



CAROLINE MARIA DA SILVA

**FILOGEOGRAFIA E DIFERENCIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS POPULAÇÕES
DE *LIOLAEMUS OCCIPITALIS* BOULENGER, 1885 (IGUANIA: LIOLAEMIDAE)
AO LONGO DE SEU DOMÍNIO GEOGRÁFICO.**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal
do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título
de Mestre em Biologia Animal**

Área de Concentração: Biologia Comparada

Orientadora: Profa. Dr^a. Laura Verrastro

Co-Orientador: Prof. Dr. Thales R. O. de Freitas

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PORTO ALEGRE

2006

AGRADECIMENTOS

Agradeço esta Dissertação a todas as pessoas e instituições sem as quais não teria sido possível concretizar este trabalho:

À minha Orientadora Dr^a. Laura Verrastro pelo suporte financeiro e estrutura física, sem os quais este trabalho seria inviável, pelo apoio, pelos ensinamentos e, principalmente, por nossa amizade ao longo destes anos;

Ao meu co-orientador Dr. Thales de Freitas também pelo suporte financeiro e estrutura física, pelos ensinamentos, apoio e amizade;

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à CAPES pela bolsa de estudos;

Aos colegas do Depto. de Zoologia e aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRGS pela ajuda e oportunidade;

Aos meus colegas, ex-colegas e grandes amigos do Laboratório de Herpetologia pela amizade, carinho, compreensão, paciência, parceria de festas, e, principalmente, pela fundamental ajuda em campo: André, Ane, Anna, Bel, Bettina, Clóvis, Dani, Dê, Fabíola, Gabi, Gilberto, Ju, Júlia, Lu, Lui, Martin (“caçador de lagartos” de primeira), Pri, Renata, Samuel e Saulo;

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Citogenética pela grande ajuda na parte molecular nos meus “momentos de desespero”: Camila, Elise, Fabiano, Fernanda, Gabi, Gis, Gisele, José, Lígia, Nice, Rodrigo, Tati e Tatinha;

A amigos que me deram muita força, ajuda e incentivo: todo o pessoal do Laboratório de Ictio, Cassi (grande amiga!), Tati e família (pessoas especiais que me ajudaram a levantar quando foi preciso), todos da Casa do Estudante, de Venâncio e do “Saga city”;

A todas as pessoas que acreditaram em mim e continuam acreditando!

A toda minha (amada) família, especialmente às três mulheres da minha vida que me criaram, me cuidam, me levantam e me dão toda a luz pra continuar em frente: Dona Ignez (Mãezona!!!!) e minhas irmãs maravilhosas (Dedé e Dida). Vocês três são tudo!!!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cladograma com proposta de relações filogenéticas do grupo " <i>wiegmannii</i> " de ETHERIDGE (2000), com a sugestão para <i>Liolaemus arambarensis</i> como um grupo irmão do ramo 24 (VERRASTRO <i>et al.</i> 2003).....	3
Figura 2 – Exemplar de <i>Liolaemus occipitalis</i> em seu habitat.....	5
Figura 3 – Localização geográfica dos pontos de coleta dos exemplares de <i>Liolaemus occipitalis</i> ao longo da área de estudo.....	16
Figura 4 – Diagrama de escamação da região dorsal da cabeça de <i>Liolaemus occipitalis</i> em aumento 10X16. Exemplar DZUFRGS 3719.....	20
Figura 5 – Diagrama de escamação da região lateral da cabeça de <i>Liolaemus occipitalis</i> em aumento 10X16. Exemplar DZUFRGS 3719.....	20
Figura 6 – Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando diferentes tamanhos de poros pré-cloacais (a – pequeno; b – grande). Exemplar DZUFRGS 3717; Aumento: 10,00 X 2,75.....	30
Figura 7 – Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando escama rostral como elemento único de tamanho grande (a), e escamas pós-rostrais dispostas em duas fileiras completas (b). Exemplar DZUFRGS 3835; Aumento: 10,00 X 2,00.....	32
Figura 8 – Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando uma das fileiras de escamas pós-rostrais irregular ou confundindo-se com as escamas internasais (a). Exemplar DZUFRGS 3714; Aumento: 10,00 X 3,00.....	33
Figura 9 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando somente uma fileira de escamas pós-rostrais (a). Exemplar DZUFRGS 3737; Aumento: 10,00 X 3,00....	34
Figura 10 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando ambas as escamas parietais inteiras (a, b). Exemplar DZUFRGS 3897; Aumento: 10,00 X 3,00.....	35
Figura 11 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando ambas as escamas parietais subdivididas (a, b). Exemplar DZUFRGS 3740; Aumento: 10,00 X 2,25.....	36

Figura 12 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando ambas as escamas parietais fragmentadas em elementos irregulares (a, b). Exemplar DZUFRGS 3730; Aumento: 10,00 X 2,25.....	36
Figura 13 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando apenas a escama parietal direita subdividida ou fragmentada (a). Exemplar DZUFRGS 3739; Aumento: 10,00 X 4,00.....	37
Figura 14 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando apenas a escama parietal esquerda subdividida ou fragmentada (a). Exemplar DZUFRGS 3741; Aumento: 10,00 X 3,00.....	37
Figura 15 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando escamas nasais localizadas superiormente e com a narina ocupando a maior parte da escama (a, b). Exemplar DZUFRGS 3895; Aumento: 10,00 X 3,00.....	38
Figura 16 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando duas fileiras de escamas lorilabiais entre a escama subocular e as escamas supra-labiais (a). Exemplar DZUFRGS 3647; Aumento: 10,00 X 3,00.....	39
Figura 17 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando redução em um ponto, através de uma só escama, para uma só fileira de escamas lorilabiais (a). Exemplar DZUFRGS 3645; Aumento: 10,00 X 2,75.....	40
Figura 18 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando redução em um ponto, através de mais de uma escama seguida, para uma só fileira de escamas lorilabiais (a). Exemplar DZUFRGS 3798; Aumento: 10,00 X 2,50.....	40
Figura 19 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando a escama subocular fusionada com a pré-ocular (a). Exemplar DZUFRGS 3711; Aumento: 10,00 X 2,50.....	42
Figura 20 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando a escama subocular fusionada com a pós-ocular (a). Exemplar DZUFRGS 3743; Aumento: 10,00 X 2,25.....	42
Figura 21 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando as escamas supraoculares um pouco mais fragmentadas (a). Exemplar DZUFRGS 3895; Aumento: 10,00 X 2,00.....	43

Figura 22 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando região de escamas temporais (a). Exemplar DZUFRGS 3722; Aumento: 10,00 X 2,00.....	44
Figura 23 - Indivíduos de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando pequenas manchas paravertebrais em forma aproximada de “meia-lua” (a) e faixa dorsal mediana de cor-base (b); indivíduo de <i>L. occipitalis</i> da população da Praia da Joaquina apresentando linha dorsal delgada e mais clara (c). Exemplos DZUFRGS 3798 (esquerda) e DZUFRGS 3738 (direita).....	49
Figura 24 - Indivíduo de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando tarja negra dorso-lateral (a). Exemplar DZUFRGS 3835; Aumento: 10,00 X 1,00.....	50
Figura 25 - Macho de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando coloração ventral com pontos escuros na garganta (a) e no ventre (b). Exemplar DZUFRGS 3644.....	51
Figura 26 - Fêmea de <i>Liolaemus occipitalis</i> apresentando coloração ventral imaculada (a). Exemplar DZUFRGS 3730.....	51
Figura 27 – Árvore de haplótipos de <i>Liolaemus occipitalis</i> reconstruída pelo método de Máxima Parsimônia. Os números junto a cada nó indicam seu apoio de <i>Bootstrap</i> (100 réplicas).....	58
Figura 28 – Árvore de haplótipos de <i>Liolaemus occipitalis</i> reconstruída pelo método de <i>Neighbor-Joining</i> . Os números ao lado de cada nó indicam seu apoio de <i>Bootstrap</i> (100 réplicas).....	59
Figura 29 – Esquema da relação entre haplótipos de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Cada círculo representa um haplótipo, e sua área é diretamente proporcional a sua frequência na amostra. As linhas que os unem representam as conexões entre eles e cada número (em vermelho) sobre a mesma, a posição do par de bases que sofreu mutação. H_1-H_26: haplótipo 1 até haplótipo 26.....	60
Figura 30 – Representação gráfica do logaritmo de <i>Nm</i> entre pares de populações contra o logaritmo dos valores das distâncias geográficas pareadas. Mostra-se a equação da reta. <i>Nm</i> é o número de migrantes por geração.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela I - Espécimes de <i>Liolaemus occipitalis</i> coletados ao longo do gradiente geográfico da espécie (n=78). Local/coordenadas = local de coleta e suas coordenadas geográficas.....	21
Tabela II - Espécimes de <i>Liolaemus occipitalis</i> depositados na Coleção Científica do Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul utilizados nas análises métrica e morfométrica (n=16).....	22
Tabela III – Espécimes de <i>Liolaemus occipitalis</i> utilizados nas análises moleculares (n=68). * - não tombados na coleção científica.....	23
Tabela IV – Número de escamas dorsais por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=17,180; p<0,05; Teste de Dunn, p>0,05).....	26
Tabela V – Número de escamas ventrais por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=30,361; p<0,001). As letras iguais significam as populações entre as quais existiram diferenças significativas (*=p<0,05; **=p<0,01).....	27
Tabela VI – Número de escamas ao redor do meio do corpo por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=10,719; p=0,2954).....	28
Tabela VII – Número de lamelas infradigitais anteriores (lia) e posteriores (lip) por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. lia: (Kruskal-Wallis, KW=23,324; p<0,01); lip: (Kruskal-Wallis, KW=26,053; p<0,01; Teste de Dunn, p>0,05). As letras iguais significam as populações entre as quais existiram diferenças significativas (*=p<0,05).).....	29

Tabela VIII – Número de poros pré-cloacais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. NT – média do número total de poros pré-cloacais; NG – média do número de poros pré-cloacais grandes; variações entre parênteses; NM - número de machos analisados; NF – número de fêmeas analisadas. NT: (Kruskal-Wallis, KW=21,184; $p < 0,01$; Teste de Dunn, $p < 0,05$); NG: (Kruskal-Wallis, KW=17,390; $p < 0,05$; Teste de Dunn, $p > 0,05$). As letras iguais significam as populações entre as quais existiram diferenças significativas ($*=p < 0,05$)..... 31

Tabela IX – Tipos de escamas pós-rostrais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escamas pós-rostrais (Tipos); duas fileiras completas de escamas pós-rostrais (Tipo 1); uma das fileiras de escamas pós-rostrais irregular ou confundindo-se com as escamas internasais (Tipo 2); somente uma fileira de escamas pós-rostrais (Tipo 3); N = número de espécimes analisados por população..... 33

Tabela X – Tipos de escamas parietais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escamas parietais (Tipos); ambas inteiras (Tipo 1); ambas subdivididas (Tipo 2); ambas fragmentadas em elementos irregulares (Tipo 3); apenas a escama direita subdividida ou fragmentada (Tipo 4); apenas a escama esquerda subdividida ou fragmentada (Tipo 5); N = número de espécimes analisados por população..... 35

Tabela XI – Tipos de escamas lorilabiais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escamas lorilabiais (Tipos); duas fileiras completas de escamas lorilabiais (Tipo 1); duas fileiras de escamas lorilabiais com redução, em um ou mais pontos, para uma só fileira através de uma só escama (Tipo 2); duas fileiras de escamas lorilabiais com redução, em um ou mais pontos, para uma só fileira através de mais de uma escama seguida (Tipo 3); N = número de espécimes analisados por população..... 39

Tabela XII – Tipos de escama subocular por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escama subocular (Tipos); escama subocular única, grande e alongada (Tipo 1); escama subocular fusionada com a escama pré-ocular (Tipo 2); escama subocular parcialmente fusionada com a escama pré-ocular (Tipo 3);

escama subocular fusionada com a escama pós-ocular (Tipo 4); N = número de espécimes analisados por população.....	41
Tabela XIII – Comprimento rostro-cloacal (CRC) por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=6,914; p=0,6461).....	52
Tabela XIV – Comprimento da cabeça (CC) por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=6,871; p=0,6506).....	52
Tabela XV – Largura da cabeça (LC) por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=4,916; p=0,8416).....	53
TABELA XVI – Comprimento do membro anterior (MA) por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=10,219; p=0,3331).....	53
TABELA XVII – Comprimento do membro posterior (MP) por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=6,407; p=0,6986).....	54
TABELA XVIII – Distância entre a axila e a virilha (AX-VIR) por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=12,279; p=0,1980).....	54
Tabela XIX - Composição nucleotídica das populações estudadas de <i>Liolaemus occipitalis</i>	56
Tabela XX - Resumo dos haplótipos (h) encontrados por população estudada de <i>Liolaemus occipitalis</i>	61

Tabela XXI - Haplótipos (h) compartilhados entre pares de populações estudadas de <i>Liolaemus occipitalis</i> . NP: número total de populações com as quais a população compartilha haplótipos; NH: número total de haplótipos compartilhados.....	61
Tabela XXII – Valores de <i>D</i> (TAJIMA 1989) para cada uma das populações estudadas de <i>Liolaemus occipitalis</i>	63
Tabela XXIII – Comparações pareadas dos cálculos de distâncias aproximadas (em Km, sobre a diagonal) e estimativas do número de indivíduos migrantes por geração (<i>Nm</i> , valores abaixo da diagonal) nas populações estudadas de <i>Liolaemus occipitalis</i> . Pop=populações; Ch – Barra do Chuí; Her – Praia do Hermenegildo; Ta – Taim; Ca – Balneário do Cassino; SJN – São José do Norte; Bo – Bojuru; Mo – Mostardas; Ci – Cidreira; To – Torres; MC – Morro dos Conventos; FSM – Farol de Santa Marta; Jo – Praia da Joaquina.....	64

SUMÁRIO

Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	vi
Resumo	xiii
Introdução	1
O gênero <i>Liolaemus</i> WIEGMANN, 1834	1
O subgrupo “ <i>wiegmanni</i> ”	2
<i>Liolaemus occipitalis</i> BOULENGER, 1885	4
Características das áreas de distribuição	5
Escamação	7
Poros pré-cloacais	8
DNA mitocondrial (mtDNA)	9
O Citocromo <i>b</i>	11
A filogeografia e a conservação	12
Objetivo	14
Objetivos específicos	14
Justificativa	14
Questões a serem abordadas	15
Material e Métodos	16
Coleta dos animais	16
Análises merística e morfométrica	17
Análises moleculares	22
Extração de DNA	22
Verificação da qualidade do material genético extraído	23
Reação de amplificação	24
Reação de verificação e quantificação do PCR	24
Reação de purificação	24
Seqüenciamento	24
Análise dos dados moleculares	25

Resultados morfológicos	26
Análise merística	26
Escamas dorsais	26
Escamas ventrais	27
Escamas ao redor do meio do corpo	28
Lamelas infradigitais	29
Poros pré-cloacais	30
Escamas cefálicas	32
Escama rostral	32
Escamas pós-rostrais	32
Escamas parietais	34
Escama nasal	38
Escamas lorilabiais	38
Escama subocular	41
Escamas ciliares	43
Escamas supraoculares	43
Região das escamas frontal e pré-frontais	44
Escamas temporais	44
Escamas dorsais dos membros anteriores	45
Escamas ventrais dos membros anteriores	45
Escamas dorsais dos membros posteriores	46
Escamas ventrais dos membros posteriores	47
Padrões de desenho e melanização corporal	48
Padrão dorsal	48
Padrão ventral	50
Análise morfométrica	52
Comprimento Rostro-Cloacal (CRC)	52
Comprimento da Cabeça (CC)	52
Largura da Cabeça (LC)	53
Comprimento do Membro Anterior (MA)	53
Comprimento do Membro Posterior (MP)	54

Distância Axila-Virilha (AX-VIR)	54
Resultados moleculares	55
Variação genética e diversidade de haplótipos	55
Relação entre os haplótipos	56
Variações dentro e entre as populações	61
Estimativas de fluxo gênico	64
Discussão dos resultados morfológicos	65
Discussão dos resultados moleculares	76
Variação genética e diversidade de haplótipos	76
Relação entre os haplótipos	77
Variações dentro e entre as populações	79
Estimativas de fluxo gênico	79
Considerações Finais e Perspectivas	81
Referências Bibliográficas	83
Anexos	91
Normas para publicação na Revista Brasileira de Zoologia	98

RESUMO

Os lagartos do gênero *Liolaemus* WIEGMANN, 1834 pertencem à família Liolaemidae FROST *et al.*, 2001. O gênero *Liolaemus*, com cerca de 200 espécies, inclui lagartos de moderado tamanho, principalmente lagartos pequenos, restritos à região austral da América do Sul. As regiões de ocorrência de *Liolaemus* incluem extensas áreas de areia eólica: as praias arenosas do Chile, Argentina, Uruguai e o sul do Brasil, assim como areias planas e sistemas de dunas dispersos por todo o interior da Argentina e Chile. No Brasil, o gênero é representado por três espécies: *Liolaemus lutzae* MERTENS, 1938; *Liolaemus occipitalis* BOULENGER, 1885 e *Liolaemus arambarensis* VERRASTRO *et al.*, 2003. A espécie alvo deste estudo é *Liolaemus occipitalis*, que ocorre ao longo de todo o litoral do Rio Grande do Sul e litoral sul de Santa Catarina (até a ilha de Florianópolis). O objetivo do presente trabalho é apresentar um estudo filogeográfico e de diversidade morfológica desta espécie, com o intuito de aprofundar os conhecimentos sobre *L. occipitalis* e acerca da problemática de sua conservação, empregando uma análise molecular baseada em DNA mitocondrial, além de análises merística e morfométrica. Com esta finalidade, foram coletados exemplares de *L. occipitalis* (n = 78) em dez populações ao longo do gradiente geográfico da espécie. Os resultados demonstraram que alguns caracteres merísticos e morfométricos apresentaram uma certa tendência de diferenciação entre populações do centro e do norte da distribuição geográfica da espécie; também um padrão mais abrangente de diferenciação entre populações do norte e do sul foi levemente indicado por alguns destes caracteres. Outros caracteres, porém, demonstraram-se variáveis de um modo geral não indicando nenhum padrão geográfico de diferenciação; e outros, ainda, apresentaram-se invariáveis ou com variabilidade não-significativa entre as populações analisadas. As análises moleculares indicaram uma estruturação entre as populações de *L. occipitalis* de Santa Catarina, o que não ocorreu nas populações do Rio Grande do Sul. Além

disso, indicaram como provável centro de origem e dispersão da espécie a região do centro e/ou do sul de sua distribuição no Estado do Rio Grande do Sul. Verificou-se, também, a existência de fluxo gênico livre entre as populações estudadas, e a neutralidade das mutações apresentadas pelas seqüências analisadas.

INTRODUÇÃO

O GÊNERO *Liolaemus* WIEGMANN, 1834

Os lagartos do gênero *Liolaemus* WIEGMANN, 1834, juntamente com *Phymaturus* GRAVENHORST, 1837 e *Ctenoblepharys* TSCHUDI, 1845, pertencem à família Liolaemidae FROST *et al.*, 2001. O gênero *Liolaemus* inclui cerca de 200 espécies (NÚÑEZ *et al.* 2001).

O gênero *Liolaemus* inclui lagartos de moderado tamanho, principalmente lagartos pequenos, restritos à região austral da América do Sul, onde ocupam uma grande diversidade de habitats, desde o nível do mar até 5.000 metros de altitude (ETHERIDGE 2000). O gênero caracteriza-se por uma grande versatilidade ecológica, constituindo-se assim num gênero polimórfico (com diversos tipos morfológicos) (DONOSO-BARROS 1966). Segundo o mesmo autor, a maior parte das espécies é insetívora, existindo também algumas herbívoras e omnívoras. A reprodução é principalmente ovípara, também ocorrendo formas vivíparas. Seu padrão de coloração é variável, geralmente críptico.

As regiões de ocorrência de *Liolaemus* incluem extensas áreas de areia eólica: as praias arenosas do Chile, Argentina, Uruguai e o sul do Brasil, assim como areias planas e sistemas de dunas dispersos por todo o interior da Argentina e Chile (ETHERIDGE 2000). No Brasil, o gênero *Liolaemus* é representado por três espécies: *Liolaemus lutzae* MERTENS, 1938; *Liolaemus occipitalis* BOULENGER, 1885 e *Liolaemus arambarensis* VERRASTRO *et al.*, 2003. Nas restingas da costa do Rio de Janeiro ocorre *L. lutzae*, endêmico da região, e distante de qualquer outra população do mesmo gênero por cerca de 1000 km de distância. Já as duas últimas espécies ocorrem mais ao sul: *L. occipitalis* ocorre ao longo de todo o litoral do Rio Grande do Sul e litoral sul de Santa Catarina (até a ilha de Florianópolis) (VERRASTRO 1991; VERRASTRO & BUJES 1998; VERRASTRO & KRAUSE 1999); *L. arambarensis* é encontrada somente no Rio Grande do Sul, nas restingas da Laguna dos Patos, com

ocorrência conhecida desde Itapuã (município de Viamão) até São Lourenço do Sul (VERRASTRO *et al.* 2003).

O SUBGRUPO “WIEGMANNII”

Dentro do gênero *Liolaemus* temos três grupos: grupo *nitidus*, grupo *signifer* e grupo *boulengeri*, e dentro deste último distingue-se o “subgrupo *wiegmannii*”. O subgrupo “*wiegmannii*” caracteriza-se pela presença de escamas lorilabiais menores que as supralabiais e usualmente duas fileiras de escamas lorilabiais entre a subocular e as supralabiais. As escamas supralabiais são estreitas, sendo as posteriores mais alongadas; sublabiais em contato com a escama mental e a mental mais larga posteriormente. As infralabiais são planas a côncavas (ETHERIDGE 1995).

Este subgrupo é denominado como “lagartos arenícolas”, por estar restrito a um substrato de areia eólica, como dunas abertas ou extensas planícies de areia. ETHERIDGE (2000) realizou uma análise filogenética do grupo *boulengeri*, baseado em 39 caracteres morfológicos e comportamentais; desse grupo separa-se como um clado totalmente isolado o subgrupo “*wiegmannii*”.

Segundo ETHERIDGE (1995), o subgrupo “*wiegmannii*” é composto por nove espécies predominantemente psamófilas:

- *Liolaemus occipitalis*: ocorrente no extremo sul do Brasil, nos Estados do Rio Grande do Sul e sul de Santa Catarina (PETERS & DONOSO-BARROS 1986; LEMA 1994);
- *Liolaemus lutzae*: do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (ROCHA 1985);
- *Liolaemus wiegmanni* (DUMÉRIL & BIBRON, 1837): com uma ampla distribuição na Argentina (CEI 1986) e Uruguai (GUDYNAS 1981a, b, c);
- *Liolaemus scapularis* LAURENT, 1982: nas planícies áridas das Províncias de Catamarca e de Tucumán, Argentina;
- *Liolaemus multimaculatus* (DUMÉRIL & BIBRON, 1837): nas regiões costeiras de Buenos Aires e do Rio Negro, Argentina;

- *Liolaemus rabinoi* (CEI, 1974): encontrado na província de Mendoza, Departamento de San Rafael, Argentina;
- *Liolaemus riojanus* CEI, 1979: de Rioja e San Juan, Argentina;
- *Liolaemus salinicola* LAURENT, 1986: em Catamarca, Argentina (CEI 1986);
- *Liolaemus cranwelli* (DONOSO-BARROS, 1973): ocorre em Santa Cruz de la Sierra, Bolívia.

ETHERIDGE (2000), em seu recente estudo sobre o grupo “*wiegmannii*”, considerou *L. cranwelli* como sinônimo júnior de *L. wiegmanni*. Posteriormente *L. arambarensis* foi adicionada a este grupo por VERRASTRO *et al.* (2003) (Fig.1)

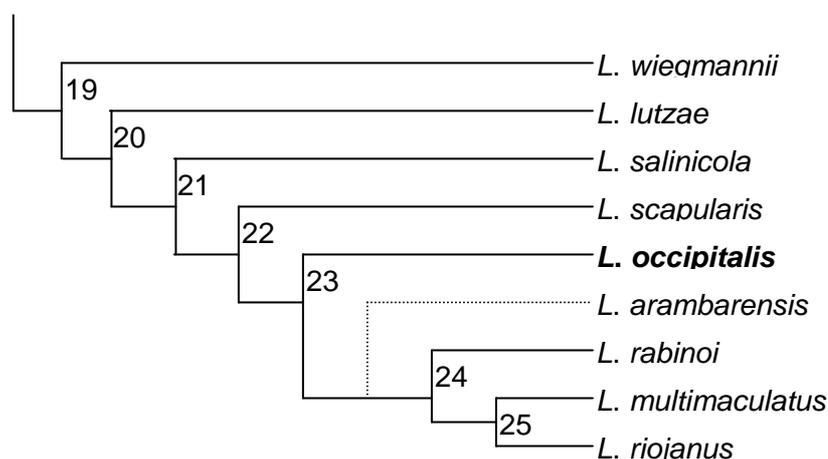


Figura 1 - Cladograma com proposta de relações filogenéticas do grupo “*wiegmannii*” de ETHERIDGE (2000), com a sugestão para *Liolaemus arambarensis* como um grupo irmão do ramo 24 (VERRASTRO *et al.* 2003).

Estes lagartos exibem um extenso espectro de adaptações morfológicas e comportamentais que facilitam a vida embaixo e na superfície da areia, assim como focinho em forma de cunha, especialização do esterno para respiração embaixo da areia, redução do dimorfismo sexual e coloração críptica, mergulho rápido na areia como escape e refúgio diurno (ETHERIDGE 2000).

***LIOLAEMUS OCCIPITALIS* BOULENGER, 1885**

Liolaemus occipitalis (Fig. 2) foi descrito por BOULENGER (1885), tendo como localidade-tipo a cidade de Rio Grande (RS). Esta espécie ocorre no extremo sul do Brasil, nos Estados do Rio Grande do Sul e sul de Santa Catarina (PETERS & DONOSO-BARROS 1986; LEMA 1994; VERRASTRO 1991; VERRASTRO & BUJES 1998; VERRASTRO & KRAUSE 1999), e está classificada com o *status* de vulnerável (DI BERNARDO *et al.* 2000; FONTANA *et al.* 2003).

Os trabalhos existentes sobre esta espécie são de caráter taxonômico, biogeográfico (VANZOLINI & AB'SABER 1968; MÜLLER & STEINIGER 1977; GUDYNAS 1981a, b, c), osteológico (KELLER & KRAUSE 1986) e ecológico (VERRASTRO 1991; VERRASTRO & KRAUSE 1994; BUJES & VERRASTRO 1998; VERRASTRO & BUJES 1998; VERRASTRO & KRAUSE 1999; VERRASTRO 2004).

Segundo VERRASTRO & KRAUSE (1999), os indivíduos de *L. occipitalis* atingem sua maturação sexual antes do primeiro ano de vida, estando aptos à reprodução já na estação reprodutiva subsequente à que nasceram. Existe somente um período reprodutivo anual, que inicia ao final de agosto e termina, com os últimos nascimentos, ao final de março. O ciclo reprodutivo dos machos se dá desde o final de agosto até o final de dezembro, e o das fêmeas estende-se desde o início de setembro até o final de fevereiro. O comprimento médio dos adultos é de 60,2 mm em machos e 53,2 mm em fêmeas (VERRASTRO & KRAUSE 1994).

Quanto à alimentação, *L. occipitalis* é uma espécie basicamente insetívora, consumidora de uma grande variedade de itens alimentares, caracterizando-se como um predador generalista (ELY & VERRASTRO 2004).



Figura 2 – Exemplar de *Liolaemus occipitalis* em seu habitat.

