

AISLAMIENTO POR DISTANCIA Y SELECCIÓN EN POBLACIONES DE *Anolis onca* AL NORESTE DE LA PENÍNSULA DE ARAYA, ESTADO SUCRE, VENEZUELA

ISOLATION BY DISTANCE AND SELECTION IN *Anolis onca* POPULATIONS IN NORTHEAST ARAYA PENINSULA, SUCRE STATE, VENEZUELA

ALEJANDRA TEJADA¹, ANA BONILLA RIVERO², LUIS ALEJANDRO GONZÁLEZ S.³,
JENNIFFER VELÁSQUEZ¹, HÉCTOR LÓPEZ ROJAS²

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Instituto de Zoología y Ecología Tropical, ¹Postgrado en Zoología, ²Laboratorio de Ictiología, Caracas, Venezuela, ³Universidad Santa María, Decanato de Postgrado, Ciencias de la Educación, Caracas, Venezuela.
E-mail: ana.bonilla@ciens.ucv.ve

RESUMEN

Al norte de la península de Araya en Venezuela se localiza la especie de lagarto *Anolis onca*, cuyas poblaciones pueden haber quedado aisladas a finales del Cretácico y luego reconectarse a través de un nuevo istmo, por procesos sedimentarios durante el Cuaternario. Se utilizó la técnica de electroforesis en gel de almidón para estimar variabilidad genética intrapoblacional, diferenciación interpoblacional (F_{ST}) y flujo génico ($N_e m$). Con base en estas estimaciones se propone una aproximación filogenética para cinco subpoblaciones de este lagarto, bajo la premisa de que existe diferenciación genética entre las mismas bajo el modelo de aislamiento por distancia (IBD). Los valores de distancias genéticas (D) que incrementan entre las subpoblaciones dispuestas de manera consecutiva en dirección Guayacán hacia Chacopata y la marcada estructuración estimada mediante el parámetro F_{ST} sugieren la existencia del modelo IBD; sin embargo, los valores de $N_e m$ no se corresponden con este modelo, sugiriendo que las subpoblaciones estudiadas se encuentran conectadas pero que han sido moldeadas por procesos evolutivos independientes. Los dos clados obtenidos en el análisis filogenético no agrupan a las poblaciones geográficamente más cercanas, ya que el clado B (Chacopata+Istmo Sur) está presente en áreas de origen geológico antiguo, mientras que el clado A [(Istmo Centro+Istmo Norte)+Guayacán] ocupa zonas de origen sedimentario más reciente. Es razonable entonces proponer que otros factores, además de la distancia geográfica entre las subpoblaciones, también estén condicionando la estructuración de las mismas.

PALABRAS CLAVE: Reptilia, variabilidad genética, vicarianza, flujo génico, filogenia.

ABSTRACT

Anolis onca is a lizard species located in the Araya peninsula, in northern Venezuela. Populations of this species may have been isolated in the late Cretaceous and later recombined during the Quaternary through a new isthmus by sedimentary processes. To test this assumption, in five populations of *A. onca*, starch gel electrophoresis was used to estimate genetic variability within populations, interpopulation differentiation (F_{ST}), and gene flow ($N_e m$). Additionally, under the premise of genetic differentiation between subpopulations under the isolation by distance (IBD) model, we conducted a phylogenetic analysis for five subpopulations of this lizard. Increases of genetic distance values (D) between subpopulations arranged consecutively between the Chacopata and Guayacán locations and a clear structuration as estimated by the F_{ST} parameter, evidence isolation by distance as indicated by the IBD model. However, $N_e m$ values did not conform to this model, suggesting that the subpopulations, although actually connected, may have been shaped by independent evolutionary processes. The two clades resulting from the phylogenetic analysis do not group populations closer geographically since clade B (Chacopata+Istmo Sur) lies in areas geologically ancient whereas clade A [(Istmo Centro+Istmo Norte)+Guayacán] occupies areas of recent sedimentary origin. It is thus reasonable to infer that other factors besides the geographical distance between subpopulations may have also conditioned the structure found.

KEY WORDS: Reptilia, genetic variability, vicariance, gene flow, phylogeny.

INTRODUCCIÓN

Entre los procesos evolutivos que condicionan principalmente la distribución a gran escala de las biotas destacan la vicarianza y la dispersión; el primero se refiere al fraccionamiento del intervalo de distribución

original de una población, y el segundo a la capacidad de movilización de los individuos perteneciente a una población. A menor escala, Kimura y Weiss (1964) señalan que en las poblaciones naturales los individuos frecuentemente tienden a distribuirse más o menos de forma discontinua formando numerosas colonias o

subpoblaciones, con intercambio de individuos entre las colonias adyacentes o colonias más cercanas. Los cruzamientos al azar están limitados por las distancias (Wright 1943), de modo que los individuos tendrán mayor probabilidad de aparearse con sus vecinos que con individuos más lejanos (Hey y Machado 2003). Slatkin y Barton (1989) consideran que este tipo de modelo representa el extremo de la dispersión limitada, donde la tasa de migración hacia poblaciones vecinas dependerá de las distancias que separan a las poblaciones muestreadas.

Es ampliamente conocido el efecto homogeneizante que puede ejercer la migración de individuos entre poblaciones debido al intercambio de material genético. Este intercambio puede modificar las frecuencias alélicas de las poblaciones reproductoras que han sido parcial o completamente separadas con tiempo suficiente para haber desarrollado diferentes frecuencias alélicas; es decir, una población aislada durante un período prolongado en el mismo entorno, se ha especializado y ha logrado un óptimo *fitness* (aptitud), el cual puede ser interrumpido por el comienzo de la migración (Gardner y Snustad 1981, Hartl y Clark 1997).

A los fines de comprender los efectos homogeneizadores de la migración, Hartl (2000) propone que es útil estudiar algunos modelos de la estructura de la población. Estos modelos han sido de gran ayuda para comprender cómo la geografía y el intercambio génico limitado pueden condicionar los patrones de variación genética. Dentro de estos modelos estructurales destaca el de aislamiento por distancia (*IBD*, por sus siglas en inglés) desarrollado por Wright (1943, 1946) para describir la acumulación de diferencias genéticas locales en virtud de una dispersión geográfica restringida. Comúnmente, este análisis se basa en el modelo *stepping-stone*, de una o dos dimensiones, el cual utiliza la relación entre F_{ST} y el número de migrantes, para cuantificar el flujo génico (Rousset 1997). El modelo *stepping-stone* de una dimensión consiste en que cada generación de individuos tienden a migrar “un paso” en ambas direcciones entre colonias adyacentes, mientras que el de dos dimensiones asume que la población entera está distribuida en forma de una matriz rectangular de colonias, donde cada una de ellas ocupa un punto; en cada generación, un individuo de cada colonia migra hacia cuatro colonias circundantes, pero el número efectivo de la población en cada colonia (N_e) sigue siendo el mismo (Kimura y Weiss 1964).

