sección 1.1.1.). En un trabajo reciente, Sites *et al.*

(1987), realizan una revisión de la estructura genética y de la evolución cromosómica en el complejo *Sceloporus grammicus*, que utilizaremos como referencia más reciente, ya que estos autores, además de efectuar la revisión, agregan algunos datos a los publicados hasta ese momento. Este complejo consta de siete razas cromosómicas en lo que previamente había sido descrito como una sola especie morfológica. Dichas razas se diferencian por cambios robertsonianos. Algunos de estos citotipos aparentan estar distribuidos parapatricamente, existiendo algunas zonas híbridas estrechas (Sites et al 1987; Porter & Sites, 1986). Morfológicamente la mayoría de los citotipos son prácticamente indistinguibles, por lo que concluyen que el estatus taxonómico de la mayoría de las poblaciones permanece no resuelto. De las zonas híbridas existentes, solo fue analizado un individuo macho en *Sceloporus grammicus*. El resto de los análisis de meiosis fue realizado en individuos heterocigóticos pertenecientes a poblaciones polimórficas. Es más, estos autores argumentan que es posible poner a prueba la posible heterosis negativa de los diferentes rearrreglos analizando, no solo dichos heterocigotas intrapoblacionales, sino también, la frecuencia de polimorfismos cromosómicos en dichas poblaciones. Lo último se fundamenta en que habrá menor polimorfismo en las poblaciones si los rearrreglos poseen heterosis negativa. Como ya hemos visto (King, 1987), esta correlación no está necesariamente relacionada con aquellos rearrreglos no encontrados en las poblaciones como polimorfismos, pero sí ligados a procesos de especiación. De cualquier manera, los resultados a este respecto indican que no existen indicios de que los reordenamientos provoquen alteraciones en la capacidad reproductiva de los portadores heterocigóticos. Sin embargo, Sites et al. (1987) advierten que dichos resultados no son definitivos, por el bajo número muestral, y por haber analizado solo machos, pudiendo las hembras poseer grados de no disyunción mayores (Gropp & Winking, 1981).

Cuando estos autores se introducen en el análisis de la genética poblacional mediante el estudio de aloenzimas, basan su argumento, sobre la existencia o ausencia de especiación cromosómica en *Sceloporus grammicus*, en dos predicciones teóricas. La primera, debida a Coyne (1984), dice que el nivel promedio de heterocigosis es inversamente proporcional a la probabilidad de fijación de un rearrreglo con heterosis negativa. El trabajo de Coyne se basa a su vez, en las conclusiones de otros dos trabajos (Bush et al., 1977; Wilson et al., 1974). Pero King (1987), muestra que las conclusiones de estos trabajos pueden ser erróneas por una incorrecta elección de los datos. La otra predicción es se debe a Templeton (1980; ver también Introducción Sección 1.1.1.) quien estableció que las distancias genéticas (medidas por proteínas) entre poblaciones cuya estructura favorece el fijamiento de reordenamientos con heterosis negativa serán altas. Esto es así, solo si se supone que la población ancestral poseía una variabilidad genética adecuada.

Para establecer un patrón de comparación, Sites *et al.* (1987) utilizan como parámetro a otra especie de *Sceloporus*, *S. graciosus*, la que es cromosómicamente monomórfica. Por lo tanto, se espera que *S. grammicus* posea mayores valores de D y de F_{ST} y F_{IT} , y menores valores de H y A (número de alelos promedio) que *S. graciosus*. Los resultados mostraron que *S. graciosus* posee menores valores de n y A que *S. grammicus*, y mayores valores de D . Los valores absolutos de D en *S. grammicus* son en general bajos, con variando entre poblaciones de un mismo cariotipo por arriba y por debajo de los valores de D entre poblaciones con cariotipos diferentes (Thompson & Sites, 1986). Como los propios autores declaran, estos resultados pueden estar viciados por varias causas: en ambas especies se analizaron diferentes grupos de loci (ver Simon & Archie, 1985; y Resultados de electroforesis, sección 3.2.2.) y las dos especies pueden haber sufrido diferentes eventos históricos que hayan modificado diferencialmente sus estructuras poblacionales. Las relaciones evolutivas de ambas no se conocen, esto es, no se sabe si las poblaciones ancestrales de ambas poseían diferentes cantidades de variabilidad que afecten las medidas actuales, dato necesario para la validez de la predicción de Templeton (1980). En conclusión, los datos genético poblacionales presentados por Sites *et al.* (1987) para poner a prueba la hipótesis de especiación cromosómica serían objetables, o por carecer de un marco teórico correcto (predicción sobre los valores de H), o por faltar información adicional crítica, como es la variabilidad presente en poblaciones ancestrales de *S. grammicus* o *S. graciosus*, en el caso de la predicción de Templeton (1980).

Un aspecto muy importante, y que también es reconocido por los autores, es que las inferencias de los reordenamientos cromosómicos están hechas sobre la base de cromosomas no bandeados. Por lo tanto, en las poblaciones de *S. grammicus* pueden existir reordenamientos no detectados más complejos que los robertsonianos.

Finalmente, utilizando sus datos, Sites *et al.* (1987) invalidan la posibilidad de existencia de un mecanismo de especiación en cascada (Hall, 1983), pero dejan abierta la posibilidad de que hayan tenido lugar otros mecanismos de especiación cromosómica. Aún más, también reconocen que la no detección de heterosis negativa para los reordenamientos no es concluyente, ya que faltan los importantes datos de las zonas híbridas.

Como conclusión, estos autores no demuestran la imposibilidad de especiación cromosómica en este grupo, pero tampoco ponen en claro los mecanismos precisos que pudieran haber conducido a la misma.

4.2.1.2. El grupo de especies de Corrientes.

En lo que sigue, intentaré mostrar que existe evidencia suficiente como para inferir que en el grupo de especies de Corrientes, la principal causa

de especiación, está ligada a las diferencias cromosómicas surgidas entre ellas.

4.2.1.2.1. Aislamiento reproductivo postcigótico.

Una condición imprescindible para plantear la existencia de especiación cromosómica en un grupo de organismos es que, además de diferir en sus cariotipos, exista la posibilidad de inferir concluyentemente que opera el aislamiento reproductivo postcigótico debido a esas diferencias. En la sección 3.3.3 de cromosomas, se llegó a la conclusión de que existe aislamiento reproductivo postcigótico entre los 6 (ó 7) OTUs de Corrientes estudiados por bandas G. Se llegó a esta conclusión inferencialmente sobre la base de la cantidad y tipos de reordenamientos detectados (Tabla 3.3.3.VII.), muchos de los cuales han demostrado ser eficaces como barreras reproductivas en otros organismos (ej. homologías monobraquiales; ver Introducción, sección 1.1.1.). Sin embargo, en ningún caso fueron estudiados animales híbridos entre dos cariotipos. Este es el punto más débil del argumento, pero cierta es también la dificultad de sustentar el argumento contrario; por ejemplo, que la población con un cariotipo de $2n=42$ y $NF=80$ (P25) es totalmente interfértil con la población de *dorbignyi* de $2n=70$, $NF=84$. De cualquier manera, la ausencia de análisis de híbridos fue debida a dos causas. En primer lugar, no fueron encontradas poblaciones parapátricas pertenecientes a dos OTUs con diferente cariotipo, lo que impidió el hallazgo de individuos híbridos. La excepción fue P28, en la que fueron hallados los cariotipos de $2n=54-56$ y de $2n=58$, sin encontrarse ningún animal con $2n=57$, pero los bajos números muestrales pueden ser la causa de ello. De cualquier manera, se demostró que las diferencias entre estas dos cariomorfos involucran más que cambios robertsonianos. En el resto, las poblaciones de los distintos cariomorfos están constituidas por aislados, que en algunos casos poseían pocos individuos. Por ejemplo, los dos OTUs tomados como ejemplo más arriba, P25 ($2n=42$; $NF=80$) y *dorbignyi* en P8, ($2n=70$; $NF=84$) se encuentran geográficamente muy cercanas. La primera, es una población aislada en una región más o menos sobreelevada; los individuos fueron capturados con cierta dificultad por el escaso número de bocas, en una zona de no más de una hectárea. La segunda (Figura 3.3.2.III), *dorbignyi* ($2n=70$; $NF=84$), se encuentra a pocos kilómetros hacia el noreste, y no existen indicios que en la actualidad exista una zona posible de contacto con individuos con cariotipo similar a P25.

En segundo lugar, si bien tampoco estuvo planificada para esta etapa de la investigación, no parece ser un proyecto fácilmente viable la hibridación en el laboratorio entre individuos con diferentes cariotipos. Los tuco-tucos, por su hábitat característico, no son especialmente aptos para la cría de bioterio, en especial para la obtención del gran número de ejemplares necesario para este tipo de experimentos.

De los ejemplos enumerados en la sección anterior, solamente en dos

(Geomyidae y Spalacidae), se han estudiado bien los híbridos naturales entre poblaciones con diferentes cariotipos, corroborando el aislamiento postcigótico. Pero a diferencia de los datos disponibles en esta tesis, no se conocen los tipos de reordenamientos ocurridos entre los diferentes cariotipos, por falta de bandeos G. Solo se disponen datos de bandas C, que no son especialmente aptas para establecer homologías.

Podemos decir para concluir esta sección, que, a pesar de no tener datos de híbridos entre individuos con distintos cariotipos que corroboren en ellos los efectos deletéreos debidos a las diferencias cromosómicas, los datos de bandas G permiten inferirlos, ya que la mayoría de los cariotipos difieren en gran cantidad de reordenamientos detectados y en muchos otros no detectados (por ej. cuando hay falta de homología entre brazos enteros) que se sabe que en mayor o menor medida los provocarán.

4.2.1.2.2. Diferenciación genética en el grupo de Corrientes.

En la sección 1.1.1. de Introducción se adelantó la idea de que la medición del grado de diferenciación alcanzado para cualquier carácter no puede ser absoluta, sino más bien, ser relativa con respecto de algún patrón. Cuando se quiere dar una idea del grado de diferenciación entre dos especies, al menos cuando se intenta poner a prueba un modelo de especiación, no se puede hablar ligeramente de "alta" o "baja" sino se tiene en cuenta la biología característica del grupo en cuestión. Distintos grupos de organismos no tendrán necesariamente igual grado de diferenciación en iguales etapas del proceso de especiación, debido, por ejemplo, a diferentes ambientes genéticos y ecológicos (ej. diferentes fondos genéticos, eficiencias en los mecanismos de reparación del ADN [que además pueden estar sujetos a selección], diferentes historias evolutivas y presiones de selección). Se dijo también en Introducción que un buen parámetro son las diferencias existentes entre poblaciones, de un grupo que se suponga que tiene las mismas características de aquel cuyo mecanismo de aislamiento reproductivo se está estudiando. La elección más obvia, es elegir poblaciones de especies del mismo género, debido a que en principio se supone que desde el punto de vista genético en general son similares. De cualquier manera, el sistema genético de especies de un mismo género puede diferir, como es el caso de *Abrothrix longipilis*, en donde existe evidencia de cambios a nivel morfológico debido a procesos de heterocronía, no detectados, al momento, en otras especies del género (Spotorno, 1986). Considerando el ambiente ecológico, esto es posible, en *Ctenomys* debido a que las especies de este género están sujetas a presiones de selección en un ambiente, el subterráneo, prácticamente igual a todas ellas. En otros géneros, habría que asegurarse de que esta condición se cumpla.

Volviendo al caso particular de la puesta a prueba de especiación

cromosómica, lo que hay que probar es que (como se dijo en la sección 1.1.1. de Introducción) los OTUs en cuestión 1) estén aislados reproductivamente, 2) que los cromosomas sean una causa de aislamiento reproductivo, y 3) que las diferencias respecto a otros caracteres estén al nivel o por debajo del de poblaciones locales, tomando como referencia a otras especies, indicando esto, que las mismas no son suficientes para actuar por si solas como barrera reproductiva.