CARACTERÍSTICAS DAS ÁREAS DE DISTRIBUIÇÃO

No Rio Grande do Sul, as formações de dunas e restingas estão presentes na Planície Costeira em uma extensão de cerca de 600 quilômetros de norte a sul, formando uma faixa com uma largura que varia entre 10 e 100 km. Constituem uma paisagem natural cada vez mais rara, apesar de serem consideradas de preservação permanente pela Lei Federal nº. 4771 (Código Florestal) de 15 de setembro de 1965 e pela Resolução nº 4 de 18 de setembro de 1985 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Nos últimos anos, os ecossistemas de dunas e restingas litorâneas do Rio Grande do Sul, seja na costa Atlântica ou na zona de praias da Laguna dos Patos e Mangueira, vêm sofrendo alterações resultantes de ações antrópicas. Entre os grandes impactos sobre estas formações destacam-se o aumento indiscriminado dos loteamentos em balneários, a retirada de areia e a contaminação do solo e dos principais corpos d'água, ferindo frontalmente a legislação Federal e Estadual (MELAMED & VERRASTRO 1997). Esses fatores, além de modificarem a paisagem, têm reflexos diretos sobre a fauna.

Algumas condições ambientais como o decréscimo da umidade e da cobertura vegetal do solo, a drenagem dos banhados, o rebaixamento do nível das lagoas, assim como as mudanças nas associações vegetais apresentam modificações que põem em risco, substancialmente, a sustentabilidade do habitat. A redução da cobertura vegetal resulta na fragmentação de habitats terrestres com o conseqüente reflexo nas mudanças ontogenéticas dependentes deste recurso. Estas alterações são, provavelmente, as maiores causas do declínio das populações de anfíbios e répteis (VINCIPROVA & VERRASTRO 2001).

As áreas com vegetação de restinga arenosa possuem particularidades muito significativas, tanto a nível florístico, quanto faunístico e paisagístico (VINCIPROVA & VERRASTRO 2001). A fauna nestes ambientes é, geralmente, representada por espécies de outros ecossistemas adjacentes (Mata Atlântica e Sistemas Lagunares) que ali ocorrem devido à diversidade das condições físicas (ARAÚJO & LACERDA 1987). A fauna de répteis de restinga, de forma geral, originou-se de processos de colonização do ambiente recente (Quaternário), a partir de ecossistemas adjacentes como a Floresta Atlântica ou através desta, desde ecossistemas geograficamente mais distantes (VANZOLINI & AB'SABER 1968).

A característica aberta dos habitats de restinga implica em um intenso aporte de luminosidade solar, resultando em elevadas temperaturas. O substrato arenoso apresenta um rápido escoamento de água pluvial, resultando em uma menor disponibilidade de água livre, em geral restrita a afloramentos do lençol freático ou interior de bromélias (ROCHA *et al.* 2000). Estas características restringem a ocorrência de muitos grupos de animais, mas favorecem a existência de organismos como os répteis que se adaptam às restrições de água livre e às altas temperaturas do substrato.

Devido à natureza relativamente recente dos habitats de restinga, a taxa de endemismos entre as espécies de répteis é relativamente baixa, especialmente se comparada com as encontradas em outros habitats como os da Mata Atlântica (ROCHA *et al.* 2000). Alguns casos de endemismo entre os répteis podem ser explicados pelas variações climáticas em refúgios com posterior diferenciação de espécies (VANZOLINI & WILLIAMS 1981) e variações

do nível oceânico que ocorreram no Quaternário, ao longo da costa oceânica brasileira (BIGARELLA 1965; VANZOLINI & AB'SABER 1968). Essas variações nos níveis oceânicos constituíram importantes eventos afetando processos evolutivos de espécies de lagartos que ocorrem na região costeira, levando à especiação (VANZOLINI & AB'SABER 1968).

Assim é o caso do gênero *Liolaemus* que está representado no Brasil por três espécies, já citadas anteriormente com suas respectivas áreas de distribuição. A explicação sugerida por VANZOLINI & AB'SABER (1968) e MÜLLER & STEINIGER (1977) para a disjunção quanto à distribuição das espécies, seriam as variações oceânicas que ocorreram nos últimos cinco mil anos e que teriam isolado populações de um ancestral comum do gênero *Liolaemus* que se apresentava com distribuição contínua ao longo das planícies arenosas costeiras do Sul e do Sudeste brasileiro até o Rio de Janeiro.

Por outro lado, as informações fornecidas por ETHERIDGE (2000) (ver: Figura 1), com as novas informações acrescentadas por VERRASTRO *et al.* (2003), sugerem que as três espécies ocorrentes no Brasil não teriam tanta proximidade filogenética como a sugerida pelos autores anteriores. São necessárias futuras investigações para ter melhor suporte para estas hipóteses.

ESCAMAÇÃO

Segundo SMITH (1946), com muito poucas exceções, o corpo inteiro de todos os lagartos é normalmente coberto com escamas cujas formas variam grandemente. A variabilidade aumenta em proporção direta à magnitude da categoria taxonômica. Nas últimas categorias, de espécie ou subespécie, a variabilidade é relativamente pequena, enquanto dentro de um gênero a variabilidade exibida entre diversas espécies pode ser considerável; famílias exibem uma variabilidade ainda maior. O fato é que existe um forte grau de constância dentro dos grupos que levam à adoção de uma terminologia especial para os tipos de escamas e até mesmo para escamas individualmente. As escamas da cabeça são, quase que exclusivamente, as únicas que recebem nomes individuais.

Segundo BOULENGER (1885), em *Liolaemus occipitalis*, as escamas dorsais são pequenas, subhexagonais, fracamente imbricadas e quilhadas. ETHERIDGE (2000) descreve-as em *L. occipitalis* como sendo obovadas, sub-imbricadas, com conspícuos grânulos intersticiais triangulares. Já as escamas ventrais, segundo a literatura, são maiores do que as dorsais em *L. occipitalis* (BOULENGER 1885; PETERS & DONOSO-BARROS 1986), rombóides e lisas (BOULENGER 1885).

A contagem das escamas ao redor do meio do corpo é a única que leva em consideração as escamas laterais, as quais, segundo BOULENGER (1885), são menores, arredondadas, justapostas e lisas em *L. occipitalis*.

Segundo SMITH (1946), as escamas da cabeça são de grande importância taxonômica. Embora sujeitas a variação, a soma da variabilidade é suficientemente limitada para permitir o uso de muitos de seus caracteres para definir espécies.

Segundo SMITH (1946), a escama rostral, as escamas parietais e a escama nasal estão universalmente presentes em lagartos; sendo esta última sempre única. Ainda segundo o mesmo autor, as escamas temporais também estão universalmente presentes em lagartos, e são pequenas ou irregulares em muitos gêneros, mas em outros são de considerável tamanho, regularidade, e significância.

POROS PRÉ-CLOACAIS

Segundo SMITH (1946), répteis em geral são pobremente desprovidos de glândulas tegumentares. Muitos grupos de lagartos são providos de poros pré-cloacais e femurais, mas outras glândulas notáveis foram perdidas. Como uma regra geral os poros são melhor desenvolvidos em machos do que em fêmeas. De acordo com ETHERIDGE (2000), eles estão ausentes nas fêmeas da maioria das espécies do grupo *wiegmannii*, são elas: *Liolaemus lutzae*, *L. multimaculatus*, *L. occipitalis*, *L. rabinoi* e *L. salinicola*. Também estão ausentes em: *L. abaucan* ETHERIDGE 1993, *L. fitzingerii* (DUMÉRIL & BIBRON 1837), *L. melanops* BURMEISTER 1888, *L. rothi* KOSLOWSKY 1898 e *L. uspallatensis* MACOLA & CASTRO 1982.

Os poros são realmente glândulas tegumentares formadas da epiderme, localizadas próximo ao meio de uma escama. As glândulas são particularmente ativas durante a estação reprodutiva, secretando uma substância córnea que pode projetar-se como "dedos" a uma considerável distância das glândulas. Em certas épocas as secreções coletivamente podem formar uma estrutura como um "pente" na superfície inferior dos membros posteriores. Os "dentes do pente" individualmente têm pouca elasticidade e rompem após curto tempo. Aparentemente os órgãos têm a única função de estimulação da fêmea na corte e atividades reprodutivas (SMITH, 1946).

DNA MITOCONDRIAL

Seqüências nucleotídicas fornecem a mais alta resolução para o exame da evolução molecular em populações. O estudo das relações genealógicas entre indivíduos dentro de uma espécie requer seqüências não-recombinantes e que evoluam rapidamente, tais como aquelas encontradas no, matematicamente herdado, DNA mitocondrial (mtDNA) (VIGILANTE *et al.* 1989).

O genoma mitocondrial dos animais é pequeno e relativamente uniforme em tamanho entre vertebrados e invertebrados (BROWN *et al.* 1979). Ele é haplóide e formado por uma dupla fita circular que varia entre 15.000 e 17.000 pares de bases de comprimento, estando presente em centenas e até milhares de cópias por célula (LI & GRAUR 2000).

Tipicamente, o genoma mitocondrial consiste de 37 genes, funcionalmente distintos, sem grandes espaços inter-genes. Estes *loci* codificam 22 diferentes RNAs transportadores, 2 RNAs ribossomais e 13 RNAs mensageiros especificando subunidades polipeptídicas de proteínas envolvidas no transporte de elétrons e fosforilação oxidativa que ficam na membrana interna da mitocôndria (AVISE 2000).

O mtDNA é simples em estrutura e econômico em tamanho (BROWN 1985), e evolui, em animais superiores, muito mais rapidamente do que o DNA nuclear cópia única (BROWN *et al.* 1979). As comparações entre as seqüências de DNA de diferentes organismos revelam que a razão das substituições de nucleotídeos, durante a evolução, foi 10 vezes maior em genomas

mitocondriais do que em genomas nucleares, o que provavelmente é devido à reduzida fidelidade dos processos de replicação ou reparo do mtDNA, ou de ambos. Como só cerca de 16.500 nucleotídeos precisam ser replicados e expressos como RNAs e proteínas em mitocôndrias de células animais, a proporção de erro *por nucleotídeo* copiado na replicação do DNA, mantido pelo reparo do DNA, transcrito pela RNA polimerase ou traduzido em proteínas pelos ribossomos mitocondriais, pode ser relativamente alta sem que haja danificação de qualquer um dos, relativamente poucos, produtos gênicos (ALBERTS *et al.* 2002).

A taxa relativamente alta da evolução dos genes mitocondriais torna as comparações das seqüências de mtDNA úteis para estimar as datas de eventos evolutivos relativamente recentes, tendo sido amplamente utilizado em estudos de caráter evolutivo e filogenético (ALBERTS *et al.* 2002).

O mtDNA é adequado para o estudo de baixos níveis taxonômicos como relações intra-genéricas ou intra-específicas devido a suas rápidas taxas de substituições de nucleotídeos (BONVICINO & MOREIRA 2001).

Em 1975, Brown e Wright publicaram a primeira análise significativa da variação do mtDNA na natureza em uma breve publicação científica sobre lagartos partenogenéticos. Este estudo foi o pioneiro de uma série de estudos atravessando duas décadas que documentaram o poder da análise do mtDNA em decifrar as origens evolutivas e idades de numerosos táxons de vertebrados unissexuais (AVISE 2000).

Diversos outros trabalhos sobre lagartos têm sido desenvolvidos utilizando o mtDNA como “ferramenta” de investigação (HARRIS *et al.* 1998; CLARK *et al.* 1999; BREHM *et al.* 2001; BREHM *et al.* 2003; MORANDO *et al.* 2003; MORANDO *et al.* 2004; JESUS *et al.* 2005).

O genoma mitocondrial é uma das “pedras-fundamentais” da moderna genética evolutiva e, por duas décadas, tem sido amplamente utilizado para reconstruir genealogias e descrever a estrutura genética de populações (GEMMELL *et al.* 2004).

Comprovando a relevância e aplicabilidade desta abordagem, AVISE (2000) afirma que aproximadamente 70% dos estudos filogeográficos foram

realizados através de análises de DNA mitocondrial. AVISE (2000) diz ainda que nos últimos 20 anos, o uso do mtDNA como um marcador para estudos filogeográficos tem fornecido *insights* nas histórias dentro do contexto de modelos evolutivos e biogeográficos.

O CITOCROMO B

O citocromo *b* (*cyt b*) é um gene mitocondrial que faz parte da cadeia transportadora de elétrons (PALUMBI 1996). Foram feitos trabalhos a respeito da evolução deste gene em diferentes grupos de vertebrados, e, segundo PALUMBI (1996), alguns destes estudos notaram que o nível de conservação dos aminoácidos varia significativamente em diferentes partes do gene citocromo *b*. Existem diversas partes do gene que são altamente conservadas entre táxons e parecem ser importantes na função da proteína.

Recentemente diversos trabalhos com lagartos de diferentes gêneros foram feitos utilizando o gene citocromo *b*:

- CLARK *et al.* (1999) apresentaram um estudo sobre a estrutura populacional e a filogeografia da espécie *Sceloporus woodi* STEJNEGER 1918;
- BREHM *et al.* (2001) desenvolveram um trabalho, utilizando também outros dois genes (12s rRNA e c-mos), a fim de estimar as relações filogenéticas entre seis espécies do gênero *Mabuya* FITZINGER, 1826 do Arquipélago de Cabo Verde;
- BREHM *et al.* (2003) tentaram apresentar um *insight*, utilizando também o gene 12S rRNA, na variação genética e relações das populações de *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 das ilhas vulcânicas Atlânticas de Madeira, as Desertas, Porto Santo, e as Selvagens;
- MORANDO *et al.* (2003) trabalharam com o pouco conhecido complexo *Liolaemus elongatus-kriegi* na América do Sul (Argentina e Patagônia). Utilizaram também outros dois genes: ND4 e 12S rRNA;

- MORANDO *et al.* (2004) combinaram diferentes métodos filogenéticos, filogeográficos e de genética de populações para extrair o máximo de informações do complexo *Liolaemus darwini* BELL 1843. Estimaram a estrutura filogeográfica de *L. darwini* através da maior parte de sua área de distribuição, e também estimaram as relações entre *L. darwini* e as espécies sintópicas *L. laurenti* CEI 1986 e *L. grosseorum* ETHERIDGE 2001;
- JESUS *et al.* (2005) investigaram, utilizando também outros dois genes (12S rRNA e 16S rRNA), o padrão de variação genética do lagarto *Mabuya maculilabris* (GRAY, 1845) a fim de examinar a estrutura geográfica das linhagens existentes, e esclarecer sua história evolutiva em relação à conhecida geologia da Ilha de São Tomé (Golfo da Guiné).

A partir de seus dois trabalhos acima citados, os pesquisadores MORANDO *et al.* (2003 e 2004) sugerem que o *cyt b* foi suficientemente variável para estudos filogeográficos com o gênero *Liolaemus*; e experiências prévias dos mesmos pesquisadores com outros grupos de Squamatas sugerem que este gene poderia ser o mais variável dentre três genes mitocondriais utilizados em outros trabalhos (*cyt b*, ND4 e 12S).

KOCHER *et al.* (1989) listaram dois *primers* universais para o citocromo *b* que amplificam uma curta parte de uma ampla variedade de táxons. Esta curta parte demonstrou alguma variação em algumas populações e entre espécies. Ela é tão curta que filogenias robustas são, às vezes, difíceis de serem produzidas. Para obter uma seqüência mais longa diversos outros *primers* têm sido desenvolvidos.

A FILOGEOGRAFIA E A CONSERVAÇÃO

A filogeografia é um campo de estudo relacionado com os princípios e processos que governam a distribuição geográfica das linhagens genealógicas, especialmente aquelas em nível intraespecífico (AVISE 1998). Tempo e espaço são juntamente considerados eixos da filogeografia sobre os quais são mapeadas particulares genealogias de genes de interesse (AVISE 2000).

Segundo BERMINGHAM & MORITZ (1998), ela foi introduzida como uma “ponte” unindo os estudos de processos micro e macroevolutivos; e procura testar a congruência entre as histórias evolutiva, demográfica e de distribuição dos táxons contra o cenário geológico e ecológico particular de uma região, e determinar a cronologia da diversificação evolutiva.

Estudos filogeográficos baseados em DNA mitocondrial têm sido realizados com sucesso devido à possibilidade de melhor descrição de padrões de distribuições geográficas, de relações filogenéticas e de distâncias genéticas entre linhagens animais, aumentando o conhecimento relativo à biogeografia e às áreas de endemismo (BERMINGHAM & MORITZ 1998).

A filogeografia comparativa descreve a evolução das paisagens e permite análises dos efeitos da história e geografia sobre a estrutura de comunidade dos organismos em níveis local e regional. As análises filogeográficas comparativas permitem estudos detalhados da evolução das paisagens, incluindo a dispersão dos táxons através de uma região, especiação, relações adaptativas, e extinção; em outras palavras, investigação das ligações fundamentais entre processos populacionais e padrões regionais de diversidade e biogeografia (BERMINGHAM & MORITZ 1998). As histórias demográficas das populações são de profunda relevância para modelos filogeográficos durante escalas de tempo microevolutivas em virtude de seu inevitável impacto na estrutura das genealogias dos genes (AVISE 2000).

Segundo BERMINGHAM & MORITZ (1998), as análises filogeográficas comparativas podem contribuir para ampliar estudos de ecologia e evolução de diversas maneiras:

- conseguem identificar regiões histórica e evolutivamente independentes, que podem ser consideradas como réplicas naturais, entre as quais generalizações sobre processos específicos podem ser testadas estatisticamente;

- podem fornecer um contexto evolutivo e geográfico para as espécies formadoras de comunidades ecológicas, assim permitindo a determinação de influências históricas e espaciais sobre padrões de riquezas de espécies;

- um entendimento das respostas históricas a mudanças na paisagem e a identificação de áreas evolutivamente isoladas podem informar estratégias de conservação (MORITZ & FAITH 1998).

O conhecimento em relação às diferentes idades das biotas e suas áreas de extensão e as diferentes taxas de origem de espécies e extinção aumentará nosso entendimento dos processos responsáveis pela origem e manutenção das comunidades e, talvez, dar alguma contribuição para nossos esforços para conservar a biodiversidade (BERMINGHAM & MORITZ 1998).

OBJETIVO

Com o intuito de aprofundar os conhecimentos sobre a espécie *Liolaemus occipitalis* e colaborar com informações que possam contribuir com a problemática da conservação, propôs-se um estudo filogeográfico sobre esta espécie, empregando uma análise molecular baseada em DNA mitocondrial, além de análises merística e morfométrica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar análises merísticas e morfométricas de representantes de diferentes populações ao longo de sua área de ocorrência;
- Analisar o DNA mitocondrial de diferentes populações ao longo de sua área de ocorrência;
- Entender os padrões e processos evolutivos da espécie em função de sua área de ocorrência.

JUSTIFICATIVA

As alterações resultantes de ações antrópicas sofridas pelos ecossistemas de dunas e restingas litorâneas do Rio Grande do Sul nos últimos anos, além de modificarem a paisagem, têm reflexo direto sobre a fauna. Associando estas alterações antrópicas e outros fatores (ver: Características das áreas de distribuição, pg. 5) ao pouco conhecimento atual

sobre as características demográficas e genéticas de *Liolaemus occipitalis*, torna-se de fundamental importância tanto o estudo da variabilidade e estrutura genéticas, quanto dos padrões filogeográficos que caracterizam esta espécie.

Além disso, o estudo de campo de *Liolaemus* é relativamente mais fácil do que de outras espécies da mesma região de ocorrência, tanto pela abundância quanto pela relativa facilidade de captura, proporcionando boas condições para a verificação e a compreensão de modelos sobre biologia e ecologia (VERRASTRO 1991).

QUESTÕES A SEREM ABORDADAS

Apesar de serem numerosos e abrangerem diversos aspectos, os estudos realizados até o momento acerca da espécie *Liolaemus occipitalis* ainda são insuficientes para o esclarecimento de algumas questões relacionadas a esta espécie. Dentre estas questões, temos, em aberto ainda, a sua completa distribuição geográfica, as relações entre as populações que se estendem ao longo do litoral, e as características das populações aparentemente isoladas.

Além disso, este estudo, juntamente com outros relacionados à fauna e flora locais, poderá vir a fornecer aportes para um melhor conhecimento da dinâmica e ecologia do ambiente de dunas costeiras.

Estes conhecimentos ajudarão a compreender o estado atual das áreas de endemismo, o que permitirá colaborar para a elaboração de propostas adequadas e responsáveis para a conservação destes ambientes protegidos legalmente, mas não na prática.

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA DOS ANIMAIS

Foram realizadas coletas, com a permissão do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente/IBAMA (licenças 064 e 118/04-RAN/IBAMA), ao longo da costa do Rio Grande do Sul, desde Barra do Chuí até Torres, e no Estado de Santa Catarina, desde Morros dos Conventos até a Ilha de Florianópolis. Foram coletados exemplares de *Liolaemus occipitalis* em 10 populações localizadas ao longo do gradiente geográfico da espécie (Fig. 3).



Figura 3 – Localização geográfica dos pontos de coleta dos exemplares de *Liolaemus occipitalis* ao longo da área de estudo.

Os animais foram procurados no ambiente com o auxílio de ganchos específicos e coletados manualmente. Para cada lagarto coletado foram registrados, em campo, o peso do animal vivo (balança de pesola, 0,1g), o sexo e a idade. Os exemplares coletados foram sacrificados no local com anestésico Citanest 3%, e tiveram a cauda cortada e conservada em álcool absoluto (99,8%) para evitar danos ao material genético. Após a retirada da cauda, os exemplares foram fixados com formol 10%, após 72 horas foram transferidos para álcool 70% e tombados na Coleção Científica do Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Em cada ponto de coleta foram registradas as coordenadas geográficas com a utilização de GPS (*Global Positioning System*) obtidas em graus, minutos e segundos.

Em relação à localização geográfica, as populações de Mostardas até a Barra do Chuí foram consideradas, no presente trabalho, populações do sul (centro-sul até limite sul da distribuição geográfica de *L. occipitalis*), e as populações de Cidreira até a Praia da Joaquina, populações do norte (centro-norte até o limite norte da distribuição geográfica da espécie).

ANÁLISES MERÍSTICA E MORFOMÉTRICA

Foram utilizados espécimes de *Liolaemus occipitalis* das 10 populações amostradas (Tab. I) e, também, alguns espécimes depositados na Coleção Científica do Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Tab. II). Os espécimes foram comparados a partir de parâmetros tradicionalmente utilizados para caracterização de répteis, seguindo SMITH (1946).

A terminologia descritiva das escamas também segue SMITH (1946).

Os parâmetros utilizados foram:

- a) Número de escamas dorsais: foram analisadas sob estereomicroscópio, e contadas desde a escama posterior da cabeça (geralmente a interparietal), em uma linha reta contínua até ou próximo à linha média dorsal na altura alinhada com as margens posteriores das “coxas”, quando os membros

- posteriores são mantidos em ângulos retos com o corpo. As escamas foram contadas três vezes e optou-se pela média simples dos valores obtidos;
- b) Número de escamas ventrais: foram analisadas sob estereomicroscópio, e contadas desde uma linha nivelada com a margem anterior dos membros anteriores, até a margem anterior da cloaca. As escamas foram contadas três vezes e optou-se pela média simples dos valores obtidos;
 - c) Número de escamas ao redor do meio do corpo: foram analisadas sob estereomicroscópio, e contadas na metade do corpo entre os membros posteriores e anteriores. As escamas foram contadas três vezes e optou-se pela média simples dos valores obtidos;
 - d) Número de lamelas infradigitais das patas anteriores e posteriores: foram analisadas sob estereomicroscópio, e contadas debaixo do quarto dedo da pata direita anterior e posterior. As lamelas foram contadas três vezes e optou-se pela média simples dos valores obtidos;
 - e) Presença, número, tamanho, forma e coloração de poros pré-cloacais: foi verificada a presença ou não de poros sob estereomicroscópio; quando presentes, foram contados e classificados em pequenos (até aprox. 0,24mm) ou grandes (a partir de 0,24mm), e analisados em relação à forma e coloração;
 - f) Escamas cefálicas (frontal e pré-frontais, rostral, nasal, lorilabiais, temporais, pós-rostrais, suboculares, supraoculares, ciliares e parietais): cada um dos tipos de escama foi observado sob estereomicroscópio, analisado e descrito conforme o observado e, quando descritos na literatura para a espécie, foram comparados com as descrições existentes;
 - g) Tamanho, formato e melanização das escamas dorsais e ventrais dos membros anteriores e posteriores: o tamanho e o formato das escamas foram analisados sob estereomicroscópio e descritos conforme o observado, já a melanização das escamas foi analisada e descrita sob estereomicroscópio e a olho nu;
 - h) Padrões de desenho e melanização corporal: não foram classificados em classes estáticas. Ao invés disso, os padrões foram descritos de uma forma geral conforme o observado entre os indivíduos e populações analisados. A

coloração dos indivíduos de *L. occipitalis* não foi avaliada, pois devido à fixação, a partir de um certo tempo, esta se apresenta alterada, prejudicando assim a correta identificação e caracterização de padrões. Embora a cor original dos indivíduos seja perdida, o padrão de desenho e a pigmentação escura (melanina) mantêm-se, devido a isso o termo coloração foi substituído pelo termo pigmentação;

- i) Morfometria (comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da cabeça (CC), largura da cabeça (LC), comprimento dos membros anteriores (MA), comprimento dos membros posteriores (MP) e distância axila-virilha (AX-VIR)): todas as medidas foram realizadas três vezes com paquímetro de precisão 0,01mm optando-se pela média simples das mesmas.

Foi utilizado o teste estatístico não-paramétrico de Análise de Variância (ANOVA) de Kruskal-Wallis a fim de comparar as populações em relação a: número de escamas dorsais, ventrais e ao redor do meio do corpo; número de poros pré-cloacais; número de lamelas infradigitais anteriores e posteriores; medidas morfométricas. O teste foi realizado utilizando-se o programa estatístico GraphPad InStat V.3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA).

Para melhor visualização de algumas características merísticas descritas, alguns exemplares da espécie foram fotografados. Algumas imagens foram feitas utilizando-se câmara digital Nikon Coolpix 4500, acoplada a estereomicroscópio Nikon SMZ 800, e algumas feitas utilizando-se câmara digital Sony DSC-P92 3X Zoom Optical. Todas as imagens foram salvas em formato JPEG. A fim de demonstrar as diferentes escamas e/ou regiões de escamas cefálicas e suas respectivas localizações, foi representada em vistas dorsal (Fig. 4) e lateral (Fig. 5) a cabeça de um exemplar de *L. occipitalis*.

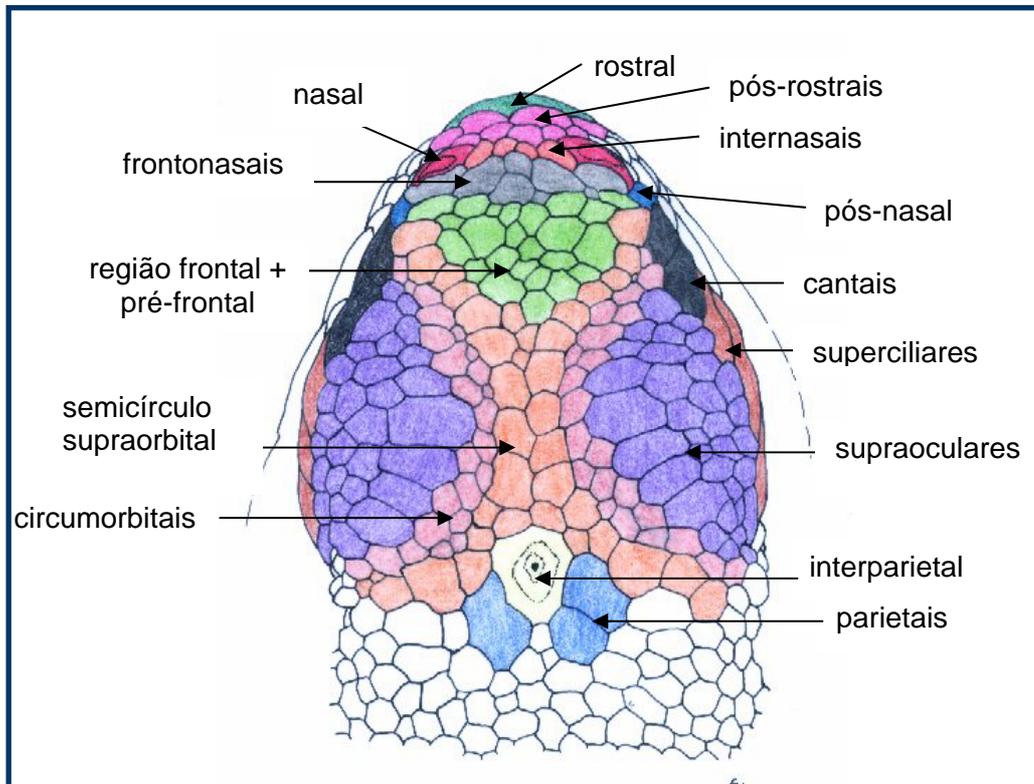


Figura 4 – Diagrama de escamação da região dorsal da cabeça de *Liolaemus occipitalis* em aumento 10X16. Exemplar DZUFRGS 3719.

