



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE  
VENEZUELA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**Estatus taxonómico de la lagartija de Los Roques (*Cnemidophorus  
nigricolor*) mediante el uso de morfología clásica y de técnicas  
moleculares**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

Presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela, por el bachiller Alberto José García Márquez como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología.

Tutor: Dr. César Molina  
Dr. Jesús Mavárez

Caracas, Venezuela  
Septiembre 2012



"Por fin, la respuesta al por qué. Esa lección que había sido tan difícil de descubrir, tan difícil de comprender, produjo una respuesta rápida, clara y simple. La razón de los problemas es superarlos. Esa es la naturaleza misma del hombre, pensé. Llegar más allá de sus propios límites para comprobar su libertad. No es el desafío el que define quiénes somos ni qué podremos ser. Lo que nos define es la forma en que afrontamos el desafío, prendiendo fuego a las ruinas o construyendo un camino a través de él, hacia la libertad... "

"Los problemas son para solucionarlos. La libertad para comprobarla. Y en tanto tengamos fe en nuestros sueños nada sucede por simple azar"

"Nada es azar"

Richard Bach.

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis más sinceros agradecimientos a la Universidad Central de Venezuela por haberme enseñado a buscar siempre mi felicidad.

Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas por brindar el apoyo económico y logístico para la realización de este importante trabajo

Quiero agradecer mi mamá por haberme apoyado en todas y cada una de mis decisiones.

A mi tutor César Molina por ser más que un tutor un amigo.

A la persona que debo la mitad de la carrera, Grace Saturno.

Y a todas las personas que de alguna u otra manera me apoyaron a cumplir esta meta: Jorge Pérez, Carolaing Gabaldón, Gustavo Ochoa, Haidy Rojas, Jesús Mavárez, Sherezada Moubayyed, Vicky Malavé y Jhoniel Perdigón.

## INDICE DE CONTENIDO

|                                           |    |
|-------------------------------------------|----|
| AGRADECIMIENTOS.....                      | 5  |
| INDICE DE CONTENIDO.....                  | 6  |
| INDICE DE FIGURAS.....                    | 8  |
| INDICE DE TABLAS.....                     | 10 |
| INTRODUCCIÓN.....                         | 12 |
| ANTECEDENTES.....                         | 17 |
| OBJETIVOS.....                            | 21 |
| Objetivo general.....                     | 21 |
| Objetivo específico.....                  | 21 |
| MARCO METODOLOGICO.....                   | 23 |
| Obtención de muestras.....                | 23 |
| Estudio genético.....                     | 23 |
| Estudio morfológico.....                  | 24 |
| Medidas corporales.....                   | 24 |
| Merística.....                            | 25 |
| Patrones de coloración.....               | 26 |
| Estudio molecular.....                    | 29 |
| Extracción de ADN.....                    | 29 |
| Limpieza de reacción de secuencia.....    | 30 |
| Reacción de secuencia.....                | 31 |
| Limpieza de la reacción de secuencia..... | 31 |

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| Secuenciación.....                              | 33 |
| Análisis filogenético y filogeográfico.....     | 34 |
| RESULTADOS.....                                 | 36 |
| Morfología.....                                 | 36 |
| Total de individuos (islas y tierra firme)..... | 36 |
| Islas.....                                      | 41 |
| Patrones de coloración.....                     | 48 |
| Estudio molecular.....                          | 50 |
| Total de individuos (islas y tierra firme)..... | 50 |
| Islas.....                                      | 51 |
| DISCUSIÓN.....                                  | 54 |
| CONCLUSIONES.....                               | 60 |
| RECOMENDACIONES.....                            | 61 |
| BIBLIOGRAFÍA.....                               | 62 |

## INDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Distribución de <i>Cnemidophorus nigricolor</i> en las islas del Caribe occidental de Venezuela. La escala de grises representa la profundidad de mar. (Ugueto y Harvey 2010).....                                                      | 16 |
| Figura 2. Patrón de coloración de <i>C. lemniscatus</i> .....                                                                                                                                                                                     | 28 |
| Figura 3. Casos representados por los dos primeros componentes principales para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque) y de tierra firme (C: Los Caracas; CM: Catia La Mar; L: El Limón)..... | 37 |
| Figura 4. Plano de los dos primeros componentes principales donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.....                                                                                                              | 38 |
| Figura 5. Casos representados por los componentes principales 1 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque) y de tierra firme (C: Los Caracas; CM: Catia La Mar; L: El Limón).....        | 38 |
| Figura 6. Casos representados por los componentes principales 2 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque) y de tierra firme (C: Los Caracas; CM: Catia La Mar; L: El Limón).....        | 39 |
| Figura 7. Plano de los componentes principales 1 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.....                                                                                                                     | 39 |
| Figura 8. Plano de los componentes principales 2 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.....                                                                                                                     | 40 |
| Figura 9. Casos representados por los dos primeros componentes principales para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque).....                                                                   | 42 |
| Figura 10. Plano de los componentes principales 1 y 2 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.....                                                                                                                    | 43 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 11. Casos representados por los componentes principales 1 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque).....                                                                                                                                                                                              | 44 |
| Figura 12. Plano de los componentes principales 1 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.....                                                                                                                                                                                                                                         | 44 |
| Figura 13. Casos representados por los componentes principales 2 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque).....                                                                                                                                                                                              | 45 |
| Figura 14. Plano de los componentes principales 2 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.....                                                                                                                                                                                                                                         | 45 |
| Figura 15. Cladograma con los cuatro fragmentos de los genes (ND4, Cyt b, 16S y 12S) generado con el método de maxima verosimilitud, modelo GTR, con un boobstrap de 2000 repeticiones y enraizado con <i>Cnemidophorus ocellifer</i> . Las siglas de las localidades son las siguientes: CLM: Catia La Mar, LCCS: Los Caracas, MRY: Morrocoy, DMQ: Dos Mosquises..... | 52 |
| Figura 16. Cladogramal con los cuatro fragmentos de los genes (ND4, Cyt b, 16S y 12S) generado con el método de maxima verosimilitud, modelo TPM, con 2000 repeticiones y enraizado con un <i>Cnemidophorus</i> de Catia La Mar (DMQ: Dos Mosquises).....                                                                                                              | 52 |

## INDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. Secuencias de cebadores externos empleados en la amplificación y secuenciación de los genes utilizados en este estudio..... | 31 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                               |    |
|-----------------------------------------------|----|
| Tabla 2. Mezcla de reacción de secuencia..... | 32 |
|-----------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 3. Autovalores y varianzas de los datos de los ejemplares de las islas y de tierra firme, representados para los tres primeros componentes principales..... | 36 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 4. Estadística descriptiva de las variables morfológicas y merísticas de los ejemplares de las islas y de tierra firme. La columna final muestra los valores de probabilidad de la prueba t de Student para la comparación de medias entre islas y tierra firme..... | 41 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 5. Autovalores y varianzas de los datos de los ejemplares de las islas, representados para los tres primeros componentes principales..... | 42 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 6. Estadística descriptiva de las variables morfológicas y merísticas de los ejemplares de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque). Las variables en letras <i>itálicas</i> y rojas significan que la comparación de muestras múltiples independientes de Kruskal-Wallis fue estadísticamente significativa..... | 47 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 7. Valores de probabilidad de las muestras múltiples independientes de Kruskal-Wallis y las diferencias entre islas halladas con la pruebas a posteriori para aquellos casos en que prueba de Krukall.-Wallis evidenció diferencias significativas..... | 48 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                   |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Tabla 8. Patrones de coloración de ejemplares de las islas y de tierra firme en términos de frecuencia de aparición. A excepción de la variable “número de rayas claras dorsales” |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| (RCD) en que se muestra el promedio y la desviación estándar..... | 49 |
|-------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 9. Diversidad nucleotídica de los fragmentos de genes evaluados para las islas y tierra firme..... | 50 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 10. Diversidad nucleotídica de los fragmentos de genes evaluados para las islas..... | 53 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## INTRODUCCIÓN

El género *Cnemidophorus* Wagler 1830 está ampliamente distribuido en el continente americano y se extiende desde el norte de los Estados Unidos hasta Argentina (Rocha et al., 2000, Wright, 1993), ocupando diversos tipos de hábitat (Reeder et al., 2002). Existen por lo menos 60 especies conocidas en el género, de las cuales casi un tercio son unisexuales (Colli et al., 2003, Reeder et al., 2002, Wright, 1993). Sin embargo, recientemente las especies de los Estados Unidos y parte de México fueron asignadas al género *Aspidoscelis* (Reeder et al., 2002), con lo cual el género *Cnemidophorus* se compone hasta la fecha de 29 taxones (Ugueto y Harvey, 2010, Cabrera y Carreira, 2009; Colli et al., 2009, Ugueto et al., 2009) restringidos geográficamente a América del Sur, varias islas del Caribe y algunas localidades de América Central (Guatemala, Honduras, Panamá) (McCrystal y Dixon, 1987, Cole y Dessauer, 1993). La mayor riqueza de especies se encuentra al norte de América del Sur y en las islas frente a la costa continental del Caribe (Ugueto y Harvey, 2010).

Tradicionalmente se consideró que las poblaciones de *Cnemidophorus* al norte de Sur América se correspondían a una única especie, *Cnemidophorus lemniscatus*, lo cual subestimó la riqueza natural de este género (Markezich et al., 1997). Recientemente se han descrito nuevas especies y subespecies bisexuales

y unisexuales asignadas al complejo *Cnemidophorus lemniscatus* para Venezuela (Ugueto y Harvey, 2010, Ugueto et al., 2009), Brasil (Colli et al., 2003), Colombia (McCrystal y Dixon, 1987), Guayana Francesa y Surinam (Cole y Dessauer, 1993), lo que sugiere que mucha diversidad todavía permanece oculta (Giugliano et al., 2006), implicando que mucho trabajo taxonómico y sistemático es aun necesario para ampliar los conocimientos sobre el género.

La riqueza en el complejo *Cnemidophorus lemniscatus* se ha mantenido de manera críptica a los taxónomos ya que muchas de las especies son morfológicamente y conductualmente muy parecidas, además de la presencia de un conjunto de taxones partenogenéticos (Sites et al., 1990, Parker et al., 1989, Vyas et al., 1990, Peccinini-Seale y Frota-Pessoa, 1974). Sin embargo, cuando se ha trabajado la morfología a mayor detalle se ha registrado variación en los patrones de escamación (forma, tamaño, número y estructura de las escamas) y de coloración de algunas subpoblaciones pertenecientes a especies con distribuciones amplias (Parker et al., 1989; Walker et al., 1997; Hernández-Gallegos et al., 1998).

En Venezuela, hasta hace unos 30 años atrás sólo se había reportado la presencia de la especie *Cnemidophorus lemniscatus* (Linnaeus, 1758, Burt, 1931) y *C. nigricolor* (Peters, 1873). Es a partir de 1880 que se describen para el país las siguientes especies: *C. gramivagus* McCrystal y Dixon, 1987; *C. cryptus* Cole y Dessauer, 1993; *C. arenivagus* Markezich, Cole y Dessauer 1997, la subespecie *C. lemniscatus splendidus* Markezich, Cole y Dessauer 1997, *C. senectus* Ugueto,

Harvey, and Rivas 2009 y *C. flavissimus* Harvey, and Rivas 2009; todas ellas pertenecientes al complejo de especies *C. lemniscatus*.

Aunque inicialmente *C. nigricolor* (Peter 1873) fue considerada una especie plena, luego fue reasignada como una subespecie de *C. lemniscatus* (Burt, 1931). Posteriormente fue elevada otra vez a especie plena por Walker y Rhoads (2003) quienes presentaron una nueva diagnosis, basada en un trabajo comparativo entre muestras obtenidas del Archipiélago de los Roques en Venezuela (*C. nigricolor*) y de Surinam (*C. lemniscatus*). Inicialmente la distribución geográfica de *C. nigricolor* estaba restringida a varias islas frente a la costa norte de Venezuela, específicamente al archipiélagos de Los Roques (localidad tipo), Las Aves y Los Hermanos y las islas La Blanquilla, La Orchila y la Tortuga (Peters y Donoso-Barros, 1970, Hummelinck, 1940, Burt 1931, Meek 1910).

Esta amplia distribución de *C. nigricolor* contrasta con otras especies del mismo género que están restringidas a una sola isla: *Cnemidophorus arubensis* (Aruba), *C. murinus murinus* (Curazao), *C. m. ruthveni* (Bonaire), *C. senectus* (Margarita y Cubagua), *C. flavissimus* (Archipiélago Los Frailes) y *C. vanzoi* (María Mayor y María Menor al este de St. Lucia) (Ugueto y Harvey, 2010), lo cual hace suponer que dentro de *C. nigricolor* pueden estar incluidas varias especies crípticas. Meek (1910) había reportado la presencia de variación, aunque limitada, en el tamaño de las escamas braquiales y mesopigiales y en el color de los individuos de las islas venezolanas de Los Roques, Las Aves y La Blanquilla. Por su parte, Burt (1931) señaló diferencias en el patrón de coloración entre

poblaciones de esta especie de La Blanquilla y los archipiélagos de Los Roques y Las Aves. Como consecuencia hay una necesidad de revisar las diversas poblaciones actualmente asignadas a *C. nigricolor* (Walker y Rhoads, 2003).

Recientemente, en una revisión de material de *Cnemidophorus* de varias islas venezolanas, Ugueto y colaboradores (2009) notaron marcadas diferencias morfológicas entre varias poblaciones de *C. nigricolor* de diferentes islas, lo cual los llevó a la descripción de dos nuevas especies: *Cnemidophorus leucopsammus* para la isla La Blanquilla y *Cnemidophorus rostralis* para la isla La Tortuga (Ugueto y Harvey 2010).

Así, Ugueto y Harvey (2010) restringen a *C. nigricolor* a las islas del archipiélago Los Roques (Dos Mosquises, Cayo de Agua, Cayo Sal, Cayo Tortuga, Crasqui, Francisqui, Gran Roque, Isla Larga y Noronquises). Sin embargo, señalan que las poblaciones de las islas La Orchila y las del Archipiélago Las Aves (sotavento y barlovento) son especies diferentes pero afines a *C. nigricolor* (Figura 1).

Basado en lo propuesto por Ugueto y Harvey (2010), este trabajo quiere ahondar en la determinación del estatus taxonómico de *C. nigricolor* en el archipiélago Los Roques, Las Aves y La Orchila utilizando taxonomía clásica (pero con un mayor número de caracteres y de ejemplares) complementada herramientas moleculares.