Por otra parte, cada vez cobran más fuerza los trabajos con enfoque multifactorial al estudiar las estructuras

demográfica y genética dentro de las poblaciones con distribuciones discontinuas, ya que éstas también son modeladas por procesos de selección, recombinación y mutación (Crispo y Hendry 2005, Garant *et al.* 2007, Rosenblum *et al.* 2007, Crispo 2008). Por ello, los estudios de flujo génico y estructura de las poblaciones naturales deberían involucrar la determinación de diversas variables, cuyos efectos individuales o combinados pueden alterar los patrones de distribución de la biota, dificultando la interpretación de los mismos. Al respecto, Slatkin (1993) ha señalado que el flujo génico podría impedir la diferenciación en algunos loci neutros o que están bajo una selección débil, pero no en aquellos loci que se encuentren bajo una selección fuerte; además, el tiempo necesario para alcanzar los estados de equilibrio de cada locus dependerá tanto del grado de flujo génico, como de la fuerza de la selección, por lo que los loci fuertemente seleccionados alcanzarán sus frecuencias de equilibrio mucho más rápidamente que los loci neutros o débilmente seleccionados. Igualmente, la colonización de nuevos ambientes involucra interacciones complejas entre efecto fundador, selección y migración, y puede producir diversas consecuencias evolutivas, que van desde extinciones locales hasta adaptación y especiación (Rosenblum *et al.* 2007).

En este contexto, los lagartos representan un grupo de estudio adecuado por su adaptabilidad a nuevos hábitats y alta capacidad dispersiva. Dentro de los lagartos, el género *Anolis* representa uno de los grupos más estudiados en diferentes aspectos, prestándole especial atención como ejemplo de radiación adaptativa en la región del Caribe (Irschick *et al.* 1997, Losos y Thorpe 2004). Particularmente la especie *Anolis onca*, conocida comúnmente como “saca banderas” debido al pliegue gular que posee (Fig. 1), constituye un taxón muy interesante por su patrón de distribución geográfica aparentemente disyunto, ya que habita en espinares xerófilos costeros de Venezuela (Barros *et al.* 2007), abarcando localidades continentales en la región nortecostera del país, como la península de Araya del estado Sucre (González *et al.* 2004) y en la Guajira venezolana (Infante 2009) e insulares, como la Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, y algunas Dependencias Federales (Bisbal 2008). Su presencia al norte de la península de Araya, en toda la región de la península de Chacopata, es de especial interés, ya que esta localidad presenta una historia geomorfológica muy dinámica y bastante bien documentada, definida por procesos de fraccionamiento y reconexión con la masa continental. Tomando en cuenta los planteamientos anteriores, el objetivo de este trabajo fue estudiar los posibles efectos del aislamiento

por distancia y adaptación sobre la estructura genética de poblaciones de *Anolis onca* en la región norte de la península de Araya, estado Sucre, Venezuela.



Figura 1. *Anolis onca* (sacabandera) macho.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El muestreo se realizó al norte de la península de Araya, Sucre, entre abril de 2008 y mayo de 2009 e incluyó localidades en tierra firme y a lo largo de la península de Chacopata (Fig. 2A). Siguiendo una secuencia geográfica se seleccionaron cinco localidades: Guayacán e Istmo Sur, en tierra firme; Istmo Centro, justamente a la mitad del istmo arenoso; Istmo Norte y Chacopata (morro), en la península de Chacopata (Fig. 2B). Las localidades de Istmo Sur y Chacopata están ubicadas sobre terrenos del Terciario, mientras que Guayacán, Istmo Centro e Istmo Norte se encuentran sobre áreas sedimentarias de origen reciente (Cuaternario), conformadas por: 1. el istmo o barra de arena de forma recta y estrecha, situada al este y que une actualmente el morro de Chacopata con la península de Araya, y 2. una barra de arena de forma irregular y discontinua, situada al oeste y que define el sistema lagunar costero Bocaripo-Chacopata. La vegetación de la zona en estudio comprende dos ecosistemas: Istmo Centro es la única estación que se caracterizó por la presencia dominante de un bosque de mangle blanco (*Laguncularia racemosa*) a lo largo del litoral de la laguna, mientras que Guayacán, Istmo Sur, Istmo Norte y Chacopata presentan una vegetación xerófila, constituida por herbazales que se establecen en suelos arenosos (Cumana *et al.* 2000). Cualitativamente destaca la diferencia en la estructura más achaparrada del componente leñoso en Chacopata y una vegetación más

escasa en Istmo Norte; estas localidades, principalmente Chacopata, están expuestas abiertamente a los vientos marinos.

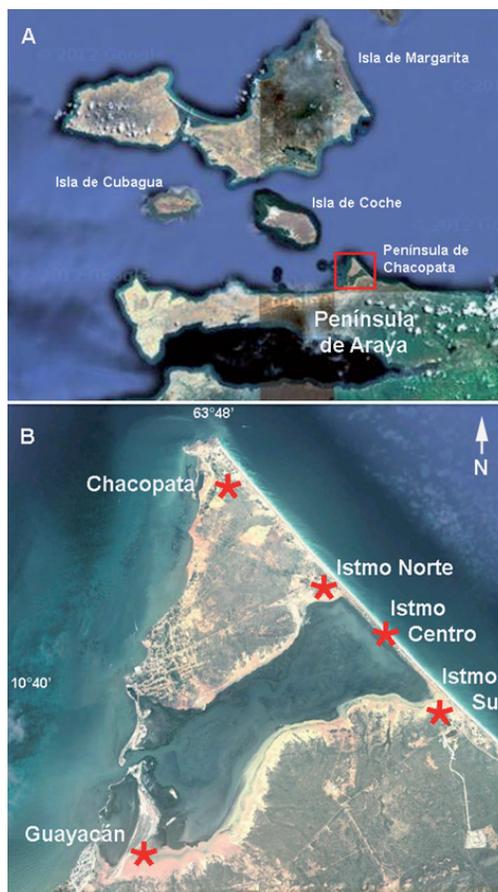


Figura 2. (A) Ubicación geográfica relativa del área de estudio al norte de la península de Araya. (B) Localidades de muestreo en los alrededores de la península de Chacopata. Tomado de Google Maps.