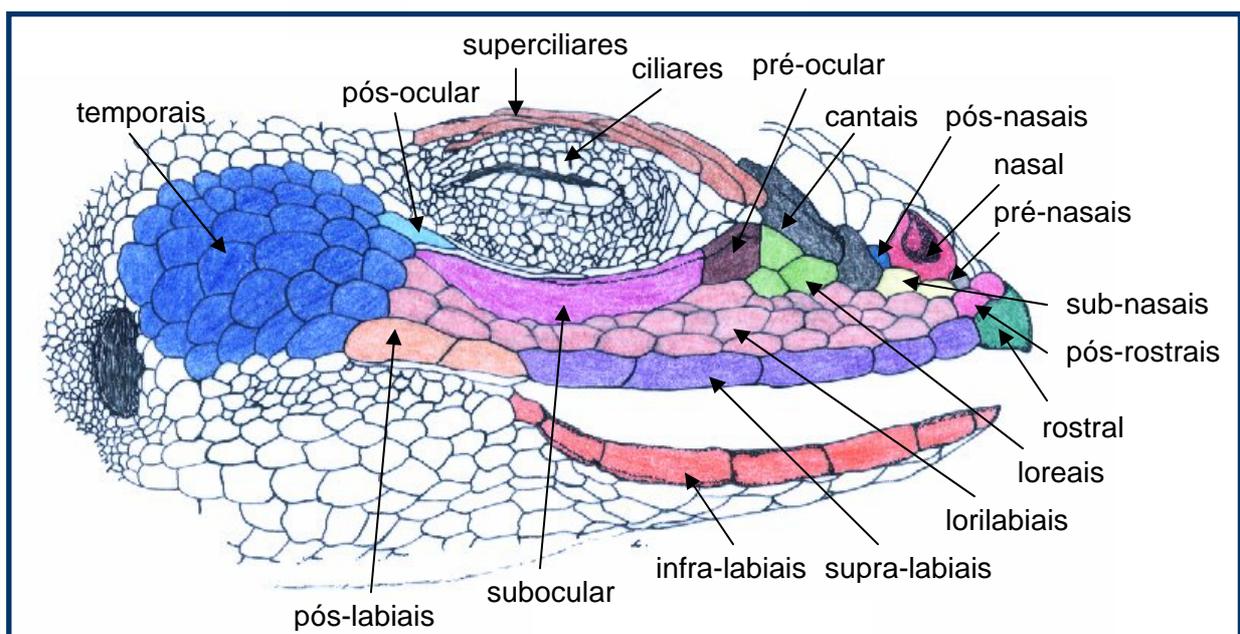


Figura 5 – Diagrama de escamação da região lateral da cabeça de *Liolaemus occipitalis* em aumento 10X16. Exemplar DZUFRGS 3719.

Tabela I - Espécimes de *Liolaemus occipitalis* coletados ao longo do gradiente geográfico da espécie (n=78). Local/coordenadas = local de coleta e suas coordenadas geográficas.

Local/Coordenadas	Data de coleta	Sexo	Nº coleção (DZUFRGS)
Barra do Chuí (Chuí) – RS S 33° 44' 22" W 53° 21' 59"	03/02/2005	Macho	-
		Fêmea	3811, 3812, 3813
Praia do Hermenegildo (Santa Vitória do Palmar) – RS S 33° 26' 17" W 53° 15' 23"	02/02/2005	Macho	3808
		Fêmea	3806, 3807, 3809, 3810
Balneário do Cassino (Rio Grande) – RS S 32° 11' 57,4" W 52° 10' 13"	31/01/2005	Macho	3797
		Fêmea	3798, 3799, 3800, 3801, 3802, 3803, 3804, 3805
Mostardas – RS S 31° 08' 06" W 50° 49' 50"	12/03/2005	Macho	3835, 3836, 3837, 3840, 3843, 3844
		Fêmea	3838, 3839, 3841, 3842, 3845, 3846
Cidreira – RS S 30° 06' 11,4" W 50° 10' 38,1"	01/06/2005	Macho	3895, 3896, 3897, 3898, 3899, 3900, 3901, 3902, 3903, 3904
		Fêmea	3905
Torres – RS S 29° 22' 46,2" W 49° 45' 37,3"	08/10/2004	Macho	3708, 3709, 3710, 3713
		Fêmea	3711, 3712, 3714, 3715
Farol de Santa Marta (Laguna) – SC S 28° 36' 11,8" W 48° 49' 03,8"	10/10/2004	Macho	3725, 3726, 3727, 3728
		Fêmea	3729
Morro dos Conventos (Araranguá) – SC S 28° 56' 48,4" W 49° 22' 13,8"	09/10/2004	Macho	3717, 3720, 3721, 3722, 3723, 3724
		Fêmea	3716, 3718, 3719
Praia da Joaquina (Florianópolis) – SC S 27° 36' 33,7" W 48° 27' 20,7"	12/10/2004	Macho	3731, 3734, 3735, 3736, 3737, 3741, 3742
		Fêmea	3730, 3732, 3733, 3738, 3739, 3740, 3743, 3744, 3745

Tabela II - Espécimes de *Liolaemus occipitalis* depositados na Coleção Científica do Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul utilizados nas análises merística e morfométrica (n=16).

Local	Data de coleta	Sexo	Nº coleção (DZUFRGS)
Balneário do Cassino (Rio Grande) – RS	11/2003	Macho	3650
		Fêmea	-
São José do Norte – RS	11/2003	Macho	3644, 3647, 3648
		Fêmea	3645, 3646, 3649, 3651, 3652, 3653, 3654, 3655
Morro dos Conventos (Araranguá) – SC	31/08/2002	Macho	3594, 3596
		Fêmea	3595, 3597

ANÁLISES MOLECULARES

EXTRAÇÃO DE DNA

O DNA foi isolado a partir de exemplares (n=57) coletados nas 10 populações amostradas, e, também, a partir das caudas de alguns animais das populações do Taim e de Bojuru (n=11) (Tabela III). Para o isolamento do DNA utilizou-se o método de MEDRANO *et al.* (1990), com modificações, o qual baseia-se em um protocolo para extração de DNA de células vermelhas do sangue (Anexo 1). Este mesmo protocolo pode ser utilizado para extração de material genético de tecido muscular, o que foi feito a partir da musculatura da cauda de *Liolaemus occipitalis*.

Tabela III – Espécimes de *Liolaemus occipitalis* utilizados nas análises moleculares (n=68). * - não tombados na coleção científica.

Local de coleta	Número de coleção (DZUFRGS)
Barra do Chuí (Chuí) – RS	3811, 3812, 3813
Praia do Hermenegildo (Santa Vitória do Palmar) – RS	3806, 3807, 3808, 3809, 3810
Taim – RS	4*, 6*, 8*, 9*, 11*, 13*, 14*, 16*, 17*, 18*
Balneário do Cassino (Rio Grande) – RS	3800, 3801, 3802, 3803, 3804, 3805
São José do Norte - RS	3644, 3646, 3648, 3649, 3651, 3655
Bojuru – RS	1*
Mostardas – RS	3835, 3836, 3837, 3838, 3839, 3840, 3841
Cidreira – RS	3896, 3898, 3899, 3900, 3901, 3904, 3905
Torres – RS	3708, 3709, 3710, 3711, 3712, 3713, 3714
Morro dos Conventos (Araranguá) – SC	3716, 3717, 3718, 3719, 3720, 3721, 3722
Farol de Santa Marta (Laguna) – SC	3725, 3726, 3727, 3728, 3729
Praia da Joaquina (Florianópolis) –SC	3733, 3734, 3735, 3737

VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE DO MATERIAL GENÉTICO EXTRAÍDO

Antes da amplificação do material genético, as extrações foram avaliadas em relação à quantidade e qualidade do DNA extraído seguindo protocolo de verificação de extração de DNA através de gel de agarose (Anexo 2).

REAÇÃO DE AMPLIFICAÇÃO

Foi amplificado via PCR (*Polimerase Chain Reaction*) um fragmento de 711 pares de bases (pb) do *cyt b* utilizando-se os *primers* da fita leve GLUDGL (5'-TGA CTTGAARAACCA YCGTTG-3'; PALUMBI 1996) e *cyt-b 1* (5'-CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA-3'; KOCHER *et al.* 1989), e os *primers* da fita pesada Primer 3 (5'-GGCAAATAGGAARTATCATTC-3'; PALUMBI 1996) e, como uma seqüência interna, o Primer 2 (5'-CCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA-3'; PALUMBI 1996). As reações de amplificação foram realizadas seguindo protocolo de PCR (Anexo 3). As temperaturas utilizadas para amplificação das amostras seguiram um programa utilizado nas máquinas de PCR (Anexo 4).

REAÇÃO DE VERIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO PCR

Seguindo protocolo de verificação e quantificação de PCR através de gel de agarose (Anexo 5), foi verificada a qualidade do DNA amplificado, e feita a quantificação deste.

REAÇÃO DE PURIFICAÇÃO

Os produtos de amplificação por PCR foram purificados seguindo protocolo de purificação do PCR (Anexo 6).

SEQÜENCIAMENTO

Para o seqüenciamento foi utilizado o seqüenciador automático MegaBASE do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, através do *DYEnamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kit for MegaBASE* (Amersham) conforme instruções do fabricante.

ANÁLISE DOS DADOS MOLECULARES

A edição e o alinhamento das seqüências foram feitos utilizando-se o programa MEGA versão 3.1 (KUMAR *et al.* 2004).

A rede de haplótipos (*network*) foi gerada através do programa NETWORK Versão 4.112 (BANDELT *et al.* 1999), e as árvores filogenéticas, através do programa PAUP* (SWOFFORD 2001).

A AMOVA (Análise da Variância Molecular) foi feita através do programa ARLEQUIN (SCHNEIDER *et al.* 2000).

Existem vários métodos com a finalidade de medir as taxas de mutações no nível molecular (NEI 1987). Usar a variação molecular para responder a uma gama de questões evolutivas envolve a suposição crítica de que a variação está evoluindo de forma neutra (MORANDO *et al.* 2004). A fim de testar a validade desta suposição foram usados os Testes de neutralidade de TAJIMA (1989) e de FU & LI (1993). O Teste de TAJIMA (1989) foi aplicado para todas as populações juntas e separadas; o Teste de FU e LI (1993) foi aplicado para todas as populações juntas.

O programa DnaSP Versão 4.10.4 (ROZAS *et al.* 2005) foi utilizado para: testar a neutralidade das mutações (Teste de TAJIMA (1989) e Teste de FU e LI (1993)) entre todas as populações; calcular o número de sítios invariáveis (monomórficos) e variáveis (polimórficos), e suas respectivas posições; calcular o número de mutações de cada sítio; identificar os sítios informativos segundo o critério de parsimônia; identificar os haplótipos; calcular a diversidade, a variância e o desvio padrão da diversidade de haplótipos.

A subdivisão populacional foi analisada através do cálculo do *Fst* (WRIGHT 1951), e as estimativas de fluxo gênico, calculadas a partir deste parâmetro, sendo: $Nm \approx (1/4)[(1/Fst) - 1]$ (WRIGHT 1951). As estimativas de *Nm* foram utilizadas no teste de Isolamento pela Distância entre as populações (analisando-se a relação entre o logaritmo de *Nm* e o logaritmo da distância geográfica entre as populações).

As distâncias geográficas aproximadas dos pontos de coleta de *Liolaemus occipitalis* foram estimadas através das coordenadas geográficas dos pontos utilizando-se o programa GPSTrackMaker (FERREIRA JUNIOR 1998).

RESULTADOS MORFOLÓGICOS

ANÁLISE MERÍSTICA

Na análise merística de *Liolaemus occipitalis* foram comparados 94 espécimes, distribuídos entre as populações amostradas (Tab. I) e alguns depositados na Coleção Científica do Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Tab. II) a partir de parâmetros tradicionalmente utilizados para caracterização de répteis (ver: Análises merística e morfométrica, pg. 17).

ESCAMAS DORSAIS

Tabela IV – Número de escamas dorsais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín ($M \pm SD$) Máx = mínimo (média \pm desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, $KW=17,180$; $p<0,05$; Teste de Dunn, $p>0,05$).

População\Nº escamas	Mín	($M \pm SD$)	Máx	N
Barra do Chuí	85	$86 \pm 1,35$	88	3
Praia do Hermenegildo	80	$83 \pm 3,23$	88	5
Balneário do Cassino	80	$87 \pm 3,45$	91	10
São José do Norte	81	$85 \pm 3,63$	90	11
Mostardas	77	$82 \pm 3,94$	91	12
Cidreira	77	$85 \pm 4,51$	92	11
Torres	80	$83 \pm 2,60$	87	8
Morro dos Conventos	80	$84 \pm 3,36$	92	5
Farol de Santa Marta	83	$86 \pm 2,49$	89	13
Praia da Joaquina	79	$87 \pm 3,77$	94	16

O número de escamas dorsais variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, $KW=17,180$; $p<0,05$). As médias populacionais, porém, não diferiram significativamente entre si (Teste de Dunn, $p>0,05$) (Tab. IV).

ESCAMAS VENTRAIS

Tabela V – Número de escamas ventrais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=30,361; p<0,001). As letras iguais significam as populações entre as quais existiram diferenças significativas (*=p<0,05; **=p<0,01).

População\Nº escamas	Mín	(M ± SD)	Máx	Teste de Dunn	N
Barra do Chuí	67	68 ± 1,71	70	a*	3
Praia do Hermenegildo	62	65 ± 2,72	68		5
Balneário do Cassino	60	67 ± 4,78	74	b**	10
São José do Norte	59	65 ± 3,02	70	c*	11
Mostardas	56	61 ± 3,67	67		12
Cidreira	57	62 ± 4,55	71		11
Torres	53	58 ± 3,04	62	a* b** c*	8
Morro dos Conventos	57	64 ± 4,36	70		5
Farol de Santa Marta	58	62 ± 4,25	67		13
Praia da Joaquina	55	62 ± 3,11	66		16

O número de escamas ventrais teve variação extremamente significativa entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=30,361; p<0,001). As diferenças se deram entre as populações da Barra do Chuí e Torres (Teste de Dunn, p<0,05), Balneário do Cassino e Torres (Teste de Dunn, p<0,01), São José do Norte e Torres (Teste de Dunn, p<0,05).

ESCAMAS AO REDOR DO MEIO DO CORPO

Tabela VI – Número de escamas ao redor do meio do corpo por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín ($M \pm SD$) Máx = mínimo (média \pm desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, $KW=10,719$; $p=0,2954$).

População\Nº escamas	Mín	(M \pm SD)	Máx	N
Barra do Chuí	70	71 \pm 1,54	73	3
Praia do Hermenegildo	67	70 \pm 3,09	75	5
Balneário do Cassino	64	70 \pm 4,36	79	10
São José do Norte	65	69 \pm 1,69	72	11
Mostardas	64	69 \pm 2,88	73	12
Cidreira	63	70 \pm 3,21	75	11
Torres	66	69 \pm 1,93	71	8
Morro dos Conventos	65	71 \pm 3,28	76	5
Farol de Santa Marta	69	72 \pm 2,37	74	13
Praia da Joaquina	66	69 \pm 2,14	74	16

O número de escamas ao redor do meio do corpo não variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, $KW=10,719$; $p=0,2954$).

LAMELAS INFRADIGITAIS

Tabela VII – Número de lamelas infradigitais anteriores (lia) e posteriores (lip) por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. lia: (Kruskal-Wallis, KW=23,324; p<0,01); lip: (Kruskal-Wallis, KW=26,053; p<0,01; Teste de Dunn, p>0,05). As letras iguais significam as populações entre as quais existiram diferenças significativas (*=p<0,05).

População	Infradigitais anteriores			Teste de Dunn (lia)	Infradigitais posteriores			N
	Mín	(M ± SD)	Máx		Mín	(M ± SD)	Máx	
Barra do Chuí	19	19 ± 0,58	20		24	25 ± 1,00	26	3
Praia do Hermenegildo	17	17 ± 0,89	19		21	23 ± 1,64	25	5
Balneário do Cassino	17	19 ± 1,63	21		23	24 ± 0,63	25	10
São José do Norte	17	19 ± 1,27	21		21	23 ± 1,69	26	11
Mostardas	17	18 ± 1,24	21		22	23 ± 1,16	25	12
Cidreira	14	19 ± 1,43	21	a*	22	24 ± 1,33	26	11
Torres	16	18 ± 1,04	19		21	22 ± 0,89	24	8
Morro dos Conventos	17	18 ± 0,99	20		21	23 ± 1,19	25	5
Farol de Santa Marta	16	18 ± 1,09	19		20	22 ± 1,48	24	13
Praia da Joaquina	17	18 ± 0,66	19	a*	21	23 ± 1,08	24	16

O número de lamelas infradigitais anteriores teve variação muito significativa entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=23,324; p<0,01). As diferenças se deram entre as populações de Cidreira e Praia da Joaquina (Teste de Dunn, p<0,05).

O número de lamelas infradigitais posteriores também teve variação muito significativa entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=26,053; p<0,01). As médias populacionais, porém, não diferiram significativamente entre si (Teste de Dunn, p>0,05).

POROS PRÉ-CLOACAIS

Nas populações analisadas observou-se que somente os machos (n=44) apresentam poros pré-cloacais, sendo as fêmeas desprovidas destes. Observou-se também que o número de poros dos machos é bastante variável (Tab. VIII).

Também se verificou que os poros podem apresentar tamanhos diferentes no mesmo indivíduo, podendo ser grandes ou pequenos. Quanto ao formato, apresentam-se ovalados ou arredondados em todos os exemplares analisados (Fig. 6).

Em relação à coloração, os poros pré-cloacais apresentaram-se na maioria dos indivíduos em tom de amarelo pálido (88,64%), sendo poucos os indivíduos que fugiram a este padrão (11,36%). Somente um animal da população de Mostardas, um da população da Praia da Joaquina e dois de Morro dos Conventos apresentaram poros esbranquiçados; e um da população de Cidreira apresentou alguns poros em tom de amarelo mais escuro.

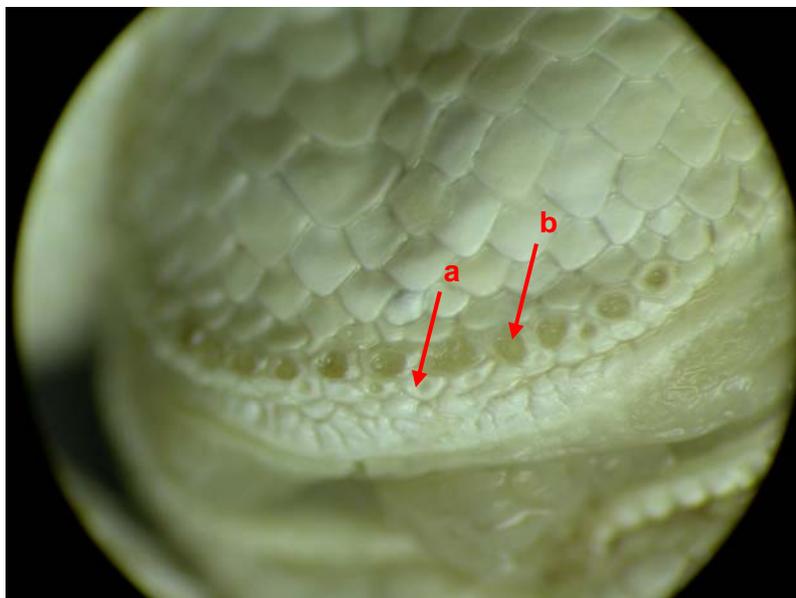


Figura 6 – Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando diferentes tamanhos de poros pré-cloacais (a – pequeno; b – grande). Exemplar DZUFRGS 3717; Aumento: 10,00 X 2,75.

Tabela VIII – Número de poros pré-cloacais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. NT – média do número total de poros pré-cloacais; NG – média do número de poros pré-cloacais grandes; variações entre parênteses; NM - número de machos analisados; NF – número de fêmeas analisadas. NT: (Kruskal-Wallis, KW=21,184; $p < 0,01$; Teste de Dunn, $p < 0,05$); NG: (Kruskal-Wallis, KW=17,390; $p < 0,05$; Teste de Dunn, $p > 0,05$). As letras iguais significam as populações entre as quais existiram diferenças significativas ($* = p < 0,05$).

População	NT	Teste de Dunn (NT)	NG	NM	NF
Barra do Chuí	-		-	0	3
Praia do Hermenegildo	6 (6)		6 (6)	1	4
Balneário do Cassino	7 (6-7)		6 (6)	2	8
São José do Norte	7 (4-9)		6 (3-7)	3	8
Mostardas	7 (5-8)	a*	6 (5-7)	6	6
Cidreira	9 (7-12)		8 (6-9)	10	1
Torres	9 (6-11)		7 (6-8)	5	3
Morro dos Conventos	15 (8-19)	a*	9 (7-12)	8	5
Farol de Santa Marta	9 (8-11)		7 (7)	3	2
Praia da Joaquina	8 (6-9)		7 (6-8)	6	10

O número total de poros pré-cloacais teve variação muito significativa entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=21,184; $p < 0,01$). As diferenças se deram entre as populações de Mostardas e Morro dos Conventos (Teste de Dunn, $p < 0,05$) (Tab. VIII).

O número de poros pré-cloacais grandes também variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=17,390; $p < 0,05$). As médias populacionais, porém, não diferiram significativamente entre si (Teste de Dunn, $p > 0,05$) (Tab. VIII).

ESCAMAS CEFÁLICAS

ESCAMA ROSTRAL

Em todos os exemplares analisados de *L. occipitalis* esta escama apresentou-se como elemento único de tamanho grande (Fig. 7). À exceção de um indivíduo da população de Mostardas (DZUFRGS 3844) que a apresentou subdividida.



Figura 7 – Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando escama rostral como elemento único de tamanho grande (a), e escamas pós-rostrais dispostas em duas fileiras completas (b). Exemplar DZUFRGS 3835; Aumento: 10,00 X 2,00.

ESCAMAS PÓS-ROSTRAIS

Nos exemplares analisados de *L. occipitalis* foram observados indivíduos apresentando: duas fileiras completas de escamas pós-rostrais (Fig. 7), uma das fileiras de escamas pós-rostrais irregular ou confundindo-se com as escamas internasais (Fig. 8), ou somente uma fileira de escamas pós-rostrais (Fig. 9) (Tab. IX).

Tabela IX – Tipos de escamas pós-rostrais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escamas pós-rostrais (Tipos); duas fileiras completas de escamas pós-rostrais (Tipo 1); uma das fileiras de escamas pós-rostrais irregular ou confundindo-se com as escamas internasais (Tipo 2); somente uma fileira de escamas pós-rostrais (Tipo 3); N = número de espécimes analisados por população.

População\Tipos	Tipo 1 (%)	Tipo 2 (%)	Tipo 3 (%)	N
Barra do Chuí	66,67	33,33	-	3
Praia do Hermenegildo	40,00	40,00	20,00	5
Balneário do Cassino	80,00	20,00	-	10
São José do Norte	100	-	-	11
Mostardas	83,33	8,33	8,33	12
Cidreira	63,64	27,27	9,09	11
Torres	25,00	62,50	12,50	8
Morro dos Conventos	69,23	23,08	7,69	5
Farol de Santa Marta	60,00	20,00	20,00	13
Praia da Joaquina	6,25	50,00	43,75	16



Figura 8 – Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando uma das fileiras de escamas pós-rostrais irregular ou confundindo-se com as escamas internasais (a). Exemplar DZUFRGS 3714; Aumento: 10,00 X 3,00.



Figura 9 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando somente uma fileira de escamas pós-rostrais (a). Exemplar DZUFRGS 3737; Aumento: 10,00 X 3,00.

ESCAMAS PARIETAIS

Nos exemplares analisados de *L. occipitalis*, as escamas parietais apresentaram uma grande variabilidade, podendo apresentar-se: ambas inteiras (Fig. 10), ambas subdivididas (Fig. 11), ambas fragmentadas em elementos irregulares (Fig. 12), apenas a escama direita subdividida ou fragmentada (fig. 13), apenas a escama esquerda subdividida ou fragmentada (Fig. 14).

Tabela X – Tipos de escamas parietais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escamas parietais (Tipos); ambas inteiras (Tipo 1); ambas subdivididas (Tipo 2); ambas fragmentadas em elementos irregulares (Tipo 3); apenas a escama direita subdividida ou fragmentada (Tipo 4); apenas a escama esquerda subdividida ou fragmentada (Tipo 5); N = número de espécimes analisados por população.

População\Tipos	Tipo 1 (%)	Tipo 2 (%)	Tipo 3 (%)	Tipo 4 (%)	Tipo 5 (%)	N
Barra do Chuí	-	33,33	33,33	-	33,33	3
Praia do Hermenegildo	20,00	40,00	-	-	40,00	5
Balneário do Cassino	60,00	30,00	-	-	10,00	10
São José do Norte	9,10	36,36	-	36,36	18,18	11
Mostardas	58,33	33,33	-	-	8,33	12
Cidreira	54,55	27,27	9,09	-	9,09	11
Torres	87,50	-	-	12,50	-	8
Morro dos Conventos	30,77	38,46	7,69	15,38	7,69	5
Farol de Santa Marta	40,00	20,00	-	-	40,00	13
Praia da Joaquina	18,75	18,75	43,75	6,25	12,50	16

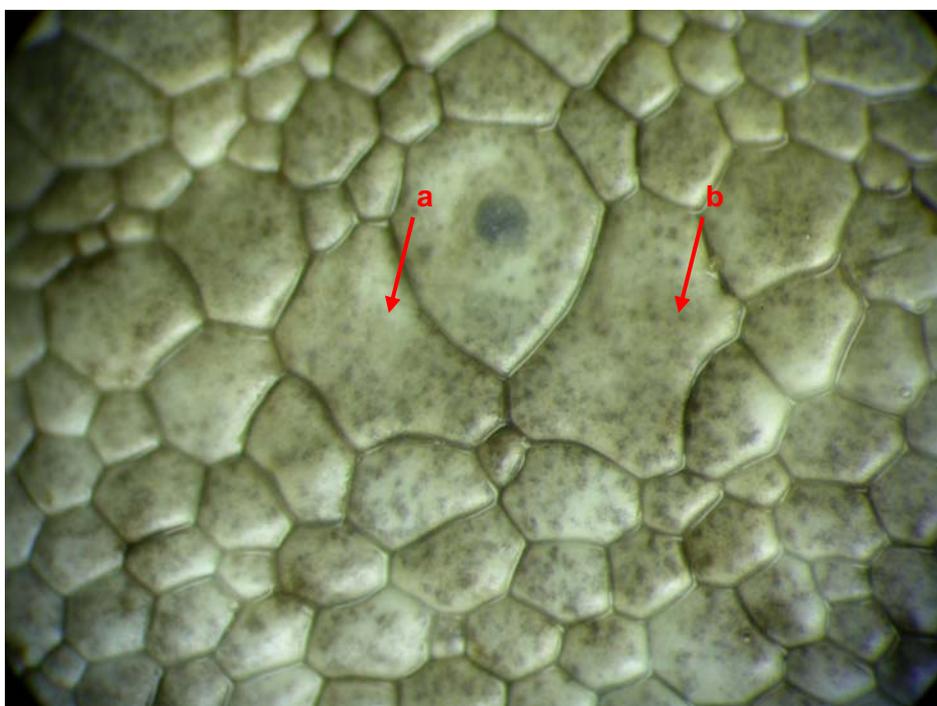


Figura 10 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando ambas as escamas parietais inteiras (a, b). Exemplar DZUFRGS 3897; Aumento: 10,00 X 3,00.