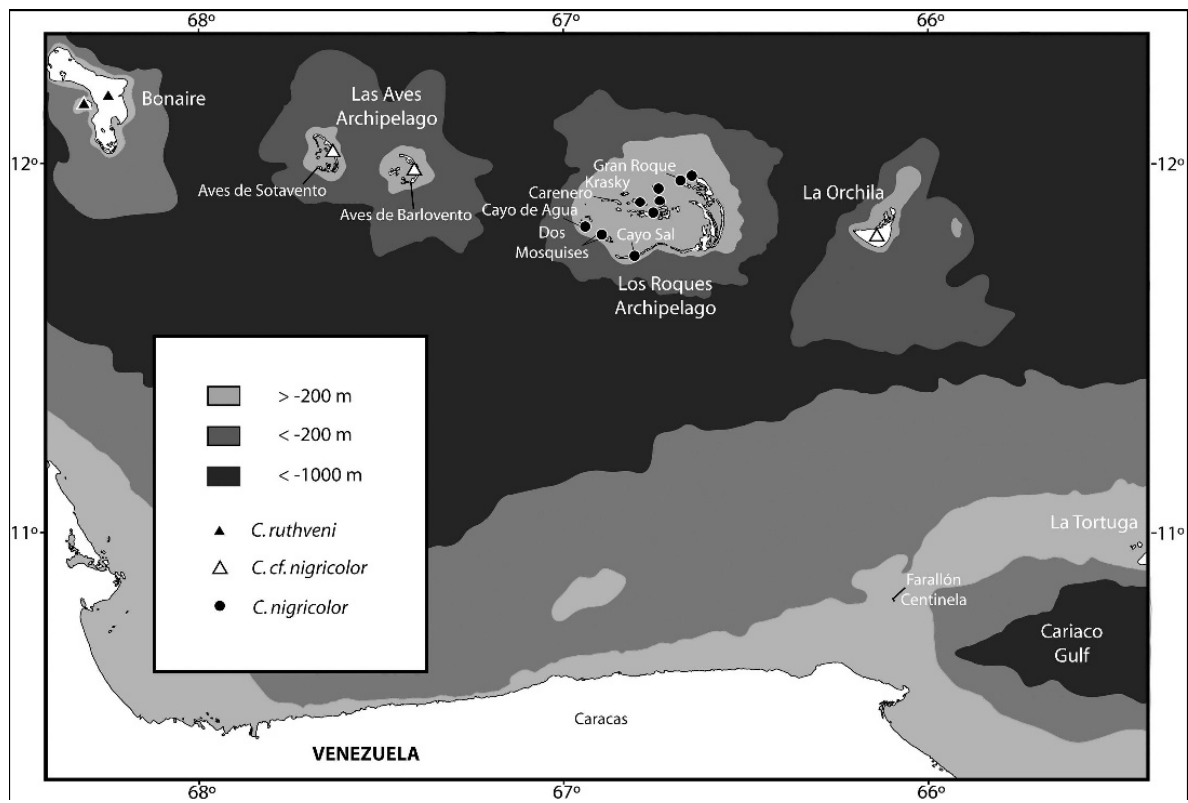


Figura 1. Distribución de *Cnemidophorus nigricolor* en las islas del Caribe occidental de Venezuela. La escala de grises representa la profundidad del mar. (Tomado de Ugueto y Harvey, 2010).

## ANTECEDENTES

En 1830 el herpetólogo alemán Johann Georg Wagler describió el género *Cnemidophorus* (Wright 1993). En el lapso de los siglos IXX y XX, se describieron numerosas especies (Burt, 1931), conformando el género con la más amplia distribución geográfica de la Familia Teiidae, la cual se extendía a lo largo todo el Continente Americano e islas del Caribe (Wright, 1993).

Sin embargo muchos autores señalaban que este género no estaba claramente definido, lo cual generaba incertidumbre en el número de especies, sus relaciones de parentesco y sus patrones de distribución. Esto sumado a la variación observada en muchos de los caracteres asociados a la escamación y coloración de los ejemplares y al llamado que hicieron varios herpetólogos para revisar el género, condujo a que Burt (1931) hiciera una revisión y un reareglo taxonómico de todas las formas descritas hasta esa fecha. Este trabajo implicó la revisión de 12.676 ejemplares, con lo se acotaron de manera clara las características diagnósticas de cada especie y grupo de especies, así como la formulación de una hipótesis de relaciones evolutivas dentro del género y dentro de los grupos de especies de *Cnemidophorus*, postulando que el grupo *lemniscatus* era el linaje más primitivo dentro del género.

Sin embargo, en un trabajo relativamente reciente, en que se puso a prueba la monofilia de *Cnemidophorus* utilizando caracteres morfológicos, enzimáticos y moleculares, se encontró que *Cnemidophorus* era parafilético con *Ameiva* y *Kentropix* (Reeder et al., 2002). Estos resultados llevaron a cambios en la

nomenclatura necesarios para que la clasificación taxonómica reflejara las relaciones evolutivas obtenidas en los cladogramas obtenidos, donde se observa en el clado 3, un ensamble de especie fuertemente soportado y con coherencia geográfica que incluye a las especies presentes en los Estados Unidos y parte de México, razón por la cual los autores los asignaron al género *Aspidoscelis* Fitzinger 1843 (Reeder et al., 2002).

Este reacomodo taxonómico deja al género *Cnemidophorus* con 29 taxones restringidos geográficamente a América del Sur, varias islas del Caribe y algunas localidades de América Central (Ugueto y Harvey, 2010, Cabrera y Carreira, 2009; Colli et al., 2009, Ugueto et al., 2009; Cole y Dessauer, 1993; McCrystal y Dixon, 1987), con la mayor riqueza de especies en el norte de América del Sur y algunas islas de Caribe (Ugueto y Harvey, 2010).

El concepto tradicional de *Cnemidophorus* estuvo representado en el norte de América del Sur por una sola especie, *Cnemidophorus lemniscatus* lo que subestimo la riqueza real de este género por mucho tiempo (Markezich et col., 1997). Hasta que en 1987 McCrystal y Dixon (1987) describieron una nueva especie (*Cnemidophorus gramivagus*) para los Llanos de Colombia y Venezuela

Sin embargo, en 1974, Peccinini-Seale y Frota Pessoa realizaron estudios cromosómicos y revelaron cinco cariotipos ligeramente diferentes entre distintas poblaciones brasileñas de *C. lemniscatus*, que se designaron por orden alfabético (A, B, C, D y E), siendo éste el primer estudio que abordó la taxonomía con herramientas no clásicas.

Motivados por el hecho de que muchas de las especies son morfológicamente y conductualmente muy parecidas, así como la presencia de muchas especies partenogenéticas, Dessauer y Cole (1989) y Sites y colaboradores (1990) combinaron herramientas citogenéticas y aloenzimáticas para determinar la presencia de nuevos taxones en *Cnemidophorus*.

Para 1993, Cole y colaboradores, indican que por lo menos cuatro especies de *Cnemidophorus* se han clasificado bajo el nombre de *C. lemniscatus* en el norte de América del Sur. Pruebas citogenéticas y electroforesis (biología molecular) y morfología clásica, resultaron en la descripción de dos especies unisexuales y partenogenéticas (*C. criptus* y *C. pseudolemniscatus*).

En 1997, Markezich y colaboradores, mediante el uso de cariotipos, electroforesis de proteínas, coloración y escamación, así como la utilización de técnicas estadísticas univariadas y multivariadas, revelaron un conjunto de lagartos con morfos de coloración azul y verde de la Península de Paraguaná (Venezuela), antes considerados como *C. lemniscatus*, eran dos formas diploides y bisexuales, claramente distintas. El lagarto verde resultó ser una especie no descrita (*C. arenivagus*), presente también en la península de la Guajira y en Colombia, mientras que los individuos azules resultaron ser una subespecie (*C. lemniscatus splendidus*) restringida a la Península de Paraguaná.

Ugueto y colaboradores en el año 2009 describieron dos poblaciones de *Cnemidophorus* asignadas anteriormente a la especie *C. lemniscatus*, de dos

grupos de islas del estado Nueva Esparta (*C. senectus* - Margarita y Cubagua; *C. flavissimus* - archipiélago de Los Frailes) al noreste de la costa Caribe de Venezuela.

La asignación taxonómica de *C. nigricolor* ha sido compleja. En un principio Peter (1873) la describió formalmente, pero al pasar de los años fue reasignada como subespecie de *C. lemniscatus* (Burt, 1931) y nuevamente elevado su estatus a especie plena (Walker y Rhoads, 2003). La especie fue descrita inicialmente con material proveniente del Archipiélago de Los Roques (localidad tipo) y posteriormente fue reseñada en varias islas al norte de Venezuela, específicamente en los archipiélagos de Las Aves y Los Hermanos y las islas La Blanquilla, La Orchila y la Tortuga (Peters y Donoso-Barros, 1970, Hummelinck 1940, Burt 1931, Meek 1910).

Finalmente, Ugueto y Harvey (2010) nombran dos nuevas especies anteriormente consideradas como *C. nigricolor* (*Cnemidophorus leucopsammus* - La Blanquilla y *Cnemidophorus rostralis* - La Tortuga), y proponen que *C. nigricolor* se encuentra restringida únicamente al archipiélago de Los Roques y que los ejemplares de otras islas (Las Aves y Los Hermanos y La Orchila) son diferentes a esta especie y necesitan de una revisión taxonómica.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el estatus taxonómico de la lagartija *Cnemidophorus nigricolor* en el Archipiélago Los Roques, Las Aves y La Orchila (Dependencias Federales, Venezuela), usando caracteres morfológicos externos, patrones de coloración y herramientas moleculares.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Describir las variaciones morfológicas y coloración de los individuos de *C. nigricolor* del archipiélago Los Roques, Las Aves y La Orchila (D.F.) y de poblaciones de la costa continental central de Venezuela.
- Describir las variaciones genéticas en fragmentos de los genes mitocondriales Citocromo b, ND4, 12S y 16S de individuos de *C. nigricolor* del archipiélago Los Roques, Las Aves y La Orchila (D.F.) y de poblaciones de la costa continental central de Venezuela.
- Comparar las variaciones morfológicas y patrones de coloración entre ejemplares de *C. nigricolor* del archipiélago Los Roques, Las Aves y La Orchila (D.F.) y poblaciones de *C. lemniscatus* de la costa continental central de Venezuela.

- Evaluar las relaciones filogenéticas producidas al comparar las secuencias de los fragmentos de los genes mitocondriales Citocromo b, ND4, 12S y 16S, de individuos de *C. nigricolor* del archipiélago Los Roques, Las Aves y La Orchila (D.F.) y de poblaciones de *C. lemniscatus* de la costa continental central de Venezuela.
- Determinar el estatus taxonómico de los ejemplares del archipiélago Los Roques, Las Aves y La Orchila.

## MARCO METODOLÓGICO

### Obtención de las muestras

#### *Estudio genético*

Las muestras para el trabajo de biología molecular de Dos Mosquises, Las Aves y de la isla La Orchila y de Morrocoy en tierra firme, fueron suministradas por Gilson Rivas (Universidad del Zulia). Por su parte, las muestras de la costa central (tierra firme), en el estado Vargas, fueron recolectadas en cuatro salidas de campo, dos para la localidad de Los Caracas (coordenadas 10°37'31,33" N y 66°33'58.66" O, fecha 28/03/2012 y 12/05/2012) y dos para el sitio de Catia La Mar (coordenadas 10°33'59.89" N y 67°08'28.41" O, fecha 17/03/2012 y 16/05/2012).

Todos los ejemplares capturados fueron sacrificados y preservados en bolsas plásticas individuales que contenían Etanol (99%), las cuales fueron trasladadas al laboratorio de Ecología y Genética de Poblaciones del Centro de Ecología del IVIC, estado Miranda. Posteriormente, se les extrajo el hígado y se guardó en viales con alcohol etílico al 99%.

Para la captura de los individuos, se solicitó una Licencia de Caza Científica ante la Oficina Administrativa de Permisos del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente y paralelamente se solicitó que este proyecto estuviese amparado bajo el Contrato de Acceso a los Recursos Genéticos del Instituto de Zoología y Ecología Tropical de la Universidad Central de Venezuela.

### ***Estudio Morfológico***

Para el estudio de los caracteres morfológicos externos y morfometría que se han empleado tradicionalmente en el estudio taxonómico de este grupo, se trabajó con el material recolectado para el trabajo de biología molecular (19 ejemplares de Dos Mosquises, 12 individuos de La Orchila, cuatro del archipiélago Las Aves y 15 provenientes de Catia La Mar y Los Caracas en el estado Vargas), complementado con material depositado en la colección de Herpetología del Museo de Historia Natural la Salle (MHNLS) pertenecientes a las localidades del Gran Roque (n = 42 ejemplares), Archipiélago Las Aves (n= 3), La Orchila (n= 18) y El Limón, estado Vargas (n = 24).

### ***Medidas corporales***

Las medidas tomadas con un escalímetro ® Storm ( $\pm 0,01$  mm) fueron: **LHC**: Longitud del cuerpo medida desde la punta del hocico hasta el margen anterior de la cloaca; **LT**: Longitud total medida desde la punta del hocico hasta la punta de la cola (solo cuando los ejemplares tienen la cola completa); **LC**: Longitud de la cabeza medida desde la punta del hocico hasta la región posterior a la abertura del oído. Adicionalmente, se calculó la siguiente proporción: **LC/LHC**.

## ***Merística***

Los caracteres merísticos evaluados fueron: **PFC**: Número de poros femorales en ambos miembros posteriores; **LDI**: Número de lamelas subdigitales del dígito más largo del miembro posterior izquierdo (4to dígito); **ESOC**: número de escamas supraoculares combinadas; **ECC**: número de escamas circunorbitales combinadas; **GSL**: número de gránulos supraoculares laterales ubicados entre las supraciliares y las supraoculares que se encuentran anterior a la sutura entre en 3<sup>er</sup> y 4<sup>to</sup> supraocular; **EP**: número de escamas parietales; **EM**: número de escamas del collar que conforman la hilera transversa más posterior de escamas agrandadas, es decir, número de escamas anteriores al borde posterior gular; **HEM**: número de hileras transversales de escamas anteriores al borde del pliegue posterior gular; **EBP**: escamas bordeando los límites más externos de las escamas parietales entre la serie circunorbital de cada lado; **GAMC**: número de gránulos dorsales alrededor del cuerpo a nivel medio, medido entre la axila y la ingle; **GOA**: número de gránulos dorsales del occipucio a las patas traseras; **HEVL**: número de hileras longitudinales de escamas ventrales contadas a nivel de la posición media entre los miembros anteriores y posteriores; **HEVT**: número de escamas transversales ventrales; **SL**: número de escamas agrandadas a lo largo de la mandíbula superior (total de ambos lados); **IL**: número de escamas agrandadas de la mandíbula inferior (total de ambos lados); **EAC**: número de escamas alrededor de la cola; **PFE**: número de escamas agrandadas sobre el aspecto anterior del muslo, contadas entre el nivel medio entre la cadera y la rodilla; **HPFE**: número de escamas contadas desde el muslo hasta la rodilla; **IT**:

número de escamas agrandadas sobre una hilera longitudinal desde la rodilla hasta la base del primer metatarsal.

**Patrón de coloración** (según Ávila- Pires, 1995 y Markezich et al., 1997)

**Presencia o ausencia de bandas claras dorsales** (comenzando desde la región vertebral y terminando en la región lateral inferior (Figura 2).