Análisis isoenzimático

En cada ejemplar se tomaron muestras de músculo, corazón, hígado y gónadas, con el fin de determinar el tejido más idóneo para el revelado de los sistemas enzimáticos seleccionados para el estudio (ver Tabla 1 para tamaños de muestra N). Con estos tejidos se prepararon homogenatos en buffer Tris-EDTA pH 7.0, que fueron procesados según las técnicas básicas de electroforesis de proteínas en gel de almidón, siguiendo los protocolos modificados de Aebersold *et al.* (1987) y Murphy *et al.* (1990). Los geles se prepararon al 12% de almidón hidrolizado, mediante calentamiento de cinco minutos en microondas, con agitación constante para su cocción. Seguidamente, se degasificó y se vertió en bandejas de anime para preparar capas finas del gel para las corridas.

También se realizaron corridas con geles gruesos (1 cm de espesor) al 12%, según el método tradicional (Aebersold *et al.* 1987) para aquellos sistemas enzimáticos que no obtuvieron buenos resultados con la metodología de gel en capa fina. Las matrices de gel fueron sometidas a corriente constante en una cámara de corrida, que varió entre 10 y 80 ma., dependiendo del sistema enzimático a revelar. La nomenclatura de los loci presuntivos, así como la de sus alelos correspondientes, siguió las propuestas de Murphy y Crabtree (1985). Los sistemas enzimáticos ensayados fueron: Lactato Deshidrogenasa (LDH, EC 1.1.1.27), Glucosa-6-fosfato Isomerasa (GPI, EC 5.3.1.9), Fosfoglucomutasa (PGM, EC 5.4.2.2), Malato Deshidrogenasa (MDH, EC 1.1.1.37), Enzima Mállica (ME, EC 1.1.1.40), Isocitrato Deshidrogenasa (IDH, EC 1.1.1.42), Alcohol Deshidrogenasa (ADH, EC 1.1.1.1), Glucosa Deshidrogenasa (GCDH, EC 1.1.1.47), Esterasas generales (α EST, EC.3.1.1.-), Fosfogluconato Deshidrogenasa (PGDH, EC 1.1.1.44), Glicerol-3-fosfato Deshidrogenasa (G3PDH, EC 1.1.1.8), Hexoquinasa (HK, EC 2.7.1.1), Creatina Kinasa (CK, EC 2.7.3.2), Manosa-fosfato Isomerasa (MPI, EC 5.3.1.8), Adenilato kinasa (AK, 2.7.4.3), L-Iditol (IDDH, EC 1.1.1.14), Fumarato Hidratasa (FH, EC 4.2.1.2), Fructosa Bifosfato Aldolasa (FBALD, EC 4.1.2.13), Glucosa-6-fosfato Deshidrogenasa (G6PDH, EC 1.1.1.8), Superóxido Dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1) y Proteínas Generales (GP- no específicas).

Tabla 1. Frecuencias alélicas y Análisis de Variabilidad Genética (h = Heterocigosidad) en las subpoblaciones de Guayacán, Istmo Sur, Istmo Centro, Istmo Norte y Chacopata. N = número de individuos revelados.

Locus	alelo	Guayacán	Istmo Sur	Istmo Centro	Istmo Norte	Chacopata
PGM		N8	N2	N6	N6	N9
	100	0,875	1,000	1,000	0,917	0,444
h	102	0,125	0,000	0,000	0,083	0,556
		0,219	0,000	0,000	0,153	0,494
α EST-2		N8	N8	N7	N5	N8
	100	0,563	0,250	0,786	1,000	0,188
h	98	0,438	0,750	0,214	0,000	0,813
		0,492	0,375	0,337	0,000	0,305
MDHs		N15	N6	N5	N5	N9
	100	0,933	0,833	1,000	1,000	0,778
h	98	0,067	0,167	,000	,000	0,222
		0,124	0,278	,000	,000	0,346
LDH-C		N9	N7	N7	N7	N10
	100	1,000	1,000	1,000	1,000	0,700
h	98	0,000	0,000	0,000	0,000	0,300
		0,000	0,000	0,000	0,000	0,420
PG-1		N15	N10	N10	N9	N15
	100	1,000	1,000	0,900	1,000	1,000
h	98	0,000	0,000	0,100	0,000	0,000
		0,000	0,000	0,180	0,000	0,000
PG-2		N15	N10	N10	N9	N15
	100	1,000	1,000	0,800	1,000	1,000
h	98	0,000	0,000	0,200	0,000	0,000
		0,000	0,000	0,320	0,000	0,000

Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos (genotipos individuales) se realizó con el programa BIOSYS-1, versión 1.7 (Swofford y Selander 1989). Para estimar la variabilidad intrapoblacional se determinaron las frecuencias alélicas para los loci presuntivos, y con base en ello se calcularon los parámetros de variabilidad poblacional, porcentaje de loci polimórficos (P) y heterocigosidad promedio (H). Así mismo, basado en los valores de heterocigosidad observada y esperada, se estimaron las desviaciones de las proporciones de la Ley Hardy-Weinberg de cada locus polimórfico en cada subpoblación analizada. Para el análisis de diferenciación interpoblacional se calcularon las distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards (D) entre subpoblaciones, así como los estadísticos F de Wright (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}). El producto entre el Tamaño Efectivo de la Población (N_e) y la Tasa de Flujo Génico (m) se empleó como estimador de la extensión de la estructuración genética entre las poblaciones en estudio ($N_e m$), utilizando la fórmula que involucra F_{ST} : $N_e m = (1/F_{ST} - 1)/4$. Finalmente, se realizó un análisis de aproximación filogenética siguiendo el procedimiento convencional de Wagner, para construir una red optimizada y no enraizada, a partir de datos de las matrices de distancia genética antes calculadas.