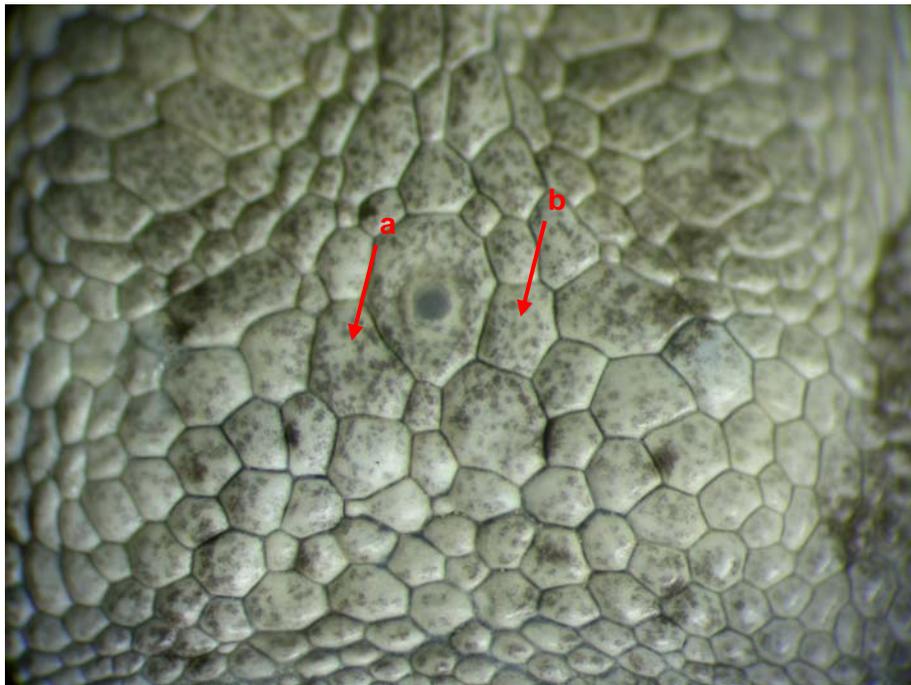


Figura 11 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando ambas as escamas parietais subdivididas (a, b). Exemplar DZUFRGS 3740; Aumento: 10,00 X 2,25.

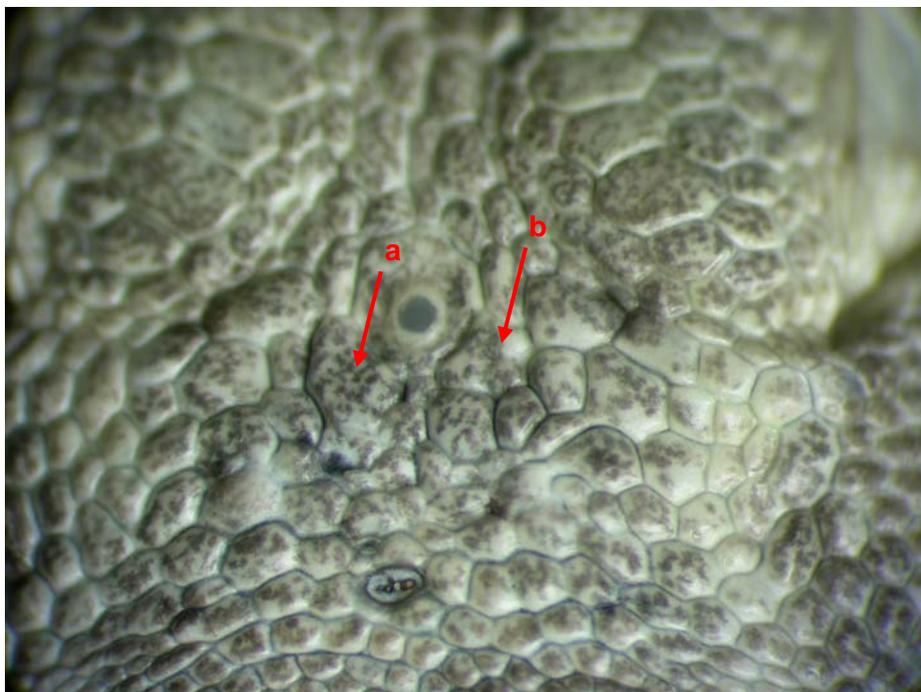


Figura 12 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando ambas as escamas parietais fragmentadas em elementos irregulares (a, b). Exemplar DZUFRGS 3730; Aumento: 10,00 X 2,25.



Figura 13 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando apenas a escama parietal direita subdividida ou fragmentada (a). Exemplar DZUFRGS 3739; Aumento: 10,00 X 4,00.

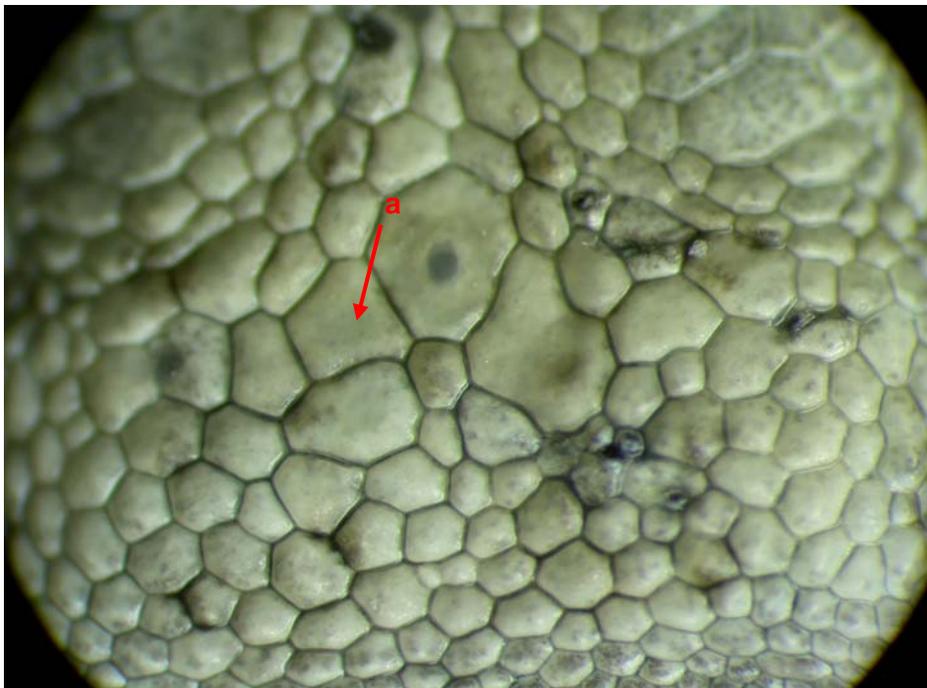


Figura 14 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando apenas a escama parietal esquerda subdividida ou fragmentada (a). Exemplar DZUFRGS 3741; Aumento: 10,00 X 3,00.

ESCAMA NASAL

Todos os indivíduos analisados de *L. occipitalis* apresentaram as escamas nasais em posição dorsal e com a narina ocupando a maior parte da escama (Fig 15).



Figura 15 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando escamas nasais localizadas superiormente e com a narina ocupando a maior parte da escama (a, b). Exemplar DZUFRGS 3895; Aumento: 10,00 X 3,00.

ESCAMAS LORILABIAIS

Nos exemplares analisados de *L. occipitalis* observaram-se indivíduos apresentando duas fileiras completas de escamas lorilabiais (Fig. 16), ou duas fileiras com redução, em um ou mais pontos, para uma só fileira de escamas lorilabiais (Tab. XI). Esta redução se deu através de uma só escama (Fig. 17) ou mais de uma escama seguida (Fig. 18).

Tabela XI – Tipos de escamas lorilabiais por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escamas lorilabiais (Tipos); duas fileiras completas de escamas lorilabiais (Tipo 1); duas fileiras de escamas lorilabiais com redução, em um ou mais pontos, para uma só fileira através de uma só escama (Tipo 2); duas fileiras de escamas lorilabiais com redução, em um ou mais pontos, para uma só fileira através de mais de uma escama seguida (Tipo 3); N = número de espécimes analisados por população.

População\Tipos	Tipo 1 (%)	Tipo 2 (%)	Tipo 3 (%)	N
Barra do Chuí	-	33,33	66,67	3
Praia do Hermenegildo	40,00	40,00	20,00	5
Balneário do Cassino	80,00	10,00	10,00	10
São José do Norte	45,45	54,55	-	11
Mostardas	58,33	33,33	8,33	12
Cidreira	63,64	18,18	18,18	11
Torres	100	-	-	8
Morro dos Conventos	15,38	53,85	30,77	5
Farol de Santa Marta	80,00	-	20,00	13
Praia da Joaquina	81,25	18,75	-	16

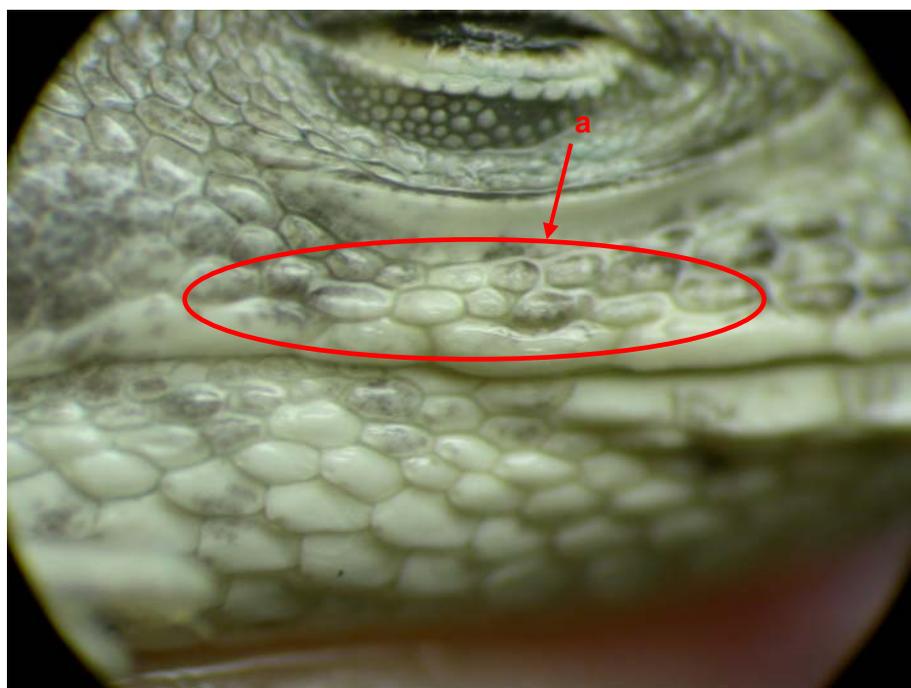


Figura 16 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando duas fileiras de escamas lorilabiais entre a escama subocular e as escamas supra-labiais (a). Exemplar DZUFRGS 3647; Aumento: 10,00 X 3,00.

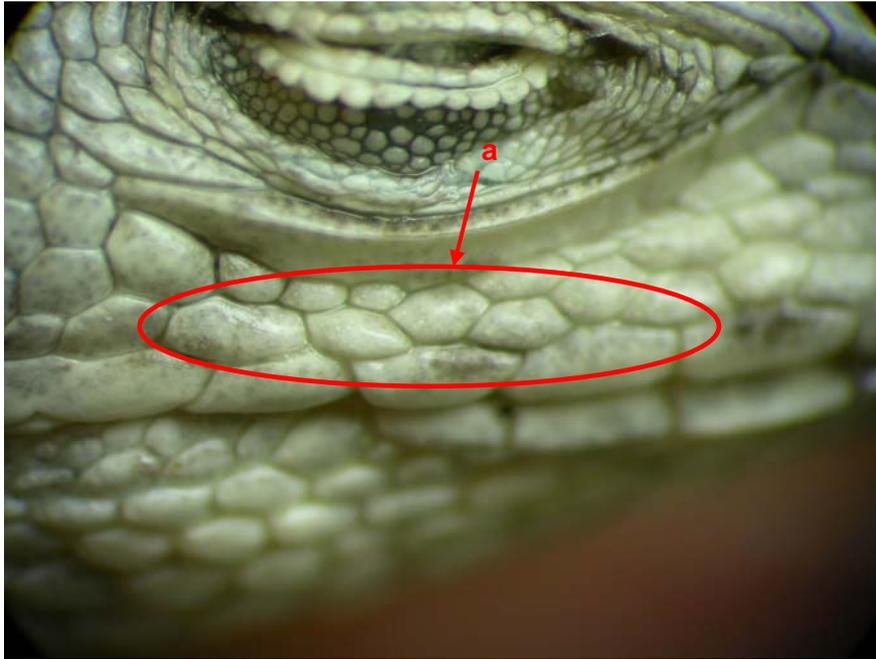


Figura 17 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando redução em um ponto, através de uma só escama, para uma só fileira de escamas lorilabiais (a). Exemplar DZUFRGS 3645; Aumento: 10,00 X 2,75.

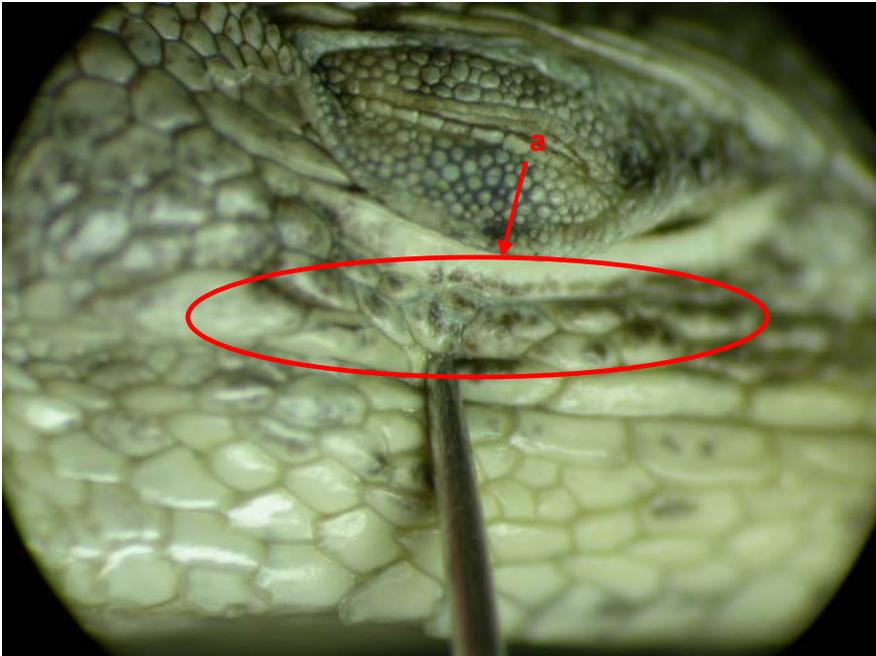


Figura 18 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando redução em um ponto, através de mais de uma escama seguida, para uma só fileira de escamas lorilabiais (a). Exemplar DZUFRGS 3798; Aumento: 10,00 X 2,50.

ESCAMA SUBOCULAR

Todas as populações analisadas de *L. occipitalis* apresentaram mais de 65% dos indivíduos com a escama subocular única, grande e alongada. Algumas populações apresentaram alguns indivíduos com a escama subocular fusionada com a pré-ocular (Fig. 19). Somente duas populações apresentaram poucos indivíduos com a escama subocular parcialmente fusionada com a pré-ocular; também somente duas populações apresentaram poucos indivíduos com a escama subocular fusionada com a pós-ocular (Fig. 20) (Tab. XII).

Tabela XII – Tipos de escama subocular por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Tipos de escama subocular (Tipos); escama subocular única, grande e alongada (Tipo 1); escama subocular fusionada com a escama pré-ocular (Tipo 2); escama subocular parcialmente fusionada com a escama pré-ocular (Tipo 3); escama subocular fusionada com a escama pós-ocular (Tipo 4); N = número de espécimes analisados por população.

População\Tipos	Tipo 1 (%)	Tipo 2 (%)	Tipo 3 (%)	Tipo 4 (%)	N
Barra do Chuí	66,67	33,33	-	-	3
Praia do Hermenegildo	100	-	-	-	5
Balneário do Cassino	80,00	10,00	10,00	-	10
São José do Norte	100	-	-	-	11
Mostardas	91,67	8,33	-	-	12
Cidreira	90,91	-	-	9,09	11
Torres	87,50	12,50	-	-	8
Morro dos Conventos	92,31	7,69	-	-	5
Farol de Santa Marta	100	-	-	-	13
Praia da Joaquina	68,75	18,75	6,25	6,25	16

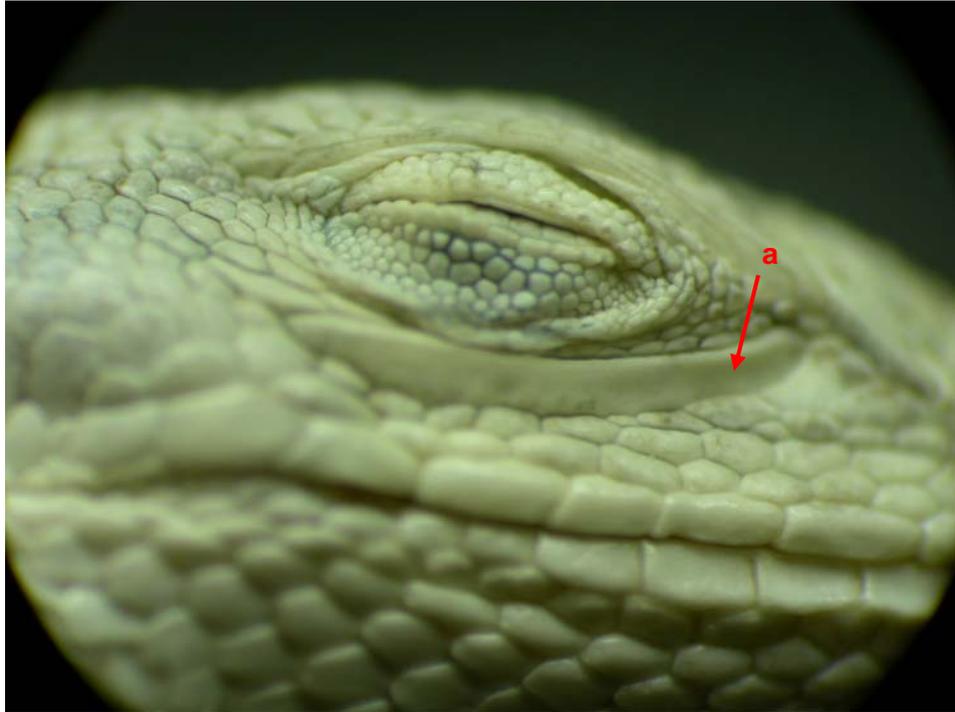


Figura 19 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando a escama subocular fusionada com a pré-ocular (a). Exemplar DZUFRGS 3711; Aumento: 10,00 X 2,50.

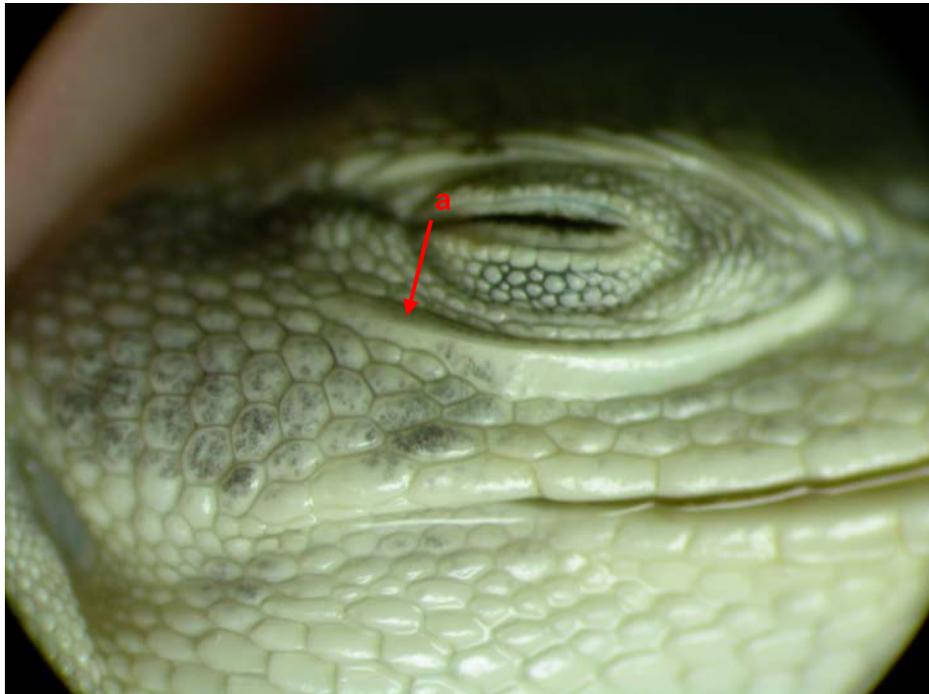


Figura 20 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando a escama subocular fusionada com a pós-ocular (a). Exemplar DZUFRGS 3743; Aumento: 10,00 X 2,25.

ESCAMAS CILIARES

Todos os exemplares analisados de *L. occipitalis* apresentaram escamas ciliares pequenas, em formato aproximadamente retangular e localizadas na borda das pálpebras inferior e superior.

ESCAMAS SUPRAOCULARES

Todos os exemplares analisados de *L. occipitalis* apresentaram séries de 3 ou 4 escamas supraoculares ampliadas. Alguns indivíduos apresentaram as escamas supraoculares um pouco mais fragmentadas, mas não fugiram ao padrão dos demais (Fig. 21).



Figura 21 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando as escamas supraoculares um pouco mais fragmentadas (a). Exemplar DZUFRGS 3895; Aumento: 10,00 X 2,00.

REGIÃO DAS ESCAMAS FRONTAL E PRÉ-FRONTAIS

Nenhum dos exemplares analisados de *L. occipitalis* apresentou escama frontal.

As escamas pré-frontais formam uma região confusa, localizada entre as escamas frontonasais e o semi-círculo supraorbital. É uma região formada por inúmeras escamas irregulares, algumas pequenas, outras grandes, fragmentadas, subdivididas e/ou fusionadas com outras formando uma escama maior. Muitas vezes todos estes tipos de escamas aparecem misturados.

É uma região de escamas que variou muito tanto entre indivíduos quanto entre populações.

ESCAMAS TEMPORAIS

Todos os indivíduos analisados de *L. occipitalis* apresentaram as escamas temporais superiores levemente quilhadas e as temporais inferiores lisas, ou as escamas superiores das temporais inferiores apresentando quilhas muito sutis (Fig. 22).

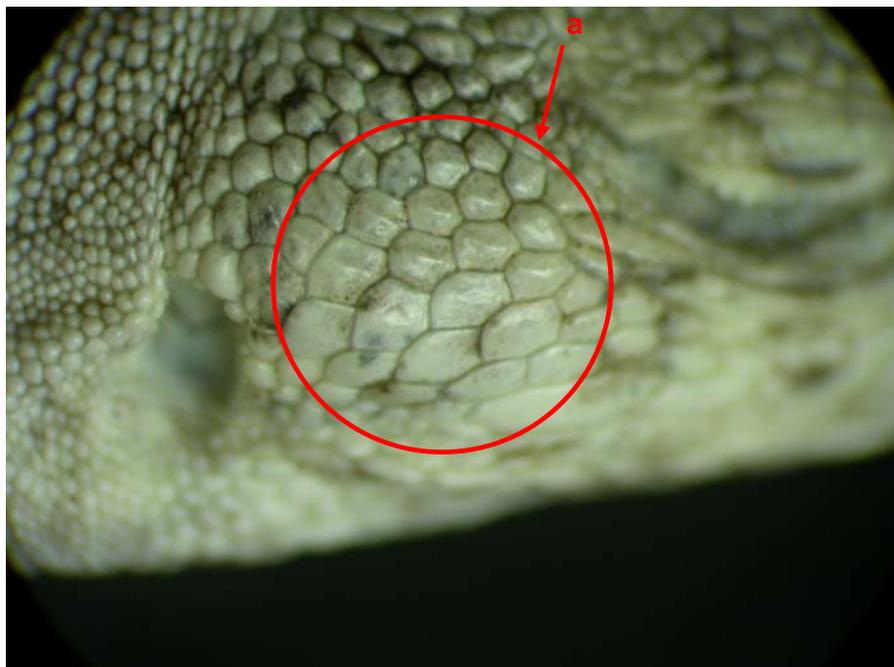


Figura 22 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando região de escamas temporais (a). Exemplar DZUFRGS 3722; Aumento: 10,00 X 2,00.

ESCAMAS DORSAIS DOS MEMBROS ANTERIORES

A) TAMANHO E FORMATO DAS ESCAMAS

As escamas dorsais dos membros anteriores de *L. occipitalis* apresentaram-se grandes, imbricadas e quilhadas, com as quilhas suavizando-se gradualmente até o pulso. As quilhas são mais ou menos acentuadas entre indivíduos dentro de uma mesma população.

Alguns indivíduos apresentaram muitas escamas quilhadas nos membros anteriores, sendo que estas vão quase até o pulso ou até este. Outros indivíduos possuíam menos escamas quilhadas, com as quilhas acabando logo após a articulação do braço com o antebraço. Esta variação na quantidade de quilhas independe da suavidade destas.

B) MELANIZAÇÃO DAS ESCAMAS

Quanto à melanização, as escamas dos membros anteriores de *L. occipitalis* apresentaram-se esbranquiçadas com variada quantidade de melanina. Possuem grânulos maiores ou menores, e em maior ou menor quantidade, dando um aspecto acinzentado a olho nu. A quantidade de melanina foi variável tanto entre machos quanto entre fêmeas, variando igualmente entre populações, não seguindo um padrão de variação inter-sexual ou inter-populacional. A quantidade de melanina apresentou uma variação aleatória e inter-individual.

ESCAMAS VENTRAIS DOS MEMBROS ANTERIORES

A) TAMANHO E FORMATO DAS ESCAMAS

As escamas ventrais dos membros anteriores de *L. occipitalis* apresentaram-se granulares no braço, até a região da articulação com o antebraço. No antebraço as escamas são maiores e mais fracamente imbricadas do que no braço, sendo menores e menos imbricadas do que na superfície dorsal do membro anterior, parecendo ser mais “arrepriadas”. Ainda

no antebraço verificou-se uma região de escamas levemente quilhadas próximo ao “pulso”, parecendo ser uma quilha rudimentar que tem origem a partir das escamas dorsais, como um gradiente de quilhas que termina na face ventral do membro. Esta região levemente quilhada variou em tamanho entre diferentes indivíduos, e a suavidade das quilhas também foi variável, podendo ser estas mais ou menos acentuadas.

B) MELANIZAÇÃO DAS ESCAMAS

Quanto à melanização as escamas ventrais dos membros anteriores de *L. occipitalis* apresentaram-se brancas e imaculadas.

Alguns indivíduos apresentaram poucas escamas muito próximas à região lateral dos membros com algumas pontuações de melanina.

ESCAMAS DORSAIS DOS MEMBROS POSTERIORES

A) TAMANHO E FORMATO DAS ESCAMAS

As escamas dorsais dos membros posteriores de *L. occipitalis* apresentaram-se grandes, imbricadas e quilhadas, tornando-se gradualmente menores em direção à extremidade distal do membro (“canela”).

Muitos indivíduos possuíam as quilhas dos membros posteriores mais suaves do que as dos membros anteriores. A direção na qual as quilhas suavizam-se não é muito regular, às vezes as “coxas” apresentaram poucas quilhas, ou estas foram bem sutis, e próximo ao “joelho”, foram mais numerosas ou mais acentuadas, suavizado-se em direção à extremidade distal do membro (“canela”). Em alguns indivíduos as quilhas seguiram o padrão dos membros anteriores, suavizando-se em direção à extremidade distal dos membros.

B) MELANIZAÇÃO DAS ESCAMAS

Em relação à melanização, as escamas dorsais dos membros posteriores seguiram o mesmo padrão dos membros anteriores dorsalmente, apresentando-se esbranquiçadas com variada quantidade de melanina. Verificou-se a presença de grânulos maiores ou menores, e em maior ou menor quantidade, dando um aspecto acinzentado a olho nu.