- Vertebral (V): una banda individual que puede estar dividida o no, desde la nuca hasta la parte posterior del cuerpo, alcanzando la base de la cola o no.
- Paravertebrales (PC): un par de bandas adyacentes a la banda vertebral desde nuca hasta la base de la cola.
- Laterales 1 (L1): un par de bandas adyacentes a las paravertebrales que alcanzan la región proximal de la cola.
- Laterales 2 (L2): un par de bandas adyacentes a las laterales 1, cuyo segmento anterior comienza entre el ojo y la abertura del oído y llega hasta la base de los miembros posteriores.
- Laterales 3 (L3): un par de bandas adyacentes a las laterales 2 que van desde el borde posterior de la abertura del oído, pasan por encima de las extremidades anteriores y llegan hasta la base de los miembros posteriores.
- Número de rayas claras dorsales (RCD)

### **Presencia o ausencia de bandas oscuras y claras dorsales**

- Bandas oscuras paravertebrales (PVO): un par de bandas oscuras ubicadas a ambos lados de la raya clara vertebral
- Bandas oscuras dorsolaterales (D): un par de bandas oscuras ubicadas entre las bandas claras paravertebrales y las bandas claras laterales
- Presencia o ausencia de manchas dorsales en los miembros anteriores (conspicuas o inconspicuas) (MMA)
- Presencia o ausencia de manchas dorsales en los miembros posteriores (conspicuas o inconspicuas) (MMP)
- Presencia o ausencia de manchas en los flancos (conspicuas o inconspicuas) (MF).

### **Análisis**

Se analizaron los datos morfológicos y de merística con estadística univariada y se hicieron comparaciones de medias dentro de las poblaciones de las islas y entre estas y tierra firme utilizando la prueba t de Student (Zar, 1999). La comparación de los ejemplares entre islas se hizo con la prueba de muestras múltiples independientes de Kruskal-Wallis (Zar, 1999). Paralelamente, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) como un análisis exploratorio de la totalidad de los datos de medidas corporales y merísticas sobre la matriz de varianza-covarianzas, sustituyendo los datos faltantes los valores promedios de la

variable focal, para explorar las posibles diferencias entre poblaciones. Para ello se utilizó el paquete estadístico Statistica, versión 7.0 (StatSoft, Inc., 2004).

Con los patrones de coloración, se trabajó con estadística de frecuencia y para la variable RCD (número de rayas claras dorsales) se trabajo con estadística descriptiva de tendencia central y dispersión (Zar, 1999).

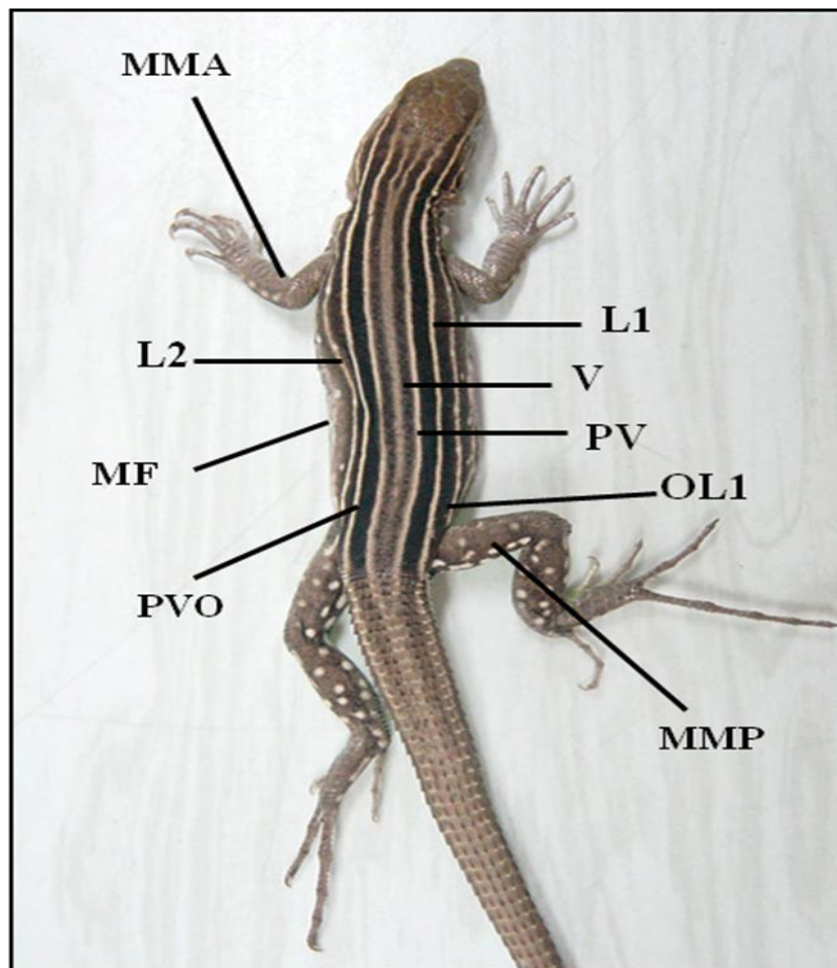


Figura 2. Patrón de coloración de *C. lemniscatus*

## **Estudio Molecular**

El proceso de secuenciación se realizó en el Laboratorio de Ecología y Genética del Centro de Ecología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Altos de Pipe, Caracas, Venezuela y consistió de los siguientes pasos:

### ***Extracción de ADN***

La extracción de ADN de los fragmentos de tejido del hígado se hizo mediante el protocolo del Kit comercial Wizard SV genomic Marca Promega, siguiendo el protocolo de extracción recomendado por dicha compañía. Para ello se cortó un trozo de 1,2 cm (20 mg, aproximadamente) de hígado y se introdujo en un tubo de 1,5 ml, al cual se le agregó 237  $\mu$ l de la solución de digestión Master mix y se dejó Incubar la muestra (16 – 18 horas) a 55° en baño de maría (Marca Lab. Companion, Modelo BS-06); luego se corrió una electroforesis de agarosa para asegurarse que contenía ADN (Marcador Saver Safe Marca Invitrogen).

Se amplificaron cuatro genes mitocondriales: ND4, Cyt B, 16S y 12S vía Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando un termociclador Marca Eppendorf Mastercycler, Modelo Eppgradient S. El primero de ellos fue el gen codificante de la subunidad 4 de la proteína mitocondrial NDAH Deshidrogenasa (ND4). Este gen presenta una alta resolución en el establecimiento de relaciones filogenéticas y filogeográficas (Sorenson, 1999). El gen citocromo b (Cyt b) se amplificó parcialmente. El gen 16S, es un gen codificante de ARN y de herencia

ligada al sexo. Por último el gen 12S, codificante de ARN. Estos genes (citocromo b, 12S rDNA y 16S rDNA) son algunos de los genes mitocondriales que se utilizan comúnmente para el estudio filogenético de vertebrados (Whiting y col., 2003). Cyt b parece ser informativo en niveles de divergencia hasta el 80 Mya (Graybeal, 1994). Debido a la estructura secundaria del DNA ribosomal, 12S y 16S tienen regiones conservadas y variables, dando amplia información en un largo intervalo de tiempo de divergencia en Squamata (Pellegrino *et al.*, 2001; Reeder y Wiens, 1996).

Para la amplificación se utilizó el paquete de PCR Promega (Madison, Wisconsin, USA) y cebadores previamente utilizados en la familia (Tabla 1). Para la amplificación de los genes mitocondriales de las muestras de hígado se utilizó un volumen de reacción de 25µl que contenía: 1 µl de ADN, 6,25µl de agua molecular, 3µl de MgCl<sub>2</sub>, 10µl de Buffer, 1µl de dNTP's, 2,5µl de cada cebador (Marca IDT) y 0,25µl de polimerasa GoTaq DNA Polymerase (Promega, Madison, USA). Se repitió el procedimiento de electroforesis de agarosa para asegurarse que el cebador hubiese amplificado.

Tabla 1. Secuencias de cebadores externos empleados en la amplificación y secuenciación de los genes utilizados en este estudio.

| Gen   | Nombre  | Secuencia                       | Autor                          |
|-------|---------|---------------------------------|--------------------------------|
|       |         | 5' - 3'                         |                                |
| ND4   | ND4     | CACCTATGACTACCAAAGCTCATGTAGAAGC | Arevalo <i>et al.</i> , 1994   |
|       | GRAM-A  | CATCAKGTGCTATKAKWGGGA           |                                |
| Cyt B | L14841  | AAAAGCTTCCAACATCTCAGCATGATAAA   | Kocher <i>et al.</i> , (1989)  |
|       | Cb3H    | GGCAAATAGGAARTATCATTC           |                                |
| 16S   | 16SBr-H | CCGGTCTGAACTCAGATCACG           | Palumbi <i>et al.</i> , (1991) |
|       | 16Ar-L  | CGCCTGTTTATCAAAAACA             |                                |
| 12S   | 12B-H   | GAGGGTGACGGGCGGTGTG             | Palumbi <i>et al.</i> , (1991) |
|       | 12A-L   | AAACTGGGATTAGATACCCCACTA        |                                |

### ***Limpieza de reacción de amplificación***

Para la limpieza de la reacción de amplificación, se utilizó el protocolo de purificación de producto de PCR Kit Qiagen Qiaquick PCR Purification, Marca Qiagen, según especificaciones del fabricante, sin ninguna modificación. Se repitió el procedimiento de electroforesis de agarosa para determinar si el fragmento amplificado quedó totalmente limpio de la contaminantes.

### ***Reacción de secuencia***

Se tomó 1 µl del producto de PCR purificado para marcar la secuencia, utilizando Big Dye terminator v3.1 Marca Applied Biosystems, usando los volúmenes mostrados en la Tabla 2. Tabla 2. Mezcla de reacción de secuencia.

|                | Vol (µl ) | Control pGem |
|----------------|-----------|--------------|
|                | 10        |              |
| Seq buffer 5X  | 2         | 2            |
| Big Dye        | 0,5       | 0,5          |
| Primer         | 2         | 2            |
| Agua destilada | 6,3       | 5,5          |
| Producto PCR   | 1         | 1            |

Cada reacción de PCR se realizó en un termociclador Marca Eppendorf Mastercycler, modelo Epgradient S. La PCR incluyó un paso inicial de desnaturalización a 94 °C por 1 min, seguido de 35 ciclos de: 30s a 94 °C (fase inicial de desnaturalización), de 15s a 72°C para Cyt b; 50°C para ND4, 72°C para S12 y 72°C para S16 (fase de anillamiento o "annealing"), 4 min a 72°C (fase de extensión), para completar con un paso final de extensión 72 °C por 10 minutos.

### ***Limpieza de la reacción de secuencia***

La purificación magnética se realizó mediante el Kit Magnesil Marca Promega, bajo especificaciones del fabricante, sin ninguna modificación. Al finalizar el protocolo se dió un choque térmico a las muestras en el termociclador a 94 °C 2 min y 4 °C 2 min y se ensamblaron en las placas del secuenciador

## ***Secuenciación***

La secuenciación de los fragmentos citocromo B (700 pares de bases aprox.), ND4 (400 pares de bases aprox.), 12S (430 pares de bases aprox.) y 16S (520 pares de bases aprox.), que suman 2050 pares de bases mitocondriales aproximadamente, se hizo mediante el método desarrollado por Sanger y Coulson (1975) en un secuenciador marca Applied Biosystems/HITACHI, modelo 3130 Genetic Analyzer.

Este proceso consistió en la incorporación de dideoxinucleótidos marcados fluorescentemente durante el proceso de copiado de la cadena de ADN. Los dideoxinucleótidos no poseen un grupo 3'-OH necesario para la formación del enlace fosfodiéster que permite la unión entre nucleótidos, por lo tanto se interrumpe la elongación de la cadena cada vez que uno de éstos es incorporado en ella, generando de este modo secuencias de diferentes tamaños. Estas se hacen migrar a través de un gel de poliacrilamida, donde se separan por tamaños. El equipo de secuenciación cuenta con un dispositivo que permite captar la emisión de luz de los cuatro dideoxinucleótidos, la lectura se hace entonces partiendo desde las secuencias más cortas hasta la secuencia completa, y se genera un gráfico con picos de emisión de luz en la posición de cada uno de los nucleótidos de la secuencia de interés (cromatograma).

## **Análisis filogenético y filogeográfico**

Una vez obtenidas las secuencias, éstas se editaron con el programa BIOEDIT (Biological Sequence Alignment Editor versión 7.1.3; <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.htm>) y se alinearon a ojo y/o utilizando el programa ClustalW (Thompson y col., 1994). Para examinar las relaciones filogenéticas y construir los árboles filogenéticos se usó el programa MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis - versión 5.10; <http://www.megasoftware.net/>). Todos estos programas son de libre acceso.

Para el análisis de Máxima Verosimilitud se estimó el modelo de evolución molecular que mejor se ajustó a los datos, utilizando el programa jModelTest, versión 0.1.1, (<http://darwin.uvigo.es/software/jmodeltest.html>) (Posada 2008), y se utilizó el criterio de información de Akaike (AIC) calculado por el programa para seleccionar el modelo con mejor ajuste a los datos. El soporte estadístico del análisis de MV incluyó 2000 iteraciones de bootstrap.

Para los análisis filogenéticos se utilizó la especie *Cnemidophorus ocellifer* como grupo externo. Esta especie se seleccionó basada en reconstrucciones filogenéticas de la familia Teiidae (Pellegrino *et al.*, 2001)

La diversidad genética se calculó sobre la diversidad de nucleótidos dentro de cada clado (islas – tierra firme) como el promedio de las diferencias entre dos secuencias elegidas al azar por sitio (Nei y Li, 1979). Para ello se utilizó la distancia “p” nucleotídica que no es más que la proporción de sitios nucleotídicos en las cuales dos secuencias difieren. La misma es el resultado del cociente entre

el número de diferencias nucleotídicas y el número total de nucleótidos comparados (Nei y Kumar, 2000). Estas distancias se calcularon con el programa MEGA versión 5.0 (*Tamura et al.*, 2011) y la varianza de las mismas se estimó con 1000 réplicas de bootstrap.

## RESULTADOS

### Morfología

#### *Total de individuos (islas y tierra firme)*

Los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP) trabajados para las variables de medidas corporales y merística para todos los individuos (islas y tierra firme), con la matriz de varianza-covarianza y sustituyendo los valores perdidos por el valor promedio de la variable focal, muestra que los tres primeros componentes o ejes dieron cuenta de un 84.5% de la variación total de los datos (Tabla 3).

Tabla 3. Autovalores y varianzas de los datos de los ejemplares de las islas y de tierra firme, representados para los tres primeros componentes principales.

| Componente | Autovalor | Varianza (%) | Varianza acumulada (%) |
|------------|-----------|--------------|------------------------|
| 1          | 219,62    | 51,36        | 51,36                  |
| 2          | 97,05     | 22,70        | 74,06                  |
| 3          | 44,57     | 10,42        | 84,48                  |

La dispersión de los casos (individuos) en el plano de los dos primeros componentes principales conformados por una combinación lineal de todas las variables (excepto LT muchos ejemplares no tenían la cola completa y EP, esta última no mostro variación alguna) (Figura 2) muestra una clara separación de los ejemplares de las islas consideradas en este estudio (Los Roques, Las Aves y la Orchila) y los de tierra firme en la costa central venezolana (El Limón (Aragua), Catia La Mar y Los Caracas (Vargas)).