En la sección anterior se discutieron los puntos 1 y 2 simultáneamente, llegando a la conclusión que los OTUs de Corrientes están aislados reproductivamente, al menos postcigóticamente, debido a sus diferencias cromosómicas. ¿Que conclusiones podemos obtener con los datos obtenidos respecto al punto 3?

Las Figuras 3.1.1.III. y 3.1.1.IV. de Resultados de morfología craneana muestran que incluyendo o no el factor tamaño, los OTUs de Corrientes se diferencian en un nivel más bajo que aquel en que lo hacen las poblaciones de *australis* y *tuconax* entre sí; también, algunas están por debajo del nivel de diferenciación de las poblaciones de *talarum*. Esto quiere decir que los OTUs de Corrientes, no difieren más de lo que lo hacen poblaciones locales, en cuanto a tamaño y a forma del cráneo.

Los resultados de distancias genéticas, por su parte, mostraron que la distancia promedio de Nei entre los siete OTUs cuyas bandas G fueron estudiadas fue de 0.010773, e incluyendo todos los OTUs de Corrientes fue de 0.0115228. Dos fuentes de información se tienen respecto a distancias entre poblaciones de una misma especie. Las poblaciones de *C. mendocinus* estudiadas por Sage *et al.* (1986) se diferencian con distancias de Nei que oscilan entre 0.02 y 0.13. La segunda fuente de información proviene de la comparación realizada entre las mismas cuatro poblaciones de *australis* estudiadas aquí en morfología craneana. Las D entre oscilaron entre 0.0000 y 0.0313 (Apfelbaum *et al.* en prep). Por lo tanto, las distancias entre los OTUs de Corrientes están incluidas en el rango de las existentes entre poblaciones de la misma especie, siendo en promedio, por encima de 11 veces más bajas las primeras, que el límite superior de las segundas. Por otra parte, cuando se comparan estas distancias respecto a las existentes entre especies bien distinguidas, las primeras resultan mucho más bajas. La distancia más baja obtenida en los resultados de esta tesis, es de 0.051 (excluimos las distancias obtenidas con menos de 26 loci). Esto es así, solo si se exceptúa a *knightii*, que posee distancias respecto a los OTUs de Corrientes, tan bajas como 0.01. Recordemos que *knightii*, es uno de los posibles OTUs cercanos al antecesor del grupo de Corrientes (ver sección 4.1). La distancia máxima encontrada aquí entre dos especies de *Ctenomys* es de 0.114. Si tenemos en cuenta que los resultados de la puesta a prueba de la significación de las topologías fueron siempre negativas, podemos concluir dos cosas. Primero,

las distancias entre las especies de *Ctenomys* son en general bajas, aún aquellas diferenciadas morfológicamente. En los casos en que se hallaron distancias cercanas a 0.3-0.4 (Sage *et al.*, 1986; Gallardo & Palma, 1990), no se pusieron a prueba las significancias de dichas distancias. Segundo, existe una indicación, aunque como se aclaró varias veces, no significativa, que las distancias genéticas entre los OTUs de Corrientes, están por debajo o son del orden de las distancias existentes entre poblaciones locales.

Una tercera fuente de información adicional, que corrobora que los OTUs de Corrientes son indistinguibles genéticamente, salvo por sus cromosomas, proviene de los resultados previos obtenidos con la hibridación de ADN de copia única en *Ctenomys*. Estos resultados están siendo obtenidos conjuntamente por el laboratorio de Sistemática molecular, del Museo de Zoología de la Universidad de Wisconsin, a cargo del Dr. John W. Kirsch. Sin entrar en detalle con los resultados de esta técnica, los mismos demuestran que la estabilidad térmica del ADN de una de las especies del grupo de Corrientes, *perrensi*, es la misma que la del ADN híbrido entre esta y cualquiera de los siguientes tres OTUs: *dorbignyi*, *roigi*, y *sp.* (P25). Como la estabilidad térmica está correlacionada con el grado de homología de las bases del ADN, esto indica que existe el mismo grado de homología en el ADN de copia única, entre hebras de ADN *perrensi* entre sí, que entre hebras híbridas. Los mismos resultados muestran que esto no es así respecto de *perrensi* con *occultus* y *tuconax*. Debe destacarse, que en estos experimentos, el parámetro utilizado es mucho más efectivo que poblaciones locales de otras especies del género: es el ADN de la propia especie (en este caso *perrensi*). Identico resultado se obtiene cuando se utiliza el ADN de *dorbignyi*, en lugar del de *perrensi*.

De los ejemplos de posibles casos de especiación cromosómica presentados en la sección 4.2.1.1., sólo en el caso de *bottae-umbrinus* se muestra que las distancias genéticas entre ambas especies está al nivel, o es menor que las de poblaciones locales. No se ha estudiado, sin embargo, ninguna otra variable. El otro caso posible, donde se hayan comparado divergencias entre formas cromosómicas, respecto a poblaciones de una misma especie, es el de *Spulax*, pero de manera muy preliminar. En este grupo se ha mencionado solamente, que las diferencias morfológicas entre razas cromosómicas son de la misma magnitud que las existentes entre poblaciones, pero no hay cuantificación de ello.

Estas dos fuentes de evidencias nos señalan que, los grandes cambios cromosómicos existentes entre los OTUs de Corrientes, y que les confieren aislamiento reproductivo, no se produjeron como subproducto de una divergencia previa causante de especiación, ya que la misma, parece no existir. Por supuesto, siempre se puede aducir que no se han estudiado todos los tipos de datos posibles, y que pueden hallar otras diferencias, aparte de las

cromosómicas, que hayan actuado como barreras reproductivas. Pero esta es una dificultad teórica a la que un modelo como el alopátrico aparentemente escapa, no por más robusto, sino más bien por fundamentarse en el aspecto geográfico, sin ser explícito en el aspecto genético. En él, el aislamiento reproductivo es alcanzado como consecuencia de la diferenciación genética (Ayala, 1980) que involucra los cambios genéticos conocidos y los no conocidos, sin distinción. Si incluimos en esos cambios genéticos, pequeños cambios cromosómicos que se acumulan y fijan en sucesivas etapas, y que como subproducto originan aislamiento reproductivo, entonces, la mencionada dificultad teórica, ha alcanzado al modelo alopátrico. Nadie ha probado que las diferencias genéticas (medidas por alozimas) encontradas en las distintas etapas del proceso alopátrico (ver Ayala, 1975), sean las responsables directas del aislamiento reproductivo, otras causas, aún no descubiertas, pueden también serlo.

4.2.1.2.3. Correspondencia con el marco teórico.

Templeton (1980) ha predicho que las distancias genéticas, medidas por electroforesis, entre especies originadas por diferencias cromosómicas deben ser grandes (ver secciones 1.1.1 de Introducción y 4.2.1.1.2. de Discusión) a menos que la variabilidad en el antecesor común fuera baja. En el cladograma de la Figura 3.2.V. se observa que todas las especies de Corrientes comparten un único HTU, el 18. Esto indica que la máxima variabilidad posible en el HTU 18, corresponde a la máxima existente en los OTUs descendientes. Esto es, si pudiéramos separar al grupo de Corrientes en dos grupos, y que ambos tuvieran como sinapomorfías alelos nuevos, entonces podrían estos alelos ser considerados como presentes en el HTU de estos dos grupos (que se habrían perdido con posterioridad diferencialmente en dichos grupos). De esta manera el HTU podría tener más variabilidad que la existente en los OTUs descendientes, pero como vimos, esto no es así en el grupo de Corrientes. En el mismo solo los loci Est-5H, Est-1P, Est-2P y PT-4 poseen variabilidad. Si calculáramos la distancia de Nei entre dos OTUs fijados para alelos alternativos en estos cuatro loci, el valor sería de 0.167, que como vimos, está apenas por encima del máximo estimado para poblaciones locales. Si excluimos al controvertido locus Pt-4, la misma sería de 0.128, es decir, por debajo del nivel de poblaciones de una misma especie, indicando que no son significativas las diferencias entre ambos valores, el máximo posible entre los OTUs de Corrientes y el máximo encontrado entre poblaciones locales.

Patton & Sherwood (1983) plantean que los argumentos en favor de los modelos de especiación relacionados con la transiliencia cromosómica y por ende, según estos autores, al modelo estasiopátrico, no pueden basarse exclusivamente en los patrones geográficos de distribución observados. La fundamentación debe basarse en tres componentes principales: a) que existan efectos heteróticos

negativos para uno o más rearrreglos cromosómicos; b) que existan condiciones de estructura poblacional o de selección, que permitan superar la dificultad que impone la heterosis negativa en la fijación de dichos rearrreglos y c) la existencia de mecanismos que generen rápidamente múltiples rearrreglos cromosómicos.

Como se dijo en reiteradas oportunidades, no se estudiaron directamente los posibles efectos negativos de los reordenamientos en los híbridos de los distintos cariomorfos encontrados en el grupo de Corrientes (sección 4.2.1.2.1.). Pero parece también razonable que el punto a) de Patton & Sherwood (1983), está bien justificado sobre la base de los datos de bandeo G.

El grado de cumplimiento del punto b), tiene más bien que ver, con la probabilidad del modelo estasipátrico, pero no necesariamente con la especiación cromosómica de manera general. Como Patton & Sherwood (1983) mismo afirman, las condiciones tan restrictivas que condicionan el modelo estasipátrico, no son necesarias para otros modelos, como el de la alopatria cromosómica primaria (King, 1981). En este contexto, aquellos autores afirman que un modelo alopátrico no permite de manera no ambigua, diferenciar entre simple divergencia cromosómica posterior al proceso de especiación y diferencias cromosómicas causantes de aislamiento reproductivo. Como vimos en la sección 4.2.1.2.2., este no parece ser nuestro caso. Volviendo directamente al punto b), ¿que pruebas hay que *Ctenomys* posee la estructura poblacional, grado de endocruza o tamaños poblacionales que estén de acuerdo con lo esperado para organismos involucrados en una posible especiación cromosómica? En la sección 3.2.2. de resultados de alozimas se mostró la existencia de defecto de heterocigotas en dos loci. Se vio también, que ese defecto era explicable por procesos de endocruza, más que por efecto Wahlund. Las observaciones de campo de las poblaciones de Corrientes y de otros lugares, revelan que algunas poblaciones, no solo están aisladas, sino que también, poseen muy pocos individuos (Julio R. Contreras, com. pers.: probablemente un aislado de *C. bonettoi* no posea más que una decena de individuos). Particularmente en Corrientes, existen ciclos de inundaciones que pueden llegar a aislar y reducir drásticamente en tamaño las poblaciones de tuco-tucos. A este panorama, debemos agregar naturalmente una de las características principales del género, el hábito subterráneo, que impone, sin duda, cierto grado de fragmentación a las poblaciones y limita la vagilidad de los individuos.

Por lo recién expuesto, no existen razones para dudar que *Ctenomys* cumple con los requisitos poblacionales teóricos mínimos que posibilitan el advenimiento de aislamiento reproductivo sobre la base de cambios cromosómicos.

El punto c) hace referencia a mecanismos realistas que posibiliten la generación rápida de múltiples rearrreglos cromosómicos. Massarini *et al.* (en prensa) detectaron un individuo de *C. porteousi* que presentó, en médula ósea,

mosaicismo para tres reordenamientos que involucran brazos heterocromáticos. Si este fenómeno ocurre en la línea germinal, entonces varios reordenamientos pueden ser transmitidos a la descendencia simultáneamente.