A quantidade de melanina foi variável tanto entre machos quanto entre fêmeas, variando igualmente entre populações, não seguindo um padrão de variação inter-sexual ou inter-populacional. A quantidade de melanina apresentou uma variação aleatória e inter-individual.

ESCAMAS VENTRAIS DOS MEMBROS POSTERIORES

A) TAMANHO E FORMATO DAS ESCAMAS

As escamas ventrais dos membros posteriores de *L. occipitalis* apresentaram-se grandes, imbricadas e sem quilhas em todos os indivíduos analisados.

B) MELANIZAÇÃO DAS ESCAMAS

Quanto à melanização, as escamas ventrais dos membros posteriores de *L. occipitalis* apresentaram-se brancas e imaculadas na grande maioria dos indivíduos analisados. Alguns indivíduos apresentaram quantidade variada de melanina ou pigmento castanho, que apareceram sob forma de pequenos pontos ou pequenas manchas na borda das escamas. Entre estes indivíduos que apresentaram escamas maculadas, alguns possuíam várias delas dispersas, já outros possuíam poucas próximo ao lado dos membros (pode ser pigmentação do dorso que se estendeu um pouco ventralmente). Em muitos indivíduos os pontos ou manchas nas escamas apareceram muito sutis, e em alguns, estes foram quase imperceptíveis.

A maioria dos indivíduos que apresentaram escamas maculadas é macho, sendo muito poucas as fêmeas que possuíam algumas escamas maculadas muito levemente.

PADRÕES DE DESENHO E MELANIZAÇÃO CORPORAL

PADRÃO DORSAL

A) MANCHAS PARAVERTEBRAIS

Observou-se que todos os indivíduos analisados de *L. occipitalis* apresentaram pequenas manchas paravertebrais em forma aproximada de “meia-lua” (Fig. 23).

Essas manchas paravertebrais variaram em nitidez, podendo apresentar-se mais ou menos desenhadas, e em intensidade, podendo ser quase apagadas até bem fortes. As manchas quase apagadas apresentavam-se muito sutis ou quase desaparecendo. Em alguns indivíduos o padrão de “meia-lua” apresentou-se um pouco borrado, porém ainda pôde ser sutilmente percebido. Essas variações de intensidade e nitidez das manchas paravertebrais foram mais contrastantes entre indivíduos do que entre populações. Tanto machos quanto fêmeas apresentaram manchas ora nítidas e fortes, ora quase apagadas e pouco nítidas.

Comparando-se indivíduos que apresentaram um padrão de manchas bem nítidas e fortes com indivíduos com padrão de manchas quase apagadas ou pouco nítidas, percebeu-se um grande contraste entre estes dois padrões de desenho. Porém, verificou-se uma gama de indivíduos com padrões intermediários entre estes dois padrões, muitas vezes ocorrendo dentro da mesma população. Não se percebeu um gradiente de variação interpopulacional em relação às manchas paravertebrais.

B) TARJA NEGRA DORSO-LATERAL

Observou-se que alguns dos indivíduos analisados de *L. occipitalis* apresentaram uma tarja negra de posição dorso-lateral (Fig. 24).

Entre as populações analisadas, observou-se, de um modo geral, que machos jovens e fêmeas jovens não apresentaram tarja negra dorso-lateral; ou alguns machos jovens e algumas fêmeas adultas (no 1º ano de vida) apresentaram-na em início de formação; algumas fêmeas adultas (no 2º ano de

vida) possuíam esta tarja em diferentes tamanhos ou intensidade; e machos adultos apresentaram-na em diferentes tamanhos ou intensidade.

À medida que os indivíduos apresentavam-se maiores, verificou-se que esta tarja negra era, progressivamente, maior e/ou mais escura. Algumas fêmeas adultas apresentavam tarjas maiores ou mais escuras do que machos adultos, dependendo do tamanho de ambos, mas normalmente os machos apresentaram tarjas maiores ou mais escuras.

C) FAIXA DORSAL MEDIANA OU REGIÃO MÉDIO-DORSAL

Verificou-se nos indivíduos analisados de *L. occipitalis* a presença de uma faixa dorsal mediana acinzentada (cor de fundo ou cor-base) sobre a qual apresentaram o padrão de desenho corporal, localizada entre as manchas paravertebrais (Fig. 23).

Os indivíduos da população da Praia da Joaquina apresentaram uma linha delgada e mais clara sobre esta faixa dorsal de cor-base (Fig. 23).

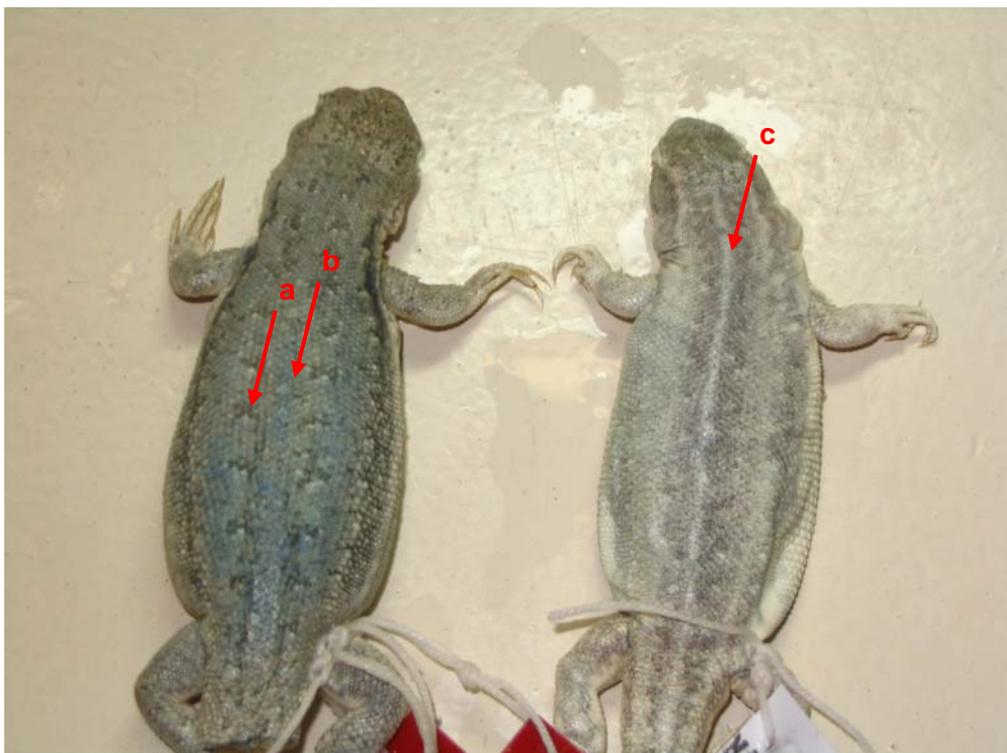


Figura 23 - Indivíduos de *Liolaemus occipitalis* apresentando pequenas manchas paravertebrais em forma aproximada de “meia-lua” (a) e faixa dorsal mediana de cor-base (b); indivíduo de *L. occipitalis* da população da Praia da Joaquina apresentando linha dorsal delgada e mais clara (c). Exemplares DZUFRGS 3798 (esquerda) e DZUFRGS 3738 (direita).

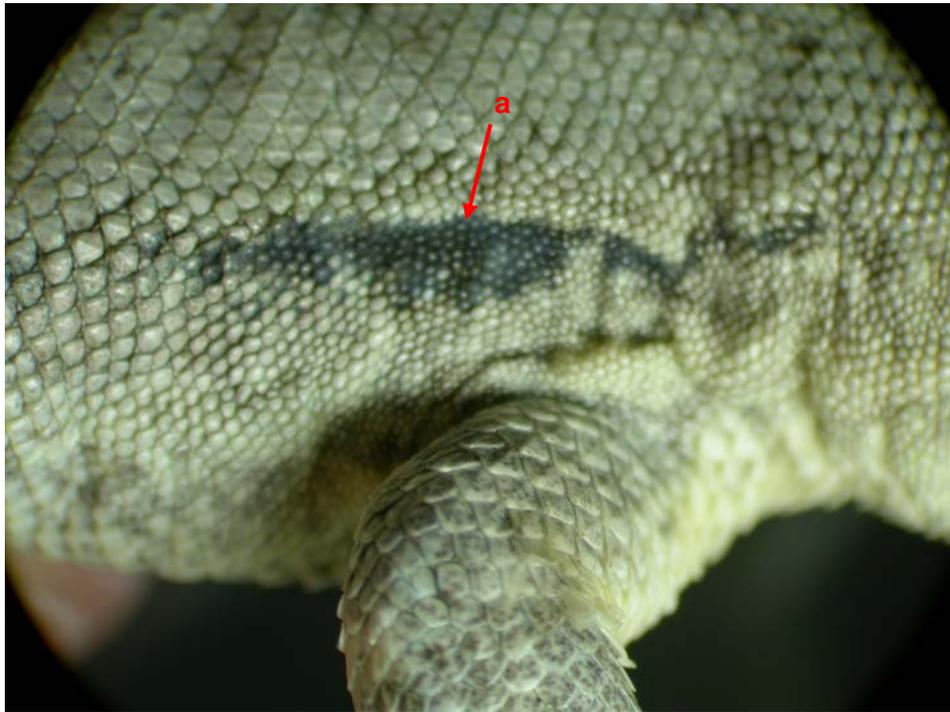


Figura 24 - Indivíduo de *Liolaemus occipitalis* apresentando tarja negra dorso-lateral (a). Exemplar DZUFRGS 3835. Aumento: 10,00 X 1,00.

PADRÃO VENTRAL

Quase todos os machos analisados de *L. occipitalis* apresentaram o ventre esbranquiçado, com pontos escuros na garganta, próximo ao lado do ventre e, às vezes, no peito e no próprio ventre (Fig. 25). Estes pontos variaram em intensidade de cor, podendo apresentar-se mais escuros ou mais claros, e em quantidade, sendo mais ou menos pontos. Alguns machos muito jovens ou recém nascidos não possuíam estes pontos e apresentaram-se branco imaculados.

Todas as fêmeas analisadas apresentaram-se imaculadas (Fig. 26). Apenas uma fêmea adulta da população de Cidreira possuía leves pontos escuros na garganta.

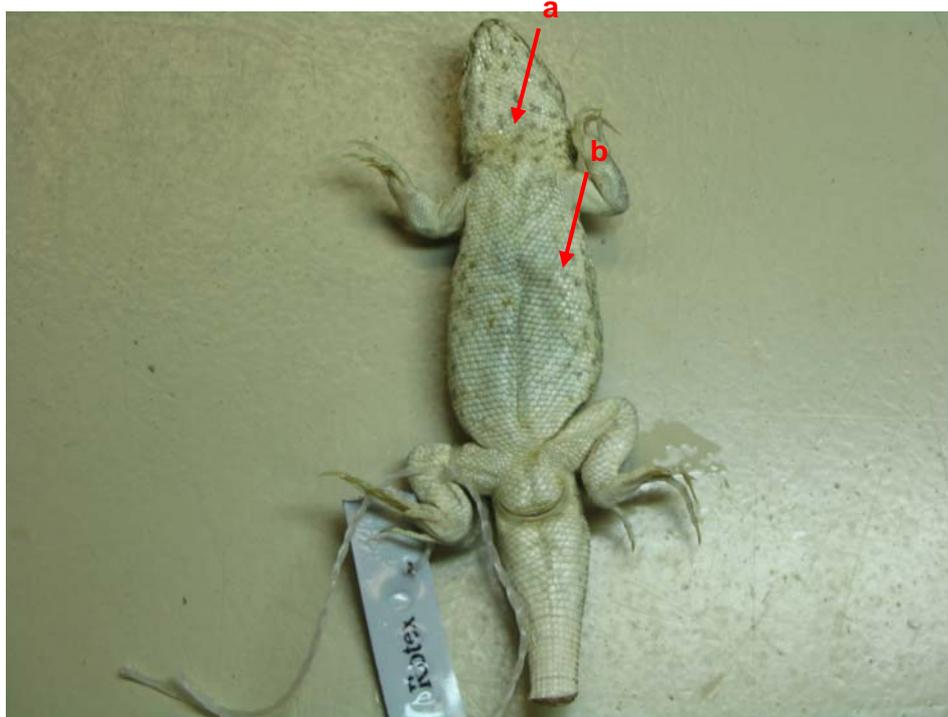


Figura 25 - Macho de *Liolaemus occipitalis* apresentando coloração ventral com pontos escuros na garganta (a) e no ventre (b). Exemplar DZUFRGS 3644.

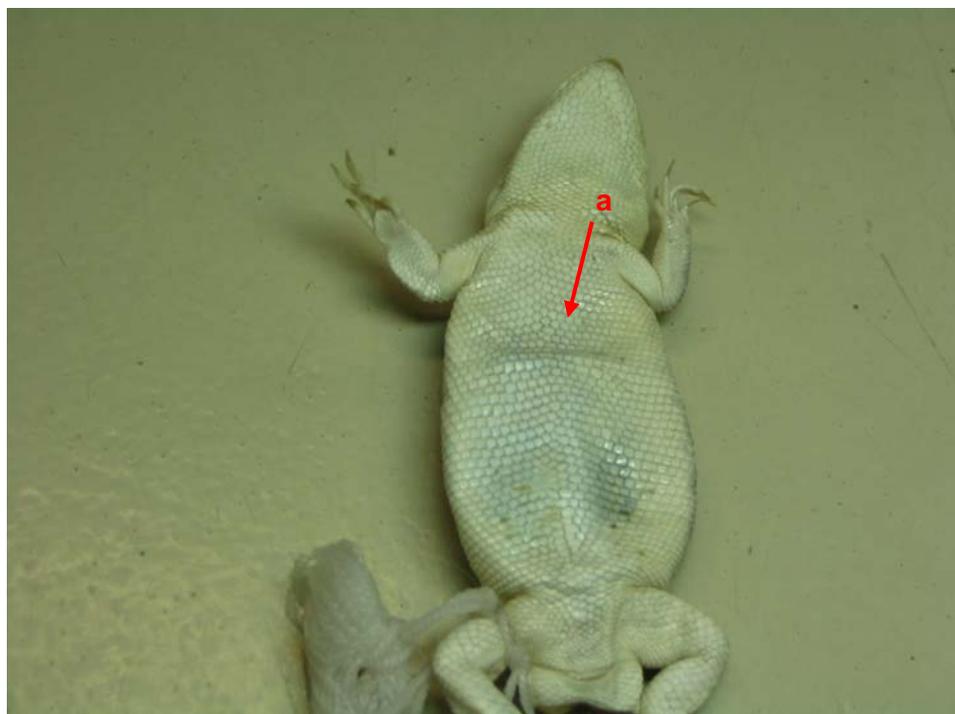


Figura 26 - Fêmea de *Liolaemus occipitalis* apresentando coloração ventral imaculada (a). Exemplar DZUFRGS 3730.

ANÁLISE MORFOMÉTRICA

A) COMPRIMENTO ROSTRO-CLOACAL

Tabela XIII – Comprimento rostro-cloacal (CRC) por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=6,914; p=0,6461).

População\CRC	Mín	(M ± SD)	Máx	N
Barra do Chuí	52,81	54,07 ± 1,27	55,35	3
Praia do Hermenegildo	52,18	56,54 ± 4,88	64,28	5
Balneário do Cassino	35,45	52,24 ± 6,57	61,53	10
São José do Norte	40,98	51,56 ± 8,16	65,01	11
Mostardas	35,57	51,16 ± 11,29	69,59	12
Cidreira	36,64	52,10 ± 10,86	69,78	11
Torres	37,81	47,80 ± 7,06	61,40	8
Morro dos Conventos	38,75	49,14 ± 7,04	59,20	5
Farol de Santa Marta	41,72	52,26 ± 8,89	63,65	13
Praia da Joaquina	34,90	53,74 ± 7,77	67,87	16

O comprimento rostro-cloacal não variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=6,914, p=0,6461) (Tab. XIII).

B) COMPRIMENTO DA CABEÇA

Tabela XIV – Comprimento da cabeça (CC) por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=6,871; p=0,6506).

População\CC	Mín	(M ± SD)	Máx	N
Barra do Chuí	11,49	12,00 ± 0,40	12,47	3
Praia do Hermenegildo	11,87	12,64 ± 1,02	14,37	5
Balneário do Cassino	9,39	12,03 ± 1,13	13,59	10
São José do Norte	10,03	12,15 ± 1,73	15,79	11
Mostardas	9,18	12,34 ± 2,14	15,59	12
Cidreira	9,55	12,73 ± 2,13	16,49	11
Torres	9,94	11,76 ± 1,41	14,42	8
Morro dos Conventos	10,50	12,40 ± 1,36	14,30	5
Farol de Santa Marta	11,07	12,87 ± 1,77	15,09	13
Praia da Joaquina	9,31	12,90 ± 1,61	16,30	16

O comprimento da cabeça não variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=6,871, p=0,6506) (Tab. XIV).

C) LARGURA DA CABEÇA

Tabela XV – Largura da cabeça (LC) por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=4,916; p=0,8416).

População\LC	Mín	(M ± SD)	Máx	N
Barra do Chuí	10,05	10,48 ± 0,45	11,09	3
Praia do Hermenegildo	9,72	10,60 ± 1,06	12,33	5
Balneário do Cassino	7,31	10,19 ± 1,19	11,89	10
São José do Norte	7,75	10,03 ± 1,67	13,34	11
Mostardas	7,53	10,28 ± 1,99	13,41	12
Cidreira	7,77	10,32 ± 1,81	13,37	11
Torres	8,09	9,61 ± 1,24	12,25	8
Morro dos Conventos	7,88	9,86 ± 1,18	11,70	5
Farol de Santa Marta	8,83	10,58 ± 1,60	12,82	13
Praia da Joaquina	7,35	10,30 ± 1,26	12,60	16

A largura da cabeça não variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=4,916, p=0,8416) (Tab. XV).

D) COMPRIMENTO DO MEMBRO ANTERIOR

Tabela XVI – Comprimento do membro anterior (MA) por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=10,219; p=0,3331).

População\MA	Mín	(M ± SD)	Máx	N
Barra do Chuí	17,31	17,71 ± 0,48	18,39	3
Praia do Hermenegildo	16,33	17,86 ± 1,70	20,55	5
Balneário do Cassino	12,95	16,11 ± 1,40	18,02	10
São José do Norte	12,85	16,65 ± 2,12	20,99	11
Mostardas	12,86	17,31 ± 3,12	23,60	12
Cidreira	12,17	17,40 ± 3,32	23,04	11
Torres	12,75	15,14 ± 1,59	18,23	8
Morro dos Conventos	13,30	15,86 ± 1,87	18,90	5
Farol de Santa Marta	14,10	16,21 ± 2,14	18,88	13
Praia da Joaquina	11,39	16,41 ± 2,06	20,21	16

O comprimento do membro anterior não variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=10,219, p=0,3331) (Tab. XVI).

E) COMPRIMENTO DO MEMBRO POSTERIOR

Tabela XVII – Comprimento do membro posterior (MP) por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=6,407; p=0,6986).

População\MP	Mín	(M ± SD)	Máx	N
Barra do Chuí	27,81	28,81 ± 0,71	29,38	3
Praia do Hermenegildo	27,24	29,52 ± 3,12	34,79	5
Balneário do Cassino	20,27	27,34 ± 2,74	30,10	10
São José do Norte	23,39	28,31 ± 3,64	35,98	11
Mostardas	20,91	28,69 ± 5,11	36,75	12
Cidreira	19,56	28,49 ± 4,99	35,63	11
Torres	21,33	25,78 ± 3,60	32,10	8
Morro dos Conventos	21,60	26,90 ± 3,15	32,50	5
Farol de Santa Marta	23,70	28,24 ± 3,94	32,79	13
Praia da Joaquina	19,90	27,30 ± 3,68	35,10	16

O comprimento do membro posterior não variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=6,407, p=0,6986) (Tab. XVII).

F) DISTÂNCIA AXILA-VIRILHA

Tabela XVIII – Distância entre a axila e a virilha (AX-VIR) por população estudada de *Liolaemus occipitalis*. Mín (M ± SD) Máx = mínimo (média ± desvio padrão) máximo; N = número de espécimes analisados por população. (Kruskal-Wallis, KW=12,279; p=0,1980).

População\MP	Mín	(M ± SD)	Máx	N
Barra do Chuí	25,59	26,12 ± 0,62	26,99	3
Praia do Hermenegildo	24,27	27,19 ± 2,04	29,21	5
Balneário do Cassino	16,03	25,75 ± 4,02	31,92	10
São José do Norte	19,63	24,71 ± 3,96	31,11	11
Mostardas	14,31	22,45 ± 6,22	33,17	12
Cidreira	17,81	23,95 ± 4,44	32,31	11
Torres	18,59	22,43 ± 3,05	27,86	8
Morro dos Conventos	17,00	23,20 ± 3,86	29,60	5
Farol de Santa Marta	17,47	23,74 ± 4,71	29,93	13
Praia da Joaquina	16,19	26,00 ± 3,97	32,03	16

A distância entre a axila e a virilha não variou significativamente entre as populações analisadas (Kruskal-Wallis, KW=12,279, p=0,1980) (Tab. XVIII).

RESULTADOS MOLECULARES

VARIAÇÃO GENÉTICA E DIVERSIDADE DE HAPLÓTIPOS

De um total de 68 amostras analisadas, foram seqüenciados 711 pares de bases correspondentes a um fragmento do gene mitocondrial citocromo *b*.

O conjunto de seqüências apresentou 38 sítios variáveis (polimórficos) e 672 sítios invariáveis (monomórficos). Os sítios polimórficos apresentaram um total de 39 mutações, sendo 37 sítios com duas mutações e um com três.

Dos 37 sítios com duas mutações, 15 apresentaram um dos nucleotídeos representado somente uma vez (*singleton variable sites*). A posição destes sítios foi: 60, 63, 90, 96, 99, 127, 130, 183, 198, 222, 231, 357, 510, 513 e 637. Os outros 22 sítios com duas mutações apresentaram os dois nucleotídeos representados mais de uma vez, e foram considerados sítios informativos segundo o critério de parsimônia (*parsimony informative sites*). A posição destes sítios foi: 12, 13, 67, 72, 120, 210, 240, 285, 309, 313, 330, 360, 396, 399, 402, 430, 432, 438, 507, 567, 627 e 699. O sítio que apresentou três mutações também foi considerado informativo segundo o critério de parsimônia, ocupando a posição de número 378. Não foram encontrados sítios polimórficos com mais de três mutações.

A partir dos sítios polimórficos foram identificados 26 haplótipos, sendo 21 para o Estado do Rio Grande do Sul e cinco para Santa Catarina.

A freqüência dos haplótipos nas amostras variou de 0,01 (15 haplótipos que apareceram somente uma vez cada um) a 0,16 (um haplótipo que apareceu 16 vezes).

No total das seqüências analisadas foram encontradas 36 transições (92,31%) e três transversões (7,69%). Nos nucleotídeos que tiveram duas

mutações ocorreram 35 transições (20 C ↔ T e 15 A ↔ G) e duas transversões (A ↔ T). No nucleotídeo que teve três mutações, ocorreu uma transição (G ↔ A) e uma transversão (A ↔ T ou G ↔ T). A taxa de transições foi 12 vezes maior do que a taxa de transversões.

Tabela XIX - Composição nucleotídica das populações estudadas de *Liolaemus occipitalis*.

Populações\Nucleotídeos	C (%)	T (%)	A (%)	G (%)
Barra do Chuí	25,60	31,08	29,25	14,06
Praia do Hermenegildo	25,60	31,08	29,14	14,18
Taim	25,67	31,01	29,24	14,08
Balneário do Cassino	25,81	30,87	29,21	14,11
São José do Norte	25,93	30,75	29,25	14,06
Bojuru	25,92	30,56	29,44	14,08
Mostardas	25,94	30,74	29,15	14,17
Cidreira	25,60	31,06	29,17	14,17
Torres	25,80	30,88	29,25	14,06
Morro dos Conventos	25,22	31,73	28,71	14,35
Farol de Santa Marta	25,46	31,36	28,78	14,40
Praia da Joaquina	25,32	31,36	29,40	13,92

A diversidade nucleotídica no total das seqüências analisadas foi de 0,009; e o número médio de diferenças nucleotídicas foi de 6,446.

A diversidade haplotípica encontrada foi de 0,920 (variância = 0,00043, desvio padrão = 0,021).

RELAÇÃO ENTRE OS HAPLÓTIPOS

A topologia das árvores mostrando as relações filogenéticas entre os haplótipos apresenta-se nas figuras 27 e 28 (junto com os valores de *Bootstrap* que suportam os nós) e na figura 29.

Aplicando-se o critério de Máxima Parsimônia foi gerada uma árvore de consenso com um Índice de Consistência (CI, número mínimo de passos /

número de passos observados) de $CI = 0,780$ e um Índice de Homoplasia ($HI = 1 - CI$) de $HI = 0,221$.

Obteve-se uma segunda árvore pelo Método de *Neighbor-Joining* (SAITOU & NEI 1987) com 100 replicações de *Bootstrap*. A maioria dos nós apresentou importantes valores de *Bootstrap* (todos acima de 50%). O valor zero apresentado por um dos nós ocorreu, provavelmente, pela falta de um grupo-externo.

Ambas as árvores apresentaram topologias semelhantes, mesmo diferindo na posição de alguns indivíduos: UFRGS: 3649, 3708, 3727, 3836, 3837, 3840, 3896, 3899, 3900, 3901.

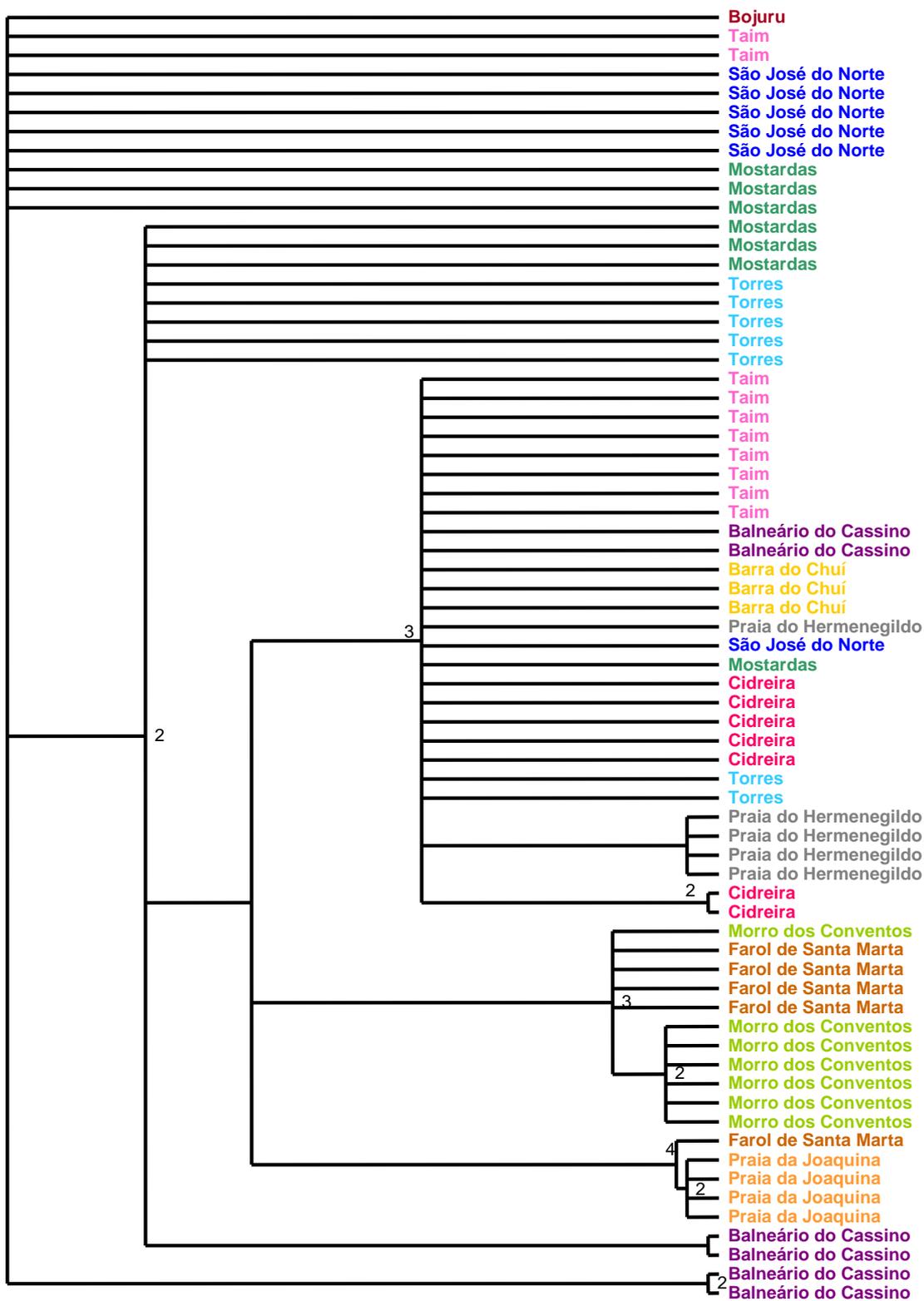


Figura 27 – Árvore de haplótipos de *Liolaemus occipitalis* reconstruída pelo método de Máxima Parsimônia. Os números junto a cada nó indicam seu apoio de *Bootstrap* (100 réplicas).