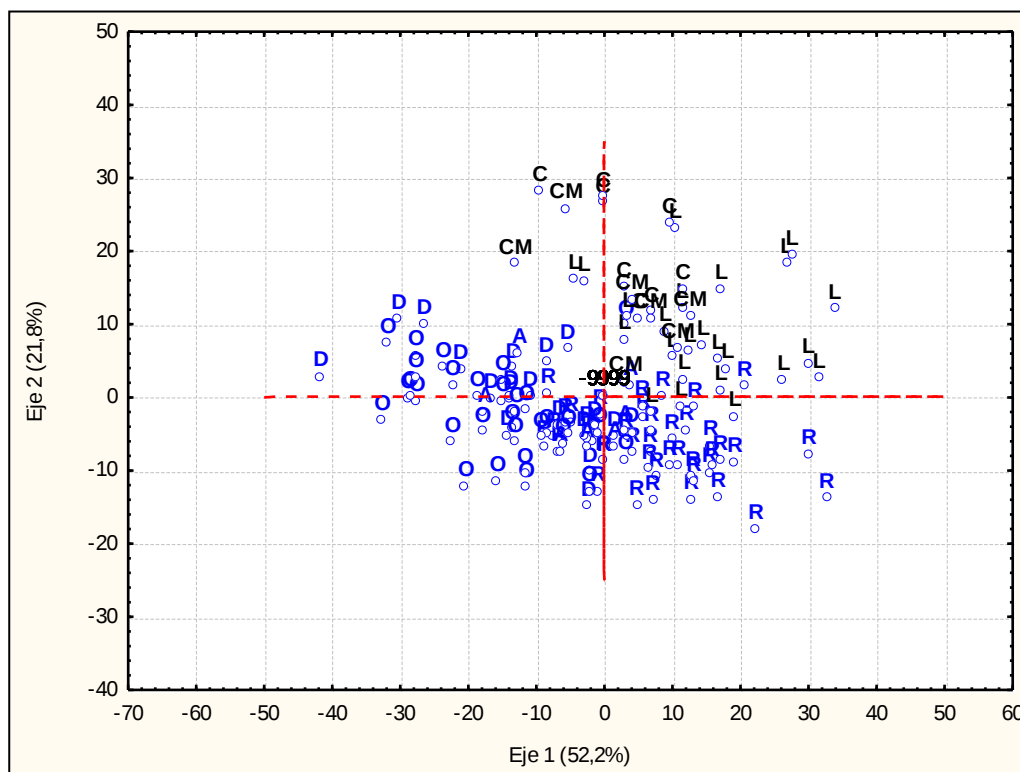


Figura 2. Casos representados por los dos primeros componentes principales para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque) y de tierra firme (C: Los Caracas; CM: Catia La Mar; L: El Limón).

Un análisis de los coeficientes de asociación de las variables con cada uno de los componentes o ejes nos muestra que el primer componente (eje 1) está representado mayoritariamente, en forma positiva, por las variables **GAMC** y **GOA** y el segundo eje en forma positiva por **GAMC**, **GSL**, y en forma negativa por **PFC**, **EAC** y **HEM** (Figura 3).

Si utilizamos los planos conformados por los componentes 1 - 3 y 2 - 3, vemos que en el primero de ellos (Figura 4) hay mayor solapamiento entre los

ejemplares de las islas y los de tierra firme, mientras que en el segundo (Figura 5), se nota una separación entre ambos conjuntos de ejemplares aunque muestran solapamiento parcial. El eje tres esta asociado positivamente con las variables **GAMC**, **HEM** y **PFC**, mientras que lo está de manera negativa con **GOA** y **GSL** (Figura 6 y 7).

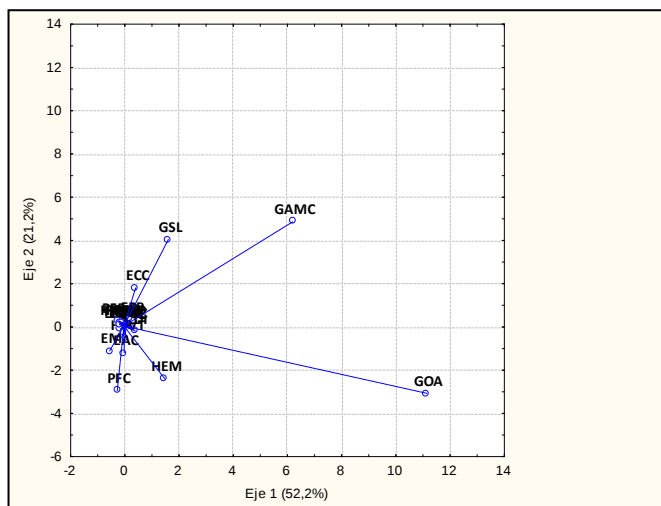


Figura 3. Plano de los dos primeros componentes principales donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.

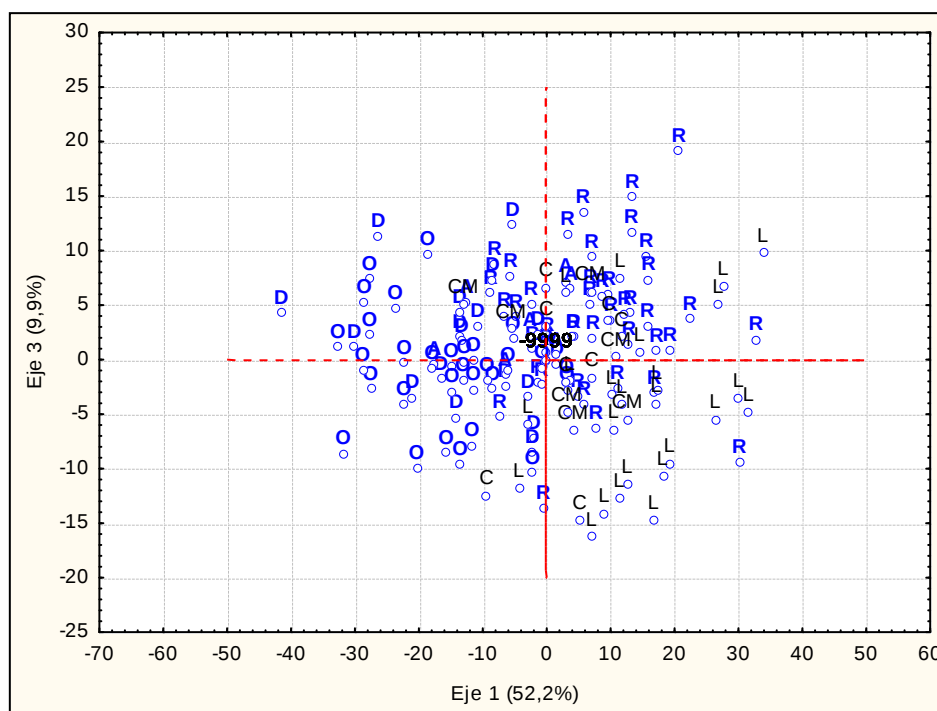


Figura 4. Casos representados por los componentes principales 1 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque) y de tierra firme (C: Los Caracas; CM: Catia La Mar; L: El Limón).

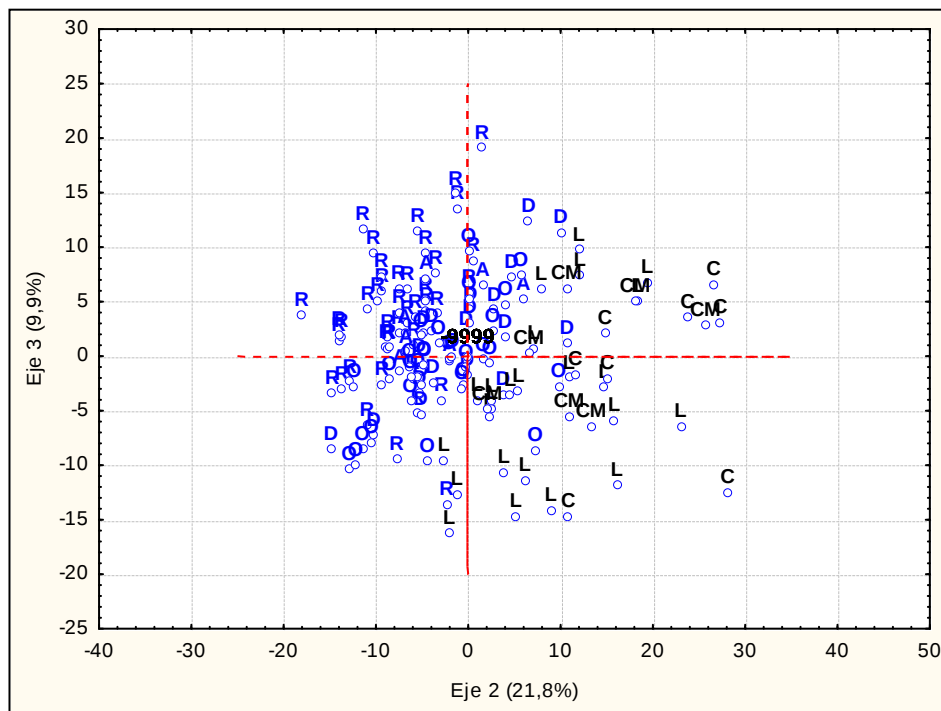


Figura 5. Casos representados por los componentes principales 2 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque) y de tierra firme (C: Los Caracas; CM: Catia La Mar; L: El Limón).

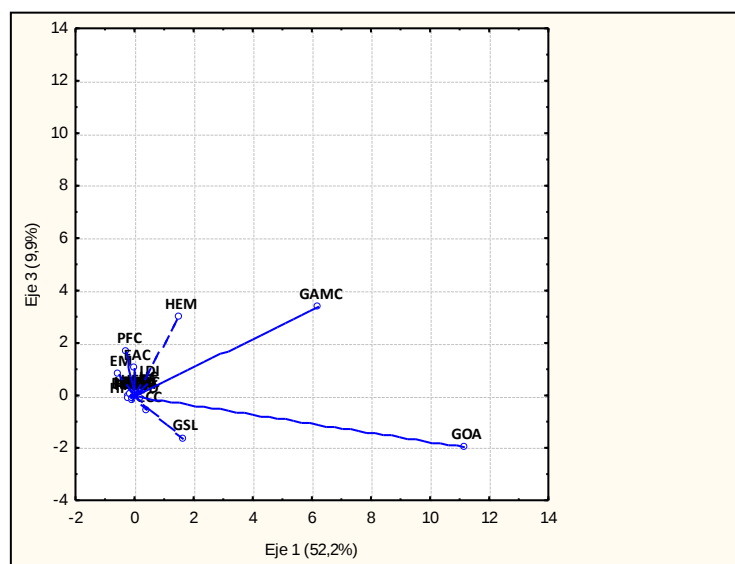


Figura 6. Plano de los componentes principales 1 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.

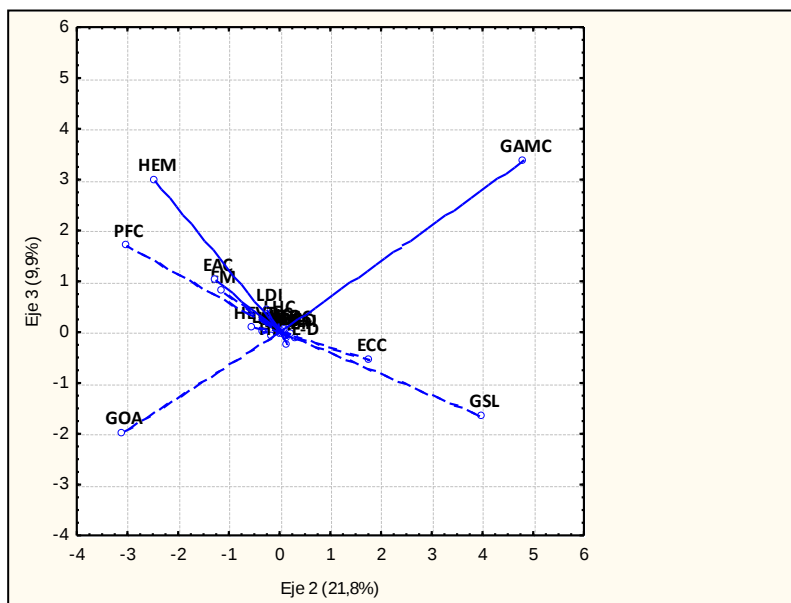


Figura 7. Plano de los componentes principales 2 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.

Los análisis univariados de todas las variables consideradas en este estudio, nos muestran que los ejemplares de las islas se diferencian de los de tierra firme en un conjunto de variables (Tabla 4). En particular, los individuos de las islas presentan mayores valores de las variables **PFC**, **EM**, **HEM**, **HEVT**, **EAC** y menores valores de **LC/LHC**, **ECC**, **GSL**, **EBP**, **GAMC**, **GOA**, **HPFE-d** y **HPFE-I** que los animales de tierra firme.

72°C Tabla 4. Estadística descriptiva de las variables morfológicas y merísticas de los ejemplares de las islas y de tierra firme. La columna final muestra los valores de probabilidad de la prueba t de Student para la comparación de medias entre islas y tierra firme.