4.2.1.2.4. Modelos posibles de especiación cromosómica en *Ctenomys*.

Parece difícil negar la posibilidad de un papel primario de los reordenamientos cromosómicos en el aislamiento reproductivo en las especies del grupo de Corrientes. Pero ¿es posible determinar la manera en que esto pudo haber ocurrido? Si en general las distribuciones geográficas actuales de las diferentes especies, tienen poco que ver con las existentes durante los procesos de especiación, en Corrientes esto se agudiza por lo cambiante de la topografía, debido a los ciclos de inundaciones y sequías que tienen lugar en esta región. Más aún, cuando se analizaron las diferencias cromosómicas entre las especies de Corrientes, se observaron todo tipo de rearrreglos, incluyendo homologías monobraquiales. Estas, pueden haber surgido *a posteriori* de la especiación, si otros reordenamientos fueron los responsables del aislamiento, o haber sido responsables de la misma.

Por lo tanto, creo que no es posible determinar exactamente que modelo de especiación cromosómica, de los formulados en la literatura, pudo haber ocurrido en los *Ctenomys* de Corrientes. Es posible también, que hayan tenido lugar más de un tipo y que muy probablemente existan otras alternativas aún no descritas. Ninguno de los modelos descriptos tiene en cuenta que el material cromosómico puede ser mucho más dinámico que lo que ellos suponen. Rossi *et al.* (1990) obtuvieron la secuencia de 337 pares de nucleótidos proveniente de un "library" construido con el ADN de *C. porteousi*. Esta secuencia se encontró presente en todas, y ampliamente replicada en varias especies de *Ctenomys*, en forma monomérica y polimérica. Estos autores concluyen que el modo de replicación de esta secuencia (el modelo del "rolling-circle") involucra la formación de un plásmido que se escinde e inserta en el ADN cromosómico. No cabe duda que el estudio profundo de este tipo de mecanismos moleculares, introducirá nuevas ideas generadoras de modelos de especiación cromosómica, que permitan explicar de manera causal, correlaciones generales entre variabilidad cromosómica y tasas de especiación.

4.2.2. Especiación alopátrica.

El grupo de especies homocariotípicas compuesto por *C. porteousi*, *C. mendocinus* y *C. australis*, es un posible caso de especiación alopátrica. *C. australis* está claramente diferenciado de las otras dos especies, tanto en tamaño, como en morfología craneana y color del pelaje. La diferenciación entre *mendocinus* y *porteousi* es mucho menor, pudiéndose ser por lo tanto más reciente. Más aún, Massarini *et al.* (en prensa) muestran que ambas comparten un

polimorfismo cromosómico, derivado de una complicada serie de rearrreglos. La diferenciación en morfología craneana, sin embargo, supera el nivel alcanzado por las poblaciones locales de una misma especie, corroborando el estatus de especies plenas para ambos OTUs mantenido hasta ahora.

Es particularmente interesante que la especie que más diferenciada está de las tres, *australis*, vive en un ambiente muy distinto al de *mendocinus* o *porteousi*. La misma está restringida a las dunas costeras de la Provincia de Buenos Aires, desde Necochea hacia el sur. Podría ser este un caso de especiación similar a la denominada "especiación ecológica", encontrada en el complejo de *Spalax ehrenbergi* (Nevo, 1985), con la diferencia que en este caso, los cromosomas no juegan ningún papel adaptativo como el propuesto para ese complejo.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

5.1. Filogenia de *Ctenomys*.

La filogenia delineada en la Figura 4.1 de Discusión muestra la aproximación más completa que se dispone actualmente para las especies actuales. Muchas de las indeterminaciones se deben, no solo a la falta de algún tipo de dato en las especies conocidas, sino también a la falta total de conocimiento de especies que pueden ser claves para el entendimiento de las relaciones filogenéticas del género. Existen regiones cuyas especies de tuco-tucos no han sido aún estudiadas o al menos con métodos modernos, y existen amplias zonas donde probablemente también se encuentren nuevas especies. La variedad de algoritmos utilizados en los tres tipos de datos analizados no coincidieron totalmente nunca en los resultados obtenidos. Esto demuestra que no se debe basar toda una discusión, y menos aún extraer ligeramente conclusiones sobre la base del resultado de un solo algoritmo. Aceptando esto, y reconociendo que en esta tesis no se han agotado todos los recursos algorítmicos existentes para el análisis filogenético, y que obviamente existen muchos por desarrollar, la filogenia obtenida es una primera hipótesis sobre la que trabajar, siendo por lo tanto modificable, corroborable y falsificable, como cualquier otro conocimiento científico.

5.2. Especiación en *Ctenomys*.

En solo dos de los grupos de especies revelados por el análisis filogenético, se dieron las condiciones metodológicas detalladas en la sección 1.1.1 de Introducción, para el estudio de los mecanismos de especiación.

El primer grupo fue el compuesto por las especies que habitan la Provincia de Corrientes, en Argentina. En él no se detectaron diferencias mayores que las existentes entre poblaciones locales, respecto a la morfología craneana y a la información alozímica. Estudios en desarrollo, permiten asegurar también que no existen entre ellas diferencias en el ADN de copia única total. Sí, se encontraron diferencias notables entre los cariotipos, con números diploides ($2n$) que varían entre 42 y 70, y números de brazos (NF) de 80 a 84. El NF similar encontrado no es debido a que solo existen cambios robertsonianos, ya que el mismo es alcanzado por las distintas especies de manera independiente, sugiriendo que esta convergencia se debe al número total de secuencias teloméricas dentro de este grupo, limitado probablemente a 84. El análisis de bandeo G permitió establecer el tipo y cantidad de arreglos en que se diferencian los OTUs de este grupo, aportando un fuerte fundamento a la conclusión de que los mismos constituyen una barrera reproductiva, permitiendo asignar estatus específico pleno a cada OTU. Si no existe ninguna otra diferencia entre estas especies más que sus cariotipos, y si estos provocan aislamiento reproductivo, hay una fuerte indicación de que en este grupo el tipo de especiación ocurrido es el cromosómico. Los datos disponibles, sin embargo,

no permiten establecer qué modelo, de los existentes en la literatura, pudo haber prevalecido. Las condiciones de estructura poblacional están de acuerdo con las esperadas para que tenga lugar la especiación cromosómica, así como los datos de distancias genéticas entre las especies, en relación a un antecesor hipotético con escasa variabilidad. Es muy probable, en todo caso, que no haya sido de un solo tipo en todos los procesos de especiación ocurridos. Más aún, es posible que sea necesario plantear nuevos modelos que tengan en cuenta la existencia de una dinámica en el ADN cromosómico, ignorada por los actuales.

El segundo grupo de especies que resultó apto para analizar el proceso de especiación, fue el compuesto por *C. australis*, *C. mendocinus* y *C. porteousi*. Este es un grupo de especies que comparten el mismo cariotipo analizado con bandas G. Por lo tanto, la posibilidad de especiación cromosómica queda desechada. El nivel de diferenciación morfológica alcanzada por los tres OTUs es superior al encontrado entre poblaciones de una misma especie (incluyendo cuatro poblaciones, que con seguridad pertenecen a *C. australis*). El mecanismo de especiación alopátrico permitiría explicar este tipo de divergencia. En el caso particular de la separación de *australis*, un tipo de especiación "ecológica", como la propuesta por Nevo (1985) para el complejo *Spalax ehrenbergi*, es plausible, ya que la misma se ha adaptado a un tipo de ambiente diferente del que habitan *mendocinus* y *porteousi*.

Es llamativo que el tipo de distribución de la heterocromatina en el grupo de Corrientes, con amplios cambios cromosómicos, sea del tipo I, es decir escasa o nula en la mayoría de los cromosomas, mientras que en el grupo de especies homocariotípicas sea del tipo III, con grandes bloques heterocromáticos ubicados en los brazos cortos. Esta estabilidad cariotípica, relacionada con heterocromatina en los brazos cortos ya fue encontrada en cetáceos (Stock, 1981).

5.3. Taxonomía.

Los aspectos taxonómicos derivados de los resultados de esta tesis no serán abordados directamente. Pero es indudable que las formas de Corrientes correspondientes a las poblaciones P25, P27-29 y P30-31, deben ser elevadas a la categorías de especies plenas, elevando de esta manera de 53 (ver Apéndice) a 56 el número de especies reconocidas para *Ctenomys*.

BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

- AGRAWAVAL, V.C., 1967. Skull adaptations in fossorial rodents. *Mammalia* 31:300-312.
- AGUILERA, M. 1980. Análisis intragenérico de la evolución cromosómica en algunos grupos de mamíferos. Pp. 191-209, En *Ecology and Genetics of Animal Speciation* (O. A. Reig, ed), Equinoccio Edit. Univ. Simón Bolívar Caracas.
- AGUILERA, M., PEREZ-ZAPATA, A., MARTINO, A. & REIG, O.A., 1989. Banding resolution of karyotype evolution within the *Proechimys guairae* rassenkreis of northern Venezuela (Rodentia: Echimyidae). *Abstracts of posters and papers, Fifth International Theriological Congress, Rome, 1989*: 40.
- ALLEN, S.L., MISCHE, M.S. & MORRISON, B.M., 1963. Acid phosphatase of tetrahymena. *J. Histochem. Cytochem.* 11 : 706-710.
- ALTUNA C. A., UBILLA M. & LESSA E. P., 1985a. Estado actual del conocimiento de *Ctenomys rionegrensis* Langguth y Abella, 1970 (Rodentia, Octodontidae). *Actas Jornadas de Zoología del Uruguay*: 8-9
- ALTUNA, C. A., NOVELLO A. F. & LESSA E. P., 1985b. Notas sobre la morfología espermática de *Ctenomys rionegrensis* (Rodentia, Octodontidae) del Uruguay. *Brenesia*, 24:397-401.
- ANBINDER, E.M., 1980. *Kariología i evoliutzia Instonogikh*. Izd. "Nauka", Moskva, 1-152.
- ANDERSON, S., YATES T.L. & COOK J.A., 1987. Notes on Bolivian mammals 4: The genus *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae) in the eastern lowlands. *American Museum Novitates*, 2891:1-20.
- APFELBAUM, L.I. & BLANCO, A., 1985. Genetic polymorphism in populations of Akodon rodents. *Can. J. Genet. Cytol.*, 27: 12-16.
- ARNASON, U., 1972. The role of chromosomal rearrangement in mammalian speciation with special reference to Cetacea and Pinnipedia. *Hereditas*, 70:113-118.
- AVISE, J.C., 1975. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23: 465-481.
- AYALA, F.J., 1975. Genetic differentiation during the speciation process. *Evol. Biol.*, 8:1-78.
- AYALA, F.J., 1980. Speciation. En O.A. Reig (Ed.) *Ecología y genética de la especiación animal*. Equinoccio. Universidad Simón Bolívar. Venezuela. Pp. 45-67.
- AYALA, F.J., 1982. Genetic variation in natural populations: Problem of electrophoretically cryptic alleles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:550-554
- AYALA, F., HEDGECOCK, D., ZUMWALT, G.S. & VALENTINE, J. W., 1973. Genetic variation in *Tridacna maxima* an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages. *Evolution* 27(2):177-191
- AYALA, F.J. & KIGER, J.A., 1980. *Modern genetic*, Benjamin. Cummings, Menlo Park, California.