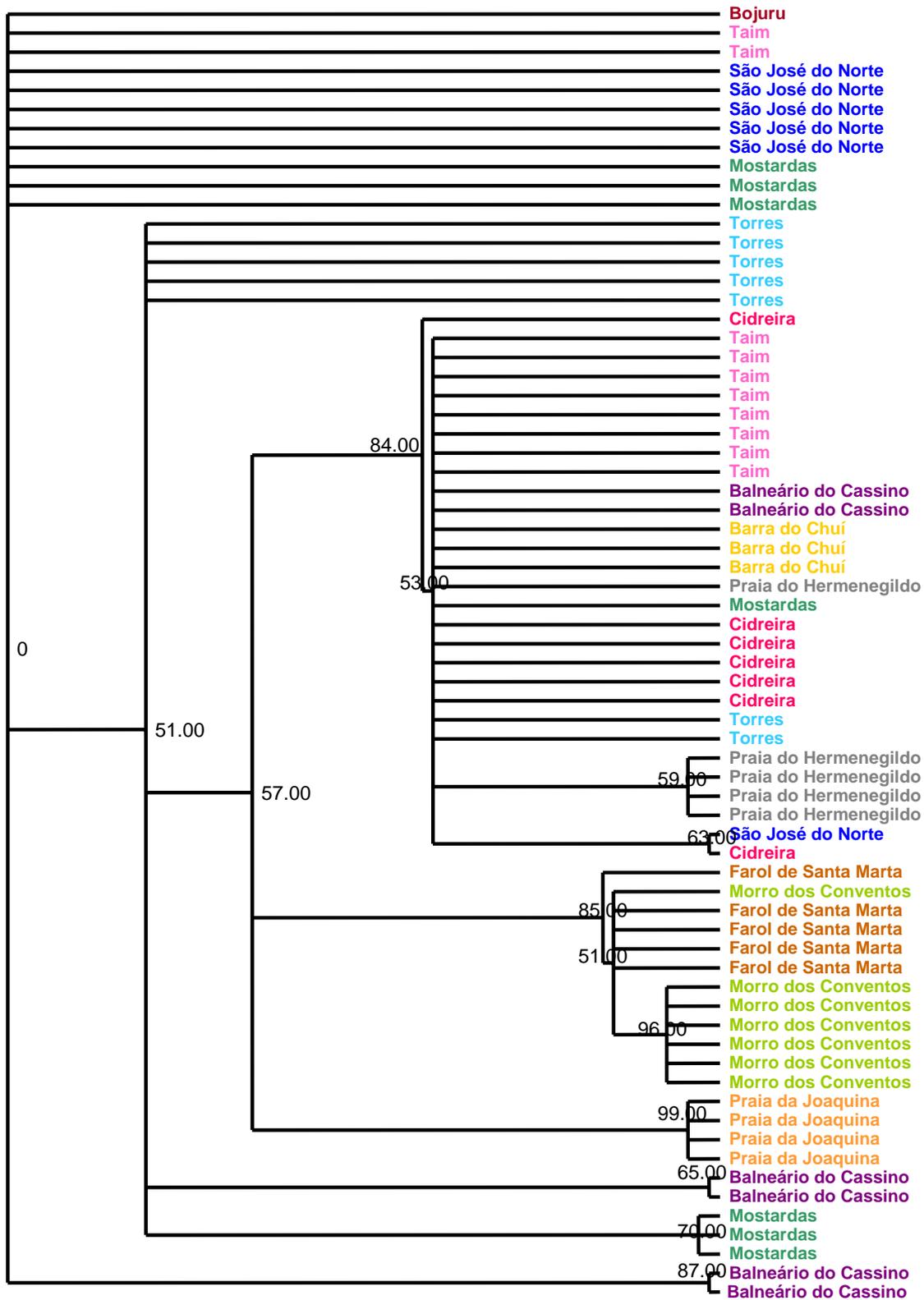


Figura 28 – Árvore de haplótipos de *Liolaemus occipitalis* reconstruída pelo método de *Neighbor-Joining*. Os números ao lado de cada nó indicam seu apoio de *Bootstrap* (100 réplicas).

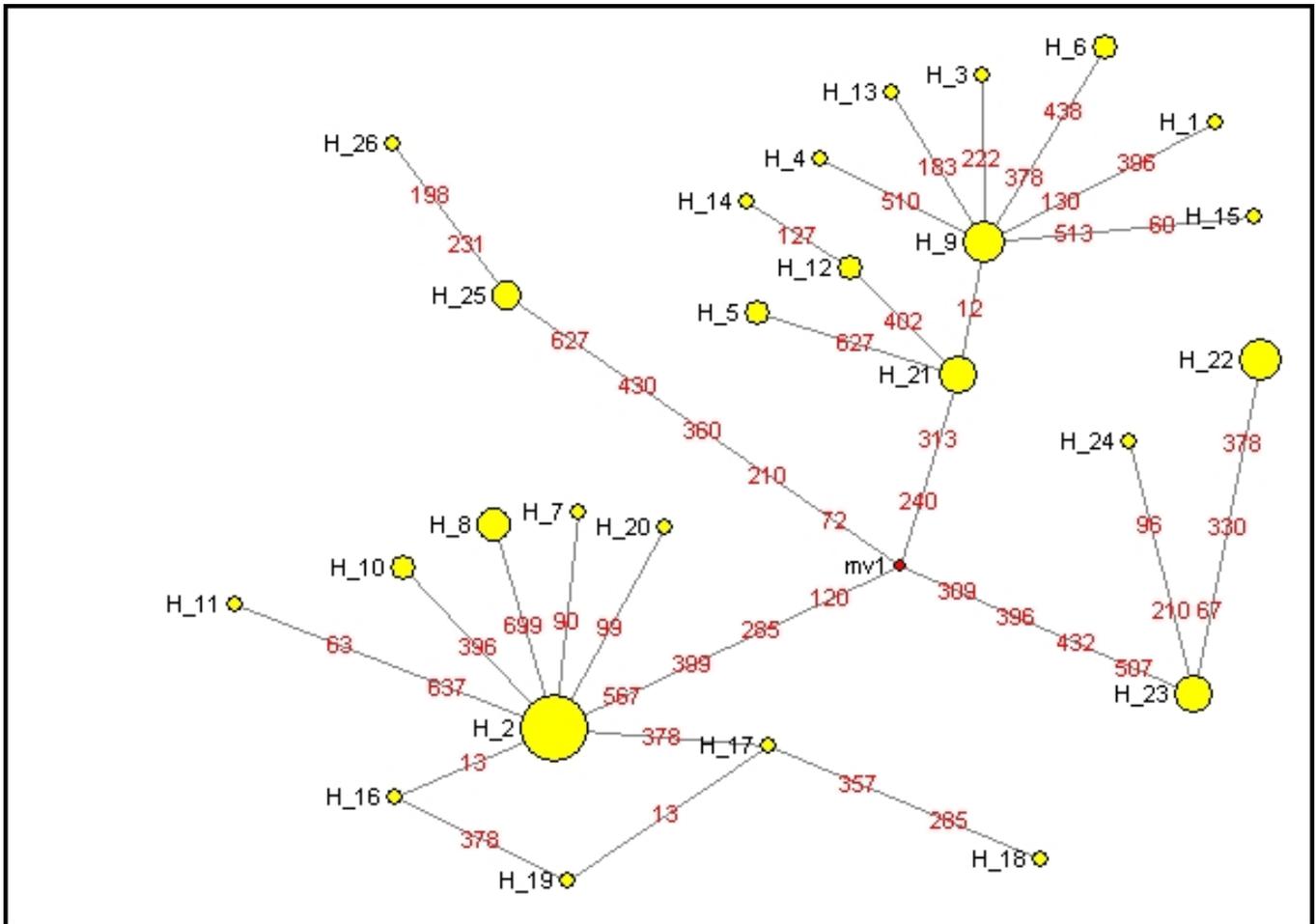


Figura 29 – Esquema da relação entre haplótipos de *Liolaemus occipitalis*. Cada círculo representa um haplótipo, e sua área é diretamente proporcional a sua freqüência na amostra. As linhas que os unem representam as conexões entre eles e cada número (em vermelho) sobre a mesma, a posição do par de bases que sofreu mutação. H_1-H_26: haplótipo 1 até haplótipo 26.

VARIAÇÕES DENTRO E ENTRE AS POPULAÇÕES

Tabela XX - Resumo dos haplótipos (h) encontrados por população estudada de *Liolaemus occipitalis*.

Populações	Tamanho amostral	Número de haplótipos	Haplótipos (h)	Frequência
Barra do Chuí	3	1	h2	1,00
Praia do Hermenegildo	5	2	h2 h8	0,20 0,80
Taim	10	3	h2 h3 h4	0,80 0,10 0,10
Balneário do Cassino	6	4	h2 h5 h6 h7	0,17 0,33 0,33 0,17
São José do Norte	6	2	h9 h10	0,83 0,17
Bojuru	1	1	h1	1,00
Mostardas	7	6	h9 h11 h12 h13	0,14 0,14 0,28 0,14
			h14 h15	0,14 0,14
Cidreira	7	7	h2 h10 h16 h17	0,14 0,14 0,14 0,14
			h18 h19 h20	0,14 0,14 0,14
Torres	7	2	h2 h21	0,28 0,70
Morro dos Conventos	7	2	h22 h23	0,84 0,14
Farol de Santa Marta	5	2	h23 h24	0,80 0,20
Praia da Joaquina	4	2	h25 h26	0,75 0,25

Tabela XXI - Haplótipos (h) compartilhados entre pares de populações estudadas de *Liolaemus occipitalis*. NP: número total de populações com as quais a população compartilha haplótipos; NH: número total de haplótipos compartilhados.

População	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1-Barra do Chuí	-											
2-Praia do Hermenegildo	h2	-										
3-Taim	h2	h2	-									
4-Balneário do Cassino	h2	h2	h2	-								
5-São José do Norte					-							
6-Bojuru						-						
7-Mostardas					h9		-					
8-Cidreira	h2	h2	h2	h2	h10			-				
9-Torres	h2	h2	h2	h2				h2	-			
10-Morro dos Conventos										-		
11-Farol de Santa Marta										h23	-	
12-Praia da Joaquina												-
NP	5	5	5	5	2	0	1	6	5	1	1	0
NH	1	1	1	1	2	0	1	2	1	1	1	0

Dos 26 haplótipos encontrados nas 68 amostras analisadas, somente quatro (15,38%) foram compartilhados entre duas ou mais populações (h2, h9, h10 e h23). Sendo que h2 foi o haplótipo compartilhado pelo maior número de populações (5). Os outros três haplótipos foram compartilhados cada um somente por duas populações.

As amostras procedentes das localidades de Barra do Chuí (n=3) e de Bojuru (n=1) apresentaram-se monomórficas. A população da Barra do Chuí compartilhou seu único haplótipo (h2) com mais cinco populações (Praia do Hermenegildo, Taim, Balneário do Cassino, Cidreira e Torres), já a população de Bojuru não compartilhou seu único haplótipo (h1).

Cidreira foi a localidade mais variável, apresentando o maior número de haplótipos (7), e compartilhando dois destes haplótipos com outras seis populações (h2 com Barra do Chuí, Praia do Hermenegildo, Taim, Balneário do Cassino e Torres; e h5 com São José do Norte). A população de Mostardas também apresentou um grande número de haplótipos (6), porém, compartilhou somente um com uma população, sendo cinco haplótipos exclusivos.

A população da Praia da Joaquina apresentou somente dois haplótipos (h25 e h26), porém, não os compartilhou com nenhuma outra população.

O Teste de TAJIMA (1989) e o Teste de FU & LI (1993) deram resultados estatisticamente não-significativos na análise de todas as populações juntas:

- Tajima: $D = -0,67971$, $p > 0,10$;

- Fu & Li: $D^* = -1,61792$, $p > 0,10$ e $F^* = -1,50980$, $p > 0,10$.

Tabela XXII – Valores de D (TAJIMA 1989) para cada uma das populações estudadas de *Liolaemus occipitalis*.

População	D
Barra do Chuí	0
Praia do Hermenegildo	-0,81650
Taim	-0,40257
Balneário do Cassino	1,06601
São José do Norte	-1,40833
Bojuru	0
Mostardas	-1,10075
Cidreira	-0,53627
Torres	0,84674
Morro dos Conventos	-1,35841
Farol de Santa Marta	-0,97256
Praia da Joaquina	-0,70990

Para a maioria das populações os valores de D foram negativos, somente duas apresentaram valores iguais a zero e outras duas, valores positivos; porém, os valores de D de todas as populações foram estatisticamente não-significativos ($p < 0,05$).

ESTIMATIVAS DE FLUXO GÊNICO

Tabela XXIII – Comparações pareadas dos cálculos de distâncias aproximadas (em Km, sobre a diagonal) e estimativas do número de indivíduos migrantes por geração (Nm , valores abaixo da diagonal) nas populações estudadas de *Liolaemus occipitalis*. Pop=populações; Ch – Barra do Chuí; Her – Praia do Hermenegildo; Ta – Taim; Ca – Balneário do Cassino; SJN – São José do Norte; Bo – Bojuru; Mo – Mostardas; Ci – Cidreira; To – Torres; MC – Morro dos Conventos; FSM – Farol de Santa Marta; Jo – Praia da Joaquina.

Pop.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1-Ch	-	34,95	156,28	204,15	228,27	297,76	374,52	503,46	592,27	648,69	729,54	827,24
2-Her	0,12	-	135,74	170,93	208,01	277,96	342,67	470,91	556,97	628,48	709,53	806,83
3-Ta	1,00	0,21	-	67,92	73,23	145,25	219,61	341,52	443,42	493,04	574,68	671,36
4-Ca	0,49	0,51	0,53	-	5,83	78,3	173,40	300,19	388,47	425,47	506,92	603,82
5-SJN	0,07	0,14	0,14	0,38	-	72,67	146,45	268,35	370,71	420,46	501,75	598,82
6-Bo	0	0,17	0,15	1,67	0,12	-	75,08	198,35	299,99	351,71	431,60	529,88
7-Mo	0,43	0,58	0,44	2,53	0,71	4,75	-	130,42	220,18	277,76	356,98	455,6
8-Ci	0,75	0,75	0,75	6,00	0,58	1,00	12,25	-	89,78	154,76	233,65	332,28
9-To	0,21	0,22	0,31	0,58	0,17	0,23	0,61	0,84	-	50,22	132,09	228,61
10-MC	0,07	0,12	0,13	0,32	0,11	0,10	0,41	0,44	0,15	-	66,00	173,27
11-FSM	0,09	0,17	0,16	0,46	0,14	0,17	0,58	0,68	0,20	0,15	-	115,84
12-Jo	0,11	0,20	0,18	0,61	0,17	0,25	0,79	0,94	0,24	0,14	0,20	-

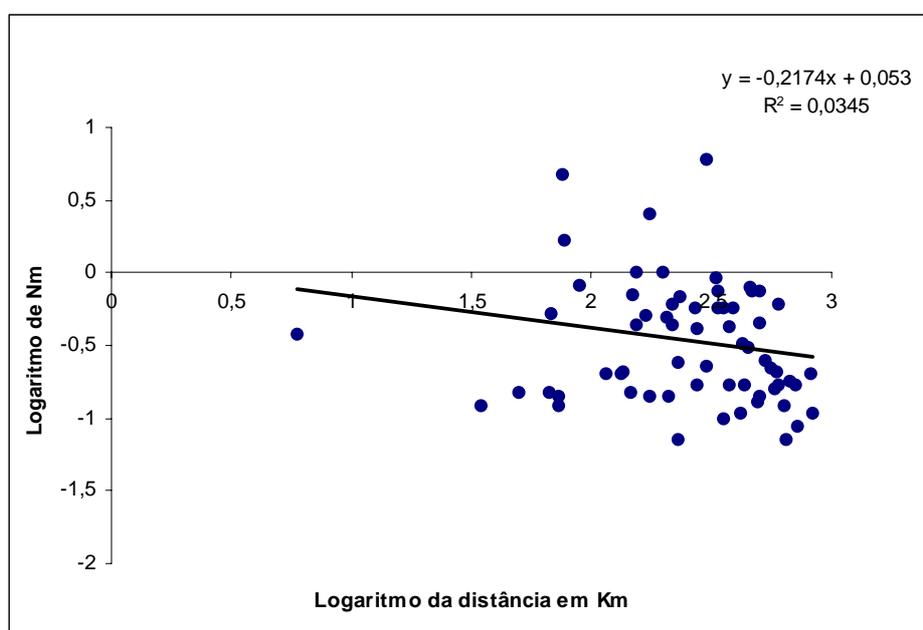


Figura 30 – Representação gráfica do logaritmo de Nm entre pares de populações contra o logaritmo dos valores das distâncias geográficas pareadas. Mostra-se a equação da reta. Nm é o número de migrantes por geração.

A correlação demonstrada pela representação gráfica acima (Fig. 30) foi não-significativa ($r=0,1857$; $p>0,05$), indicando a ausência de um padrão de Isolamento pela Distância.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS MORFOLÓGICOS

No decorrer do presente trabalho, analisando-se caracteres morfológicos da espécie *Liolaemus occipitalis*, observou-se ausência de diferenças significativas quando comparadas populações da espécie em relação a alguns destes caracteres; porém alguns caracteres demonstraram haver diferenças significativas entre populações e, em alguns casos, indicaram uma tendência geográfica destas diferenças.

HALLOY *et al.* (1998), em seu trabalho sobre relações filogenéticas entre as espécies de lagartos do grupo *boulengeri* baseado em caracteres comportamentais, observaram que diferenças significativas não foram encontradas quando comparadas populações dentro de uma espécie com respeito a categorias comportamentais. Mesmo assim, os autores afirmam que variações geográficas entre populações de uma espécie não são incomuns.

Os caracteres que apresentaram variações significativas (analisados estatisticamente) ou apenas variações (não-analisados estatisticamente) entre as populações estudadas, indicando uma tendência geográfica de diferenciação foram: número de escamas ventrais, número de lamelas infradigitais das patas anteriores, número e coloração dos poros pré-cloacais, tipos de escamas parietais, e escamas lorilabiais.

Observando-se o número de escamas ventrais de *L. occipitalis*, encontrou-se uma variação extremamente significativa entre populações do sul do domínio geográfico da espécie (Barra do Chuí, Balneário do Cassino e São José do Norte) e uma das populações do norte do domínio geográfico (Torres) (Tab. V). Esta variação observada pode indicar uma tendência de diferenciação entre populações do sul e do norte. Outro caractere morfológico que

apresentou diferença muito significativa entre as populações analisadas foi o número de lamelas infradigitais das patas anteriores; sendo esta diferença observada entre uma população do centro-norte (Cidreira) e a população do limite geográfico norte da espécie (Praia da Joaquina) (Tab. VII). Pode-se dizer que as variações apresentadas por ambos os caracteres acima descritos, são diferentes em termos de abrangência geográfica, sendo a variação das escamas ventrais mais ampla (populações do sul e do norte da distribuição), e a das lamelas infradigitais anteriores mais restrita (centro-norte e norte da distribuição).

Os poros pré-cloacais também foram analisados no presente trabalho. Segundo ETHERIDGE (2000), eles estão ausentes nas fêmeas da maioria das espécies do grupo *wiegmannii*, são elas: *Liolaemus lutzae*, *L. multimaculatus*, *L. occipitalis*, *L. rabinoi* e *L. salinicola*. Também estão ausentes em: *L. abaucan*, *L. fitzingerii*, *L. melanops*, *L. rothi*, e *L. uspallatensis*.

Na análise dos poros pré-cloacais observou-se que todos os machos e fêmeas de *L. occipitalis* concordaram com o descrito na literatura em relação à presença ou ausência de poros, sendo todos os machos portadores de poros pré-cloacais, e todas as fêmeas desprovidas destes. Este caractere morfológico é uma característica de dimorfismo sexual, como já verificado por VERRASTRO (2004) para *L. occipitalis*. Porém o número de poros nos machos é bastante variável (Tab. VIII), não concordando, na maioria das vezes, com o número de oito poros descrito por BOULENGER (1885) para os machos da espécie. O número total de poros também variou muito significativamente entre as populações analisadas e o número de poros grandes, significativamente. A diferença no número total de poros pré-cloacais se deu entre uma população do centro-sul (Mostardas) e uma população do norte do limite geográfico da espécie (Morro dos Conventos) (Tab. VIII), sendo outro caractere indicador de uma tendência geográfica de variação interpopulacional, e também indicando que o número de poros pequenos contribui para um direcionamento no sentido centro-norte desta diferenciação.

Também se observou que o número total de poros pré-cloacais é mais elevado nas populações do centro em direção às populações do limite geográfico norte da distribuição da espécie, mesmo sem a contribuição dos

poros pequenos. Também em relação aos poros pequenos, observou-se nitidamente que eles contribuem consideravelmente para aumentar o número total de poros pré-cloacais na população de Morro dos Conventos (Tab. VIII).

Em relação à coloração dos poros, houve pouca variação entre os indivíduos analisados (11,36%). Apesar do baixo número de indivíduos que variaram em relação a esta característica, percebe-se que as variações ocorreram em populações do centro (Mostardas e Cidreira) e do norte da distribuição geográfica da espécie (Morro dos Conventos e Praia da Joaquina), sendo as populações do sul mais homogêneas.

Em relação à análise das escamas cefálicas, verificou-se que algumas apresentaram grande variação intra e/ou interpopulacional, discordando, algumas vezes, do descrito na literatura para a espécie. Observou-se que todos os indivíduos analisados apresentaram as escamas cefálicas de acordo com o descrito por BOULENGER (1885) para *L. occipitalis*: escamas de cima da cabeça muito pequenas, convexas e lisas; semelhantes a *L. arambarensis*, que as apresenta lisas (VERRASTRO *et al.* 2003); e diferente de *L. wiegmanni*, que as apresenta irregulares, grandes e rugosas (CEI 1986). Também se verificou que grande parte dos animais da população da Praia da Joaquina apresentou diferentes graus de fusão entre várias escamas da cabeça, independente da região cefálica na qual estas se encontraram, e muitos indivíduos também apresentaram algumas escamas muito fragmentadas.

Em relação à variabilidade intrapopulacional apresentada pelos tipos de escamas parietais, as populações que mais apresentaram tipos diferentes desta escama (quatro ou cinco tipos em cada uma) foram as do centro-norte (Cidreira) em direção ao norte da distribuição de *L. occipitalis* (Morro dos Conventos e Praia da Joaquina), seguidas por apenas uma população do centro-sul da distribuição da espécie (São José do Norte) (quatro tipos na população). Os tipos menos freqüentes de escamas parietais foram: ambas fragmentadas em elementos irregulares, e apenas a escama direita subdividida ou fragmentada, aparecendo, cada um dos tipos, em apenas quatro das dez populações analisadas (Tab. X).

Na análise das escamas lorilabiais, verificaram-se variações tanto entre populações quanto entre indivíduos da mesma população (Tab. XI). Diferente

de *L. arambarensis*, que apresenta uma fileira completa de escamas lorilabiais entre a subocular e as supra-labiais (VERRASTRO *et al.* 2003), *L. occipitalis* apresenta duas fileiras de escamas lorilabiais entre a subocular e as escamas supra-labiais segundo a literatura (BOULENGER 1885 e ETHERIDGE 2000), não sendo nenhuma destas fileiras mais larga do que as supralabiais (ETHERIDGE 2000). As populações do centro-norte até o limite norte da distribuição da espécie, com exceção de uma delas (Morro dos Conventos), apresentaram mais de 50% de seus indivíduos de acordo com o descrito na literatura. Já as populações do centro-sul em direção ao sul da distribuição (Mostardas e Balneário do Cassino) nem sempre apresentaram mais de 50% de seus indivíduos de acordo com a literatura. A população do limite geográfico sul da espécie (Barra do Chuí) apresentou todos os indivíduos analisados diferentes do descrito na literatura. Estas variações nas escamas lorilabiais parecem indicar uma tendência a direcionar para o norte as populações com mais indivíduos com as escamas lorilabiais dispostas em duas fileiras completas, e mais para o sul da distribuição da espécie as populações com redução, em um ou mais pontos, para uma só fileira de lorilabiais.

Analisando-se de um modo geral os seis caracteres acima descritos que indicaram tendência geográfica de diferenciação, pode-se inferir que esta tendência indica um padrão de diferenciação entre populações do centro (centro-sul e centro-norte) e do norte da distribuição geográfica da espécie. Ainda pode ser dito que um padrão mais abrangente de diferenciação entre populações do norte e do sul da distribuição geográfica de *L. occipitalis* está levemente indicado por alguns destes caracteres.

Outros caracteres analisados em *L. occipitalis* apresentaram variação significativa (analisados estatisticamente) ou apenas variação (não-analisados estatisticamente) entre as populações estudadas, porém, não foram indicativos de um padrão geográfico de diferenciação: número de escamas dorsais, número de lamelas infradigitais posteriores, escama subocular, escamas pós-rostrais, escamas parietais, escamas supraoculares, e escamas pré-frontais.

Analisando-se o número de escamas dorsais de *L. occipitalis*, encontrou-se uma diferença significativa entre todas as populações estudadas ao longo do domínio geográfico da espécie, porém, esta variação foi aleatória, não

indicando um padrão geográfico de diferenciação (Tab. IV). Outro caractere que apresentou diferença muito significativa entre todas as populações, mas que também ocorreu aleatoriamente (não indicando padrão geográfico de variação) foi o número de lamelas infradigitais das patas posteriores (Tab. VII).

A escama subocular foi um caractere que apresentou uma certa variação tanto intra quanto interpopulacionalmente. Apesar de todas as populações analisadas terem apresentado muitos indivíduos com a escama subocular única, grande e alongada, esta característica compartilhada também não indicou um padrão de diferenciação interpopulacional. Já sua fusão com a escama pós-ocular poderia ser um indicativo de tendência geográfica de variação, porém, devido às pequenas porcentagens apresentadas pelas populações com esta característica (Cidreira - 9,09% e Praia da Joaquina - 6,25%), torna-se difícil afirmar a existência de alguma tendência real.

Em relação às escamas pós-rostrais, segundo ETHERIDGE (2000), *L. occipitalis* difere de todos os outros membros do “grupo *wiegmannii*” por apresentá-las em duas fileiras, ao invés de uma, entre a escama rostral e as escamas nasais. Observou-se, porém, que nem todos os indivíduos das populações analisadas concordaram com o descrito na literatura: Barra do Chuí (33,33%); Praia do Hermenegildo (60,00%); Balneário do Cassino (20,00%); Mostardas (16,66%); Cidreira (36,36%); Torres (75,00%); Morro dos Conventos (30,77%); Farol de Santa Marta (40,00%); Praia da Joaquina (93,75%). Mas todas as populações apresentaram pelo menos um indivíduo que concordou com o descrito por ETHERIDGE (2000): Barra do Chuí (66,67%); Praia do Hermenegildo (40,00%); Balneário do Cassino (80,00%); São José do Norte (100%); Mostardas (83,33%); Cidreira (63,64%); Torres (25,00%); Morro dos Conventos (69,23%); Farol de Santa Marta (60,00%); Praia da Joaquina (6,25%). Estas variações nas escamas pós-rostrais também se apresentaram aleatórias entre as populações.