| VARIABLES | ISLAS         |                |        |        |    | TIERRA FIRME  |                |        |        |    | p de t Student |
|-----------|---------------|----------------|--------|--------|----|---------------|----------------|--------|--------|----|----------------|
|           | media         | D.E.           | Mínimo | Máximo | N  | media         | D.E.           | Mínimo | Máximo | N  |                |
| LHC       | 6,96          | ± 1,09         | 4,82   | 9,78   | 98 | 6,88          | ± 1,29         | 3,19   | 8,94   | 39 | 0,711          |
| LT        | 21,30         | ± 4,24         | 10,50  | 31,49  | 89 | 22,25         | ± 5,35         | 10,48  | 30,27  | 33 | 0,312          |
| LC        | 1,84          | ± 0,32         | 1,25   | 2,75   | 98 | 1,93          | ± 0,37         | 1,00   | 2,46   | 39 | 0,144          |
| LC/LHC    | <b>0,26</b>   | ± <b>0,01</b>  | 0,23   | 0,32   | 98 | <b>0,28</b>   | ± <b>0,03</b>  | 0,18   | 0,40   | 39 | <b>0,000</b>   |
| PFC       | <b>53,64</b>  | ± <b>3,40</b>  | 45,00  | 60,00  | 98 | <b>45,34</b>  | ± <b>4,19</b>  | 36,00  | 53,00  | 35 | <b>0,000</b>   |
| LDI       | 31,90         | ± 1,74         | 28,00  | 36,00  | 94 | 31,29         | ± 1,94         | 28,00  | 35,00  | 38 | 0,078          |
| ESOC      | 8,00          | ± 0,00         | 8,00   | 8,00   | 98 | 8,05          | ± 0,40         | 7,00   | 10,00  | 38 | 0,191          |
| ECC       | <b>15,87</b>  | ± <b>2,03</b>  | 12,00  | 27,00  | 94 | <b>20,30</b>  | ± <b>3,27</b>  | 14,00  | 29,00  | 37 | <b>0,000</b>   |
| GSL       | <b>17,14</b>  | ± <b>2,77</b>  | 13,00  | 30,00  | 95 | <b>28,47</b>  | ± <b>7,15</b>  | 17,00  | 46,00  | 36 | <b>0,000</b>   |
| EP        | 4,00          | ± 0,00         | 4,00   | 4,00   | 98 | 4,00          | ± 0,00         | 4,00   | 4,00   | 36 | 1,000          |
| EM        | <b>17,65</b>  | ± <b>2,27</b>  | 13,00  | 23,00  | 98 | <b>13,79</b>  | ± <b>1,52</b>  | 10,00  | 18,00  | 39 | <b>0,000</b>   |
| HEM       | <b>48,14</b>  | ± <b>5,64</b>  | 22,00  | 60,00  | 98 | <b>43,72</b>  | ± <b>5,44</b>  | 29,00  | 54,00  | 39 | <b>0,000</b>   |
| EBP       | <b>13,74</b>  | ± <b>1,37</b>  | 11,00  | 17,00  | 93 | <b>14,67</b>  | ± <b>1,39</b>  | 12,00  | 17,00  | 36 | <b>0,001</b>   |
| GAMC      | <b>102,31</b> | ± <b>7,96</b>  | 83,00  | 128,00 | 98 | <b>116,05</b> | ± <b>8,67</b>  | 101,00 | 139,00 | 37 | <b>0,000</b>   |
| GOA       | <b>209,98</b> | ± <b>13,94</b> | 174,00 | 245,00 | 97 | <b>218,62</b> | ± <b>11,91</b> | 193,00 | 240,00 | 37 | <b>0,001</b>   |
| HEVL      | 8,45          | ± 0,84         | 8,00   | 10,00  | 98 | <b>8,50</b>   | ± <b>0,86</b>  | 8,00   | 10,00  | 38 | 0,753          |
| HEVT      | <b>30,32</b>  | ± <b>2,29</b>  | 10,00  | 32,00  | 97 | <b>29,11</b>  | ± <b>1,41</b>  | 26,00  | 32,00  | 38 | <b>0,003</b>   |
| SL        | 16,84         | ± 1,16         | 13,00  | 19,00  | 98 | 16,61         | ± 1,64         | 14,00  | 21,00  | 38 | 0,357          |
| IL        | 17,21         | ± 1,38         | 14,00  | 21,00  | 98 | 16,68         | ± 1,80         | 13,00  | 22,00  | 38 | 0,068          |
| EAC       | <b>29,57</b>  | ± <b>2,41</b>  | 25,00  | 40,00  | 97 | <b>25,72</b>  | ± <b>3,21</b>  | 20,00  | 37,00  | 39 | <b>0,000</b>   |
| PFE-D     | 6,52          | ± 1,08         | 4,00   | 8,00   | 97 | 6,79          | ± 1,06         | 5,00   | 10,00  | 39 | 0,172          |
| PFE-I     | 6,56          | ± 1,10         | 4,00   | 9,00   | 97 | 6,76          | ± 1,08         | 5,00   | 10,00  | 38 | 0,325          |
| HPFE-D    | <b>10,77</b>  | ± <b>1,25</b>  | 8,00   | 14,00  | 97 | <b>11,23</b>  | ± <b>0,90</b>  | 9,00   | 13,00  | 39 | <b>0,040</b>   |
| HPFE-I    | <b>10,74</b>  | ± <b>1,18</b>  | 8,00   | 14,00  | 97 | <b>11,19</b>  | ± <b>0,86</b>  | 9,00   | 13,00  | 36 | <b>0,037</b>   |
| IT-D      | 7,16          | ± 0,86         | 5,00   | 9,00   | 96 | 7,13          | ± 0,83         | 6,00   | 9,00   | 39 | 0,863          |
| IT-I      | 7,27          | ± 0,87         | 5,00   | 9,00   | 97 | 7,26          | ± 0,82         | 6,00   | 9,00   | 39 | 0,943          |

### Islas

Si analizamos el conjunto de datos de los ejemplares de las islas, excluyendo los ejemplares de tierra firme, podemos notar que los tres primeros componentes explican el 85,9% de la variación total de los datos (Tabla 5).

Tabla 5. Autovalores y varianzas de los datos de los ejemplares de las islas, representados para los tres primeros componentes principales.

| Eje | Eigenvalue | % Total variance | Cumulative Eigenvalue | Cumulative % |
|-----|------------|------------------|-----------------------|--------------|
| 1   | 153,081    | 67,115           | 153,081               | 67,115       |
| 2   | 29,707     | 13,024           | 182,787               | 80,139       |
| 3   | 13,042     | 5,718            | 195,829               | 85,857       |

La dispersión de los casos (ejemplares) en el plano conformado por los dos primeros componentes principales (calculados con las mismas variables utilizadas para el total de individuos), muestra que los ejemplares de isla de Aves, la Orchila y Dos Mosquises forman una nube de puntos que se separa de los ejemplares del Gran Roque, aunque hay una zona de solapamiento entre ambas nubes, donde individuos de todas las islas están mezclados (Figura 8).

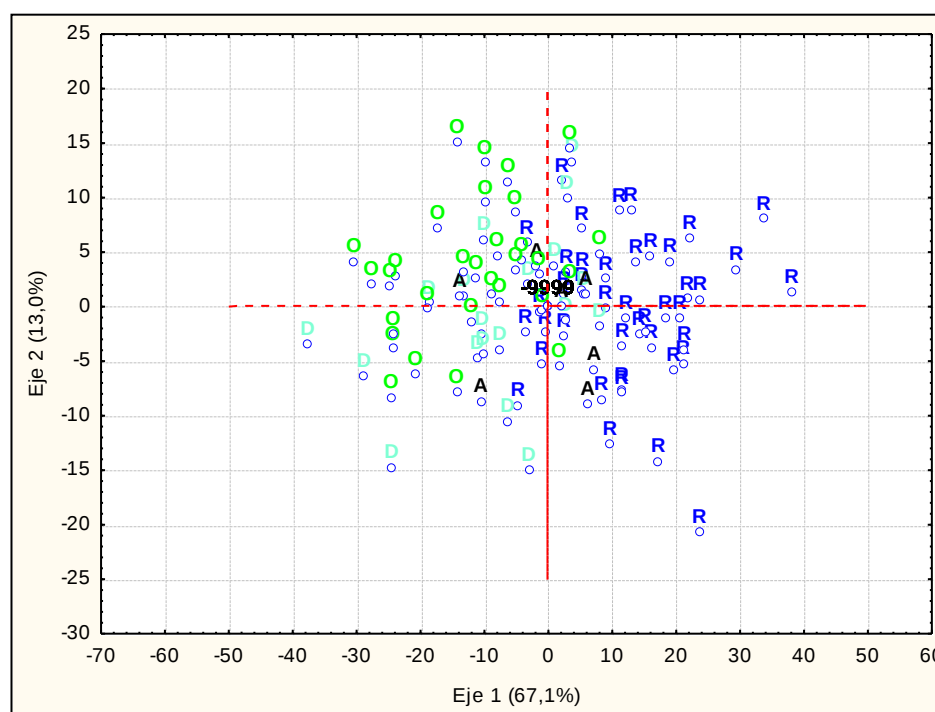


Figura 8. Casos representados por los dos primeros componentes principales para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque).

La revisión de los coeficientes de asociación de las variables con cada uno de los componentes (Figura 9), nos indica que el primer componente (eje) está representado mayoritariamente, en forma positiva, por las variables **GOA**, **GAMC** y **HEM** y el segundo componente **GAMC** y **HEM** de manera negativa.

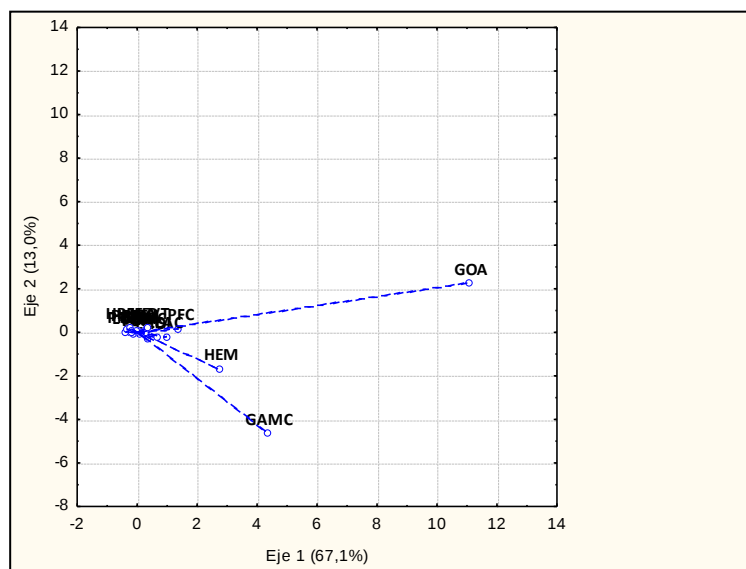


Figura 9. Plano de los componentes principales 1 y 2 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.

Los planos conformados por los componentes 1 - 3 y 2 - 3, muestran que en el primero de ellos (Figura 10) se mantiene la configuración de las nubes de punto observadas en el plano de los componentes 1 y 2 analizadas arriba, esto porque el componente 2 aporta solo 5,7% de la variación total de los datos. Por su parte, al observar el plano de los componentes 2 y 3, observamos que todos los ejemplares de las islas forman una sola nube de puntos donde todos los ejemplares están entremezclados (Figura 12). El eje tres está asociado

negativamente con la variable **HEM** y de manera positiva con **GAMC** (Figura 11 y 13).

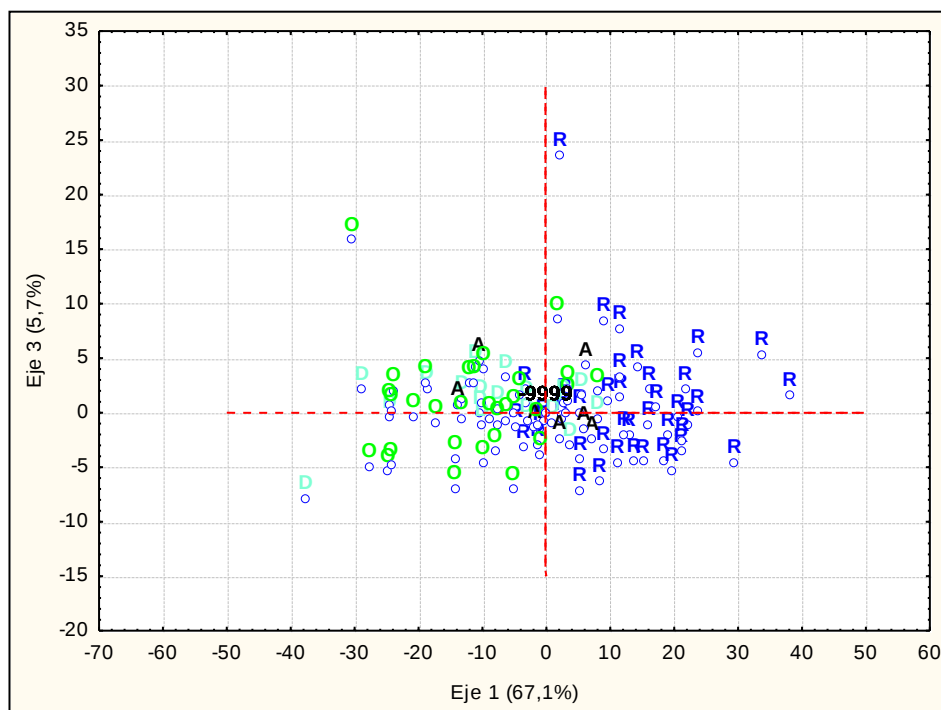


Figura 10. Casos representados por los componentes principales 1 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque).

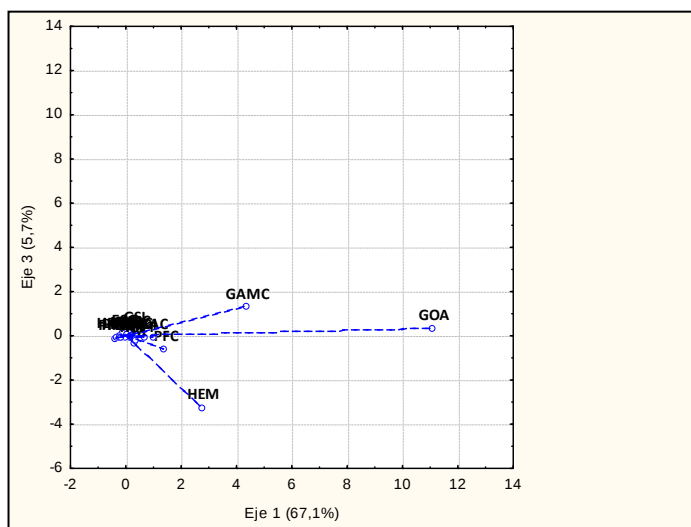


Figura 11. Plano de los componentes principales 1 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.

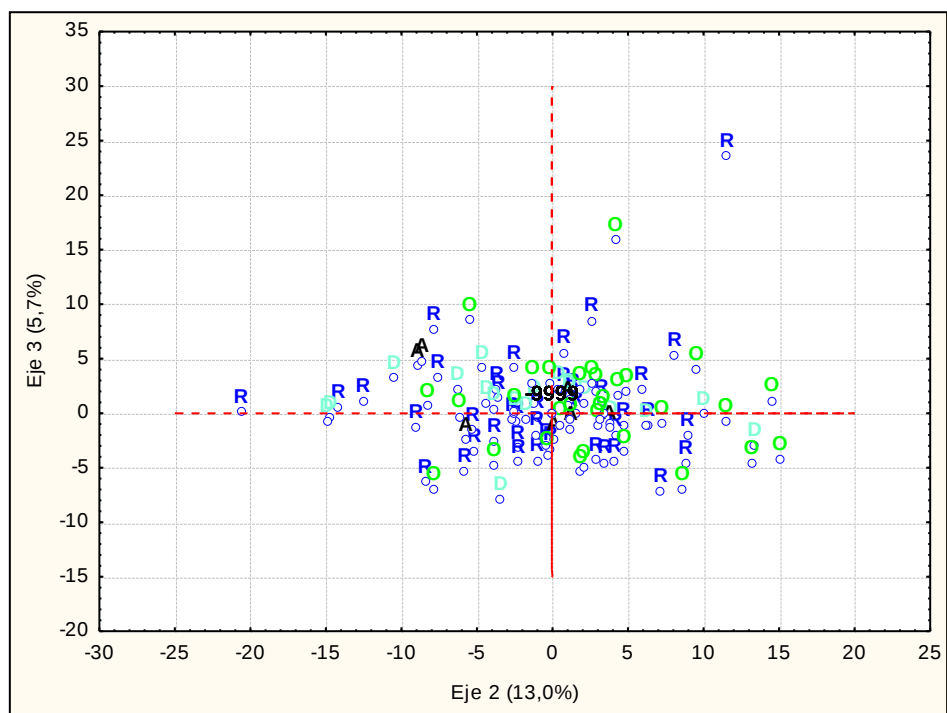


Figura 12. Casos representados por los componentes principales 2 y 3 para el total de individuos de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque).

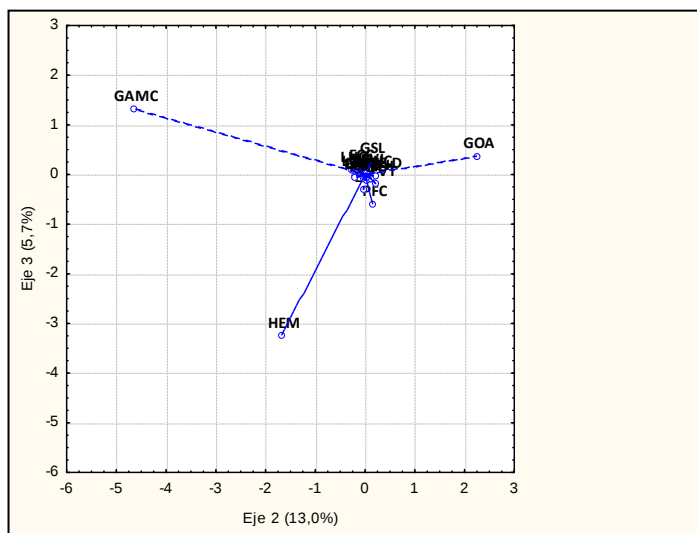


Figura 13. Plano de los componentes principales 2 y 3 donde se muestran las variables y su asociación con cada componente.