RESULTADOS

Loci presuntivos y expresión diferencial en tejidos

Se ensayaron 19 sistemas enzimáticos, ocho de los cuales mostraron un buen revelado, permitiendo la clara observación de los genotipos individuales (LDH, α Est, IDH, MDH, GPI, FH, PGM y PG). Estos ocho sistemas revelaron un total de 14 loci presuntivos: LDH-A, LDH-B, LDH-C, α Est-1, α Est-2, IDH-1, IDH-2, MDHm, MDHs, GPI, FH, PGM, PG-1 y PG-2. Diferentes tejidos fueron analizados con el fin de obtener los mejores patrones electroforéticos de cada uno de los sistemas enzimáticos: corazón, hígado, músculo y gónadas. Las muestras provenientes del corazón no produjeron buenos resultados, y la mayor cantidad de sistemas enzimáticos revelaron en muestras de hígado o músculo, mientras que en gónadas se revelaron las tres isoenzimas de LDH. El revelado de LDH se presenta como un caso interesante, ya que sus tres isoenzimas (A, B y C) fueron obtenidas simultáneamente sólo en gónadas, en proporción LDH-C > LDH-B > LDH-A. El revelado de LDH-C resultó exclusivo de gónadas, mientras que LDH-A y LDH-B mostraron mayor actividad para los tejidos de hígado y músculo, pero con bandas poco definidas. Los

patrones electroforéticos de LDH obtenidos confirman la especificidad de la expresión de LDH-C en gónadas, pues su producto protéico se encuentra presente en células espermatozógenas (Kuo *et al.* 1999). No obstante, en la presente investigación la especificidad gonadal se cumplió tanto para hembras como para machos.

Frecuencias alélicas y variabilidad genética intrapoblacional

Los loci presuntivos α EST-1, IDH-1, IDH-2, MDHm, GPI, FH, LDH-B y LDH-A resultaron iguales y monomórficos para todas las subpoblaciones, mientras PGM, α EST-2, MDHs, LDH-C, PG-1 y PG-2, resultaron polimórficos. Entre los loci polimórficos obtenidos no se determinaron diagnósticos, sino únicamente diferencias en cuanto a las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones (Tabla 1). Se establecieron cinco loci polimórficos para las subpoblaciones estudiadas de *Anolis onca*. Para la subpoblación de Chacopata se obtuvieron cuatro loci polimórficos (PGM, α EST-2, MDHs y LDH-C; $P = 28,6\%$), mientras que en Guayacán e Istmo Centro se encontraron tres ([PGM, α EST-2 y MDHs] y [α EST-2, PG-1 y PG-2], respectivamente; $P = 21,4\%$); para Istmo Sur se determinaron dos loci polimórficos (α EST-2 y MDHs; $P = 14,3\%$) y en la subpoblación de Istmo Norte sólo el locus presuntivo PGM mostró niveles de polimorfismo ($P = 7,1\%$). El locus presuntivo α EST-2 resultó ser el más variable en cuatro de las cinco subpoblaciones estudiadas. La heterocigosidad promedio poblacional (H) indicó un bajo nivel de variabilidad con relación a este parámetro, con valores entre 0,010 y 0,025. Es importante resaltar que Guayacán, Istmo Centro e Istmo Sur, donde se presentaron moderados valores de polimorfismo, mostraron bajos niveles de heterocigosidad (0,018; 0,010; 0,024, respectivamente). Al integrar la información obtenida a partir de ambos parámetros, se determinó el mayor nivel de variabilidad genética para la subpoblación de Chacopata ($P = 28,6\%$; $H = 0,025$), mientras que Istmo Norte resultó como la menos variable ($P = 7,1\%$; $H = 0,012$).

Únicamente los loci MDHs correspondientes a las subpoblaciones de Guayacán, Istmo Sur y Chacopata, α EST-2 para la subpoblación de Istmo Centro, y PGM para Istmo Norte se encuentran en equilibrio, puesto que los valores calculados de X^2 son menores que el valor teórico según la tabla de X^2 , con un 95% de confianza y un (1) grado de libertad. Los loci α EST-2 para Guayacán e Istmo Sur, PGM en Guayacán y Chacopata, PG-1 y PG-2 para Istmo Centro, y LDH-C para la subpoblación de Chacopata, presentan una desviación estadísticamente

significativa de las proporciones H-W. Es importante destacar que todos los loci que presentan desviación de las proporciones H-W presentan a su vez un déficit de heterocigosidad, condición que está en concordancia con los elevados coeficientes de endogamia para casi todos los loci polimórficos encontrados (Tabla 2).

Tabla 2. Coeficiente de Endogamia (F), Coeficiente de deficiencia o exceso de heterocigosidad (D) y desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (X^2) para las 5 subpoblaciones estudiadas.

Locus	H observada	H esperada	Coeficiente de endogamia (F)	D ⁽¹⁾	X ²	p
Guayacán						
PGM	0	1,867	1,000	-1,000	15,070	0,000*
α EST-2	1	4,200	0,746	-0,762	5,333	0,021*
MDHs	2	1,931	-0,071	0,036	0,037 ⁽¹⁾	0,847
Istmo Sur						
α EST-2	0	3,200	1,000	-1,000	10,182	0,001*
MDHs	2	1,818	-0,200	0,100	0,111 ⁽¹⁾	0,739
Istmo Centro						
α EST-2	1	2,538	0,576	-0,606	3,636 ⁽¹⁾	0,057
PG-1	0	1,895	1,000	-1,000	19,059	0,000*
PG-2	0	3,368	1,000	-1,000	12,800	0,000*
Istmo Norte						
PGM	1	1,000	-0,091	0,000	0,000 ⁽¹⁾	1,000
Chacopata						
PGM	0	4,706	1,000	-1,000	10,159	0,001*
α EST-2	1	2,600	0,590	-0,615	4,308	0,038
MDHs	2	3,294	0,357	-0,393	1,773 ⁽¹⁾	0,183
LDH-C	0	4,421	1,000	-1,000	11,631	0,001*

⁽¹⁾ Las poblaciones se consideran en equilibrio Hardy-Weinberg cuando el valor calculado de X^2 es menor que el valor teórico con 95% de confianza y 1 grado de libertad (3,84). ⁽²⁾ Valores negativos indican deficiencia de heterocigotos y valores positivos exceso. *Diferencias significativas.