A variabilidade nas escamas parietais foi alta tanto intrapopulacionalmente, como já dito, quanto interpopulacionalmente (Tab. X), porém, a variabilidade interpopulacional não indicou nenhum gradiente geográfico de diferenciação. O mesmo ocorreu com as escamas pré-frontais, apresentando-se muito variadas, porém, aleatoriamente.

Diferente de *L. wiegmanni*, que apresenta oito escamas supraoculares grandes e rugosas (CEI 1986), *L. occipitalis* apresenta séries de três ou quatro escamas supraoculares ampliadas (BOULENGER 1885). Na análise feita verificou-se que a grande maioria dos indivíduos apresentou estas escamas como o descrito na literatura acima citada; apenas poucos indivíduos apresentaram escamas supraoculares um pouco mais fragmentadas do que os demais, porém ainda é perceptível o padrão apresentado pela maioria. Esta pequena variação ocorreu aleatoriamente, não se associando a uma ou outra população.

Alguns caracteres analisados apresentaram-se invariáveis ou com uma variação não-significativa entre as populações estudadas: número de escamas ao redor do meio do corpo, formato dos poros pré-cloacais, escama rostral, escama nasal, escamas ciliares, escama frontal, e escamas temporais.

Em relação ao número de escamas ao redor do meio do corpo, de acordo com BOULENGER (1885), *L. occipitalis* apresenta de 66 a 72 escamas, já segundo PETERS & DONOSO-BARROS (1986), a espécie apresenta mais de 55 escamas ao redor do meio do corpo. As médias das populações analisadas concordaram com o descrito por BOULENGER (1885), ficando no intervalo de 69-72 escamas; sendo que o menor valor encontrado entre os indivíduos foi de 63 escamas e o mais elevado de 79 (Tab. VI). Segundo análises estatísticas feitas, pode-se afirmar que o número de escamas ao redor do meio do corpo foi um caractere que não se diferenciou significativamente entre as populações estudadas, não indicando nenhum padrão de diferenciação geográfica entre elas.

Em relação aos poros pré-cloacais, a única característica analisada que se apresentou invariável entre todos os indivíduos analisados foi o formato dos poros. Outra característica que se apresentou invariável entre todos os indivíduos analisados foi a escama nasal. Todos eles apresentaram ambas as escamas nasais de acordo com o descrito na literatura para a espécie: localizadas superiormente (BOULENGER 1885), e com a narina ocupando a maior parte da escama (ETHERIDGE 2000). Diferindo de *L. arambarensis* em relação à posição das escamas, o qual apresenta-as dirigidas dorsalmente

(VERRASTRO *et al.* 2003). Também as escamas ciliares de todos os indivíduos analisados apresentaram-se invariáveis.

A escama rostral subdividida apresentada por um único indivíduo pode ser interpretada como um traço particular, visto que este indivíduo (UFRGS 3844) representou uma mínima parte do todo analisado (1,06%).

O fato de nenhum dos exemplares analisados de *L. occipitalis* ter apresentado escama frontal, concordou com o descrito na literatura por BOULENGER (1885) para a espécie. Esta ausência de escama frontal coincide com *L. lutzae* que também não a possui, mas difere de *L. arambarensis* onde ela está presente e é dividida transversalmente (VERRASTRO *et al.* 2003) e de *L. wiegmanni* onde está presente e é inteira.

Em relação às escamas temporais, todos os indivíduos analisados apresentaram-nas invariáveis e diferentes do citado na literatura (BOULENGER 1885), na qual as escamas temporais de *L. occipitalis* são descritas como sendo lisas. Porém, podem ser comparados com *L. wiegmanni*, para o qual são descritas escamas temporais moderadamente quilhadas (CEI 1986), mas diferem de *L. arambarensis*, para o qual as temporais são descritas como sendo lisas (VERRASTRO *et al.* 2003). Este mesmo padrão apresentado por todos os indivíduos talvez indique que as escamas temporais superiores sejam levemente quilhadas por serem uma zona de transição entre o dorso da cabeça (com escamas mais convexas) e as temporais inferiores (com escamas lisas ou sutilmente quilhadas e mais planas).

Além dos números de escamas corporais, lamelas infradigitais, poros pré-cloacais e escamas cefálicas de *L. occipitalis*, também foram analisados: escamas dos membros, padrões de desenho e melanização corporal, e seis caracteres morfométricos. As variações, de qualquer natureza, apresentadas pelos indivíduos analisados em relação à grande maioria das características descritas a seguir, ocorreram de forma aleatória, não indicando nenhum padrão de variação geográfica. Poucas delas foram um leve indicativo de alguma diferenciação interpopulacional.

Em relação ao tamanho das escamas dos membros, todos os indivíduos apresentaram-nas invariáveis dentro das mesmas regiões analisadas. Já o

formato das escamas dos membros apresentou pouca variabilidade apenas em relação à quantidade, suavidade das quilhas apresentadas ao longo de todo o membro ou em alguma região restrita deste, e na direção na qual as quilhas suavizam-se. O formato das escamas ventrais dos membros posteriores, porém, apresentou-se invariável em todos os indivíduos analisados.

Quanto à melanização dorsal dos membros, alguns indivíduos apresentaram pequenas variações em relação à quantidade e tamanho dos grânulos de melanina, porém não apresentaram um padrão geográfico de diferenciação. Em relação à melanização ventral dos membros também praticamente não ocorreram variações; mas, quando presentes, devido à localização das escamas com pequenas pontuações, estas pareciam fazer parte do padrão de melanização dorsal levemente percebido na face ventral. Se for este o caso, as escamas ventrais são invariavelmente imaculadas em todos os indivíduos analisados. Os membros posteriores apresentaram o mesmo padrão de melanização ventral que os anteriores, porém estas variações parecem ser um caractere de diferenciação sexual, dada a grande quantidade de machos com escamas maculadas em comparação com a pouca quantidade de fêmeas com este tipo de escamas.

Vários autores descreveram na literatura o padrão de desenho corporal de *L. occipitalis* ou pelo menos algum componente do padrão. Segundo BOULENGER (1885), *L. occipitalis* possui coloração acinzentada-pálida dorsalmente, apresentando uma série de pontos mais escuros de cada lado da linha vertebral, possuindo bandas mais escuras de cada lado desde a axila até a virilha, separadas por uma listra branca.

De acordo com ETHERIDGE (2000), *L. occipitalis* apresenta as superfícies dorsais cinzas ou acinzentadas, com ou sem indistintos componentes do padrão. Os pontos paravertebrais podem ser levemente indicados ou ausentes, e pontos laterais usualmente estão ausentes. Quando os pontos paravertebrais estão presentes, a faixa médio-dorsal é representada simplesmente por uma zona contínua de cor base. Listras dorso-laterais estão ausentes, mas listras ventro-laterais cremes usualmente estão presentes. ETHERIDGE (2000) afirma ainda que a variação individual no padrão dorsal é moderadamente alta, mas que estas variações parecem ser mudanças não-ontogenéticas, exceto pela

aquisição de uma listra lateral preta-acinzentada, a qual localiza-se sobre a inserção do membro anterior, em machos adultos.

VERRASTRO (2004) afirma que machos adultos de *L. occipitalis* apresentam uma tarja negra na região dorso-lateral do corpo. Durante o segundo ano de vida, algumas fêmeas podem também apresentar a tarja negra na região dorso-lateral. Fêmeas e machos também diferem no padrão de coloração dorsal, com machos apresentando uma coloração dorsal mais escura do que fêmeas, as quais apresentam usualmente uma coloração dorsal pálida.

Em relação às pequenas variações de desenho e melanização no padrão dorsal que ocorreram entre os indivíduos analisados, não houve nenhum indicativo de padrão de diferenciação interpopulacional; o que pode ser justificado pelo afirmado por ETHERIDGE (2000) em relação à variação individual, moderadamente alta, no padrão dorsal da espécie. Estas pequenas variações ocorreram em distintos componentes do padrão dorsal de *L. occipitalis*, como as manchas paravertebrais que concordaram com a literatura acima citada (BOULENGER 1885; ETHERIDGE 2000) em todos os indivíduos analisados. Estas manchas paravertebrais não são uma característica de diferenciação sexual, pois ambos os sexos apresentaram manchas ora nítidas e fortes ora quase apagadas e pouco nítidas.

Outro componente do padrão que se apresentou quase sem variação foi a região médio-dorsal do corpo, variando apenas em relação à tonalidade do cinza apresentado. Apenas os indivíduos da população da Praia da Joaquina tiveram uma variação um pouco maior quando comparados aos indivíduos das outras populações. Eles apresentaram uma linha delgada e mais clara sobre esta faixa dorsal de cor-base. Embora alguns indivíduos de outras populações tenham apresentado esta linha, a mesma foi mais acentuada nos indivíduos da Praia da Joaquina, sendo o único caractere indicativo de um leve padrão geográfico de diferenciação.

A tarja negra dorso-lateral, quando presente nos indivíduos analisados, concordou com o descrito na literatura acima citada (ETHERIDGE 2000; VERRASTRO 2004), não apresentando padrão populacional de diferenciação, mas variando entre sexos e indivíduos de diferentes idades. Entre as

populações analisadas, observou-se que esta tarja segue o padrão descrito para a espécie por VERRASTRO (2004).

Segundo ETHERIDGE (2000), o padrão de coloração ventral de *Liolaemus* é variável e geralmente não correlacionado com o padrão dorsal. As superfícies ventrais são imaculadas, ou próximas disso em neonatos da grande maioria das espécies, e podem permanecer assim em adultos, mas usualmente a garganta torna-se marcada com listras castanhas, pretas ou cinzas, freqüentemente arranjadas mais ou menos obliquamente, ou formando um padrão reticulado. Em algumas espécies a superfície ventral inteira pode adquirir um padrão reticulado ou pontuado, ou tornar-se fortemente melânica. Marcas ventrais caracteristicamente são melhor desenvolvidas em machos adultos, enquanto fêmeas podem desenvolver um padrão similar, porém bastante reduzido. Entretanto, em algumas espécies ambos os sexos adquirem essencialmente o mesmo padrão ventral.

Um distintivo padrão de pontos espalhados, isolados, arredondados, castanho-escuro ou cinza sobre a garganta, tórax e abdômen está presente em machos adultos de *L. occipitalis*, *L. multimaculatus*, *L. scapularis*, *L. riojanus* e *L. rabinoi*. Este padrão não ocorre em outros lagartos de areia (ETHERIDGE 2000).

Segundo BOULENGER (1885), *L. occipitalis* possui superfícies inferiores uniformemente brancas ou com pequenos pontos acinzentados sobre a garganta. Já VERRASTRO (2004) afirma que machos adultos de *L. occipitalis* apresentam pontos pretos na região gular. A região gular de fêmeas adultas ou jovens pode ser completamente coberta, preenchida ou pontuada por uma intensa coloração amarelada. Durante o segundo ano de vida, algumas fêmeas podem também apresentar os pontos pretos; o que justifica o observado em apenas uma fêmea analisada portando leves pontos escuros sobre a garganta.

Observou-se que o padrão de melanização ventral em todos os indivíduos analisados concordou com o descrito na literatura pelos autores acima citados, não sendo as variações nenhum indicativo de diferenciação geográfica.

Todos os seis caracteres morfométricos analisados nos indivíduos de *L. occipitalis* não apresentaram variações significativas entre as populações estudadas, porém, alguns deles variaram em relação ao descrito na literatura quando estes foram comparados com suas médias.

Em relação à largura da cabeça e à distância entre axila e virilha, não se encontrou nenhum valor de referência na literatura para a espécie. Já os outros caracteres morfométricos analisados foram citados na literatura por BOULENGER (1885) para *L. occipitalis*, mas, nem todos os valores citados concordaram com as médias verificadas nas populações estudadas.

Os caracteres que apresentaram valores médios diferentes do citado na literatura foram o comprimento do membro anterior e do membro posterior. BOULENGER (1885) cita o valor de 20 mm de comprimento para o membro anterior e de 31 mm para o membro posterior de *L. occipitalis*. Estes valores diferiram um pouco das médias observadas nas populações estudadas, as quais apresentaram intervalos de variação entre 15 – 18 mm (Tab. XVI) e 26 – 30 mm (Tab. XVII), respectivamente.

Em relação ao comprimento do membro anterior, metade das populações estudadas (Praia do Hermenegildo, São José do Norte, Mostardas, Cidreira e Praia da Joaquina) apresentou pelo menos um indivíduo com mais de 20 mm de comprimento. Entretanto isto não indicou nenhum padrão geográfico de diferenciação, pois tanto populações do sul quanto do centro e do norte da distribuição da espécie apresentaram indivíduos maiores do que o citado na literatura para este caractere. Já o comprimento do membro posterior apresentou-se menor do que o citado na literatura em todos os indivíduos analisados de uma população do sul (Balneário do Cassino) e da população do limite sul da distribuição da espécie (Barra do Chuí) (Tab. XVII). Este fato pareceu indicar um leve padrão geográfico de variação, entretanto, análises estatísticas demonstraram ser essa uma diferença não-significativa.

O comprimento da cabeça e o comprimento rostro-cloacal foram as medidas morfométricas citadas por BOULENGER (1885) que ficaram dentro do intervalo de variação das médias das populações estudadas.

O valor para o comprimento da cabeça citado por BOULENGER (1885) para *L. occipitalis* foi de 13 mm e o comprimento rostro-cloacal, 52 mm. Ambos os valores citados na literatura ficaram dentro do intervalo de 12 – 13 mm e 48 – 57 mm, respectivamente, apresentados pelas médias das populações estudadas (Tab. XIV e Tab. XIII).

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS MOLECULARES

VARIAÇÃO GENÉTICA E DIVERSIDADE DE HAPLÓTIPOS

Na análise das seqüências de *L. occipitalis* foram encontradas 20 transições entre C ↔ T e 16 entre A ↔ G. Embora não podendo afirmar com certeza a direção na qual ocorreram as transições entre C ↔ T, estes dois tipos de transições foram mais freqüentes do que os outros dois (A ↔ G). Caso a direção C → T tenha sido a mais freqüente, este resultado concordaria com o descrito na literatura por NEI (1987) em relação à freqüência mais alta de C · T. Mas, em vista do encontrado, esta afirmação não pode ser feita com certeza.

As seqüências analisadas apresentaram uma taxa de transições (92,31%) 12,00 vezes maior do que a taxa de transversões (7,69%). Este resultado concordou com o descrito na literatura em relação às diferentes taxas de mutações entre os quatro nucleotídeos. NEI (1987) afirma que no mtDNA a taxa de mutações transicionais é muito mais alta do que a taxa de mutações transversionais. Já CLARK *et al.* (1999), em seu trabalho sobre efeitos da fragmentação de habitats naturais sobre a espécie *Sceloporus woodi* (Phrynosomatidae), encontraram, nos 44 sítios variáveis, uma taxa de transições apenas 2,50 vezes maior do que a taxa de transversões (n=135); bem menor se comparada com o encontrado na análise de *L. occipitalis*.

A diversidade nucleotídica encontrada no total das seqüências analisadas de *L. occipitalis* (0,009) pode ser considerada uma diversidade de valor médio, considerando-se o intervalo de variação de 0,002 a 0,019 citado por NEI (1987) para organismos eucariontes. Este mesmo autor afirma que a

diversidade nucleotídica é aproximadamente a mesma para o mtDNA e genes nucleares. Já a diversidade haplotípica encontrada no total das seqüências analisadas (0,920) foi considerada alta.

Em seu recente trabalho sobre filogenia e filogeografia do complexo *Liolaemus darwini*, MORANDO *et al.* (2004) também encontraram uma alta diversidade de genes em *L. grosseorum*. Ainda no mesmo trabalho foi encontrada também uma alta diversidade nucleotídica para esta espécie, diferente do valor médio desta diversidade encontrado no presente trabalho na análise das seqüências de *L. occipitalis*. Já *L. darwini* apresentou uma diversidade de genes similar à de *L. grosseorum*, porém uma menor diversidade nucleotídica (MORANDO *et al.* 2004).

Em relação a diferenças geográficas no complexo *L. darwini*, MORANDO *et al.* (2004) encontraram diferenças na diversidade nucleotídica em clados do norte e do sul da distribuição geográfica do grupo, sendo esta diversidade alta em dois clados do norte da distribuição, e baixa em um clado da parte sul.

RELAÇÃO ENTRE OS HAPLÓTIPOS

As topologias apresentadas nas árvores geradas na análise de *L. occipitalis* (Figs. 27 e 28) foram muito semelhantes. Porém, alguns indivíduos foram agrupados em locais diferentes, o que não alterou substancialmente a interpretação comum das mesmas.

Analisando-se a árvore de consenso de *L. occipitalis* gerada por Máxima Parsimônia, verifica-se um Índice de Consistência (CI = 0,780) um pouco maior do que o encontrado para outras espécies do mesmo gênero; como no recente trabalho de MORANDO *et al.* (2004) com espécies pertencentes ao complexo *Liolaemus darwini*, para o qual o IC da referida árvore foi de 0,551.

A análise de ambas as árvores de *L. occipitalis* (Figs. 27 e 28), juntamente com a da rede de haplótipos (*network*) (Fig. 29), indicou uma estruturação das populações de *L. occipitalis* de Santa Catarina, o que não ocorre nas populações do Rio Grande do Sul. Nota-se, claramente, que as populações do Estado de Santa Catarina encontram-se separadas e bem estruturadas em dois grupos distintos, um formado pelas populações do litoral

do Estado (Morro dos Conventos e Farol de Santa Marta), e o outro formado pela população isolada na Ilha de Florianópolis (Praia da Joaquina). Indicou, também, que o provável centro de origem e dispersão de *L. occipitalis* é a região do centro e/ou do sul de sua distribuição no Estado do Rio Grande do Sul, devido ao haplótipo mais freqüente ter sido encontrado nesta região. A região centro-sul apresentou um grande número de indivíduos de diferentes populações portando este haplótipo, e também um elevado número de haplótipos diferentes espalhados. Esta elevada diversidade de haplótipos também corrobora a hipótese de provável região de origem e dispersão da espécie.

Os grupos encontrados no Rio Grande do Sul não apresentam uma clara separação, pois existem indivíduos portando o mesmo haplótipo desde a margem sul do rio Mampituba (Torres) até o limite sul da distribuição (Barra do Chuí), passando por populações intermediárias (Cidreira, Balneário do Cassino, Taim e Praia do Hermenegildo). Este quadro talvez possa ser explicado pelo fato de que no início, devido a fatores de efeito fundador e dispersão, todos os indivíduos provavelmente apresentavam o mesmo haplótipo. A partir destes primeiros indivíduos as populações foram crescendo e dispersando-se, sendo este haplótipo mais freqüente (h_2) disperso junto, originando os grupos atuais. Embora não haja uma nítida separação entre os grupos, o haplótipo originou um considerável número de haplótipos espalhados, atualmente, na Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

O fato de todas as populações apresentarem um ou mais haplótipos exclusivos, pode não ser demonstrativo de diferenciação populacional, visto que dez destas populações compartilham um ou mais haplótipos com outras populações. Somente as populações de Bojuru e Praia da Joaquina não compartilham seus haplótipos com nenhuma outra população. Em relação à Praia da Joaquina, este fato pode ser indicativo de uma certa diferenciação populacional, considerando o tempo de separação da ilha e do continente (cerca de 8.000 anos) (BIGARELLA 1965; CORRÊA *et al.* 1992). Esta diferenciação já foi levemente indicada por caracteres morfológicos (ver: Discussão dos resultados morfológicos, pg. 66). Já em relação a Bojuru, é

necessário que um maior número de indivíduos seja analisado futuramente para que alguma inferência seja feita.

Em um sistema neutro, o isolamento das populações conduz inevitavelmente a sua diferenciação devido à perda de haplótipos (maior quanto menor seja o tamanho populacional), assim como pelo surgimento por mutação de novos haplótipos exclusivos de cada população. O fluxo gênico atuaria como um agente homogeneizador, trocando haplótipos entre populações, mesmo que pudesse, potencialmente, conduzir à divergência entre populações através da criação e dispersão de combinações únicas de alelos (SLATKIN 1987).

VARIAÇÕES DENTRO E ENTRE AS POPULAÇÕES

Os resultados estatisticamente não-significativos dos Testes de Neutralidade (TAJIMA 1989 e FU & LI 1993) na análise conjunta das populações indicaram a neutralidade das mutações ocorridas em todas as seqüências analisadas. Diferente resultado para o Teste de TAJIMA (1989) foi encontrado na análise de espécies do complexo *Liolaemus darwini*, para o qual o referido teste apresentou resultado estatisticamente significativo (MORANDO *et al.* 2004).

Na análise de cada uma das populações de *L. occipitalis* em separado, o resultado estatisticamente não-significativo do Teste de Neutralidade (TAJIMA 1989) de cada uma (Tab. XXII) confirmou o resultado da análise conjunta; reforçando, assim, a indicação de neutralidade das mutações ocorridas.

ESTIMATIVAS DE FLUXO GÊNICO

Os métodos clássicos para estimar os níveis de trocas genéticas entre populações, tipicamente usam a distribuição espacial das freqüências dos diferentes haplótipos. A maioria destas aproximações está baseada nas expectativas de equilíbrio dos modelos teóricos de genética de populações sob a teoria da neutralidade. A partir da variação geográfica nas freqüências alélicas observadas, estima-se um parâmetro combinado Nm , interpretado como o número médio absoluto de migrantes trocados por geração entre

populações. Valores de Nm maiores que um indicam, segundo a teoria, que o efeito homogeneizador do fluxo gênico superará os efeitos de diferenciação por deriva local das subpopulações.

A ausência de um padrão de Isolamento pela Distância (WRIGHT 1943), indicada pela correlação não-significativa entre fluxo gênico e distância geográfica (Fig. 30) entre as populações estudadas de *L. occipitalis*, sugeriu a ocorrência de fluxo gênico livre entre elas. A migração de indivíduos ocorre aleatoriamente entre as populações, não seguindo o modelo de Stepping-Stones (KIMURA 1953), o qual supõe que as trocas genéticas ocorram unicamente entre populações adjacentes, com igual probabilidade em ambos os sentidos.

A suposição de fluxo gênico livre entre as populações estudadas de *L. occipitalis* aproxima o resultado encontrado do Modelo de Ilhas (WRIGHT 1931), o qual supõe que a espécie está dividida em populações de igual tamanho que trocam alelos com igual probabilidade.

O equilíbrio entre a perda de alelos devido à deriva local e sua reposição por fluxo gênico no conjunto de populações que colonizaram uma área, é alcançado logo após um tempo de estabelecido um regime de migração entre elas. Se as populações ficaram completamente isoladas imediatamente após sua separação, não se alcançaria esse equilíbrio e não evoluiria o padrão de Isolamento pela Distância; a proximidade genética será alta a princípio, e, portanto, também serão as estimativas de fluxo gênico, porém estas diminuirão rápida e independentemente da distância geográfica (SLATKIN 1993).

Uma espécie que apresente dispersão restrita deveria exibir um padrão de Isolamento pela Distância se se passou um tempo suficiente que lhe permita aproximar-se de um equilíbrio, e tem de haver certos indícios de isolamento pela distância se a população ocupou sua atual área de distribuição (*range*) por um tempo substancial (SLATKIN 1993).

Isto não é o que acontece com *L. occipitalis*. A ausência de um padrão de Isolamento pela Distância é evidente ao observar-se o valor de r apresentado na representação gráfica do logaritmo de Nm entre pares de

populações contra o logaritmo dos valores das distâncias geográficas pareadas (Fig. 30).

A maior estimativa de fluxo gênico pertenceu ao par populacional Cidreira-Mostardas ($Nm=12,25$), seguido pelo par Cidreira-Cassino ($Nm=6,00$) e Bojuru-Mostardas ($Nm=4,75$). Os outros pares de populações que tiveram estimativas de fluxo gênico maiores que um, porém menores do que os três citados acima foram: Cassino-Mostardas ($Nm=2,53$); Cassino-Bojuru ($Nm=1,67$); Bojuru-Cidreira ($Nm=1$); Taim-Chuí ($Nm=1$) (Tab. XXIII). Cada um dos sete pares de populações acima citados, em relação a seus valores estimados de fluxo gênico, parece comportar-se como uma população única. Os pares de populações acima dos quais faz parte a população de Bojuru, embora tendo apresentado valores de $Nm \geq 1$, devem ser interpretados com cuidado devido ao reduzido número de indivíduos analisados neste população. É necessário que se analise um maior número de indivíduos futuramente para que a inferência de que sejam uma população única seja feita.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

O presente trabalho tentou elucidar os padrões de diferenciação populacional em *Liolaemus occipitalis*, uma espécie já extensamente estudada, e as relações entre estas populações. Mesmo assim, uma visão mais completa dos resultados obtidos até o momento requer estudos complementares. Seria necessário estudar-se um maior número de exemplares da espécie ao longo de toda sua área de distribuição a fim de verificar a existência de variantes, tanto morfológicas quanto genéticas, não contempladas neste trabalho. Esta continuidade dos estudos melhoraria os resultados até agora encontrados, e, conseqüentemente, a interpretação destes e o entendimento das relações inter e intrapopulacionais.

Muitas das áreas nas quais localizam-se populações de *L. occipitalis* estão desaparecendo sob uma onda crescente de urbanização. As populações entre Tramandaí e Torres praticamente desapareceram, gerando

descontinuidades na distribuição geográfica da espécie. Sob este cenário, a perda dos habitats de dunas acarretará, futuramente, em um enorme impacto em termos de perda da diversidade genética de *L. occipitalis*. Dados filogeográficos de outros táxons do mesmo habitat são necessários para testar esta conclusão. A perda de populações, refletindo-se nesta crescente perda da diversidade genética, poderá, fatalmente, levar à extinção da espécie. Devido a estas ameaças às populações de *L. occipitalis*, o acesso à variabilidade morfológica e genética é extremamente importante para a formulação de uma estratégia urgente de conservação da espécie.

A população de *L. occipitalis* da Praia da Joaquina apresenta importantes diferenciações tanto morfológicas quanto genéticas, podendo ser considerada uma Unidade Evolutivamente Significativa. Devido a isto é necessário um esforço especial para a preservação desta região a fim de que seja conservada esta população.

Finalmente seria interessante estender o trabalho desenvolvido até o momento a outras espécies do gênero, próximas geograficamente de *L. occipitalis* (*L. arambarensis*, *L. wiegmannii* e *L. lutzae*), a fim de estabelecer as relações entre as populações destas e da espécie alvo do presente trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Revista Brasileira de Zoologia

- ALBERTS, B.; A. JOHNSON; J. LEWIS; M. RAFF; K. ROBERTS & P. WALTER. 2002. **Molecular Biology of the Cell**. New York, Garland Science, XXIV+1463p.+86 figuras.
- ARAÚJO, D.S.D. & L.D. LACERDA. 1987. A natureza das Restingas. **Ciência Hoje**, São Paulo, **6** (33): 43-48.
- AVISE, J.C. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. **Molecular Ecology**, Bloomington, **7** (4): 371-379.
- . 2000. **Phylogeography: The history and formation of species**. London, Harvard University Press, VIII+446p.
- BANDELT, H-J.; P. FORSTER & A. RÖHL. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, **16** (1):37-48.
- BERMINGHAM, P. & C. MORITZ. 1998. Comparative phylogeography: concepts and applications. **Molecular Ecology**, Bloomington, **7** (4): 367-370.
- BIGARELLA, J.J. 1965. Subsídios para o estudo das variações de nível oceânico no quaternário brasileiro. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, **37**: 263-278.
- BONVICINO, C.R. & M.A.M. MOREIRA. 2001. Molecular phylogeny of the genus *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) based on *cytochrome b* DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Michigan, **18** (2): 282-292.
- BOULENGER, G. A. 1885. **Catalogue of the lizards in the British Museum (Natural History)**. London, Taylor and Francis, XIV+497p.+48 figuras.
- BREHM, A.; J. JESUS; M. PINHEIRO & D. J HARRIS. 2001. Relationships of Scincid Lizards (*Mabuya* spp; Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde Islands

- Based on Mitochondrial and Nuclear DNA Sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Michigan, **19** (2): 311-316.
- ; J. JESUS, H. SPÍNOLA, C. ALVES; L. VICENTE & D. J. HARRIS. 2003. Phylogeography of the Madeiran endemic lizard *Lacerta dugesii* inferred from mtDNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Michigan, **26**: 222-230.
- BROWN, W.M. 1985. The mitochondrial genome of animals, p. 95-130. *In*: R.J. MAC INTYRE (Ed.). **Molecular Evolutionary Genetics**. New York, Plenum, 450p.
- ; M.J.R. GEORGE & A.C. WILSON. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, **76**: 1967-1971.
- BUJES, C. & L. VERRASTRO. 1998. Comportamento de *Liolaemus occipitalis* em cativeiro (Sauria:Tropiduridae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **15** (4): 915-920.
- CEI, J.M. 1986. Reptiles del centro, centro-oeste y sur de la Argentina. **Museo Regionale di Scienze Naturali**, Torino, Monografie, **4**: 1-527.
- CLARK, A. M.; B. W. BOWEN & L. C. BRANCH. 1999. Effects of natural habitat fragmentation on an endemic scrub lizard (*Sceloporus woodi*): an historical perspective based on a mitochondrial DNA gene genealogy. **Molecular Ecology**, Bloomington, **8**: 1093-1104.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). 1985. **Resolução nº 4 de 18 de setembro de 1985 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)**. Available in the World Wide Web at: http://www.ambiente.sp.gov.br/leis_internet/flora/manejo_auto/areas_preserv/resconama485.html. [20/04/2004].
- CORRÊA, I. C. S.; R. Baitli; J. M. Ketzer & R. Martins. 1992. Translação horizontal e vertical do nível do mar sobre a plataforma continental do Rio Grande do Sul nos últimos 17.500 anos BP. **Anais III Congresso ABEQUA – Belo Horizonte**, Belo Horizonte, pp. 225—240.