Los análisis univariados de todas las variables consideradas en este estudio nos muestran que los ejemplares de las islas se diferencian entre sí en 19 de las 25 variables evaluadas (Tabla 6). En particular, las diferencias se observan mayormente entre los individuos de las islas el Gran Roque (R) y La Orchila (O) con diferencias significativas en 16 de las 25 variables, seguidas de los pares de islas Gran Roque y Dos Mosquises (D) con diferencias en 12 variables (Tabla 7).

Esto nos permite señalar que las poblaciones de El Gran Roque y de La Orchila presentan diferencias estadísticamente significativas en los caracteres asociados al tamaño corporal y la merística. Los ejemplares del Gran Roque son de mayor talla corporal (**LHC**, **LT** y **LC**) que aquellos de la Orchila y presentan mayores valores en las variables **PFC**, **LDI**, **EM**, **HEM**, **GAMC**, **GOA**, **IL**, **EAC** y menores valores en las siguientes variables **SL**, **PFE-D**, **PFE-I**, **HPFE-D**, **HPFE-I**, **IT-D** y **IT-I** (Tabla 6).

Resulta interesante hallar diferencias importantes en las poblaciones de dos islas dentro de un mismo archipiélago (Gran Roque y Dos Mosquises). La población del Gran Roque con respecto a la población de Dos Mosquises presenta tallas corporales semejantes, pero mayores valores en las variables **PFC**, **EM**, **HEM**, **GAMC**, **GOA**, **EAC** y menores valores en **SL**, **PFE-D**, **PFE-I**, **HPFE-D**, **IT-D** y **IT-I** (Tabla 7).

Tabla 6. Estadística descriptiva de las variables morfológicas y merísticas de los ejemplares de las islas (A: Aves; D: Dos Mosquises; O: Orchila; R: Gran Roque). Las variables en letras *itálicas* y rojas significan que la comparación de muestras múltiples independientes de Kruskal-Wallis fueron significativas estadísticamente.

| Ariables | Islas | Media | D.E.   | Mínimo | Máximo | N  | Variables | Islas | Media  | D.E.    | Mínimo | Máximo | N  |
|----------|-------|-------|--------|--------|--------|----|-----------|-------|--------|---------|--------|--------|----|
| LHC      | R     | 7,43  | ± 0,99 | 5,77   | 9,42   | 42 | GAMC      | R     | 107,33 | ± 6,69  | 95,00  | 128,00 | 42 |
|          | D     | 6,85  | ± 0,94 | 5,23   | 9,15   | 19 |           | D     | 100,74 | ± 6,41  | 89,00  | 114,00 | 19 |
|          | A     | 7,16  | ± 1,72 | 5,00   | 9,78   | 7  |           | A     | 104,29 | ± 6,10  | 97,00  | 114,00 | 7  |
|          | O     | 6,33  | ± 0,83 | 4,82   | 8,60   | 30 |           | O     | 95,80  | ± 5,69  | 83,00  | 110,00 | 30 |
| LT       | R     | 22,62 | ± 2,87 | 17,44  | 30,71  | 42 | GOA       | R     | 220,55 | ± 9,57  | 202,00 | 245,00 | 42 |
|          | D     | 20,66 | ± 3,91 | 13,70  | 30,67  | 18 |           | D     | 202,11 | ± 12,67 | 174,00 | 219,00 | 19 |
|          | A     | 23,48 | ± 7,30 | 17,34  | 31,49  | 5  |           | A     | 208,71 | ± 7,54  | 198,00 | 216,00 | 7  |
|          | O     | 19,03 | ± 4,88 | 10,50  | 29,95  | 24 |           | O     | 200,14 | ± 10,32 | 184,00 | 219,00 | 29 |
| LC       | R     | 1,95  | ± 0,32 | 1,46   | 2,69   | 42 | HEVL      | R     | 8,43   | ± 0,83  | 8,00   | 10,00  | 42 |
|          | D     | 1,82  | ± 0,24 | 1,38   | 2,40   | 19 |           | D     | 8,63   | ± 0,96  | 8,00   | 10,00  | 19 |
|          | A     | 1,93  | ± 0,47 | 1,47   | 2,75   | 7  |           | A     | 8,57   | ± 0,98  | 8,00   | 10,00  | 7  |
|          | O     | 1,67  | ± 0,26 | 1,25   | 2,47   | 30 |           | O     | 8,33   | ± 0,76  | 8,00   | 10,00  | 30 |
| LC/LHC   | R     | 0,26  | ± 0,02 | 0,23   | 0,32   | 42 | HEVT      | R     | 30,93  | ± 0,75  | 29,00  | 32,00  | 41 |
|          | D     | 0,27  | ± 0,01 | 0,25   | 0,29   | 19 |           | D     | 30,26  | ± 0,87  | 29,00  | 32,00  | 19 |
|          | A     | 0,27  | ± 0,02 | 0,25   | 0,29   | 7  |           | A     | 27,14  | ± 7,65  | 10,00  | 31,00  | 7  |
|          | O     | 0,26  | ± 0,01 | 0,24   | 0,29   | 30 |           | O     | 30,27  | ± 1,05  | 28,00  | 32,00  | 30 |
| PFC      | R     | 55,69 | ± 2,65 | 51,00  | 60,00  | 42 | SL        | R     | 16,52  | ± 1,23  | 13,00  | 19,00  | 42 |
|          | D     | 50,00 | ± 2,69 | 45,00  | 55,00  | 19 |           | D     | 17,53  | ± 0,70  | 16,00  | 19,00  | 19 |
|          | A     | 52,86 | ± 1,86 | 49,00  | 55,00  | 7  |           | A     | 16,71  | ± 1,25  | 15,00  | 19,00  | 7  |
|          | O     | 53,27 | ± 2,90 | 48,00  | 59,00  | 30 |           | O     | 16,87  | ± 1,14  | 14,00  | 19,00  | 30 |
| LDI      | R     | 32,79 | ± 1,37 | 30,00  | 36,00  | 42 | IL        | R     | 17,36  | ± 1,36  | 15,00  | 21,00  | 42 |
|          | D     | 31,56 | ± 1,29 | 29,00  | 34,00  | 18 |           | D     | 17,63  | ± 1,21  | 16,00  | 21,00  | 19 |
|          | A     | 31,67 | ± 1,21 | 30,00  | 33,00  | 6  |           | A     | 15,57  | ± 0,98  | 14,00  | 17,00  | 7  |
|          | O     | 30,86 | ± 1,96 | 28,00  | 36,00  | 28 |           | O     | 17,13  | ± 1,36  | 14,00  | 20,00  | 30 |
| ESOC     | R     | 8,00  | ± 0,00 | 8,00   | 8,00   | 42 | EAC       | R     | 30,98  | ± 2,57  | 25,00  | 40,00  | 41 |
|          | D     | 8,00  | ± 0,00 | 8,00   | 8,00   | 19 |           | D     | 27,95  | ± 1,51  | 25,00  | 31,00  | 19 |
|          | A     | 8,00  | ± 0,00 | 8,00   | 8,00   | 7  |           | A     | 28,00  | ± 0,82  | 27,00  | 29,00  | 7  |
|          | O     | 8,00  | ± 0,00 | 8,00   | 8,00   | 30 |           | O     | 29,03  | ± 1,79  | 25,00  | 32,00  | 30 |
| ECC      | R     | 15,37 | ± 1,39 | 12,00  | 19,00  | 41 | PFE-D     | R     | 5,69   | ± 0,92  | 4,00   | 8,00   | 42 |
|          | D     | 16,00 | ± 1,67 | 13,00  | 18,00  | 19 |           | D     | 7,53   | ± 0,70  | 6,00   | 8,00   | 19 |
|          | A     | 15,00 | ± 1,53 | 12,00  | 16,00  | 7  |           | A     | 7,14   | ± 0,90  | 6,00   | 8,00   | 7  |
|          | O     | 16,78 | ± 2,81 | 13,00  | 27,00  | 27 |           | O     | 6,90   | ± 0,56  | 6,00   | 8,00   | 29 |
| GSL      |       | 17,45 | ± 3,20 | 13,00  | 30,00  | 42 | PFE-I     | R     | 5,69   | ± 0,84  | 4,00   | 7,00   | 42 |
|          | D     | 16,74 | ± 1,94 | 14,00  | 21,00  | 19 |           | D     | 7,42   | ± 0,69  | 6,00   | 8,00   | 19 |
|          | A     | 15,43 | ± 0,98 | 14,00  | 17,00  | 7  |           | A     | 7,29   | ± 1,11  | 6,00   | 9,00   | 7  |
|          | O     | 17,37 | ± 2,78 | 14,00  | 29,00  | 27 |           | O     | 7,07   | ± 0,70  | 6,00   | 9,00   | 29 |
| EP       | R     | 4,00  | ± 0,00 | 4,00   | 4,00   | 42 | HPFE-D    | R     | 9,98   | ± 1,00  | 8,00   | 13,00  | 42 |
|          | D     | 4,00  | ± 0,00 | 4,00   | 4,00   | 19 |           | D     | 10,95  | ± 0,78  | 9,00   | 12,00  | 19 |

|     |   |       |        |       |       |    |        |   |       |        |       |       |    |
|-----|---|-------|--------|-------|-------|----|--------|---|-------|--------|-------|-------|----|
|     | A | 4,00  | ± 0,00 | 4,00  | 4,00  | 7  |        | A | 11,86 | ± 1,35 | 10,00 | 14,00 | 7  |
|     | O | 4,00  | ± 0,00 | 4,00  | 4,00  | 30 |        | O | 11,55 | ± 1,12 | 9,00  | 14,00 | 29 |
| EM  | R | 18,62 | ± 1,90 | 15,00 | 23,00 | 42 | HPFE-I | R | 10,17 | ± 1,08 | 8,00  | 12,00 | 42 |
|     | D | 16,11 | ± 2,00 | 14,00 | 20,00 | 19 |        | D | 10,89 | ± 0,81 | 10,00 | 13,00 | 19 |
|     | A | 14,71 | ± 1,70 | 13,00 | 17,00 | 7  |        | A | 11,57 | ± 1,40 | 10,00 | 14,00 | 7  |
|     | O | 17,97 | ± 1,97 | 14,00 | 23,00 | 30 |        | O | 11,28 | ± 1,10 | 9,00  | 14,00 | 29 |
|     |   |       |        |       |       |    |        |   |       |        |       |       |    |
| HEM | R | 51,00 | ± 5,99 | 22,00 | 60,00 | 42 | IT-D   | R | 6,71  | ± 0,87 | 5,00  | 8,00  | 41 |
|     | D | 47,16 | ± 2,63 | 43,00 | 53,00 | 19 |        | D | 7,84  | ± 0,50 | 7,00  | 9,00  | 19 |
|     | A | 48,86 | ± 3,53 | 44,00 | 54,00 | 7  |        | A | 7,43  | ± 0,53 | 7,00  | 8,00  | 7  |
|     | O | 44,60 | ± 4,82 | 25,00 | 53,00 | 30 |        | O | 7,28  | ± 0,75 | 6,00  | 9,00  | 29 |
|     |   |       |        |       |       |    |        |   |       |        |       |       |    |
| EBP | R | 14,11 | ± 1,25 | 12,00 | 17,00 | 38 | IT-I   |   | 6,81  | ± 0,86 | 5,00  | 9,00  | 42 |
|     | D | 13,58 | ± 1,35 | 11,00 | 16,00 | 19 |        | D | 7,84  | ± 0,76 | 6,00  | 9,00  | 19 |
|     | A | 13,29 | ± 0,95 | 12,00 | 14,00 | 7  |        | A | 7,57  | ± 0,79 | 6,00  | 8,00  | 7  |
|     | O | 13,48 | ± 1,57 | 11,00 | 17,00 | 29 |        | O | 7,48  | ± 0,63 | 6,00  | 9,00  | 29 |
|     |   |       |        |       |       |    |        |   |       |        |       |       |    |

Tabla 7. Valores de probabilidad de las muestras múltiples independientes de Kruskal-Wallis y las diferencias entre islas halladas con la pruebas a posteriori para aquellos casos en que prueba de Kruskal-Wallis dio significativa.

| Variables        | LHC     | LT      | LC      | LC/LHC | PFC     | LDI     | ESOC | ECC   | GSL   | EP   | EM      | HEM     | EBP   |
|------------------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|------|-------|-------|------|---------|---------|-------|
| Probabilidad     | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | 0,656  | < 0,001 | < 0,001 | 1,00 | 0,095 | 0,114 | 1,00 | < 0,001 | < 0,001 | 0,146 |
| Pares diferentes | R-O     | R-O     | R-O     |        | R-O     | R-O     |      |       |       |      | R-O     | R-O     |       |
|                  |         |         |         |        | R-D     |         |      |       |       |      | R-D     | R-D     |       |
|                  |         |         |         |        |         |         |      |       |       |      |         |         |       |
|                  |         |         |         |        | D-O     |         |      |       |       |      |         |         |       |

| Variables        | GAMC    | GOA     | HEVL  | HEVT   | SL    | IL    | EAC     | PFE-D   | PFE-I   | HPFE-D  | HPFE-I  | IT-D    | IT-I    |
|------------------|---------|---------|-------|--------|-------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Probabilidad     | < 0,001 | < 0,001 | 0,649 | 0,0066 | 0,006 | 0,008 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 |
| Pares diferentes | R-O     | R-O     |       | *      |       |       | R-O     | R-O     | R-O     | R-O     | R-O     | R-D     | R-O     |
|                  | R-D     | R-D     |       |        | R-D   |       | R-D     | R-D     | R-D     | R-D     |         | R-D     | R-D     |
|                  |         |         |       |        |       | R-A   | R-A     | R-A     | R-A     | R-A     |         |         |         |
|                  |         |         |       |        |       | A-D   |         |         |         |         |         |         |         |
|                  | A-O     |         |       |        |       | A-O   |         |         |         |         |         |         |         |

\* no se observaron diferencias entre pares de islas, a pesar de que la prueba global dio diferencias estadísticamente significativas

## Patrones de coloración

Comparando los patrones de coloración (preservados) evaluados en este estudio, podemos observar que un claro patrón que diferencia a los individuos de las islas de los de tierra firme, es la ausencia de una banda vertebral (V), las paravertebrales (PC), laterales 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) y el par de bandas oscuras ubicadas a ambos lados de la raya clara vertebral (PO), el par de bandas oscuras ubicadas entre las bandas claras paravertebrales y las bandas claras laterales (D) y una clara ausencia de rayas claras dorsales (RCD). El resto de las variables no muestran patrones diferenciales (Tabla 8). Dentro de las islas evaluadas no se aprecian diferencias notables. No se evaluaron los ejemplares del Gran Roque, dado que su estado de conservación no lo permitió.