Diferenciación interpoblacional

En la Tabla 3 se muestra un resumen del estadístico F de Wright, donde destaca que la diferenciación de los individuos con respecto a la subpoblación (F_{IS}) y al total (F_{IT}) es elevada. Es importante resaltar que los loci PGM y α EST-2 son polimórficos y su contribución a la variabilidad en los parámetros F_{IS} y F_{IT} es apreciable, pero los loci LDH-C, PG-1 y PG-2 muestran la máxima contribución al ser loci fijados (1,000). El parámetro F_{ST} promedio es más bajo que los dos anteriores (0,295), con PGM y α EST-2 como los loci que mayormente contribuyen con la diferenciación entre las subpoblaciones. La mayor variabilidad intrapoblacional, con respecto a la interpoblacional de los loci polimórficos, parece estar principalmente condicionada por los tres loci fijados (LDH-C, PG-1 y PG-2) para cuatro de las cinco subpoblaciones analizadas. Igualmente, estos loci muestran en general altos niveles de endogamia.

Según los intervalos establecidos por Wright para la interpretación de los valores de F_{ST} (0,0 > 0,05 poca diferenciación genética; 0,05 > 0,15 moderada diferenciación; 0,15 > 0,25 elevada diferenciación; >

0,25 diferenciación muy elevada), los resultados de este estudio indican que entre las subpoblaciones de *Anolis onca* estudiadas existe una diferenciación genética muy elevada ($F_{ST} = 0,295$).

Por otra parte, los valores del coeficiente de distancias genéticas en arco de Cavalli-Sforza y Edwards (Tabla 4), indican que Chacopata e Istmo Norte resultaron ser las más lejanas (0,249), pero muy similares a la distancia obtenida entre Chacopata e Istmo Centro (0,241). Istmo

Sur y Guayacán resultaron ser las subpoblaciones genéticamente más cercanas con un valor de $D = 0,087$. Se observó que en forma secuencial (Guayacán, Istmo Sur, Istmo Centro, Istmo Norte y Chacopata), a mayor distancia geográfica, mayor fue el valor de la distancia genética; sin embargo, las distancias genéticas entre las subpoblaciones que se encuentran sobre el istmo propiamente, resultaron genéticamente más distantes de Chacopata, a pesar de estar geográficamente más cercanas.

Tabla 3. Resumen del estadístico F para todos los locos analizados en las cinco subpoblaciones estudiadas.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
PGM	0,807	0,871	0,331
α EST-2	0,740	0,841	0,389
MDHs	0,079	0,168	0,097
LDH-C	1,000	1,000	0,255
PG-1	1,000	1,000	0,082
PG-2	1,000	1,000	0,167
Promedio	0,691	0,782	0,295

F_{IS} : Diversidad génica promedio intrapoblacional.

F_{IT} : Diversidad génica de los individuos respecto al total de las poblaciones.

F_{ST} : Coeficiente de diferenciación génica interpoblacional.

Tabla 4. Distancia Genética (D) en arco según Cavalli-Sforza y Edwards, Flujo génico ($N_e m$) calculado a partir del valor de F_{ST} para cada subpoblación, posible condición evolutiva y distancia geográfica entre los pares de subpoblaciones analizadas.

Pares de subpoblaciones	D	F_{ST}	$N_e m$	Possible condición evolutiva según los niveles de flujo génico	Distancia Geográfica (km)
Guayacán-Istmo Sur	0,087	0,077	2,99		6
Istmo Sur-Istmo Centro	0,154	0,197	1,02		1
Istmo Centro-Istmo Norte	0,136	0,094	2,41	Poblaciones conectadas con evolución independiente sólo bajo fuertes presiones selectivas	1
Chacopata-Guayacán	0,150	0,155	1,36		11
Guayacán-Istmo Centro	0,129	0,067	3,48		7
Guayacán-Istmo Norte	0,131	0,167	1,25		8
Istmo Sur-Chacopata	0,175	0,155	1,36		5
Istmo Norte-Chacopata	0,249	0,373	0,42	Poblaciones desconectadas	3
Istmo Sur-Istmo Norte	0,198	0,426	0,34		2
Istmo Centro-Chacopata	0,241	0,263	0,70	Poblaciones independientes	4

Flujo génico

Los valores de $N_e m$ obtenidos están resumidos en la Tabla 4, donde destaca que el mayor flujo génico existe entre Guayacán e Istmo Centro (3,48). Por su parte, el par Guayacán-Istmo Sur mostró un valor de $N_e m = 2,99$ seguido por Istmo Centro-Istmo Norte con 2,41. Entre las subpoblaciones de Istmo Sur-Istmo Norte se registró el valor más bajo (0,34). La Figura 3 muestra la representación gráfica de los valores de distancia

genética (D) y flujo génico ($N_e m$) versus el logaritmo de la distancia geográfica, expresada en kilómetros. Se observó que no existe una tendencia definida entre la distancia genética y la distancia geográfica de cada una de las subpoblaciones estudiadas, tal como lo indican los valores de $R^2 = 0,0422$, con una pendiente de $-0,0289$ (Fig. 3A) y, al contrario del resultado esperado teóricamente, muestra una tendencia al incremento en el nivel del flujo génico con la distancia geográfica, aunque con una pendiente de $0,6921$ y un valor de $R^2 = 0,0551$ (Fig. 3B).

Aproximación filogenética

El cladograma obtenido siguiendo el procedimiento de Wagner para producir un árbol no enraizado, con una longitud total de 0,359 y una correlación cofenética de

0,988 (Fig. 4), mostró dos grupos bien definidos: Clado (A) que contiene las subpoblaciones ((Istmo Centro+Istmo Norte)+Guayacán), y el Clado (B) que comprende (Chacopata+Istmo Sur), como los más relacionados.