- AYALA, F.J., VALENTINE, J.W., HEDGECOCK, D. & BARR, L.E., 1975. Deep-sea asteroids: high genetic variability in a stable environment. *Evolution* 29: 203-212.
- AYALA F. J. & VALENTINE, J.W., 1974. Genetic variability in the cosmopolitan deep-water ophiuran *Ophiomusium lymani*. *Marine Biology* 27:51-57.
- BAKER, R. J. & BICKMAN, J. W., 1986. Speciation by monobrachial centric fusions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83:8245-8248.
- BARROS M. A. & PATTON, J., 1985. Genome evolution in pocket gophers (Genus *Thomomys*). *Chromosoma*, 92:337-343.
- BENADO, M., AGUILERA, M., REIG, O.A. & AYALA, F.J., 1979. Biochemical genetics of chromosome forms of Venezuelan spiny rats of the *Proechimys guairae* and *Proechimys trinitatis* superspecies. *Genetica* 150: 89-97.
- BERRIOS, M., FLECHON, J.E. & BARROS, C., 1978. Ultrastructure of *Octodon degus* spermatozoa with special reference to the acrosome. *American Journal of Anatomy*, 151: 39-54.
- BLANCO, A. & ZINKHAM W.H., 1966. Soluble esterases in human tissues: characterization and ontogeny. *Bull. Johns. Hopkins Hos.* 118: 27-39.
- BLANCO, A., ZINKHAM W.H. & KUPCHYK L., 1964. Genetic control and ontogeny of lactate dehydrogenase in pigeon testes. *J. Exp. Zool.* 156: 137-152.
- BOYER, S.H. & HINER, R., 1963. Modified apparatus for starch gel electrophoresis. *J. Lab. Clin. Med.* 61:879-881.
- BREGLIANO, J.C. & KIDWELL, M.G., 1983. Hybrid dysgenesis determinants. En *Mobile genetic elements*, Pp. 363-409. J.A. Shapiro (Ed.). Academic Press, New York.
- BOOKSTEIN, F., CHERNOFF, B., ELDER, R., HUMPHRIES, J., SMITH, G. & STRAUSS, R., 1985. *Morphometrics in Evolutionary Biology*. Special Publication 15. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia.
- BUNGE, M., 1981. Biopopulations, not biospecies, are individuals and evolve. *Behav. Brain Sci.* 4(2):284-285.
- BURNABY, T.P., 1966. Growth-invariant discriminant function and generalized distances. *Biometrics*, 22:96-110.
- BUSH, G. L., CASE, S. M., WILSON, A. C. & PATTON, J. L., 1977. Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 74: 3942-3946.
- BUSH, G. L., 1981. Stasipatric speciation and rapid evolution in animals. Pp. 201-218. En W. R. Atchley & D. S. Woodruff (Eds.), *Evolution and Speciation*. Cambridge University Press, Cambridge.
- CABRERA, A. L., 1961. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*, 4 (2): 309-732.
- CAMIN, J.M. & SOKAL, R.R., 1965. A method for deducing branching sequences in phylogeny. *Evolution* 19:311-326.
- CAMPBELL C.A., VALENTINE, J.W. & AYALA, F.J., 1975. High genetic variability in a population of *Tridacna maxima* from the great barrier reef. *Marine Biology* 33: 1-5

- CAPANNA, E., 1982. Robertsonian numerical variation in animal speciation: *Mus musculus* as an emblematic model. Pp. 155-177. En *Mechanisms of speciation*, (C. Berigozzi ed), AR Liss Inc New York.
- CARSON, H.L., CLAYTON, F.E. & STALKER, H.D., 1967. Karyotypic stability and speciation in Hawaiian *Drosophila* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 57:1280-1285.
- CATZEFLIS, F.M., NEVO, E., AHLQUIST, J.E. & SIBLEY, C.G., 1989. Relationships of the chromosomal species in the eurasian mole rats of the *Spalax ehrenbergi* group as determined by DNA-DNA hybridization, and an estimate of the Spalacid-Murid divergence time. *J. Mol. Evol.* 29:223-232.
- CAVALLI-SFORZA, L.L. & EDWARDS, A.F.W., 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution* 32:550-570.
- CHESSER, R. K. & BAKER, R. J., 1986. On factors affecting the fixation of chromosomal rearrangements and neutral genes: computer simulations. *Evolution*, 40:625-632.
- CONTRERAS, J.R., 1988. *Ctenomys roigi*, Una nueva especie de "Anguyá Tutu" de la Provincia de Corrientes, Argentina (Rodentia: Ctenomyidae). En *Homenaje a Antonio Cano Gea*, 51-67. Almería, España: Centro de Estudios Almerianos, Diputación Provincial.
- CONTRERAS, J.R. & BERRY L.M., 1984. Una nueva especie del género *Ctenomys* procedente de la provincia de Santa Fé (Rodentia, Ctenomyidae). *Resúmenes VII Jornadas Argentinas Zoología*, Mar del Plata: 75
- CONTRERAS, J.R. & BERRY L.M., 1982a. *Ctenomys bonettoi*, una nueva especie de tucu-tucu procedente de la Provincia del Chaco, República Argentina (Rodentia, Octodontidae). Diagnosis preliminary. *Historia Natural* (Corrientes), 2: 123-124.
- CONTRERAS, J.R. & BERRY L.M., 1982b. *Ctenomys argentinus*, una nueva especie de tucu-tucu procedente de la Provincia del Chaco, República Argentina (Rodentia, Octodontidae). *Historia Natural* (Corrientes), 2: 165-173.
- CONTRERAS J.R. & DE CONTRERAS A.N. CH., 1984. Craneología y craneología del género *Ctenomys*. II. Craneometría. *Historia Natural* (Corrientes) 4(26):245-248.
- CONTRERAS, J.R. & DE CONTRERAS A. N. CH., 1984. Diagnosis preliminary de una nueva especie de "anguya-tutu" (género *Ctenomys*) para la provincia de Corrientes, Argentina (Mammalia, Rodentia). *Historia Natural* (Corrientes), 4: 131-132.
- CONTRERAS, J.R., ROIG V.G. & SUZARTE C.H., 1977. *Ctenomys validus*, una nueva especie de "tundueque" de la Provincia de Mendoza (Rodentia, Octodontidae). *Physis*, 36(92): 159-162.
- CONTRERAS, J.R. & SCOLARO J.A., 1986. Distribución y relaciones taxonómicas entre los cuatro núcleos geográficos disyuntos de *Ctenomys dorbigny* en la Provincia de Corrientes, Argentina (Rodentia, Ctenomyidae). *Historia Natural* 6 (3): 21-30.
- COOK, J.A. & YATES, T.L. 1990. Chromosomal and biochemical differentiation and the systematics of the bolivian tuco-tucos (Rodentia:Ctenomyidae). *Resúmenes Reunión conjunta de la Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos y la American Society of Mammalogist*. P.30.
- COYNE, J.A., 1984. Correlation between heterozygosity and rate of chromosome

- evolution in animals. *American Naturalist* 123: 725-729.
- COYNE, J.A. & BARTON, N.H., 1988. What do we know about speciation? *Nature* 331:485-486.
- CRACRAFT, J., 1989. Speciation and its ontology: The empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. En: *Speciation and its consequences*. D. Otte & J. A. Endler (Eds.). Sinauer Associates, Inc., Massachusetts: 28-59.
- CRISCI, J.V., 1982. Parsimony in evolutionary theory: law or methodological prescription? *J. Theor. Biol.* 97: 35-41.
- DE LORENZO, R.J. & RUDDLE F.H., 1970. Glutamate oxaloacetate transaminase (Got) genetics in *Mus musculus*: linkage, polymorphism and phenotypes of Got-2 and Got-1 loci. *Biochem. Genet.* 4: 259-273.
- DOBZHANSKY, TH., 1970. *Genetics of the evolutionary process*. Columbia University Press, New York.
- DUBOST, G., 1968. Les mammifères souterraines. *Rev Ecol Biol Sol* 5:99-137.
- ECHELLE, A. A. & KORNFIELD, I. (Eds.), 1984. *Evolution of fish species flocks*. University of Maine at Orono Press.
- EDWARDS, A.W.F. & CAVALLI-SFORZA, L.L., 1963. The reconstruction of evolution. *Ann. Hum. Genet.* 27:105.
- ELLERMAN, J.R., 1940. Rodents other than Muridae. En: *The families and genera of living rodents*, Vol. 1. British Museum (Natural History), London.
- ENDLER, J. A., 1977. Geographic variation, speciation, and clines. *Monographs in Population Biology* Nr 10. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- ESTABROOK, G. F., JOHNSON, C. S. JR., & MCMORRIS F. R., 1976a. A mathematical foundation for the analysis of character compatibility. *Mathematical Biosciences* 23: 181-187.
- ESTABROOK, G. F., JOHNSON, C. S. JR., & MCMORRIS F. R., 1976b. An algebraic analysis of cladistic characters. *Discrete Mathematics* 16: 141-147.
- FAITH, D.P., 1985. Distance methods and the approximation of most parsimonious trees. *Syst. Zool.* 34:312-325.
- FARRIS, J.S., 1970. Methods for computing Wagner trees. *Syst. Zool.* 19:83-92.
- FARRIS, J.S., 1972. Estimation phylogenetic trees from distance matrices. *Amer. Natur.* 106:645-668.
- FARRIS, J.S., 1977. Phylogenetic analysis under Dollo's law. *Syst. Zool.* 26:77-88.
- FARRIS, J.S., 1981. Distance data in phylogenetic analysis. En: *Advances in cladistics*, Pag. 3-24. V. A. Funk and D.R. Brooks (Eds.). Proceedings of the first meeting of the Willi Henning Society. New York Botanical Garden, New York.
- FEITO, R. & BARROS, C., 1982. Ultrastructure of the head of *Ctenomys maulinus* spermatozoon with special reference to the nucleus. *Gamete research* 5:317-321

- FEITO, R. & GALLARDO M., 1982. Sperm morphology of the Chilean species of *Ctenomys* (Octodontidae). *Journal of Mammalogy*, 63: 658-651.
- FELSENSTEIN, J., 1973. Maximum likelihood and minimum-steps methods for estimating evolutionary trees from data on discrete characters. *Syst. Zool.* 22:240-248.
- FELSENSTEIN, J., 1981a. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J. Mol. Evol.* 17:368-376.
- FELSENSTEIN, J., 1981b. Evolutionary trees from gene frequencies and quantitative characters: finding the maximum likelihood estimates. *Evolution* 35:1229-1242.
- FELSENSTEIN, J., 1983. Parsimony in systematics: Biological and statistical issues. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 14:313-333.
- FELSENSTEIN, J., 1984. Distance methods for inferring phylogenies: an justification. *Evolution* 38:16-24.
- FELSENSTEIN, J., 1988. Phylogenies from molecular sequences: inference and reliability. *Annu. Rev. Genet.* 22:521-565.
- FITCH, W. M. & MARGOLIASH, E., 1967. Construction of phylogenetic trees. *Science* 155:279-284.
- FORD, C. & HAMERTON, J., 1956. A colchicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain technol.* 31:247-251.
- FREITAS, T.R.O. & TRAVI V.H., 1982. Estudo citotaxonomico e distribuição geográfica de tres espécies do genero *Ctenomys* no Rio Grande Do Sul (Rodentia, Ctenomyidae). *Resumos 34a Reunião Anual Sociedade Brasileira Progresso Ciencias*: 755.
- FREITAS, T.R.O. & LESSA E.P., 1984. Cytogenetics and morphology of *Ctenomys torquatus* (Rodentia, Octodontidae). *Journal of Mammalogy*, 65: 637-642.
- FREITAS, T.R.O. & M.S. MATTEVI, 1986. Relação entre número cromossômico e morfologia en *Ctenomys minutus*, hering 1887 (Octodontidae-Rodentia). *Resumos 38a Reunião Anual Sociedade Brasileira Progresso Ciencias*: 917.
- GALLARDO, M., 1979. las especies Chilenas de *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). I. Estabilidad Cariotípica. *Arch Biol Med Exper de Chile*, 12: 71-82.
- GALLARDO, M., 1988. Variación de la heterocromatina en *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae). *Resumen IV Jornadas Argentinas Mastozoolía*: 30.
- GALLARDO, M., & PALMA, E., 1990. Genetic variation in Andean *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae). *Resúmenes Reunión conjunta de la Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos y la American Society of Mammalogist*. P.32.
- GITTENBERGER, E., 1988. Sympatric speciation insnails: A largely neglected model. *Evolution* 42:826-828.
- GRANT, V., 1977. *Organismic evolution*. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- GRANT, V., 1981. *Plant Speciation*, 2nd ed. Columbia University Press, New York.
- GREENBAUM, I. IF ED, M., 1984. Evidence for heterosynaptic pairing of the