Tabla 8. Patrones de coloración de ejemplares de las islas y de tierra firme en términos de frecuencia de aparición. A excepción de la variable “número de rayas claras dorsales” (RCD) en que se muestra el promedio y la desviación estándar. Vertebral (V), Paravertebrales (PC), Laterales 1 (L1), Laterales 2 (L2); Laterales 3(L3), Bandas oscuras paravertebrales (PO), Bandas oscuras dorsolaterales (D), Número de rayas claras dorsales (RCD), Presencia o ausencia de manchas dorsales en los miembros anteriores (conspicuas o inconspicuas) (MMA), Presencia o ausencia de manchas dorsales en los miembros posteriores (conspicuas o inconspicuas) (MMP) y Presencia o ausencia de manchas en los flancos (conspicuas o inconspicuas) (MF).

| Localidad            |              | V           | PC           | L1           | L2          | L3          | PO           | D            | MMA          | MMP          | MF           | RCD<br>(media<br>± d.e.) |
|----------------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| <b>Dos Mosquises</b> | <b>Total</b> | 0           | 0            | 0            | 0           | 0           | 0            | 0            | 17           | 18           | 17           | 0                        |
| <b>(n = 19)</b>      | <b>%</b>     | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>   | <b>89,5</b>  | <b>94,7</b>  | <b>89,5</b>  | <b>0,0</b>               |
| <b>Las Aves</b>      | <b>Total</b> | 0           | 0            | 0            | 0           | 0           | 0            | 0            | 2            | 4            | 2            | 0                        |
| <b>(n= 7)</b>        | <b>%</b>     | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>   | <b>28,6</b>  | <b>57,1</b>  | <b>28,6</b>  | <b>0,0</b>               |
| <b>La Orchila</b>    | <b>Total</b> | 0           | 0            | 0            | 0           | 0           | 0            | 0            | 12           | 22           | 12           | 0                        |
| <b>(n = 30)</b>      | <b>%</b>     | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>  | <b>0,0</b>   | <b>0,0</b>   | <b>40,0</b>  | <b>73,3</b>  | <b>40,0</b>  | <b>0,0</b>               |
| <b>Los Caracas</b>   | <b>Total</b> | 2           | 7            | 7            | 5           | 4           | 7            | 8            | 6            | 8            | 8            | 6,25                     |
| <b>(n = 8)</b>       | <b>%</b>     | <b>25,0</b> | <b>87,5</b>  | <b>87,5</b>  | <b>62,5</b> | <b>50,0</b> | <b>87,5</b>  | <b>100,0</b> | <b>75,0</b>  | <b>100,0</b> | <b>100,0</b> | <b>2,8</b>               |
| <b>Catia La Mar</b>  | <b>Total</b> | 1           | 7            | 7            | 6           | 2           | 7            | 7            | 7            | 7            | 7            | 6,71                     |
| <b>(n = 7)</b>       | <b>%</b>     | <b>14,3</b> | <b>100,0</b> | <b>100,0</b> | <b>85,7</b> | <b>28,6</b> | <b>100,0</b> | <b>100,0</b> | <b>100,0</b> | <b>100,0</b> | <b>100,0</b> | <b>1,7</b>               |
| <b>El Limón</b>      | <b>Total</b> | 2           | 22           | 24           | 20          | 10          | 23           | 24           | 11           | 24           | 21           | 6,58                     |
| <b>(n = 24)</b>      | <b>%</b>     | <b>8,3</b>  | <b>91,7</b>  | <b>100,0</b> | <b>83,3</b> | <b>41,7</b> | <b>95,8</b>  | <b>100,0</b> | <b>45,8</b>  | <b>100,0</b> | <b>87,5</b>  | <b>1,9</b>               |

## Estudio Molecular

### *Total de individuos (islas y tierra firme)*

La diferenciación genética fue muy baja para todos los genes, tanto para los ejemplares de las islas como para los de tierra firme (Tabla 9). Sin embargo, la diversidad de tierra firme superior a la hallada en las islas.

Tabla 9. Diversidad nucleotídica de los fragmentos de genes evaluados para las islas y tierra firme.

| Localidad           | ND4    | Cyt b  | 16S    | 12S    |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Islas</b>        |        |        |        |        |
| Promedio            | 0,0016 | 0,0010 | 0,0000 | 0,0006 |
| Desviación estándar | 0,0020 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0010 |
| <b>Tierra Firme</b> |        |        |        |        |
| Promedio            | 0,0141 | 0,0105 | 0,0300 | 0,0011 |
| Desviación estándar | 0,0160 | 0,0130 | 0,0400 | 0,0010 |

La selección de modelos de sustitución molecular para las 2000 bases aproximadamente, de las cuatro regiones de los genes ND4, Cyt b, 16S y 12S, permitió ajustar el modelo GTR (General Time Reversible model) como el más apropiado según el criterio Akaike (AIC).

Los resultados de los análisis filogenéticos utilizando el método de máxima verosimilitud confirman la monofilia de este grupo de poblaciones del género *Cnemidophorus*. Esta filogenia muestra dos subclados, ambos con buen soporte de bootstrap (100%), uno que incluye a las poblaciones de las islas y el otro a las de tierra firme (Figura 14).

El subclado de tierra firme muestra estructura filogenética, con dos subgrupos, soportados ambos por un 100%, uno representado por las poblaciones de Morrocoy y el otro conformado por las poblaciones de Catia La Mar y Los Caracas con cierta estructura entre ellas (80 y 71%).

El sub-clado de las islas presenta estructura filogenética con dos subgrupos, uno conformado por la población de La Orchila con un soporte relativamente alto (80%) y el otros con las poblaciones de Dos Mosquises y de Las Aves con soporte moderado (58%).

### ***Islas***

A los fines de mirar a detalle en las islas, se realizó un análisis con los mismos fragmentos de los cuatro genes, pero centrado solo en los ejemplares de las islas consideradas en este estudio, donde el modelo de sustitución de nucleótidos TPM (modelo de Tamura 3-parametros) resultó el más apropiado para el conjunto de datos combinados usados en este análisis.

Los resultados de dicho análisis nos muestran que el conjunto de las islas no es homogéneo como se vislumbraba en el análisis que incluía a los ejemplares de tierra firme (Figura 15). Las poblaciones de Las Aves y de Dos Mosquises conforman una sola unidad, mientras que la población de la isla La Orchila muestra una diferenciación con un soporte relativamente alto (85%).

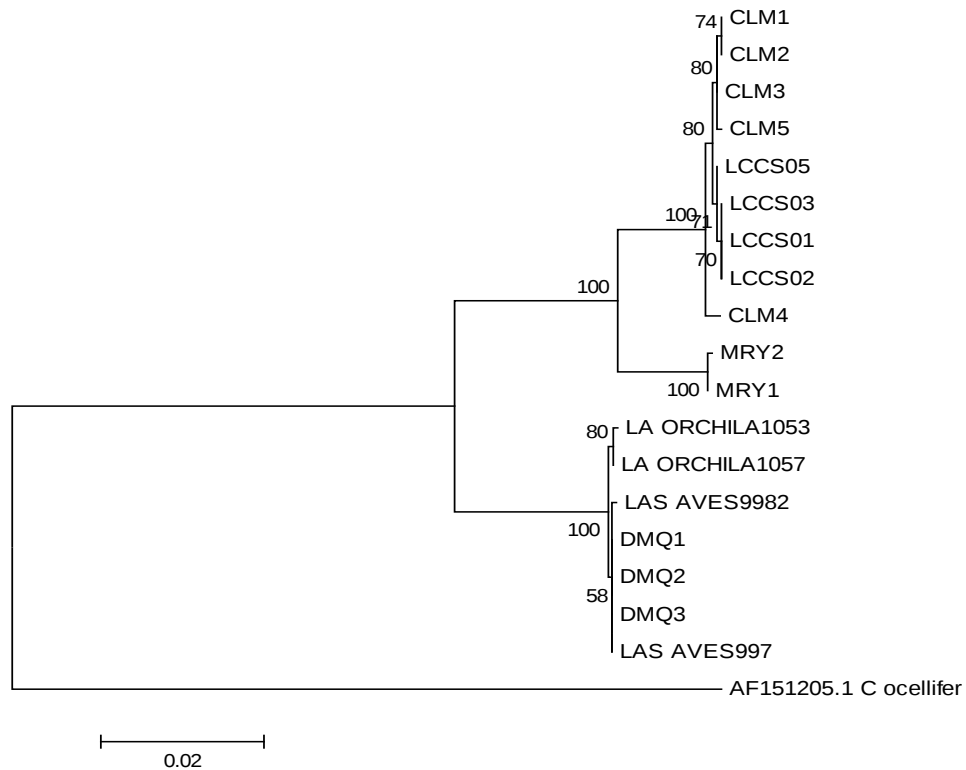


Figura 14. Cladograma con los cuatro fragmentos de los genes (ND4, Cyt b, 16S y 12S) generado con el método de máxima verosimilitud, modelo GTR, con un boobstrap de 2000 repeticiones y enraizado con *Cnemidophorus ocellifer*. Las siglas de las localidades son las siguientes: CLM: Catia La Mar, LCCS: Los Caracas, MRY: Morrocoy, DMQ: Dos Mosquises.

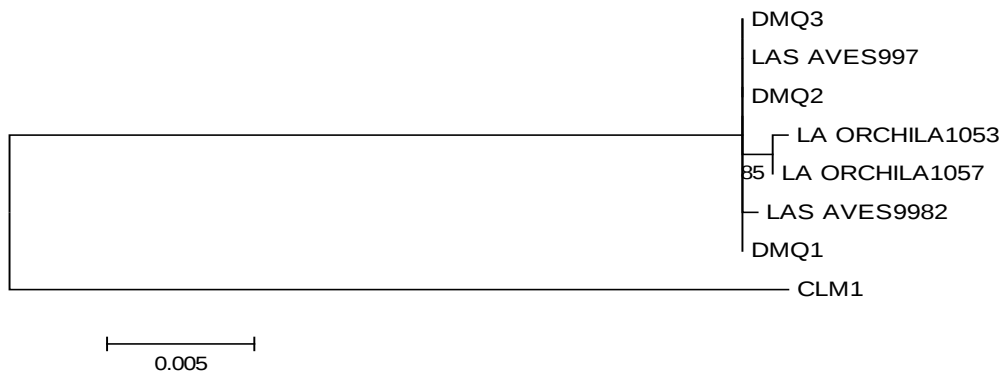


Figura 15. Cladograma con los cuatro framentos de genes (ND4, Cyt b, 16S y 12S) generado con el método de maxima verosimilitud, modelo TPM, con un boobstrap de 2000 repeticiones y enraizado con un *Cnemidophorus* de Catia La Mar (DMQ: Dos Mosquises).

Aunque la diferenciación entre las islas sigue siendo baja, los ejemplares de La Orchila muestran mayor diversidad genética en los fragmentos ND4 y 12S que los separa de Dos Mosquises y Las Aves, las cuales se muestran homogéneas en su extremadamente baja diversidad (Tabla 10).

Tabla 10. Diversidad nucleotídica de los fragmentos de genes evaluados para las islas.

| Localidad            | ND4    | Cyt b  | 16S    | 12S    |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Dos Mosquises</b> |        |        |        |        |
| Promedio             | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Desviación estándar  | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| <b>Las Aves</b>      |        |        |        |        |
| Promedio             | 0,0000 | 0,0010 | 0,0000 | 0,0000 |
| Desviación estándar  | 0,0000 | 0,0008 | 0,0000 | 0,0000 |
| <b>La Orchila</b>    |        |        |        |        |
| Promedio             | 0,0026 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0026 |
| Desviación estándar  | 0,0024 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0024 |

Se calculó las pares de bases en que difieren los ejemplares de las islas (Dos Mosquises, Las Aves y La Orchila) y se obtuvo entre 2 y 4 pares de bases nucleotídicas, con una varianza de 1,62 y 3,20.

## 6.- Discusión

La taxonomía de *Cnemidophorus nigricolor* ha sido compleja en términos de su asignación como especie plena así como en su distribución geográfica. Aunque inicialmente *C. nigricolor* fue considerada una especie plena (Peter 1873), revisiones posteriores la consideraron como una subespecie de *C. lemniscatus* (Burt, 1931), pero recientemente se llamó la atención para elevar su estatus a plena (Walker y Rhoads, 2003).

Paralelo a la taxonomía, la distribución geográfica de este taxón ha variado en el tiempo. Inicialmente, la distribución de *C. nigricolor* se extendía a un conjunto de islas frente a la costa norte de Venezuela (Archipiélagos Los Roques (localidad tipo), Las Aves y Los Hermanos, islas La Blanquilla, La Orchila y la Tortuga) (Peters y Donoso-Barros, 1970; Hummelinck, 1940; Burt 1931, Meek, 1910).

Esta amplia distribución de *C. nigricolor* en las islas contrasta con otras del mismo género que están restringidas a una sola isla: *Cnemidophorus arubensis* (Aruba), *C. murinus murinus* (Curazao), *C. m. ruthveni* (Bonaire), *C. senectus* (Margarita y Cubagua), *C. flavissimus* (Archipiélago Los Frailes) y *C. vanzoi* (María Mayor y María Menor al este de St. Lucía) (Ugueto y Harvey 2010), lo cual hizo suponer que dentro de “*C. nigricolor*” pueden estar incluidas varias especies crípticas, algunas descritas recientemente (Ugueto *et al.*, 2009; Ugueto y Harvey 2010).

Meek (1910) había reportado la presencia de variación, aunque limitada, en el tamaño de las escamas braquiales y mesopigiales y en el color de los individuos de las islas venezolanas de Los Roques, Las Aves y La Blanquilla. Por su parte, Burt (1931) señaló diferencias en el patrón de coloración entre poblaciones de esta especie de La Blanquilla y los archipiélagos de Los Roques y Las Aves. De modo era evidente la necesidad de reevaluar las poblaciones actualmente asignadas a *C. nigricolor* (Walker y Rhoads, 2003).

Finalmente propusieron que *C. nigricolor* se encontraba restringido únicamente al archipiélago de los Roques y que los ejemplares de otras islas (Las Aves y Los Hermanos y La Orchila) son diferentes y necesitan por tanto de una revisión taxonómica. Con esta idea en mente sometimos a prueba esta hipótesis de trabajo.

Los resultados de este trabajo nos señalan que hay una diferencia clara, tanto en términos morfológicos, de coloración y moleculares, entre los individuos de las islas (Aves, Dos Mosquises, Orchila y Gran Roque) y los de tierra firme (Catia La Mar, Los Caracas, El Limón y Morrocoy). Esto nos permite apoyar que son taxa distintos. Interesantemente, ambos clados difieren en su diversidad genética, siendo más homogéneas las poblaciones de las islas. Por otra parte, una comparación de los datos provistos en la Tabla 2 de Walker y Rhoads (2003) y este estudio, muestra que los ejemplares del Gran Roque examinados en ambos estudios revelan concordancia en 8 de 10 variables merísticas comunes evaluadas en ambos trabajos. Adicionalmente, la comparación de los valores de esas

variables entre los ejemplares del Gran Roque y la muestra de *C. lemniscatus* de tierra firme examinados en ambos estudios, exponen la misma tendencia, a pesar de dichos autores utilizaron material de Surinam y esta investigación *C. lemniscatus* de la costa venezolana.

La evaluación del conjunto de ejemplares de las islas muestra complejidad, pero dada la ausencia de datos moleculares de ejemplares del Gran Roque, no tenemos totalmente claro el panorama.