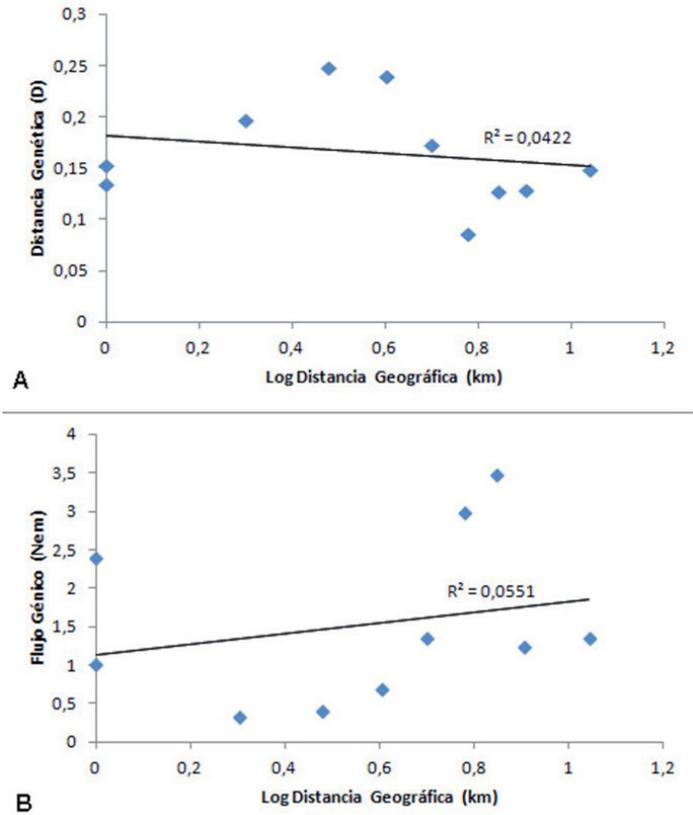


Figura 3. Análisis de regresión entre todas las poblaciones estudiadas para determinar la relación entre: A. Distancia Genética (D) y el log de la Distancia Geográfica (km) y B. Flujo Génico ($N_e m$) y el log de la Distancia Geográfica (km).

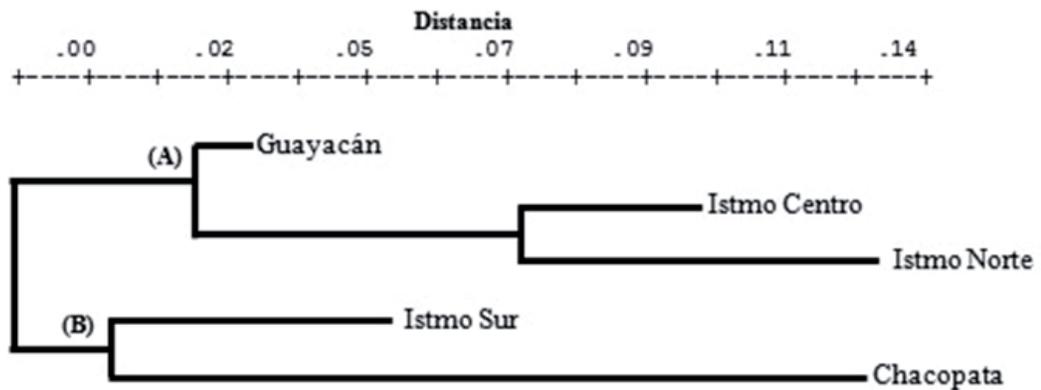


Figura 4. Cladograma obtenido según procedimiento de Wagner para las cinco subpoblaciones analizadas.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo fueron seleccionadas subpoblaciones del lagarto *Anolis onca*, ubicadas en una región con diferentes niveles de aislamiento geográfico y ecosistemas, lo cual permitió realizar un estudio de estructuración poblacional y posible efecto adaptativo en variantes genéticas (isoenzimas). Adicionalmente, se incorporó la documentación de la historia geomorfológica de la zona en estudio, información imprescindible cuando se trata de estimados de flujo génico basados en análisis de frecuencias alélicas.

Al realizar un análisis de las distancias genéticas determinadas para los pares de subpoblaciones dispuestas de manera consecutiva, Guayacán-Istmo Sur-Istmo Centro-Istmo Norte-Chacopata, se observó que el valor de D aumentaba progresivamente con las distancias geográficas. Estos resultados sugieren un modelo de aislamiento por distancia, tipo *stepping-stone* (“paso a paso”), el cual establece que sólo habría intercambio entre poblaciones que están próximas entre sí, ya que la acumulación de diferencias genéticas de localidades que geográficamente presentan dispersión restringida no precisa la necesidad de la existencia de barreras físicas que impidan la migración de los individuos (Wright 1943). Además, el análisis interpoblacional determinó que estas cinco subpoblaciones de *Anolis onca* presentaban una marcada estructuración, caracterizada por una deficiencia de heterocigos, elevados coeficientes de endogamia y con la mayoría de los loci desviados de las proporciones Hardy-Weinberg. Al respecto, Crispo y Hendry (2005) señalan que el *IBD* es un fenómeno caracterizado por el incremento de la divergencia genética y el decrecimiento del flujo génico con el incremento de la distancia geográfica.

Sin embargo, los valores de flujo génico obtenidos no se corresponden exactamente con esta teoría que indica que las poblaciones más adyacentes serán las que muestren un mayor intercambio de individuos. Por ejemplo, las tres subpoblaciones del istmo están separadas entre sí por la distancia geográfica más cortas (1 km) y sin embargo, no mostraron los mayores valores de flujo génico. Igualmente, entre las subpoblaciones de Istmo Norte-Chacopata se esperaba un valor elevado de flujo génico por encontrarse ambas actualmente muy cercanas y sobre la península de Chacopata, pero los resultados mostraron una fuerte restricción del flujo entre ellas, indicativo de poblaciones desconectadas. Adicionalmente, los valores moderados de flujo génico entre los pares Chacopata-Guayacán y Guayacán-Istmo

Norte, son contrarios a los resultados esperados, ya que son los pares de localidades más alejadas actualmente. Según Trexler (1988) los valores de $N_e m$ indican: $< 0,5$ poblaciones desconectadas; $0,5 > 1,0$ poblaciones independientes bajo el modelo *stepping stone*; $1,0 > 4,0$ poblaciones locales conectadas que pueden evolucionar sólo en respuesta a presiones selectivas; $> 4,0$ panmixia. Analizando los resultados obtenidos en este trabajo bajo este esquema, la mayoría de los pares de subpoblaciones presentarían evolución independiente sujeta a presiones selectivas locales, mientras que sólo dos pares estarían actualmente desconectadas (Istmo Norte-Chacopata e Istmo Sur-Istmo Norte) o independientes (Istmo Centro-Chacopata).