- DI BERNARDO, M.; M. B. MARTINS & R. B. OLIVEIRA. 2000. *Liolaemus occipitalis*.
In: IUCN 2006. 2006 IUCN Red List of Threatened Species. Available in the World Wide Web at: <http://www.iucnredlist.org.html> [26/05/2006].
- DONOSO-BARROS, R. 1966. **Reptiles del Chile**. Santiago, Universidad de Chile, 458p.
- ELY, I. & L. VERRASTRO. 2004. Dieta e estratégia alimentar de *Liolaemus occipitalis* (Iguania-Tropiduridae) nas dunas costeiras do Rio Grande do Sul.
In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 25, Soc. Bras. Zool. Resumo, p. 404.
- ETHERIDGE, R. 1995. Redescription of *Ctenoblepharys adspersa* TSCHUDI, 1845, and the taxonomy of Liolaeminae (Reptilia: Squamata: Tropiduridae). **American Museum, Novitates**, New York, **3142**: 1-34.
- . 2000. A review of lizards of the *Liolaemus wiegmanni* group (Squamata, Iguania, Tropiduridae), and a history of morphological change in the sand-dwelling species. **Herpetological Monographs**, Emporia, **14**: 293-352.
- FERREIRA JUNIOR, O. 1998. **Programa GPS TrackMaker**. Available in the World Wide Web at: <http://www.gpstm.com.html> [04/01/2006].
- FONTANA, C. S.; G. A. BENCKE & R. E. REIS. 2003. **Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, EDIPUCRS, 632p.
- FU, Y.-X. & W.-H. LI. 1993. Statistical Tests of Neutrality of Mutations. **Genetics**, Stanford, **133** (3): 693-709.
- GEMMELL, N. J.; V. J. METCALF & F. W. ALLENDORF. 2004. Mother's curse: the effect of mtDNA on individual fitness and population viability. **TRENDS in Ecology and Evolution**, London, **19** (5): 238-244.
- GOVERNO FEDERAL. 1965. **Lei Federal nº. 4771 (Código Florestal) de 15 de setembro de 1965**. Available in the World Wide Web at: <http://www.ncap.com.br/schincariol/cflorest.html> [20/04/2004].

- GUDYNAS, E. 1981a. Consideraciones sobre la Herpetofauna del Uruguay y áreas vecinas con una aproximación biogeográfica. *In: Jornadas de Ciencias Naturales, Centro Educativo Don Orione*, Montevideo, **2**: 5-6.
- . 1981b. Comentarios sobre biotopos, habitats, herpetofauna y la biogeografía del Uruguay y áreas vecinas. *In: Jornadas de Ciencias Naturales, Centro Educativo Don Orione*, Montevideo, **2**: 7-8.
- . 1981c. New departmental records of *Liolaemus wiegmannii* from Uruguay. *Herpetological Review*, Saint Louis, **12**: 84.
- HALLOY, M.; R. ETHERIDGE & G. M. BURGHARDT. 1998. To bury in sand: phylogenetics relationships among lizard species of the BOULENGERI group, *Liolaemus* (Reptilia: Squamata: Tropiduridae), based on behavioral characters. *Herpetological Monographs*, Bainbridge, **12**:1-37.
- HARRIS, D. J.; E. N. ARNOLD & R. H. THOMAS. 1998. Rapid Speciation, Morphological Evolution, and Adaptation to Extreme Environments in South African Sand Lizards (*Meroles*) as Revealed by Mitochondrial Gene Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Michigan, **10** (1): 37-48.
- JESUS, J.; D. J. HARRIS & A. BREHM. 2005. Phylogeography of *Mabuya maculilabris* (Reptilia) from São Tomé Island (Gulf of Guinea) inferred from mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Michigan, **37**: 503-510.
- KELLER, C. & L. KRAUSE. 1986. The appendicular skeleton of *Liolaemus occipitalis* BOULENGER, 1885 (Sauria, Iguanidae). *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, **46** (4): 727-740.
- KIMURA, M. 1953. "Stepping-stone" model of population. *Annual Report of the National Institute of Genetics*. Japan, **3**:62-63.
- KOCHER, T. D.; W. K. THOMAS; A. MEYER; S. V. EDWARDS; S. PAABO; F. X. VILLABLANCA & A. C. WILSON. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, DC, **86**: 6196-6200.

- KUMAR, S.; K. TAMURA & M. NEI. 2004. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. **Briefings in Bioinformatics**, London, **5**:150-163.
- LEMA, T. DE. 1994. Lista comentada dos répteis ocorrentes no Rio Grande do Sul, Brasil. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, Série Zoologia, Porto Alegre, **7**: 41-150.
- LI, W.-H. & D. GRAUR. 2000. **Fundamentals of molecular evolution**. Sunderland, Sinauer Associates, 481p.
- MEDRANO, J.F.; E. AASEN & L. SHARROW. 1990. DNA extraction from nucleated red blood cells. **Biotechniques**, Natick, **8** (1): 43.
- MELAMED, G.B. & L. VERRASTRO. 1997. Estudo para a conservação de *Liolaemus* (Sauria-Tropiduridae) nas dunas e restingas do Rio Grande do Sul, Brasil. *In*: **CONGRESO IBEROAMERICANO DE BIODIVERSIDAD Y ZOOLOGÍA DE VERTEBRADOS**, 8, Universidad de Concepción, Chile (1997: Chile). Resumo, p. 93.
- MORANDO, M.; L. J. AVILA & J. W. SITES JR. 2003. Sampling Strategies for Delimiting Species: Genes, Individuals, and Populations in the *Liolaemus elongatus-kriegi* Complex (Squamata: Liolaemidae) in Andean-Patagonian South America. **Systematic Biology**, London, **52** (2): 159-185.
- ; L. J. AVILA; J. BAKER & J. W. SITES JR. 2004. Phylogeny and Phylogeography of the *Liolaemus darwini* Complex (Squamata: Liolaemidae): Evidence for Introgression and Incomplete Lineage Sorting. **Evolution**, Philadelphia, **58** (4): 842-861.
- MORITZ, C. & D.P. FAITH. 1998. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for consevation. **Molecular Ecology**, Bloomington, **7** (4): 419-429.
- MÜLLER, P. & H. STEINIGER. 1977. Evolutionsgeschwindiakeit, Verbreitung und Verwandtschaft Brasilianisher Erdleguane der Gattung *Liolaemus* (Sauria-Iguanidae). **Mitteilungen**, Saarbrükent, **9**: 1-17.

- NEI, M. 1987. **Molecular Evolutionary Genetics**. New York, Columbia University Press, I-X+512p.
- NÚÑEZ, H.; J.A. SCHULTE II & C. GARÍN. 2001. *Liolaemus josephorum*, nueva especie de lagartija para el Norte de Chile. **Boletín del Museo de Historia Natural**, Santiago, **50**: 91-107.
- PALUMBI, S.R. 1996. Nucleic acids. II. The polymerase chain reaction, p. 205-247. *In*: D.M. HILLIS; C. MORITZ, & B.K. MABLE (Eds.). **Molecular systematics**. Massachusetts, Sinauer Associates, 655p.+175 illustrations.
- PETERS, J.A. & R. DONOSO-BARROS. 1986. **Catalogue of the neotropical squamata. Part II – Lizards and Amphisbaenians**. Washington, Smithsonian Institution Press, VIII+293p.
- ROCHA, C.F.D. 1985. **Ecologia de *Liolaemus lutzae* (Sauria-Iguanidae) na Restinga da Barra de Maricá-RJ**. Monografia de Bacharelado - Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 104p. Rio de Janeiro: UERJ.
- ; D. VRCIBRADIC & A.F.B. DE ARAÚJO. 2000. Ecofisiologia de répteis de restingas brasileiras, p. 117-149. *In*: F.A. ESTEVES & L.D. DE Lacerda (Eds.). **Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras**. Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, XII+394p.
- ROZAS J.; J. C. SÁNCHEZ-DELBARRIO; X. MESSEGUER & R. ROZAS. 2005. **Programa DNAsp versão 4.10.4**. Available in the World Wide Web at: <http://www.ub.es/dnasp.html> [27/12/2005].
- SAITOU, N. & M. NEI. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetics trees. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, **4** (4): 406-425.
- SCHNEIDER S.; D. ROESSLI & L. EXCOFFIER. 2000. **Arlequin (vers. 2.000): a software for population genetic data analysis**. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- SLATKIN, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. **Science**, Washington, **236**:787-792.

- . 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. **Evolution**, Philadelphia, **47**:264-279.
- SMITH, H. M. 1946. **Handbook of Lizards: Lizards of the United States and Canada**. New York, Cornell University Press, 557p.
- SWOFFORD, D. L. 2001. **PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)**. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- TAJIMA, F. 1989. Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. **Genetics**, Stanford, **123** (3): 585-595.
- VANZOLINI, P.E. & A.N. AB'SABER. 1968. Divergence rate in South American lizard of the genus *Liolaemus* (Sauria-Iguanidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, **21** (21): 205-208.
- & E.E. WILLIAMS. 1981. The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, **34** (23): 251-255.
- VERRASTRO, L. 1991. **Aspectos ecológicos e biológicos de uma população de *Liolaemus occipitalis* BOUL. 1885, nas dunas costeiras da praia Jardim Atlântico, Tramandaí, RS. (Reptilia - Iguanidae)**. Dissertação de Mestrado - Curso de Pós-graduação em Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 104 p. Porto Alegre: UFRGS.
- . 2004. Sexual dimorphism in *Liolaemus occipitalis* (Iguania, Tropicuridae). **Iheringia**, Série Zoológica, Porto Alegre, **94** (1): 45-48.
- & L. KRAUSE. 1994. Analysis of growth in a population of *Liolaemus occipitalis* BOUL.1885, from the coastal sand-dunes of Tramandaí, RS, Brazil. (Reptilia-Tropicuridae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, Sassenheim, **29** (2): 99-111.
- & C. BUJES. 1998. Ritmo de atividade de *Liolaemus occipitalis* BOULENGER, 1885 (Sauria, Tropicuridae) na praia de Quintão, RS - Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **15** (4): 907-914.

- & L. KRAUSE. 1999. Ciclo reprodutor de machos em *Liolaemus occipitalis* BOULENGER, 1885. (Sauria-Tropiduridae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **16** (1): 227-231.
- ; L. VERONESE; C. BUJES & M.M. DIAS FILHO. 2003. A new species of *Liolaemus* from southern Brazil (Iguania: Tropiduridae). **Herpetologica**, Emporia, **59** (1): 105-118.
- VIGILANT, L.; R. PENNINGTON; H. HARPENDING; T.D. KOCHER & A.C. WILSON. 1989. Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern African population. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, **86**: 9350-9354.
- VINCIPROVA, G. & L. VERRASTRO. 2001. O status de conservação da herpetofauna do RS: restingas litorâneas. *In*: **V CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL**, (04-09/11/2001: Porto Alegre). Resumo, nº 1303, p. 348.
- WRIGHT S. 1931. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, Stanford, **16**:97-159.
- . 1943. Isolation by distance. **Genetics**, Stanford, **28**:114-138.
- . 1951. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, London, **15**: 323-354.

ANEXOS

ANEXO 1

PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA (SEM FENOL-CLOROFÓRMIO)

SOLUÇÕES:

Tampão de lise

Proteinase K (10mg/ml) em H₂O dest.

Rnase A (10mg/ml) em H₂O dest.

NaCl 5M

Etanol absoluto

Etanol 70%

Tampão 1X TE, pH 8,0

Tampão 1X STE, pH 8,0

PASSOS:

- 1- Colocar até 20mg de tecido em um eppendorf (utilizando material esterilizado);
- 2- Lavar os tecidos rapidamente por três vezes com 1ml de STE gelado, removendo o líquido com uma P1000;
- 3- Adicionar 550µl de tampão de lise e, imediatamente após, adicionar 11µl de proteinase K. Agitar a mistura em vórtex. Incubar "overnight" a 37°C;
- 4- Adicionar 350µl de NaCl 5M. Agitar em vórtex por 15 segundos e centrifugar por 30 min a 13.000 rpm;
- 5- Transferir 350µl do sobrenadante (que contém o DNA) para um novo tubo. Adicionar 700µl de etanol absoluto gelado. Agitar gentilmente várias vezes (DNA pode ser visto). Para completa precipitação, incubar a -20°C durante duas horas ou "overnight" a 4°C;

Obs.: Para aproveitar melhor o material, pode ser retirado (com muito cuidado) até 750µl do sobrenadante que pode ser dividido em três alíquotas de 250µl.

- 6- Centrifugar por 30 min a 13.000 rpm. Descartar o sobrenadante derramando o conteúdo dos tubos (tomar cuidado para o pellet não deslizar). Este passo pode ser realizado retirando-se o sobrenadante com uma micropipeta. Remover as últimas gotas do tubo encostando-o em um lenço de papel limpo;
- 7- Lavar o pellet com 1ml de etanol 70%, centrifugando a 6.000 rpm por 5 min. E remover o sobrenadante da forma descrita acima;
- 8- Repetir o passo 8 e deixar secar os tubos em estufa a 37°C (+ ou - 1,5hs) (colocar um guardanapo limpo sobre os mesmos para evitar a entrada de sujeira).;
- 9- Adicionar 100µl de 1X TE e incubar a 37°C por, no mínimo, duas horas (pode levar mais tempo para ressuspender o pellet, nesse caso, continuar a incubação e checar os tubos a cada 30 min, agitando-os levemente com o dedo). Estocar a 4°C (em caso de estocagem durante longo tempo, utilizar – 20°C).

ANEXO 2

PROTOCOLO DE VERIFICAÇÃO DE EXTRAÇÃO DE DNA ATRAVÉS DE GEL DE AGAROSE

SOLUÇÕES:

Agarose

TBE 1X

Brometo de Etídeo

Tampão de amostra

PASSOS:

- 1- Pesar 0,30g de agarose normal;

- 2- Medir 30mL de tampão TBE 1X;
- 3- Misturar agarose (0,30g) e TBE 1X (30mL);
- 4- Ferver a mistura no microondas até homogeneizar bem;
- 5- Armar a cubeta pequena;
- 6- Adicionar 1,00 μ L de brometo de etídeo no gel, fora do microondas, mexer levemente e deixar esfriar um pouco;
- 7- Derramar o gel na cubeta e esperar solidificar (+ - 30min). Não esquecer de colocar na cubeta os pentes;
- 8- Tiram-se os pentes e as barras pretas somente depois que o gel estiver firme;
- 9- Derrama-se TBE usado na cubeta até cobrir o gel;
- 10- Pinga-se 2 μ L de tampão de amostra (corante para gel não-desnaturante) numa placa de petri na ordem em que as amostras serão colocadas;
- 11- Homogeneizar tampão de amostra e DNA (3 μ L de cada amostra);
- 12- Pipeta-se 5 μ L de tampão de amostra + DNA em cada canaleta;
- 13- Fecha-se a cubeta;
- 14- Preto e Vermelho (gel corre do preto para o vermelho);
- 15- Liga-se o aparelho a 100 volts e espera-se + - 30min;
- 16- Verifica-se o gel no transluminador (com proteção).

ANEXO 3

PROTOCOLO DE PCR

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO-MÃE

Multiplicar por 10 o número de nmol de cada *primer* (em pó em um eppendorf);

O resultado é a quantidade, em μL , de água extra-pura que tenho de pôr em cada eppendorf de *primer*. Pôr a água e agitar de vez em quando para ressuspender (esperar de 10 a 15 min).

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO-MÃE DILUÍDA

Diluir a solução-mãe a 10% para usar no PCR;

Dar um *spin* na solução-mãe (6 segundos na centrífuga) e pegar 10 μL + 90 μL de água extra-pura.

PREPARAÇÃO DO MIX

Preparar o MIX conforme tabela abaixo.

Sempre preparar uma quantidade de MIX para uma amostra a mais. Ex: 10 amostras de DNA + 1 controle negativo = 11 amostras, logo, preparar MIX para 12 amostras.

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12
H ₂ O _d	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Buffer	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
MgCl ₂	1,6	3,2	4,8	6,4	8,0	9,6	11,2	12,8	14,4	16,0	17,6	19,2
dNTPs	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4	2,8	3,2	3,6	4,0	4,4	4,8
Oligo_for.	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4	2,8	3,2	3,6	4,0	4,4	4,8
Oligo_ver.	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4	2,8	3,2	3,6	4,0	4,4	4,8
Taq pol.	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2	2,4

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA PCR

- 1- Numerar eppendorfs (epps) de 200 μL conforme numeração das amostras, mais um eppendorf (epp) com o controle negativo (CN);
- 2- Colocar do lado do epp o número do PCR;
- 3- Colocar + - 10 min na capela com o UV ligado: epps numerados, pipetas para o MIX, descartes, ponteiras, pipeta para amostras, um epp para preparar o MIX;
- 4- Separar amostras e reagentes do MIX;
- 5- Dar um spin nas amostras e nos reagentes do MIX, exceto na água extra-pura;

- 6- Pipetas 10 μ L de cada amostra nos epps numerados e 10 μ L de água extra-pura no epp do CN;
- 7- Preparar o MIX e dar um *spin*;
- 8- Pipetar 10 μ L de MIX em cada epp numerado;
- 9- Colocar em uma das máquinas de PCR, selecionar o programa a ser utilizado e ligar;
- 10- Ao término do programa, guardar os epps com o amplificado no freezer.

ANEXO 4

PROGRAMA UTILIZADO NA MÁQUINA DE PCR

Passo 1 – T = 94,0°C - 1 min	Passo 5 – GO TO Passo 2 e REP 33
Passo 2 – T = 94,0°C - 30 s	Passo 6 – T = 72,0°C - 5 min
Passo 3 – T = 55,0°C - 30 s	Passo 7 – HOLD 15,0°C ENTER
Passo 4 – T = 72,0°C - 45 s	END

ANEXO 5

PROTOCOLO DE VERIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PCR ATRAVÉS DE GEL DE AGAROSE

SOLUÇÕES:

Agarose

TBE 1X

Brometo de Etídeo

Tampão de amostra

Marcador de peso molecular (DNA Low Mass Leader)

PASSOS:

- 1- Pesar 0,30g de agarose normal;

- 2- Medir 30mL de tampão TBE 1X;
- 3- Misturar agarose (0,30g) e TBE 1X (30mL);
- 4- Ferver a mistura no microondas até homogeneizar bem;
- 5- Armar a cubeta pequena;
- 6- Adicionar 1,00 μ L de brometo de etídeo no gel, fora do microondas, mexer levemente e deixar esfriar um pouco;
- 7- Derramar o gel na cubeta e esperar solidificar (+ - 30min). Não esquecer de colocar na cubeta os pentes;
- 8- Tiram-se os pentes e as barras pretas somente depois que o gel estiver firme;
- 9- Derrama-se TBE usado na cubeta até cobrir o gel;
- 10- Pinga-se 1 μ L de tampão de amostra (corante para gel não-desnaturante) numa placa de petri na ordem em que as amostras e o marcador de peso molecular serão colocados;
- 11- Homogeneizar tampão de amostra e DNA (2 μ L de cada amostra de PCR);
- 12- Homogeneizar tampão de amostra e marcador de peso molecular (2 μ L);
- 13- Pipeta-se 3 μ L de tampão de amostra + DNA em cada canaleta;
- 14- Pipeta-se, na última canaleta, 3 μ L de tampão de amostra + marcador de peso molecular;
- 15- Fecha-se a cubeta;
- 16- Preto e Vermelho (gel corre do preto para o vermelho);
- 17- Liga-se o aparelho a 100 volts e espera-se + - 45 min;
- 18- Verifica-se o gel no transluminador (com proteção);
- 19- Quantificam-se as amostras que amplificaram de acordo com o marcador de peso molecular.

ANEXO 6

PROTOCOLO PARA PURIFICAÇÃO DO PCR

- 1- Pegar 6 μ L de amplificado (já quantificado);
- 2- Preparar um MIX por amostra com: 0,25 μ L de exonuclease
0,25 μ L de fosfatase alcalina (SAP)
0,50 μ L de H₂O
- 3- Misturar o MIX um pouco com a pipeta;
- 4- Colocar 1 μ L do MIX em cada eppendorf (200 μ L) e adicionar 6 μ L de amplificado (DNA);
- 5- Dar um *spin*;
- 6- Levar para a máquina de PCR.

Programa da máquina: 37°C por 30 minutos

80°C por 15 minutos

Para o seqüenciamento:

- 1- Preparar em um eppendorf de 500 μ L:
50ng - 75ng de purificado
0,50 μ L de *primer*
água extra-pura suficiente para completar 6 μ L
- 2- Enviar os epps com o preparado acima para o seqüenciamento.

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE ZOOLOGIA

INFORMAÇÕES GERAIS

A Revista Brasileira de Zoologia, órgão da Sociedade Brasileira de Zoologia, destina-se a publicar artigos científicos originais em Zoologia de seus sócios. Todos os autores deverão ser sócios e estarem quites com a tesouraria, para poder publicar na Revista.

Artigos redigidos em outro idioma que não o português, inglês ou espanhol poderão ser aceitos, a critério da Comissão Editorial.

MANUSCRITOS

Os artigos devem ser enviados em três vias impressas e em mídia digital, disquete ou CD, no formato PDF, incluindo as figuras e tabelas. O texto deverá ser digitado em espaço duplo, com margens esquerda e direita de 3 cm, alinhado à esquerda e suas páginas devidamente numeradas. A página de rosto deve conter: 1) título do artigo, mencionando o(s) nome(s) da(s) categoria(s) superior(es) à qual o(s) animal(ais) pertence(m); 2) nome(s) do(s) autor(es) com endereço(s) completo(s), exclusivo para recebimento de correspondências, e com respectivos algarismos arábicos para remissões; 3) resumo em inglês, incluindo o título do artigo se o mesmo for em outro idioma; 4) palavras chaves em inglês, no máximo cinco, em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título; 5) resumo e palavras chaves na mesma língua do artigo, ou em português se o artigo for em inglês, e equivalentes às do resumo em inglês. O conjunto de informações dos itens 1 a 5 não deve exceder a 3500 caracteres considerando-se espaços.

Os nomes de gênero(s) e espécie(s) são os únicos do texto em *itálico*. A primeira citação de um taxa no texto, deve vir acompanhada do nome científico por extenso, com autor e data (de vegetais, se possível), e família.

Citações bibliográficas devem ser feitas em caixa alta reduzida (VERSALETE) e da seguinte forma: SMITH (1990), SMITH (1990: 128), LENT &

JURBERG (1965), GUIMARÃES *et al.* (1983), artigos de um mesmo autor ou seqüências de citações devem ser arrolados em ordem cronológica.

ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Fotografias, desenhos, gráficos e mapas serão denominados figuras. Desenhos e mapas devem ser feitos a traço de nanquim ou similar. Fotografias devem ser nítidas e contrastadas e não misturadas com desenhos. A relação de tamanho da figura, quando necessária, deve ser apresentada em escala vertical ou horizontal.

As figuras devem estar numeradas com algarismos arábicos, no canto inferior direito e chamadas no texto em ordem crescente, devidamente identificadas no verso, obedecendo à proporcionalidade do espelho (17,0 x 21,0 cm) ou da coluna (8,3 x 21,0 cm) com reserva para a legenda.

Legendas de figuras devem ser digitadas logo após à última referência bibliográfica da seção Referências Bibliográficas, sendo para cada conjunto um parágrafo distinto.

Gráficos gerados por programas de computador, devem ser inseridos como figura no final do texto, após as tabelas, ou enviados em arquivo em separado. Na composição dos gráficos usar fonte Arial. Não utilizar caixas de texto.

Figuras em formato digital devem ser enviadas em arquivos separados, no formato TIF com compactação LZW, ou JPG sem compactação. No momento da digitalização utilizar as seguintes definições mínimas de resolução: 300 ppp para fotos coloridas ou em tons de cinza; 600 ppp para desenhos a traço. Não enviar desenhos e fotos originais quando da submissão do manuscrito.

Tabelas devem ser geradas a partir dos recursos de tabela do editor de texto utilizado, numeradas com algarismos romanos e inseridas após a última legenda de figura. O cabeçalho de cada tabela deve constar junto à respectiva tabela.

Figuras coloridas poderão ser publicadas com a diferença dos encargos custeada pelo(s) autor(es).

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos, indicações de financiamento e menções de vínculos institucionais devem ser relacionados antes do item Referências Bibliográficas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As Referências Bibliográficas, mencionadas no texto, devem ser arroladas no final do trabalho, como nos exemplos abaixo.

Periódicos devem ser citados com o nome completo, por extenso, indicando a cidade onde foi editado.

Não serão aceitas referências de artigos não publicados (ICZN, Art. 9).

Periódicos

NOGUEIRA, M.R.; A.L. PERACCHI & A. POL. 2002. Notes on the lesser white-lined bat, *Saccopteryx leptura* (Schreber) (Chiroptera, Emballonuridae), from southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **19** (4): 1123-1130.

LENT, H. & J. JURBERG. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma* Laporte, 1832 (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **40** (3): 611-627.

SMITH, D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphita) of America South of the United States: Pergidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, **34** (1): 7-200.

Livros

HENNIG, W. 1981. **Insect phylogeny**. Chichester, John Wiley, XX+514p.

Capítulo de livro

HULL, D.L. 1974. Darwinism and historiography, p. 388-402. *In*: T.F. GLICK (Ed.). **The comparative reception of Darwinism**. Austin, University of Texas, IV+505p.

Publicações eletrônicas

MARINONI, L. 1997. Sciomyzidae. *In*: A. SOLIS (Ed.). **Las Familias de insectos de Costa Rica**. Available in the World Wide Web at: <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto630.html> [data de acesso].

ENCAMINHAMENTO

Os artigos enviados à RBZ serão protocolados e encaminhados para consultores. As cópias do artigo, com os pareceres emitidos serão devolvidos ao autor correspondente para considerar as sugestões. Estas cópias juntamente com a versão corrigida do artigo impressa e o respectivo disquete, devidamente identificado, deverão retornar à RBZ. Alterações ou acréscimos aos artigos após esta fase poderão ser recusados. Provas serão enviadas eletronicamente ao autor correspondente.

SEPARATAS

Todos os artigos serão reproduzidos em 50 separatas, e enviadas gratuitamente ao autor correspondente. Tiragem maior poderá ser atendida, mediante prévio acerto de custos com o editor.

EXEMPLARES TESTEMUNHA

Quando apropriado, o manuscrito deve mencionar a coleção da instituição onde podem ser encontrados os exemplares que documentam a identificação taxonômica.

RESPONSABILIDADE

O teor gramatical, independente de idioma, e científico dos artigos é de inteira responsabilidade do(s) autor(es).