- inverted segment in pericentric inversion heterocigotes of the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*). *Cytogenet. Cell Genet.*, 38:106-111.
- GROPP, A., WINKING, H. & REDI C.A., 1982. Consequences of Robertsonian heterozigosity: Segregational impairment of fertility versus male-limited sterility. En: P.S. Crossignani & S. Rubin (eds.), *Genetic Control of Gamete production and function*: 115-134. Academic Press, N. York.
- HALL, W. P., 1983. Modes of speciation and revolution in the sceloporine iguanid lizards. I. Epistemology of the comparative approach and introduction to the problem. En *Advances in herpetology and evolutionary biology*. A.G.J. Rhodin & K. Miyata (Eds.) Mus. Comp Zool., Harvard Univ., Cambridge, Massachusetts.
- HARRIS, H., 1966. Enzyme polymorphisms in man. *Proc. Roy. Soc. Ser. B*. 164: 298-310.
- HARRIS, H. & HOPKINSON D.A., 1972. Average heterozygosity in man. *J. Hum. Genet.* 36: 9-20.
- HEDRICK, P. W., 1981. The establishment of chromosomal variants. *Evolution*, 35:322-332.
- HERRERA, E., BERRIOS M., & BARROS C., 1978. Ultraestructura del espermio de *Abrocoma* sp. con especial referencia a la región acrosómica. *Arch Biol Med Exper de Chile* 11: R-80
- HONACKI, J.H., KINMAN K.E. & KOEPL J.W., 1982. *Mammal species of the world*. Allen Press & Association of Systematics Collections, 694 pp.
- HONEYCUTT, R.L. & WILLIAMS, S.L., 1982. Genic differentiation in pocket gophers of the genus *Pappogeomys* with comments on intergeneric relationships in the subfamily Geomyinae. *J. Mammal.* 63, 208-217.
- HUBBY, J.L. & LEWONTIN, R.C., 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudobscura*. *Genetics*, 54: 577-594.
- HUMPHRIES, J.M., BOOKSTEIN, F.L., CHERNOFF, B. B., SMITH, G.R., ELDER, R.L. & POSS, S.G., 1981. Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Syst. Zool.*, 30:291-308.
- HUNTER, R.L. & MARKET, C.L., 1975. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science* 125: 1294-1295.
- IMAI, H. T., 1983. Quantitative analysis of karyotype alteration and species differentiation in mammals. *Evolution* 37: 1154-1161.
- JOLICOEUR, P., 1963. The multivariate generalization of the allometry equation. *Biometrics*, 19:497-499.
- JONES, R. C., 1975. The ultrastructure of spermatozoa from some hystricomorph rodents. En Afzelius, B. (Ed.), *The functional anatomy of the spermatozoon*, 251-258. Oxford: Pergamon Press.
- KAISER, P., 1988. Pericentric Inversions: Their Problems and Clinical Significance. En *The Cytogenetics of Mammalian Autosomal Rearrangements*, 163-247. New York: Alan R. Liss, Inc.
- KIBLIK, P., -ZORRILLA N., PEREZ G. & SAEZ F.A., 1977. Variabilidad

- cromosómica entre diversas poblaciones uruguayas del roedor cavador del género *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). *Mendeliana*, 2: 85-93.
- KIM, J. & BURGMAN, M.A., 1988. Accuracy of phylogenetic estimation methods under unequal evolutionary rates. *Evolution* 42:596-602.
- KING, M., 1981. Chromosome change and speciation in lizards. Pages 262-285. En *Evolution and speciation* W.R. Atchley & D. Woodruff (Eds.). Cambridge Univ. Press, London.
- KING, M., 1987. Chromosomal rearrangements, speciation and the theoretical approach. *Heredity* 59: 1-6.
- KLUGE, A. G. & FARRIS, J.S., 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Syst. Zool.* 18:1-32
- KONDRASHOV, A. S. & MINA, M. V., 1986. Sympatric speciation: When is it possible? *Biol. J. Linnean Soc.* 27:201-223.
- LANDE, R., 1979. Effective deme size during longterm evolution estimated from rates of chromosomal rearrangement. *Evolution*, 33:234-251.
- LANDE, R., 1984. The expected fixation rate of chromosomal inversions. *Evolution*, 38:743-752.
- LANGGUTH, A. & ABELLA, A., 1970. Las especies uruguayas del género *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). *Comunicaciones Zoología Museo Historia Natural Montevideo*, 10(129):1-20
- LE QUESNE, W. J. 1969. A method of selection of characters in numerical taxonomy. *Syst. Zool.* 18: 201-205.
- LEE, M. R. & ELDER, F.F.B., 1980. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 26:36-40.
- LESSA, E. & LANGGUTH A., 1983. *Ctenomys pearsoni*. N. Sp. (Rodentia, Octodontidae), del Uruguay. *Resúmenes Comunicaciones Jornadas Ciencias Naturales*, Montevideo, 3: 86-88.
- LEVAN, A., K. FREDGA, & A. SANDBERG. 1964. Nomenclature for the centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52:201-220.
- LEWIS, H., 1962. Catastrophic selection as a factor in speciation. *Evolution*, 16:257-271.
- LEWONTIN, R.C., 1974. *The genetic basis of evolutionary change*. New York and London. Columbia University Press.
- LEWONTIN, R.C. & HUBBY, J.L., 1968. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural population. II-Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54: 595-609.
- LI, W. H., 1981. Simple method for constructing phylogenetic trees from distance matrices. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 78:1085-1089.
- MASSARINI, A., BARROS, M. A., ORTELLS, M. O. & REIG, O. A., *en prensa*. Evolutionary biology of fossorial Ctenomyine rodents. (Caviomorpha: Octodontidae). I. Chromosomal polymorphism and small karyotypic differentiation in Central Argentinian populations of tuco-tucos. *Genetica (P)*

- MASSARINI, A., BARROS, M. A., ORTELLS, M. O. & REIG, O. A., 1990. Citogenética de especies de tuco-tucos del centro y noroeste de Argentina. *Resúmenes Reunión conjunta de la Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos y la American Society of Mammalogist*. P.31
- SMITH, J., 1966. Sympatric speciation. *Am. Natur.* 104:487-490.
- MAYR, E., 1954. Change of genetic environment and evolution. En: *Evolution as a process*, 157-180. Huxley J., Hard A.C. & Ford, E. B. (Eds.). Allen & Unwin, London.
- , 1942. *Systematics and the origin of species*. Columbia University Press, New York.
- MAYR, E., 1963. *Animal species and evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- MAYR, E., 1969. *Principles of systematics zoology*. McGraw-Hill, New York, N.Y.
- MEYNE, J., RATLIFF, R.L. & MOYZIS, R.K., 1989. Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG)_n among vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 7049-7053.
- MEYNE, J., BAKER, R.J., HOBART, H.H., HSU, T.C., RYDER, O.A., WARD, O.G., WILEY, J.E., WURSTER-HILL, D.H., YATES, T.L. & MOYZIS, R.K., 1990. Distribution of non-telomeric sites of the (TTAGGG)_n telomeric sequence in vertebrate chromosomes. *Chromosoma* (Berl) 99:3-10.
- MICKEVICH, M.F. & JOHNSON, M. S., 1976. Congruence between morphological and allozyme data in evolutionary inference and character evolution. *Syst. Zool.* 25:260-270.
- MICKEVICH, M.F. & MITTER C., 1981. Treating polymorphic characters in systematics: A phylogenetic treatment of electrophoretic data. En *Advances in Cladistics*, p.p 45-60. V.A. Funk & D.R. Brooks, (Eds.). Proc. 1st. Meeting W. Henning Soc. New York Bot. Animal Garden.
- MICKEVICH, M.F. & MITTER C., 1983. Evolutionary patterns in allozyme data: A systematic approach. En *Advances in Cladistics*, 169-176. N.I. Platnick & V.A. Funk, (Eds.). Columbia Univ. Press, New York.
- MODI, W.S., 1987. Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the nearctic Arvicolidae (Mammalia: Rodentia). *Syst. Zool.* 36(2): 109-136.
- MORRISON, D.F., 1976. *Multivariate Statistical Methods*. 2nd Edition. McGraw-Hill.
- MOSIMAN, J. E., 1970. Size allometry: size allometry: size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. *J. Am. Stat. Assoc.*, 65:930-945.
- MOYZIS, R.K., BUCKINGHAM, J.H., CRAM, L.S., DANI, M., DEAVEN, L.L., JONES, M.D., MEYNE, J., RATLIFF, R.L. & WU, J.-R., 1988. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomers of human chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85: 6622-6626.
- MUELLER, D.L. & AYALA F.J., 1982. Estimation and interpretation of genetic distance in empirical studies. *Genet. Res.* 40: 127-137.
- MURRAY, J., 1972. *Genetic diversity and natural selection*. Oliver & Boyd, Edimburg.

- NACHMAN, M.W. & MYERS, P., 1989. Exceptional chromosomal mutations in a rodent population are not strongly underdominant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 86: 6666-6670.
- NAVEIRA, H. & FONTDEVILA, A., 1985. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. IX. High frequencies of new chromosome rearrangements induced by introgressive hybridization. *Chromosoma*, 91:87-94.
- NEFF, N. A. & MARCUS, L. F., 1980. *A survey of multivariate methods for systematics*. New York: privately published.
- NEI, M., 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.*, 106:283-291.
- NEI, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a smaller number of individuals. *Genetics*, 89:583-590.
- NEVO, E., 1979. Adaptive convergence and divergence of subterranean mammals. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 10:269-308.
- NEVO, E. 1986. Mechanisms of adaptive speciation at the molecular and organismal level. En Karlin S. & Nevo, E. (Eds.) *Evolutionary Processes and Theory*. New York: Academic Press, 439-474.
- NEVO, E. & BAR-EL, H., 1976. Hybridization and speciation in fossorial mole rats. *Evolution* 30:831-840.
- NEVO, E., BEILES, A. & BEN-SHLOMO, R., 1984. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates. En G.S. Mani (ed) *Evolutionary dynamics of genetic diversity. Lectures Notes in Biomathematics* 53:13-213.
- NEVO, E., BEN-SHLOMO R., BEILES, A., JARVIS, J.U.M. & HICKMAN, G., 1987. Allozyme differentiation and systematics of the endemic subterranean mole rats of South Africa. *Bioch. Syst. Ecol.* 15: 489-502.
- NEVO, E., TCHERNOV, E. & BEILES A., 1988. Morphometrics of speciating mole rats: Adaptive differentiation in ecological speciation. *Zool. Syst. Evolut-forsh* 26:286-314.
- NEVO, E., FILIPPUCI, M.G. & BEILES A., 1990. Genetic diversity and its ecological correlates in nature: Comparisons between subterranean, fossorial, and aboveground small mammals. En (Nevo, E. & Reig, O.A. Eds) *Evolution of Subterranean Mammals at the Organismal and Molecular level*: 347-366. Alan R. Liss, Inc. New York.
- NOVELLO, A. F. & LESSA E. P., 1986. G-band homology in two karyomorphs of the *Ctenomys pearsoni* complex (Rodentia: Octodontidae) of neotropical fossorial rodents. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 51: 378-380.
- ORTELLS, M. O., VITULLO A., MERANI M.S. & REIG O.A., 1984. Identidad cromosómica entre dos razas geográficas de tuco-tucos (*Ctenomys talarum*). *Revista Museo Argentino Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" e Instituto de Investigaciones de las Ciencias Naturales (Zoología)*, 13(50): 479-484.
- PALMER, A.R., 1985. Quantum changes in gastropod shell morphology need not reflect speciation. *Evolution* 39: 669-705
- PASCUAL, R., PISANO, J. & ORTEGA, E.J. 1965. Un nuevo Octodontidae (Rodentia, Caviomorpha) la Formación Epecuén (Plioceno Medio) de Hidalgo (Provincia: Pampa). *Ameghiniana* 4: 19-30.