Esta aparente contradicción se clarifica cuando los resultados son evaluados con base en la aproximación filogenética de las subpoblaciones, ya que los valores de flujo génico estimados a partir de frecuencias alélicas reflejan principalmente patrones históricos de intercambio génico más que la dinámica poblacional actual, obteniéndose incluso valores moderadamente elevados entre pares de poblaciones que se encuentran ahora completamente aisladas (Larson *et al.* 1984). El cladograma mostró dos grupos bien definidos: el clado B (Chacopata+Istmo Sur) está asentado sobre áreas de origen geológico antiguo, con un ambiente netamente xerófilo, dominado por la presencia de cactus, retamas, yaques secos; y el clado A ((Istmo Centro+Istmo Norte)+Guayacán) que se encuentra sobre una misma formación sedimentaria marina del Cuaternario, ocupando ecosistemas combinados de espinar y manglar, lo que pudiese agruparlas por su origen más reciente. Es importante hacer notar que entre Guayacán y Chacopata se establece una barra de arena discontinua de origen sedimentario reciente que pudiera permitir cierto nivel de contacto entre ambas localidades, con la restricción parcial de paso de los lagartos mediante el ecosistema de manglar allí presente. Entre Chacopata e Istmo Sur, la estructuración poblacional y el consecuente moderado nivel de flujo génico pudiera ser el reflejo de que estas dos localidades se mantienen como relicto de la población original ampliamente distribuida en toda la región antes de la vicarianza. En este contexto, los siguientes escenarios pudieron ejercer efectos combinados sobre la estructuración poblacional que presenta actualmente *Anolis onca* de esta región:

1. Evento vicariante hacia finales del Cretácico Superior que aisló completamente el morro de Chacopata del resto de la península de Araya (Vargas 2008). La península de Araya, así como las islas de Margarita, Coche

y Cubagua, y los islotes Caribe y Lobos que se encuentran frente al Morro de Chacopata, formaban una sola masa continental durante el Cretácico (Vargas 2008) y debido al metamorfismo regional, se separan las diferentes islas venezolanas, incluyendo el morro de Chacopata. Las poblaciones de la especie *A. onca* quedan vicariantes en el morro respecto de las peninsulares.

2. Reconexión del morro de Chacopata con el norte de la península de Araya, debido a la formación de nuevas áreas sedimentarias durante el período Cuaternario (Cervigón y García 2005). Estas áreas sedimentarias están conformadas por el istmo que une actualmente el morro de Chacopata con la península de Araya y la barra de arena que delimita el sistema lagunar costero Bocaripo-Chacopata.

3. Colonización de las nuevas áreas sedimentarias del Istmo (Centro y Norte), con migrantes provenientes principalmente de la localidad de Istmo Sur, así como colonización de Guayacán por individuos de la población original (posible refugio) de la península de Araya. Los índices de distancias genéticas y flujo génico no aportan evidencias de un contacto secundario entre la población que había quedado aislada en el morro de Chacopata con la población que permaneció en el continente, por intermedio de las subpoblaciones del istmo luego de la colonización. En este sentido, un meta-análisis realizado con 66 especies de vertebrados, determinó que las relaciones esperadas entre *IBD* y el tiempo transcurrido desde la colonización puede alterarse por la influencia de otros factores, tales como la capacidad de dispersión, las barreras geográficas y la cercanía a refugios (Crispo y Hendry 2005).

4. Desarrollo de un proceso adaptativo debido a la utilización de un ecosistema no tradicional para los anolis, durante la colonización de los nuevos ambientes geomorfológicos (manglares) formados en las áreas sedimentarias recientes. En este sentido, Crispo (2008) ha señalado que la plasticidad fenotípica puede promover el flujo génico entre regímenes selectivos al permitir a los migrantes adaptarse a condiciones ambientales alternativas. En el presente estudio, los ejemplares se encontraron perchados sobre cactáceas columnares (*Stenocereus griseus*), retamas (*Castela erecta*) y yaques (*Prosopis juliflora*) en las localidades de Guayacán, Istmo Sur, Istmo Norte y Chacopata, mientras que en Istmo Centro, a pesar de existir también una estrecha franja de matorral xerófilo, los lagartos se localizaron sobre el mangle blanco y algunos pocos entre las raíces (neumatóforos) del mismo. La capacidad adaptativa y

plasticidad fenotípica de los lagartos del género *Anolis* ha sido ampliamente estudiada en conjunto con los patrones de distribución geográfica y flujo génico, a los fines de evaluar la contribución e importancia de cada factor. Por ejemplo, Ogden y Thorpe (2002) compararon el efecto de la separación histórica y el tipo de hábitat sobre la morfología y los niveles de flujo génico en poblaciones del lagarto *Anolis roquet* que habita al norte de Martinica, encontrando una reducción en el flujo génico concordante con la selección divergente por el tipo de hábitat; estos resultados apoyan el modelo de especiación ecológica, resaltando la importancia del tipo de hábitat en la biodiversidad. Por su parte, Kolbe *et al.* (2012) encontraron diferencias genéticas y morfológicas significativas entre poblaciones insulares del lagarto *Anolis sagrei*, al re-introducir experimentalmente parejas de machos y hembras desde las islas más grandes de las Bahamas hacia las más pequeñas; estas diferencias las atribuyeron a una acción combinada de efecto cuello de botella (estructuración de las poblaciones de las islas pequeñas, fundadas a partir de una pareja proveniente de una población grande) y selección (lagartos con extremidades más cortas en las localidades con árboles más achaparrados y ramas más delgadas).

En conclusión, los patrones genéticos determinados y la distribución de las subpoblaciones de la especie *Anolis onca* en la presente investigación parecen ser consistentes con la sucesión de eventos geomorfológicos reseñados para la región centro-norte de la península de Araya, lo cual sugiere que las subpoblaciones están actualmente conectadas pero moldeadas por procesos evolutivos independientes. La acción de otros factores, como por ejemplo la selección por diferencias de hábitats, podría estar alterando la estructuración teórica esperada según el modelo de aislamiento por distancia propuesto. Investigaciones realizadas con otras especies de *Anolis* parecen apuntar en este sentido, encontrándose comúnmente patrones genéticos y morfológicos que responden a diversas fuentes de variabilidad. La comparación de patrones genéticos y morfológicos de otras especies de la región daría soporte a las hipótesis propuestas. Entre los pocos trabajos realizados destacan el análisis morfométrico llevado a cabo con el lagarto *Cnemidophorus lemniscatus*, que reveló diferencias entre las poblaciones al norte y al sur del Golfo de Cariaco (Santaella *et al.* 2008), así como el estudio isoenzimático de poblaciones del lagarto *Tropidurus hispidus* (guaripete), realizado por González *et al.* (2011), que mostró diferencias de flujo génico entre poblaciones insulares, peninsulares y continentales, acordes con un modelo de diferenciación vicariante. Sería recomendable