El análisis multivariado asociado al material de las islas, nos indica que en el caso de la morfología, los ejemplares de Las Aves, La Orchila y Dos Mosquises forman un conjunto que se separa, con un ligero solapamiento, de los ejemplares del Gran Roque. Patrón que se refuerza con los resultados de los análisis univariados que muestran importantes diferencias entre el Gran Roque y La Orchila. En particular, los individuos del Gran Roque con respecto a los de La Orchila son de mayor talla corporal y presentan mayores valores en las variables PFC, LDI, EM, HEM, GAMC, GOA, IL, EAC y menores valores en SL, PFE-D, PFE-I, HPFE-D, HPFE-I, IT-D y IT-I. Previamente, se habían reportado pequeñas diferencias entre las poblaciones de Los Roques y La Orchila (Alemán, 1952). En términos de los patrones de coloración, los ejemplares de Las Aves, La Orchila y Dos Mosquises forman un conjunto muy homogéneo, lo cual refuerza lo encontrado en los análisis multivariado.

Mientras que los resultados de los análisis moleculares para los ejemplares de las islas (Aves, Dos Mosquises y La Orchila), muestran claramente que aunque forman un clado monofilético, los ejemplares de la Orchila difieren del resto de las

islas, incluso muestran la mayor diversidad genética dentro de las islas, lo cual está en concordancia con lo encontrado con las variables morfológicas. Sin embargo, al no tener material del Gran Roque para los análisis moleculares, no podemos evaluar si se mantienen las diferencias encontradas entre los individuos de El Gran Roque y Dos Mosquises, en particular que los primeros presentan mayores valores en las variables PFC, EM, HEM, GAMC, GOA, EAC y menores valores en ISL, PFE-D, PFE-I, HPFE-D, IT-D y IT-I.

En este trabajo se encontró evidencia morfológica y molecular sólida que apoya la propuesta de que *C. nigricolor* debe ser considerada una especie plena y no una subespecie de *C. lemniscatus* (Walker y Rhoads, 2003).

Ugueto y Harvey (2010) propusieron que *C. nigricolor* está restringido solo a las islas del archipiélago Los Roques (Dos Mosquises, Cayo de Agua, Cayo Sal, Cayo Tortuga, Crasqui, Francisqui, Gran Roque, Isla Larga y Noronquises) y que las poblaciones de las islas La Orchila y las del Archipiélago Las Aves (sotavento y barlovento) son afines a *C. nigricolor*.

La evidencia morfológica y molecular de este trabajo indica que la población de La Orchila parecer ser un taxa que se está en un proceso de divergencia de *C. nigrocolor*, lo cual apoya la propuesta de Ugueto y Harvey (2010). Sin embargo, ambos conjuntos de datos no apoyan una diferenciación entre los ejemplares de Las Aves y Dos Mosquises tal como lo proponen dichos autores.

La gran incógnita de este trabajo es que no pudimos corroborar con datos moleculares, si las diferencias en los caracteres morfológicos (tamaños corporales

y merística) encontradas en este estudio, entre las poblaciones del Gran Roque y Dos Mosquises se mantienen a nivel molecular. Si éste fuese el caso y además se encuentran diferencias entre el Gran Roque con Las Aves y La Orchila, la propuesta de que el Gran Roque representa un taxa en proceso de diferenciación o ya diferenciado se verá fuertemente apoyada.

Es interesante señalar que la distribución de *C. nigricolor* en Los Roques, Las Aves y La Orchila, las cuales no han estado en contacto entre ellas, ni con tierra firme continental (ver la profundidad que las separa en Figura 1) supone una alta probabilidad de diferentes colonizaciones que dieron lugar a linajes evolutivos que representan diferentes taxa, tal como lo sugiere Ugueto y Harvey (2010) y que este trabajo muestra al menos para el linaje que colonizó La Orchila, la cual parece estar en un proceso de diferenciación en los actuales momentos.

## CONCLUSIONES

- Hay diferencias morfológicas, morfométricas y genéticas entre individuos de *Cnemidophorus* de las islas y de tierra firme.
- Las poblaciones de *Cnemidophorus* de Las Aves y Dos Mosquises no parecen ser dos taxa diferentes, tal como lo sugieren Ugueto y Harvey (2010).
- La evidencia morfológica y molecular de este trabajo indica que la población de La Orchila parecer ser una taxa que se está diferenciando o ya se diferencio de *C. nigricolor*, con lo cual se apoya lo propuesto por Ugueto y Harvey (2010) de que es un taxa afín a *C. nigricolor*.
- Como se carece de datos moleculares de la isla el Gran Roque, se propone mantener que *C. nigricolor* es una especie que esta en las islas de los archipiélagos Los Roques y Las Aves, hasta recabar más evidencias para tomar una decisión taxonómica.

## RECOMENDACIONES

Con el objeto de dilucidar las relaciones taxonómicas y sistemáticas entre las poblaciones de estas islas, se requiere de:

- Colectar material de *C. nigricolor* del Gran Roque para el estudio molecular.
- Incluir genes nucleares en los análisis moleculares, para comparar con los resultados de los genes mitocondriales.
- Aumentar el número de muestras para los análisis morfológicos para las islas del archipiélago Las Aves.

## BIBLIOGRAFIA

Aleman, C. G. 1952. Ensayo sobre la variabilidad de pequeñas poblaciones de lagartos (*Cnemidophorus lemniscatus nigricolor* Peter, 1873) de las Islas Los Roques y La Orchila. Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle 32:131-142.

Arévalo, E., S. K. Davis, y J. W. Sites Jr. 1994 Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus rammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico. Syst. Bioi. 43:387-418

Avila-Pires, T. C. S. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). Zoologische Verhandelingen, Leiden 599:1–706.

Cabrera, M. R., and S. Carreira. 2009. A new, but probably extinct, species of *Cnemidophorus* (Squamata, Teiidae) from Uruguay. Herpetological Journal 19(2): 97–105.

Colli, Guarino R.; Lilian G. Giugliano, Daniel O. Mesquita, and Frederico G. R. França 2009. A new species of *Cnemidophorus* from the Jalapão region, in the central Brazilian Cerrado. Herpetologica 65: 311-327

Colli, G. R., G. C. Costa, A. A. Garda, K. A. Kopp, D. O. Mesquita, A. K. Peres, JR., P. H. Valdujo, G. H. C. Vieira, and H. C. Wiederhecker. 2003b. A critically endangered new species of *Cnemidophorus* (Squamata, teiidae) from a Cerrado enclave in southwestern Amazonia, Brazil. Herpetologica 59:76–88.

Burt, C. E. 1931. A study of the teiid lizards of the genus *Cnemidophorus* with special reference to their phylogenetic relationships. Bulletin of the United States National Museum 154:1–286.

Cole, C. J. y H. C. Dessauer. 1993. Unisexual and bisexual whiptail lizards of the *Cnemidophorus lemniscatus* Complex (Squamata: Teiidae) of the Guiana region,

South America, with descriptions of new species. *American Museum Novitates* 3081: 1-30.

Colli, G. R., Costa, G. C., Garda, A. A., Kopp, K. A., Mesquita, D. O., Péres, A. K., Jr., Valdujo, P. H., Vieira, G. H. C., and Wiederhecker, H. C. 2003a. A critically endangered new species of *Cnemidophorus* (Squamata, Teiidae) from a Cerrado enclave in southwestern Amazonia, Brazil. *Herpetologica* 59:76-88.

Colli, G. R., J. P. Caldwell, G. C. Costa, A. M. Gainsbury, A. A. Garda, D. O. Mesquita, C. M. Filho, A. H. Soares, V. N. Silva, P. H. Valdujo, G. H. Vieira, L. J. Vitt, F. P. Werneck, H. C. Wiederhecker, M. G. Zatz. 2003b. A new species of *Cnemidophorus* (Squamata, Teiidae) from the cerrado biome in central Brazil. *Occasional Papers Sam Noble Oklahoma Museum of Natural History University of Oklahoma, Norman, Oklahoma* 14: 1-14

Dessauer, H. C. y Cole, C. J. 1989. Diversity between and within nominal forms of unisexual teiid lizards. *In* R.M. Dawley and J.P. Bogart (editors), *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*. New York State Museum Bulletin 466: 49–71.

Duellman, W. E., and R. G. Zweifel. 1962. A synopsis of the lizards of the sexlineatus group (genus *Cnemidophorus*). *Bull. Am. Mus. Nat. His.* 123: 155-210.

Hummelinck, W. 1940. Studies on the fauna of Curazao, Aruba, Bonaire and the Venezuelan Islands: No. 2. A survey of the mammals, lizards and mollusks. *Studies on the Fauna of Curazao and other Caribbean Islands* 1:59–108.

Giugliano, L. G., Contel, E. P. B., Colli, G. R. 2006. Genetic variability and phylogenetic relationships of *Cnemidophorus parecis* (Squamata, Teiidae) from Cerrado isolates in southwestern Amazonia. *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 383-391.

Graybeal, A. 1994. Evaluating the phylogenetic utility of genes: a search for genes informative about deep divergences among vertebrates. *Syst. Biol.* 43, 174–193.

Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Paabo, S., Villablanca, F. X. y Wilson, C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6196-6200

Markezich, A.L., C. J. Cole, and H. C. Dessauer. 1997. The blue and green whiptail lizards (Squamata: Teiidae: *Cnemidophorus*) of the Peninsula de Paraguana, Venezuela: Systematics, ecology, descriptions of two new taxa, and relationships to whiptails of the Guianas. *3207*:1–60.

McCrystal, H. K., and J. R. Dixon. 1987. A new species of *Cnemidophorus* (Sauria: Teiidae) from the llanos of Colombia and Venezuela. *Journal of Herpetology*. 21:245–254.

Meek, S. O. 1910. Notes on batrachians and reptiles from the islands of Venezuela. *Museum of Natural History* 7:415–418.

Nei, M. y Kumar, S. 2000. *Molecular evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York, E.U.A.

Nei, M. y Li, W. 1979, Mathematical models for studying variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76:5269-5273.

Parker, E. D., J. M. Walker y M. A. Paulissen. 1989. Clonal diversity in *Cnemidophorus*: ecological and morphological consequences. Pp. 72–86. *En* R. M. Dawley y J. P. Bogart (eds.), *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*. New York State Museum Bulletin 466, New York.

Palumbi, S. R., Martin, A., Romano, S., McMillan, W. O., Stice, L. y Grabowski, G., 1991. *The Simple Fool's Guide to PCR*. University of Hawaii Press, Honolulu, HI.

Peccinini-Seale, D. y D. Frota-Pessoa. 1974. Structural heterozygosity in parthenogenetic populations of *Cnemidophorus lemniscatus* (Sauria: Teiidae) in the Amazonas valley. *Chromosoma* 27: 439-451.

Peloso, V. P. L., Duarte, R. C. F., Pavan, S. E. y Mendez, S. L. 2008. Activity and microhabitat use by the endemic whiptail lizard, *Cnemidophorus natio* (Teiidae), in a resting habitat (Setiba) in the state of Espírito Santo, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 3, 2008, 89-95.

Pellegrino, K. C. M., Rodrigues, M. T., Yonenaga-Yassuda, Y. y Sites, J. W. J. 2001. A molecular perspective on the evolution of microteiid lizards (Squamata, Gymnophthalmidae), and a new classification for the family. *Biol. J. Linn. Soc.* 74, 315–338.

Peters, W. 1873. Über eine neue art von *Cnemidophorus*. *Sitzungsber. Ges. Naturforsch. Freunde zu Berlin* :76–77.

Peters, J. y R. Donoso-Barros. 1970. Catalogue of the Neotropical Squamata. Part. II: Lizards and Amphisbaenians. *Bull.U.S. Nat. Mus.* .297:viii +293.

Posada, D. y Crandall, K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817–818.

Reeder, T. W., C. J. Cole y H. C. Dessauer. 2002. Phylogenetic relationships of whiptail lizards of the genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae): a test of monophyly, reevaluation of karyotypic evolution, and review of hybrid origins. *American Museum Novitates* 3365: 1-61.

Reeder, T. W. y Wiens, J. J. 1996. Evolution of the lizard family Phrynosomatidae as inferred from diverse types of data. *Herpetological. Monography* 10: 43–84.

Rocha, C. F. D., A. F. B. Araujo, D. Vrcibradic, and E. M. Mamede-Da-Costa. 2000. . New *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae) from coastal Rio de Janeiro, southeastern Brazil. *Copeia* 2000:501-509.

Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. and Evo.*, volumen 4, issue 4, pp. 406-425.

Sanger, F. y Coulson, A.R. 1975. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J. Mol. Biol.* 94:441–448.

Sites, J., D. Peccinini-Seale, C. Moritz, J. W. Wright, y W. M. Brown. 1990. The evolutionary history of parthenogenetic *Cnemidophorus lemniscatus* (Sauria, Teiidae). I. Evidence for a hybrid origin. *Evolution* 44(4): 906-921.

Sorenson, M. D. 1999. TreeRot, version 2. [Computer software and documentation] Boston University, MA.

Tamura, K., Petron, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., y Kumar, S. 2011. MEGAS: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* (Submitted).

Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994;22:4673-4680.

StatSoft, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

Ugueto, G. N., M. B. Harvey, y G. A. Rivas. 2009. Two new species of *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae) from islands of the northeastern coast of Venezuela. *Herpetological Monographs* 23:123–153.

Ugueto, G. N. y M. B. Harvey. 2010. Southern caribbean *Cnemidophorus* (squamata: teiidae): description of new species and taxonomic status of *C. murinus ruthveni* Burt. *Herpetological Monographs* 24:111–148.

Vitt, L. J., Cadwell, J. P., Araújo, M. C., Magnusson, W. E. 1997. Ecology of Whiptail Lizards (*Cnemidophorus*) in the Amazon Region of Brazil. *Copeia* 1997:745-757.

Vyas, D. K., C. Moritz, D. Peccinini-Seale, J. W. Wright, y W. M. Brown. 1990. The evolutionary history of parthenogenetic *Cnemidophorus lemniscatus* (Sauria, Teiidae). II. Maternal origin and age inferred from mitochondrial DNA analyses *Evolution* 44: 922-932.

Wagler JG. 1830. Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Säugthiere und Vögel. München, Stuttgart und Tübingen: J. C. Cotta.

Walker, J. W., J. E. Cordes y H. L. Taylor. 1997. Parthenogenetic *Cnemidophorus tesselatus* complex (Sauria: Teiidae): A neotype for diploid *C. tesselatus* (Say, 1823), redescription of the taxon, and description of a new triploid species. *Herpetologica* 53:233-259.

Walker, J. M. y D. D. Rhoads. 2003. The black racerunner (*Cnemidophorus nigricolor* Peters, 1873) in Los Roques Archipelago, Venezuela. *Herpetological Review* 34 : 105-109.

Whiting, A., Bauer, A. M. y Sites J. W. 2003. Phylogenetic relationships and limb loss in sub-Saharan African scincine lizards (Squamata: Scincidae) *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 582–598.

Wright, J. W. 1993. Evolution of whiptail lizards (Genus *Cnemidophorus*). Pp. 27–81. In J. W. Wright and L. J. Vitt (Eds.), *Biology of Whiptail Lizards (Genus Cnemidophorus)*. Oklahoma Museum of Natural History, Norman, Oklahoma, USA.

Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey.