- PATERSON, H. E. H., 1985. The recognition concept of species, En: E. S. Vrba (ed.) *Species and Speciation*. Transvaal Museum Monograph, 4: 21-29. Pretoria.
- PATERSON B., PASCUAL R., 1968. The fossil mammal fauna of South America. *Quart. Rev. Biol* 43: 409-451.
- PATTON, J.L., 1973. An analysis of natural hybridization between the pocket gophers *Thomomys bottae* and *Thomomys umbrinus* in Arizona. *J. Mamm.* 54:561-584.
- PATTON, J.L., 1980. Chromosomal and genic divergence, population structure, and speciation potential in *Thomomys bottae* pocket gophers. En O.A. Reig (Ed.) *Ecología y genética de la especiación animal*. Equinoccio. Universidad Simón Bolívar. Venezuela. Pp. 255-295.
- PATTON, J.L. & FEDER, J.H., 1978. Genetic divergence between populations of the pocket gopher, *Thomomys umbrinus* (Richardson). *Z. Säugert.* 43:17-30.
- PATTON, J.L. & SHERWOOD, S.W., 1982. Genome evolution in pocket gophers (Genus *Thomomys*). I. Heterochromatin variation and speciation potential. *Chromosoma* (Berl.) 83:149-162.
- PATTON, J.L. & SMITH, M.F., 1981. Molecular evolution in *Thomomys*: Phyletic systematics, paraphyly, and rates of evolution. *J. Mamm.* 62(3):493-500.
- PATTON, J.L. & SMITH, M.F., 1989. Population structure and the genetic and morphological divergence among pocket gopher species (Genus *Thomomys*). En: *Speciation and its consequences*. D. Otte & J. A. Endler (Eds.). Sinauer Associates, Inc., Massachusetts:284-304.
- PATTON, J.L., SMITH, M.F., PRICE, R.D., & HELLENTHAL, R.A., 1984. Genetics of hybridization between the pocket gophers *Thomomys bottae* and *Thomomys townsendii* in northeastern California. *Great Basin Natur.* 44:431-440.
- PATTON, J.L. & YANG, S.Y. (1977). Genetic variation in *Thomomys bottae* pocket gophers: macrogeographic patterns. *Evolution* 31:697-720.
- PATTON, J. L. & REIG, O.A., 1989. Genetic differentiation among echimyd rodents with emphasis on spiny rats, genus *Proechimys*. En Eisenberg & Redford (Eds.), *Advances in Neotropical Mammalogy in memory of R. Wetzel*: 1-18.
- PEARSON, O.P., 1959. Biology of the subterranean rodents, *Ctenomys*, in Peru. *Mem. Mus. Hist. Nat.* "Javier Prado", 9:1-56.
- PEARSON, O.P. & CHRISTIE M.I., 1985. Los tucos-tucos (Género *Ctenomys*) de los parques Nacionales Lanín y Nahuel Huapi, Argentina. *Historia Natural* (Corrientes), 5(37): 337-343.
- PENNY, D., 1982. Towards a basis for classification: the incompleteness of distance measures, incompatibility analysis and phenetic classification. *J. Theor. Biol.* 96:129-142.
- PRAKASH, S. LEWONTIN, R. & HUBBY, J.L., 1979. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations.IV. Patterns of genic variation in central, marginal, and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 61: 841-852.
- RAVEN, P.H., 1986. Modern aspects of the biological species in plants. Pp. 11-29. En K. Iwatsuki, P. H. Raven & W. J. Bock (Eds.), *Modern aspects of*

- REDI, C.A. & CAPANNA, E., 1988. Robertsonian heterozygotes in the house mouse and fate of their germ cells. En *The Cytogenetics of Mammalian Autosomal Rearrangements*, 315-359. New York: Alan R. Liss, Inc.
- REIG, O.A., 1970. Ecological notes on the fossorial octodont rodent *Spalacopus cyanus* (Molina). *J. Mamm.*, 51: 592-601.
- REIG, O.A., 1980a. Modelos de especiación cromosómica en las caquiraguas (Género *Proechimys*) de Venezuela. En O.A. Reig (Ed.) *Ecología y genética de la especiación animal*. Equinoccio. Universidad Simón Bolívar. Pp 149-190.
- REIG, O.A., 1980b. Breve reseña del estado actual de la teoría de la especiación. En O.A. Reig (Ed.) *Ecología y genética de la especiación animal*. Equinoccio. Universidad Simón Bolívar. Pp 11-44.
- REIG O.A., 1989. Karyotypic repatterning as a triggering factor in cases of explosive speciation. En A. Fontdevila (Ed.), *Evolutionary Biology of transient, unstable populations*, 82: 246-289. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- REIG, O.A., AGUILERA, M., BARNOS, M.A. & USECHE, M., 1980. Chromosomal speciation in a Rassenkreis of Venezuelan spiny rats (genus *Proechimys*, Rodentia, Echimyidae). En N.N. Vorontzov & J.M. van Brink (eds.), *Animal Genetics and Evolution (Genetica 52/53)*: 291-312.
- REIG, O. A., BUSCH C., ORTELLS M. O. & CONTRERAS J.R., 1990. An overview of evolution, systematics, population biology and speciation in *Ctenomys*. En *Biology of subterranean mammals at the organismal and molecular levels*, 71-96. E. Nevo & O.A. Reig (Eds.). New York: Alan R. Liss, Inc.
- REIG, O.A., CONTRERAS J.L., PIANTANIDA M., 1965. Contribución a la elucidación de la sistemática de las entidades del género *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). I. Relaciones de parentesco entre muestras de ocho poblaciones de tuco-tucos inferidas del estudio estadístico de variables del fenotipo y su correlación con las características del cariotipo. *Contribuciones Científicas Serie Zoología de la Universidad de Buenos Aires Facultad de Ciencias Exactas y Naturales*, 2:301-352.
- REIG, O.A. & KIBLISKY, P., 1969. Chromosome multiformity in the genus *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). A progress report. *Chromosoma* (Berlin), 28: 211-244
- REIG, O.A., OLIVO N. & KIBLISKY P., 1971. The idiogram of the Venezuelan vole mouse, *Akodon urichi venezuelensis* Allen (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenetics*, 10: 89-114.
- RICHARDSON, B.J. BAVERSTOCK, P.R. & ADAMS, M., 1986. *Allozyme Electrophoresis, a Handbook for Animal Systematics and Population Studies*. Academic Press. Australia. 410pp.
- ROFE, R. & HAYMAN, D., 1985. G-banding evidence for a conserved complement in Marsupialia. *Cytogenet. Cel Genet.*, 39:40-50.
- ROGERS, J.S., 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *Univ. Texas Publ.* 7213:145-153.

- correction". *Syst. Zool.*, 36: 356-367.
- ROHLE, F.J. & WOOTEN, M.C., 1988. Evaluation of the restricted maximum-likelihood method for estimating phylogenetic trees using simulated allele-frequency data. *Evolution* 42:581-595.
- ROIG, V. & REIG, O.A., 1969. Precipitin test relationships among argentinian species of the genus *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 30: 665-672.
- ROSEMBERG, A., 1986. Ignorance and disinformation in the philosophy of biology. *Biology & Philosophy* 1:461-471.
- ROSSI, M. S., REIG, O. A., & ZORZOPULOS J., 1990. Evidence for rolling-circle replication in a major satellite DNA from the south american rodents of the genus *Ctenomys*. *Mol. Biol. Evol.* 7(4): 340-350
- ROVERETO, C. 1914. Los Estratos Araucanos y sus fósiles. *Ann. Mus. Nac. Hist. Nat. Buenos Aires* 25: 1-247.
- RUSCONI, C., 1928. Dispersión geográfica de los tuco-tucos vivientes (*Ctenomys*) en la región Neotropical. *Anales Sociedad Argentina Est Geografía "Gaea"*, 3: 233-250.
- SAGE, R.O., CONTRERAS J.R., ROIG V.V. & FATION J.L., 1986. Genetic variation in the South American burrowing rodents of the genus *Ctenomys* (Rodentia: Ctenomyidae) *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 51: 158-172.
- SAITOU, N. & NEI, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetics trees. *Mol. Biol. Evol.* 4:406-425.
- SATTler, P. W. & HILBURN, L.R., 1985. A program of calculating genetic distance, and its use in determining significance difference in genetic similarity between two groups of populations. *J. Hered.* 76:400.
- SEABRIGHT, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, 2:971-972.
- SELANDER, R.K., 1970. Behavior and genetic variation in natural populations. *Am. Zool.* 10:53-66.
- SELANDER, R.K., 1976. Genetic variation in natural populations. En F.J. Ayala (Ed.) *Molecular Evolution*. Sinauer, Sunderland, M.A.
- SELANDER, R.K., SMITH, M.H., YANG, S.Y., JOHNSON, W.E. & GENTRY, J.B., 1971. IV. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse *Peromyscus polionotus*. *Stud. Genet. VI Univ. Texas Publ.* 7103: 49-90.
- SELANDER, R.K., KAUFMAN, D.W., BAKER, R.J. & WILLIAMS, S.L., 1974. Genic and chromosomal differentiation in pocket gophers of the *Geomys bursarius* group. *Evolution* 28: 557-564.
- SHAW, D.D., WILKINSON, P. & COATES, D.J., 1983. Increased chromosomal mutation rate after hybridization between two subspecies of grasshoppers. *Science*, 220:1165-1167.
- SHAW, CH.R., 1970. How many genes evolve?. *Biochem. Genet.* 4: 275-283.
- SIMON, C. & ARCHIE, J., 1985. An empirical demonstration of the lability of heterozygosity estimates. *Evolution* 39:463-467.