complementar este estudio con análisis morfométricos de *A. onca* en diferentes localidades continentales e insulares, de manera de poder obtener información más completa sobre sus patrones genéticos y morfológicos e indagar sobre los posibles factores condicionantes.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento de este trabajo, Proyecto de Grupo No. 03.00.6654.2007. Al Postgrado en Ciencias, Mención Zoología, de la Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, por el financiamiento parcial de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBERSOLD PB, WINANS GA, TEEL DJ, MILLER GB, UTTER FM. 1987. Manual for starch gel Electrophoresis: a method for the detection of genetic variation. NOAA Technical Report, NMFS 61, 19 pp.
- BARROS TR, ESQUEDA LF, MIJARES-URRUTIA A, LA MARCA E, NICHOLSON KE. 2007. The anoline “lost link” rediscovered: variation and distribution of *Anolis annectens* Williams 1974 (Squamata: Polychrotidae). *Tropic. Zool.* 20:41–53.
- BISBAL F. 2008. Los vertebrados terrestres de las Dependencias Federales de Venezuela. *Interciencia* 33:103-111.
- CERVIGÓN F, GARCÍA C. 2005. Araya: Naturaleza y Cultura. Fundación Polar, Caracas. Primera Edición, 100pp.
- CRISPO E. 2008. Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *J. Evol. Biol.* 21:1460–1469.
- CRISPO E, HENDRY AP. 2005. Does time since colonization influence isolation by distance? A meta-analysis. *Conserv. Genet.* 6:665–682.
- CUMANA L, PRIETO A, OJEDA G. 2000. Flórura de la Laguna de Chacopata, Península de Araya, estado Sucre, Venezuela. *Saber.* 1:25-33.
- GARANT D, FORDE SE, HENDRY AP. 2007. The multifarious effects of dispersal and gene flow on contemporary adaptation. *Func. Ecol.* 21:434–443.
- GARDNER EJ, SNUSTAD DP. 1981. Principles of Genetics. 6th ed. John Wiley & Sons, New York. 611 pp.
- GONZÁLEZ A, PRIETO A, MOLINA C, VELÁSQUEZ J. 2004. Los reptiles de la península de Araya, estado sucre, Venezuela. *Interciencia.* 29:428-433.
- GONZÁLEZ A, BONILLA A, LÓPEZ H, VELÁSQUEZ J. 2011. Variación genética en poblaciones del lagarto *Tropidurus hispidus* (Sauria: Tropiduridae) en el oriente de Venezuela. *Bol. Acad. C. Fís. Mat. Nat.* 71(4):47-62.
- HARTL D, CLARK A. 1997. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Third edition, Sunderland, Massachussets.
- HARTL D. 2000. A primer of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Third edition. Sunderland, Massachussets.
- HEY J, MACHADO C. 2003. The study of structured populations - New hope for a difficult and divided science. *Nat. Rev.* 4:535-543.
- INFANTE E. 2009. Anfibios y reptiles de la guajira venezolana. *Bol. Centro Invest. Biol.* 43:263–277.
- IRSCHICK DJ, VITT LJ, ZANI PA, LOSOS JB. 1997. A comparison of evolutionary radiation in mainland and Caribbean *Anolis* lizards. *Ecology.* 78(7):2191-2203.
- KIMURA M, WEISS G. 1964. The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics.* 49:561–576.
- KOLBE JJ, LEAL M, SHOENER TW, SPILLER DA, LOSOS JB. 2012. Founder effects persist despite adaptative differentiation: a field experiment with lizards. *Science.* 335:1086-1089.
- KUO CH, KAO S, WENG CH, LEE S. 1999. Expression of LDH-C isozyme among lizard taxa: evolutionary implications for the vertebrate Lactate Dehydrogenase gene family. *Zool. Stud.* 38: 344-349.

- LARSON A, WAKE DB, YANEV KP. 1984. Measuring gene flow among populations having high levels of genetic fragmentation. *Genetics*. 106:293-308.
- LOSOS JB, THORPE R. 2004. Adaptive speciation. En: *Evolutionary diversification of Caribbean Anolis lizards* (Diekmann U, Metz HAJ, Doebeli M, Tautz D, Eds.). Cambridge University, UK, pp: 322-344.
- MURPHY RW, SITES JW, BUTH DG, HAUFLE CH. 1990. Protein I: Isoenzyme Electrophoresis. En: *Molecular Systematics* (Hillis DM, Moritz C, Eds.) Sinauer Associates, Inc., pp: 45-126.
- MURPHY RW, CRABTREE CB. 1985. Evolutionary aspects of isozyme patterns, number of loci, and tissue-specific gene expression in the prairie rattlesnake *Crotalus viridis viridis*. *Herpetologica*. 41:451-470.
- ODGEN R, THORPE RS. 2002. Molecular evidence for ecological speciation in tropical habitats. *PNAS*. 99:13612-13615.
- ROSENBLUM EB, HICKERSON MJ, MORITZ C. 2007. A multilocus perspective on colonization accompanied by selection and gene flow. *Evolution*. 61: 2971–2985.
- ROUSSET F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F statistics under isolation by distance. *Genetics*. 145:1219-1228.
- SANTAELLA CV, LÓPEZ ROJAS H, GONZÁLEZ LA. 2008. Comparación morfométrica cuantitativa de poblaciones de *Cnemidophorus lemniscatus* (Squamata: Teiidae) del noroeste del estado Sucre, Venezuela. *Acta Biol. Venez.* 28(2):71-83.
- SLATKIN M. 1993. Isolation by distance in Equilibrium and non-Equilibrium Populations. *Evolution*. 47:264–279.
- SLATKIN M, BARTON NH. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating the average level of gene flow. *Evolution*. 43:1349-1368.
- SWOFFORD DL, SELANDER RB. 1989. BIOSYS-1: a Computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Population Genetic and Biochemical Systematics, Release 1.7. Urbana IL: University of Illinois, Illinois Natural History Survey.
- TREXLER JC. 1988. Hierarchical organization of genetic variation in the sailfin molly *Poecilia latipinna* (Pisces: Poeciliidae). *Evolution*. 42:1006-1017.
- VARGAS A. 2008. Atlas de la Península de Araya. Impresos Omar, Caracas, 188 pp.
- WRIGHT S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*. 28:114-138.
- WRIGHT S. 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics*. 31:39-59.