- SIMPSON, G.G. 1945. The principles of classification and a new classification of mammals. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 85: i-xvi + 1-350.
- SITES, J.W., Jr. & MORITZ C., 1987. Chromosomal evolution and speciation revisited. *Syst. Zool.*, 36(2):153-174.
- SITES, J.W., Jr., PORTER, C.A. & THOMPSON, P., 1987. Genetic structure and chromosomal evolution in the *Sceloporus gramicus* complex. *Natl. Geog. Res.* 3: 343-362.
- SLATKIN, M., 1981. Fixation probabilities and fixation times in a subdivided population. *Evolution*, 35:477-488.
- SMITHIES, O., 1959. An improved procedure for starch gel electrophoresis: further variation in the serum proteins of normal individuals. *Biochem. J.* 71:585-587.
- SNEATH, P.H.A. & SOKAL, R.R., 1973. *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman & Company, San Francisco.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J., 1969. *Biometry, the Principles and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman & Company, San Francisco. 776 pp.
- SOMERS, K.M., 1986. Multivariate allometry and removal of size with principal components analysis. *Syst. Zool.* 35(3):359-368.
- SOURDIS, J. & KRIMBAS, C., 1987. Accuracy of phylogenetic trees estimated from DNA sequence data. *Mol. Biol. Evol.* 4:159-166.
- SOURDIS, J. & NEI, M., 1988. Relative efficiency of the maximum parsimony and distance-matrix methods in obtaining the correct phylogenetic tree. *Mol. Biol. Evol.* 5:298-311.
- SPOTORNO, A.O., 1986. *Systematics and evolutionary relationships of Andean phyllotine and akodontine rodents*. PhD. Thesis. University of California, Berkeley.
- STENT, G.S., 1986. Glass bead game. *Biology & Philosophy*, 1:227-247.
- STOCK, A.D. 1981. Chromosomal variation and constitutive heterochromatin in three porpoise species (genus *Stenella*). *Cytogenet. Cell. Genet.* 31:91-100.
- SWOFFORD, D.L., 1985. PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony, version 2.4. *Illinois Nat. Hist. Survey*, Champaign, Illinois.
- SWOFFORD, D.L., & SELANDER R.B., 1981. BIOSYS-1: A Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Hered.*, 72:281-283.
- SWOFFORD D. L. & BERLOCHER S. H., 1987. Inferring evolutionary trees from gene frequency data under the principle of maximum parsimony. *Syst. Zool.* 36(3):293-325.
- TATE, G.H.H., 1935. The taxonomy of the genera of Neotropical hystricoid rodents. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 68:295-447
- TATENO, Y., NEI, M. & TAJIMA, F., 1982. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. I. Distantly related species. *J. Mol. Evol.* 18:387-404.

- TAUBER, C. A. & TAUBER, M. J., 1989. Sympatric speciation in insects: perception and perspective. En: *Speciation and its consequences*. D. Otte & J. A. Endler (Eds.). Sinauer Associates, Inc., Massachusetts:307-344.
- TEISSIER, G., 1960. Relative growth. Pag. 537-560 En *The physiology of crustacea*. I. Metabolism and growth (T. H. Waterman, ed.) Academic Press, New York.
- TEMPLETON, A. R., 1980. Modes of speciation and inferences based on genetic distances. *Evolution* 34:719-729.
- TEMPLETON, A. R., 1981. Mechanisms of speciation - a population genetic approach. *Annu. Rev. Ecol. System.* 12:23-48.
- TEMPLETON, A. R., 1982. Genetic architectures of speciation. En *Mechanisms of speciation*, Pp. 105-121. C. Barigozzi (ed.). A.R. Liss, Inc., New York.
- TEMPLETON, A. R., 1989. The meaning of species and speciation. En: *Speciation and its consequences*. D. Otte & J. A. Endler (Eds.). Sinauer Associates, Inc., Massachusetts:3-27.
- TEMPLETON, A. R., DE SALLE, R. & WALBOT, V., 1981. Speciation and inferences on rates of molecular evolution from genetic distances. *Heredity*, 47:439-442.
- THAELER, C.S., 1968. Karyotypes of sixteen populations of the *Thomomys talpoides* complex of pocket gophers (Rodentia- Geomyidae). *Chromosoma* 25:172-183.
- THAELER, C.S. & NEVO, E. 1973. Cytotaxonomys an evolution of the *thomomys talpoides* complex of pocket gophers from the southern Rocky Mountains. *Abstracts ICSEB*, Colorado.
- THOMAS, O., 1916. Two new Argentine rodents, with a new subgenus of *Ctenomys*. *Annals Mag Natural History*, 18: 303-306
- THOMPSON, P. & SITES, J.W. JR., 1986. Comparison of population structure chromosomally polytypic and monotypic species of *Sceloporus* (Sauria: Iguanidae) in relation to chromosomally-mediated speciation. *Evolution* 40:303-314.
- THORPE, R.S., 1983. A review of the numerical methods for recognising and analysing racial differentiation. En *Numerical Taxonomy* J. Felsenstein (Ed.). NATO Advanced Sciences Institute, Series G: Ecological Sciences No. 1. Berlin: Springer-Verlag.
- TRAVI, V.H., 1981. Preliminary note on a new species of the genus *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae). *Iheringia Series Zoologia*, 60: 123-124.
- VALENTINE, J. W. & F.J. AYALA, 1975. Genetic variation in *Frieleia halli*, a deep-sea brachiopod. *Deep-Sea Research* 22:37-44.
- VIDAL-RIOJA, L., 1985. Chromosome polymorphism in *Ctenomys talarmum* (Rodentia: Octodontidae) *Caryologia*, 38: 169-178.
- VILLARROEL, C., 1975. Dos nuevos Ctenomyinae (Cavio orpha, Rodentia) en los estratos de la Formación Umala (Plioceno Superior) de Viscachani (Prov. Aroma, Depto. La Paz, Bolivia). *Actas Primer Congr Argent Paleont Bioestratigr Tucumán* 12-16 Agosto 1974, 2:495-503. Asociación Paleontológica Argentina, Tucumán.

- VITULLO, A., ROLDAN E.R.S. & MERANI M. S., 1988. On the morphology of spermatozoa of Tucu-tucos, *Ctenomys* (Rodentia: Ctenomyidae): New data and its implications for the evolution of the genus. *Journal of Zoology*, London, 215: 675-683.
- WAHRMAN, J., RICHLER, C., GAMPERL, R. & NEVO, E., 1985. Revisiting *Spalax*: Mitotic and meiotic chromosome variability. *Isr. J. Zool.* 33:15-38.
- WALSH, J.B., 1982. Rate of accumulation of reproductive isolation by chromosome rearrangements. *Am. Nat.*, 120:510-532.
- WAYNE, R. K., NASH W. G. & O'BRIEN, S. J., 1987. Chromosomal evolution of the Canidae. II. Divergence from the primitive carnivore karyotype. *Cytogenet. Cell Genet.*, 44:134-141.
- WILBY, E. O., 1981. *Phylogenetics. The theory and practice of phylogenetic systematics*. Wiley, New York.
- WILSON, A.C., SARICH, V.M. & MAXSON, L.R., 1974. The importance of gene rearrangement in evolution: evidence from studies on rates of chromosomal, protein and anatomical evolution. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 71:3028-3030.
- WILSON, A.C., BUSH G. L., CASE S. M., & KING M. C., 1975. Social structuring of mammalian populations and rate of chromosomal evolution. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 72:5061-5065.
- WILSON, D.S., 1989. The diversification of single gene pools by density- and frequency-dependent selection. En: *Speciation and its consequences*. D. Otte & J. A. Endler (Eds.). Sinauer Associates, Inc., Massachusetts:366-385.
- WHITE, M.J.D., 1968. *Modes of speciation*. W.H. Freeman & Co. San Francisco.
- WHITE, M.J.D., 1978. Chain processes in chromosomal speciation. *Syst. Zool.*, 27:285-298.
- WILEY, E.O., 1981. *Phylogenetics. The theory and practice of phylogenetic systematics*, Wiley, New York, N.Y.
- WILSON, A.C., 1976. Gene regulation in evolution. In: Francisco Ayala (ed), *Molecular evolution*: 225-234. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass.
- WOODS, C.A., 1984. Hystricognath rodents. In S. Anderson & J. Knox Jones Jr (Eds.) *Orders and families of recent mammals of the world*, 389-446. New York: John Wiley & Sons.
- WRIGHT, S., 1969. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 2. The theory of gene frequencies. University of Chicago Press, Chicago.
- YATES, T.L. & MOORE, D.W., 1990. Speciation and evolution in the family Tupiidae (Mammalia: Insectivora). En *Biology of subterranean mammals at the organismal and molecular levels*, 1-22. E. Nevo & O.A. Reig (Eds.). New York: Alan R. Liss, Inc.
- ZAMBRANO, I.F., 1983. Estudio de la zona de contacto entre las formas cromos[ómicas 2n 42 y 2n 44 de la superespecie *Proechimys (guariae)* (Rodentia: Echimyidae). Seminario de Licenciatura, Universidad Simón Bolívar

APENDICE

7. APÉNDICE

Apéndice: Listado de localidades típicas de las especies conocidas de *Ctenomys*. Compilado por J. R. Contreras y brevemente modificado aquí.

- Ctenomys argentinus* Contreras and Berry, 1982. Hist. Nat. 2 (2): 166. Localidad típica: 27 Km N General San Martín, Departamento Libertador General San Martín; Prov. de Chaco, Arg. 26° 36' S, 59° 15' W.
- Ctenomys australis* Rusconi, 1934. Rev. Chil. Hist. Nat., 34: 108. Localidad típica: Necochea, Partido de Necochea, Provincia de Buenos Aires, Arg. 38° 33' S, 58° 45' W; 0-10 m.s.n.m.
- Ctenomys azarae* Thomas, 1903. Ann. Mag. Nat. Hist. (7) 11: 228. Localidad típica: General Acha, Departamento de Utracán, Provincia de La Pampa, Arg. 37° 45' S, 65° 00' W; 216 m.s.n.m.
- Ctenomys bergi* Thomas, 1902, Ann. Mag. Nat. Hist. (7) 2: 241. Localidad típica: Cruz del Eje, Departamento de Cruz del Eje, Provincia de Córdoba, Arg., 30° 44' S, 64° 48' W.
- Ctenomys bicolor* Miranda Ribeiro, 1914. Com. Linh. Telegr. Estrat. Anexo 5, Zool.: 41. Localidad típica: Mato Grosso, Brasil.
- Ctenomys boliviensis* Waterhouse, 1848, Nat. Hist. Mammalia, 2: 278. Localidad típica: Santa Cruz de la Sierra, Departamento Santa Cruz, Bolivia, 480 m.s.n.m. 17° 48' S, 63° 10' W.
- Ctenomys bonettoi* Contreras and Berry, 1982, Hist. Nat. 2 (14): 123. Localidad típica: 7.5 Km SW de Capitán Solari, Departamento Sargento Cabral, Provincia de Chaco, Argentina. m.s.n.m. 26°48'S, 59°33'W.
- Ctenomys brasiliensis* Blainville, Bull. Soc. Philomat., 1826: 62. Localidad típica: Minas Gerais, Brasil.
- Ctenomys colburni* J.A. Allen, 1903, Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 9:188. Localidad típica: "Basaltic canyons", Arroyo Aikén, 50 millas al SE Lago Buenos Aires, Provincia de Santa Cruz Argentina. 48°40'S, 70°30'W.
- Ctenomys coludo* Thomas, 1920. Ann. Mag. Nat. Hist., (9) 6:119. Localidad típica: La Puntilla, sur de Tinogasta, Provincia de Catamarca. 1000 m.s.n.m. 28°04'S, 67°34'W.
- Ctenomys conoveri* Osgood, 1946, Fieldiana, Zoology, 31 (6):47. Localidad típica: Colonia Fernheim, 16 km W de Filadelfia, Departamento de Boquerón (Boreal Chaco), Paraguay. 175 m.s.n.m. 22°15'S, 60°10'W.
- Ctenomys dorbignyi* Contreras & Contreras, 1984, Hist. Nat. (Corr) 4(13):133. Type locality: Mbarigüí, Departamento de Berón de Astrada, Prov. de Corrientes, Argentina. 54 m.s.n.m. 27°33'S, 57°31'W.
- Ctenomys dorsalis* Thomas, 1900, Ann. Mag. Nat. Hist., (6)7:385. Localidad típica: No bien definida: "Nortern Chaco de Paraguay" (Thomas, 1900:385).
- Ctenomys emilianus* Thomas and St. Leger, 1926, Ann. Mag. Nat. Hist., (9)18:637. Localidad típica: Chos Malal, Provincia de Neuquén, Argentina. 805 m.s.n.m. 37°23'S, 70°16'W.

- Ctenomys famosus* Thomas, 1920. Ann. Mag. Nat. Hist., (9)6:420. Localidad típica: Potrerillo, Sierra de Famatina, Provincia de La Rioja, Argentina. 2600 m.s.n.m. 25°50'S, 67°27'W.
- Ctenomys flamarioni* Travi, 1981, Iheringia, Ser. Zool., (60):123. Localidad típica: Fazenda Caçapava, Estação Ecologica do Traim, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil 5-10 m.s.n.m. 32°52'S, 52°32'W.
- Ctenomys fochi* Thomas, 1919, Ann. Mag. Nat. Hist. (9)3:117. Localidad típica: Chumbicha, Provincia de Catamarca, Argentina, 415 m.s.n.m. 28°52'S, 66°14'W.
- Ctenomys fodax* Thomas, 1910, Ann Mag Nat Hist (8) 5:239. Localidad típica: Valle del Lago Blanco, Provincia de Chubut, Argentina. 575 m.s.n.m. 45°54'S, 71°45'W.
- Ctenomys frater* Thomas, 1902, Ann. Mag. Nat. Hist., (7)9:228. Localidad típica: Potosí, Bolivia, 4300 m.s.n.m. 19°35'S, 65°45'W.
- Ctenomys fulvus* Philippi, 1860, Reise Wüste Atacama: 157, table 1. L. Localidad típica: Near Pingo-Pingo, Provincia de Atacama, cerca de 24° latitud S.
- Ctenomys goodfellowi* Thomas, 1921, Ann. Mag. Nat. Hist., (9)7:136. Localidad típica: Esperanza, cerca de Concepción, Provincia de Nuflo de Chaves, Departamento de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, 400 m.s.n.m. 16°15'S, 62°04'W.
- Ctenomys haigi* Thomas, 1919, Ann. Mag. Nat. Hist., (9)3:210. Localidad típica: El Maitén, Provincia de Chubut, Argentina, 700 m.s.n.m. 42°03'S, 71°10'W).
- Ctenomys johannis* Thomas, 1921, Ann. Mag. Nat. Hist., (9):523. Localidad típica: Cañada Honda, Provincia de San Juan, Argentina, 600 m.s.n.m. 31°59'S, 68°33'W.
- Ctenomys juris* Thomas, 1920, Ann. Mag. Nat. Hist., (9)5:194. Localidad típica: El Chaguaral, entre San Pedro y Villa Carolina, Provincia de Jujuy, Argentina. 500 m.s.n.m. 24°16'S, 64°48'W.
- Ctenomys knightii* Thomas, 1919, Ann. Mag. Nat. Hist., (9)3:498. Localidad típica: Otro Cerro, Sur de Sierra de Ambato, NE de Chumbicha, Provincia de Catamarca, Argentina. 3000 m.s.n.m. 28°32'S, 66°20'W.
- Ctenomys latro* Thomas, 1918, Ann. Mag. Nat. Hist., (9)31:38. Localidad típica: Tapia, Provincia de Tucumán, Argentina. 689 m.s.n.m. 26°36'S, 65°18'W.
- Ctenomys leucodon* Waterhouse, 1848, Nat. Hist. Mammalia, 2:281. Localidad típica: San Andres de Machaca, sur del Lago Titicaca, Departamento de La Paz, Bolivia. 4000 m.s.n.m. 16°30'S, 68°40'W.
- Ctenomys lewisi* Thomas, 1926, Ann. Mag. Nat. Hist., (9)17:323. Localidad típica: Sama, 50 Km W Tarija, Departamento de Tarija, Bolivia, 4000 m.s.n.m. 21°31'S, 65°10'W.
- Ctenomys magellanicus* Bennett, 1836, Proc.Zool. Soc. London. 1835:190. Localidad típica: Bahía de San Gregorio, Estrecho de Magallanes, Provincia de Aisen, Chile, 0 m.s.n.m. 52°25'S, 69°45'W.
- Ctenomys maulinus* Philippi, 1872, Zeitschr. Ges. Naturw.,(N.F.), 6:442.
Localidad típica: Laguna del Maule, Provincia de Talca, Chile,

36°00'S, 70°40'W.

- Ctenomys mendocinus* Philippi, 1869, Arch. Naturg., 1:38. Localidad típica: Mendoza, Departamento Capital, Provincia de Mendoza, Argentina, 980 m.s.n.m. 32°53'S, 68°49'W.
- Ctenomys minutus* Nehring, 1887, Sitzungsber. Ges. Naturf. Fr. Berlin, 1887:47. Localidad típica: Mundo Novo (=Taquara do Mundo Novo, Reig et al., 1965:315; =Taquara, Belton, 1985: Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 180: 206), Estado do Rio Grande do Sul, Brasil 10 m.s.n.m. 29°39'S, 50°47'W.
- Ctenomys nattereri* Wagner, 1848, Arch. Naturg., 1848 (1):72. Localidad típica: Caissora (Caicara, Cabrera, 1961:553; =Caceres, Anderson et al., 1987:11), Brasil, 200 m.s.n.m., 16°00'S, 57°45'W.
- Ctenomys occultus* Thomas, 1920, Ann. Mag. Nat. Hist. (9)6:243. Localidad típica: Monteagudo, 80 Km SE San Miguel de Tucumán, Provincia de Tucumán, Argentina. 296 m.s.n.m. 27°31'S, 65°17'W.
- Ctenomys opimus* Wagner, 1848, Arch. Naturg., 1848 (1):75. Localidad típica: Originally "Bolivia" (Wagner, 1848), restringido por Thomas (1900, Ann. Mag. Nat. Hist. 7, 6:383) al Monte Sajama, Departamento de Oruro, Bolivia, 3000-4000 m.s.n.m. 18°78'S, 69°00'W.
- Ctenomys pearsoni* Lessa y Langguth, 1983, Res. Congr. C. Nat. Montevideo, 3:86. Localidad típica: Arroyo Limetes, 25 Km SE de Carmelo, Departamento de Colonia, Uruguay.
- Ctenomys perrensi* Thomas, 1896, Ann. Mag. Nat. Hist. (9)2:311. Localidad típica: Goya, Departamento de Goya, Provincia de Corrientes, Argentina, 37 m.s.n.m. 29°08'S, 59°16'W.
- Ctenomys peruanus* Sanborn y Pearson, 1947, Proc. Biol. Soc. Wash., 60:135. Localidad típica: Pisacoma, Departamento de Puno, Perú, 4200 m.s.n.m.
- Ctenomys pontifex* Thomas, 1918, Ann. Mag. Nat. Hist. (9)1:39. Localidad típica: Más probablemente 25 de Mayo, Provincia de Mendoza, Argentina. Originalmente dada por Thomas (1918:40) como "East side of the Andes near Fort San Rafael, Provincia de Mendoza", posteriormente restringida por Cabrera (1961:555) a San Rafael, Mendoza, Argentina. Sin embargo, el viejo fuerte San Rafael fue situado en lo que hoy es 25 de Mayo, 20 Km al oeste de la actual ciudad de San Rafael y ubicada en 34°36'S, 68°32'W.
- Ctenomys porteousi* Thomas, 1916, Ann. Mag. Nat. Hist. (8)18:304. Localidad típica: Bonifacio, SE de la Provincia de Buenos Aires, Argentina, 100 m.s.n.m. 36°49'S, 62°13'W.
- Ctenomys pundti* Nehring, 1900, Zool. Anz., 23:420. Localidad típica: Alejo Ledesma, Departamento Marcos Juárez, Provincia de Córdoba, Argentina, 22 m.s.n.m. 33°38'S, 65°37'W.
- Ctenomys rionegrensis* Langguth y Abella, 1970, Com. Zool. Mus. Hist. Nat. Montevideo, 10(129):13. Localidad típica: Balneario Los Cañas, 7 km SW Fray Bentos, Departamento de Rio Negro, Uruguay 100 m.s.n.m. 33°06'S, 58°20'W.
- Ctenomys roigi* Contreras, 1988, Libro Homenaje A. Cano Gea: 51-67, Almería, España. Localidad típica: Costa Mansion, 10 Km S Empedrado, Departamento de Empedrado, Provincia de Corrientes, Argentina, 60

m.s.n.m. 28°02'S, 58°49'W.

- Ctenomys saltarius* Thomas, 1912, Ann. Mag. Nat. Hist. (8)10:639. Localidad típica: Vagamente designada como "Salta, N Argentina" (Thomas, op. cit.: 639)
- Ctenomys sericeus* Allen, 1903, Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 19:187. Localidad típica: "Cordilleras", Río Chico, Provincia de Santa Cruz, Argentina. Posteriormente Allen (1905 Rep. Princeton Univ. Exped. to Patagonia 3, Zool., 1:45) fijó la localidad típica en la confluencia de los ríos Belgrano y Chico "in the valley, closeto the river" 400 m.s.n.m. 52°15'S, 70°35'W.
- Ctenomys sociabilis* Pearson y Christie, 1985, Hist. Nat. (Corr.), 5(37):338. Localidad típica: Estancia Fortín Chacabuco, 3 km S, 2 km W de Sierras de Puntudo, Departamento Los Lagos, Provincia de Neuquén, Argentina, 1075 m.s.n.m. 40°58'S, 71°11'W.
- Ctenomys steinbachi* Thomas, 1907, Ann. Mag. Nat. Hist. (7), 20:164. Localidad típica: "Fields" de la Provincia de Sara, cerca de Santa Cruz de la Sierra, Departamento de Santa Cruz, Bolivia, 700 m.s.n.m. 16°50'S, 63°55'W
- Ctenomys talarum* Thomas, 1898, Ann. Mag. Nat. Hist. (7) 1:285. Localidad típica: Las Talas, cerca del Río de la Plata, E de La Plata, Partido de Berisso, Provincia de Buenos Aires, Argentina, 10 m.s.n.m. 34°52'S, 57°53'W.
- Ctenomys torquatus* Lichtenstein, 1830, Darstellung. Säugeth., Taf.21, fig.1. Localidad típica: No bien establecida. Quizás sur de Brasil, cerca de Lages (Río Pelotas), (Langguth y Abella, 1970:8,9). Ver también Reig et al 1965:346).
- Ctenomys tuconax* Thomas, 1925, Ann. Mag. Nat. Hist. (9)15:583. Localidad típica: Concepción, Departamento de Concepción, Provincia de Tucumán, Argentina, 500 m.s.n.m. 27°20'S, 63°35'W.
- Ctenomys tucumanus* Thomas, 1900, Ann. Mag. Nat. Hist. (7)6:301. Localidad típica: Tucumán, Departamento Capital, Provincia de Tucumán, 450 m.s.n.m. 26°49'S, 65°13'W.
- Ctenomys tulduco* Thomas, 1921, Ann. Mag. Nat. Hist. (9)8:218. Localidad típica: Los Sombreros, Sierra de Tontal, Provincia de San Juan, Argentina, 2700 m.s.n.m. 31°33'S, 69°11'W.
- Ctenomys validus* Contreras, Roig y Suzarte, 1977, Physys, (C) 36(92):160. Localidad típica: El Algarrobal, Médanos del Borbollón, Departamento de Guaymallén, Provincia de Mendoza, Argentina, 650 m.s.n.m. 32°50'S, 68°40'W.
- Ctenomys viperinus* Thomas, 1926, Ann. Mag. Nat. Hist. (9)17:605. Localidad típica: Norco, cerca de Vipos, Departamento de Trancas, Provincia de Tucumán, 2500 m.s.n.m. 26°29'S, 65°22'W.
- Ctenomys yolandae* Contreras y Berry, 1984, Res. VII Jorn. Arg. Zool: 75. Localidad típica: Las Palmas, Departamento de General Obligado, Provincia de Santa Fe, Argentina 50 m.s.n.m. 29°25'S, 59°40'W