

# VARIACIÓN CITOGENÉTICA, MOLECULAR Y MORFOLÓGICA DE UN NUEVO MAMÍFERO AISLADO EN CHILE CENTRAL: ¿NUEVA ESPECIE PARA LA CIENCIA?

Pedrero MA(1), Quintana E(1), Rodríguez MJ(1), Spotorno AE(2).

(1) *Estudiante de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.*

(2) *Docente del Programa de Genética Humana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.*

## CONTACTO:

Matilde Pedrero Mizunuma, [m\\_pedrero@ug.uchile.cl](mailto:m_pedrero@ug.uchile.cl)

## Resumen

Recientemente fueron encontrados especímenes no reportados del género *Eligmodontia* (Mammalia, Rodentia) en Chile Norte-Central, que difieren en distribución geográfica y morfología con especies ya conocidas. Ponemos a prueba la hipótesis nula de que tales *Eligmodontia* sp (ES) pertenecen a una especie ya descrita, posiblemente *E. puerulus* (EP) o *E. hirtipes* (EH), del Norte de Chile. Realizamos seis medidas corporales, y comparamos las de ES (n=19 individuos), EP (n=20), y EH (n=34) (test de t para 2 muestras por medio del programa STATA). También comparamos el número y la morfología de sus cromosomas, obteniendo placas metafásicas de médula ósea de tres individuos ES. El número cromosómico obtenido de ES (2n=50, NF=48) coincide con el de EH. Finalmente, analizamos 10 secuencias de 935 pb del gen para citocromo b de ES, que fueron alineadas y comparadas con las de todas las otras seis especies de *Eligmodontia* (n=53)

obtenidas desde GenBank (programa MEGA5, Bootstrap con 500 réplicas). Los resultados arrojaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las comparaciones morfológicas y de las secuencias del gen para el citocromo b entre las distintas especies. Las distancias intraespecies obtenidas (promedio d=6,7 nucleótidos) fueron todas menores en un orden de magnitud a las interespecies (promedio d=82,6 nucleótidos), incluyendo las de ES vs EH (d=92,6 nucleótidos). El nodo ES resultó con 100% bootstrap. Con estos resultados, y considerando la distribución geográfica y la definición evolutiva de especie (Simpson 1961), rechazamos la hipótesis nula, y postulamos la necesidad de describir una nueva especie de mamífero, endémico para Chile.

**Palabras claves:** *Eligmodontia*, mamífero, nueva especie, desierto de Atacama.

## CYTOGENETIC, MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL VARIATION OF A NEW ISOLATED MAMMAL IN CENTRAL CHILE: NEW SPECIES FOR SCIENCE?

### Abstract

Unreported specimens of the genus *Eligmodontia* (Mammalia, Rodentia) were found in north-central Chile, which differ in geographical distribution and morphology with known species. We test the null hypothesis that such *Eligmodontia* sp (ES) belongs to an already described species, perhaps *E. puerulus* (EP) or *E. hirtipes* (EH) from northern Chile. We took six body measurements and compared those from ES ( $n=19$  individuals), EP ( $n=20$ ), and EH ( $n=34$ ) (t-test of 2 samples by means of the program STATA). We also compared number and morphology of chromosomes, from bone-marrow metaphase plates of three ES individuals. The chromosome number of ES ( $2n=50$ ,  $NF=48$ ) was the same to that of EH. Finally, we analyzed 10 sequences of 935 bp of the cytochrome *b* gene from ES, which were aligned and compared with those from all of the other species of *Eligmodontia* obtained from GenBank (MEGA5 program, bootstrap with 500 replicas). Results were significant statistically different in mor-

phological and gene sequence comparisons between different species. The intraspecific distances obtained (mean  $d=6,7$  nucleotides) were all smaller by an order of magnitude than interspecific distances (mean  $d=82,6$  nucleotides), including those of ES vs. EH ( $d=92,6$  nucleotides). The ES node had a 100% bootstrap. These results, and the consideration of geographic distribution and the evolutionary definition of species (Simpson 1961), we reject the null hypothesis, and postulate the need of describing a new mammal species, endemic for Chile.

**Keywords:** *Eligmodontia*, mammal, new species, Atacama desert.

## Introducción

El género *Eligmodontia*, perteneciente a la tribu Phyllotini, consiste de seis especies de roedores propios del sur de Sudamérica. Las especies descritas a la fecha son las siguientes<sup>1</sup>: *Eligmodontia moreni*, *Eligmodontia puerulus*, *Eligmodontia hirtipes*, *Eligmodontia morgani*, *Eligmodontia typus*, *Eligmodontia bolsonensis*.

Este género se caracteriza por presentar aspectos morfológicos que le permiten adaptarse a climas áridos. Dentro de ellos se encuentra la coloración clara, la coalescencia de las almohadillas plantares en una sola, bullas timpánicas grandes, patas traseras alargadas, riñones especializados para el mantenimiento hídrico en condiciones de escasez de agua, entre otros<sup>2,3</sup>.

En cuanto a la distribución geográfica, la localidad tipo de las distintas especies de *Eligmodontia* se describe en la Tabla [I].

**Tabla1:** Localidades típicas de las especies de *Eligmodontia* en el sur de Sudamérica<sup>4</sup>.

Especie	Localidad tipo
<i>E. moreni</i>	Argentina, La Rioja – Chilecito (1200 m)
<i>E. typus</i>	Argentina, Buenos Aires
<i>E. morgani</i>	Argentina, Santa Cruz – Patagonia – Arroyo Else – Cañones basálticos – 50 millas SE Lago Buenos Aires
<i>E. puerulus</i>	Chile, San Pedro de Atacama, 3223 m (Latitud: -22,9° y Longitud: -68,2°)
<i>E. bolsonensis</i>	Argentina, Catamarca
<i>E. hirtipes</i>	Bolivia, Oruro, 3750 m; Chile, Putre, 3600 m (Latitud: -18,2° y Longitud: -69,5°)

El hábitat de las diferentes especies de *Eligmodontia* que habitan en Chile (*E. puerulus*, *hirtipes* y *morgani*) es similar, solo con algunas variaciones locales. El hábitat tipo de *E. puerulus* en el desierto son sitios arenosos con gramíneas y arbustos en la Cordillera de los Andes. En el Altiplano habitan sitios con sustrato de arena fina y arenales revestidos de gramíneas o con cubierta de arbustos bajos<sup>5</sup>.

Las especies conocidas que habitan en Chile son *E. puerulus*, *E. hirtipes* y *E. morgani*, ninguna de las cuales es endémica de Chile<sup>5</sup>. Y además en Chile Norte-Central no hay registro de la presencia de alguna especie de *Eligmodontia*<sup>1</sup>.

Sin embargo, en Chile recientemente fueron capturados especímenes de *Eligmodontia*, evidenciados por sus cojinetes plantares fusionados, en tres localidades, las que no coinciden con las distribuciones geográficas conocidas:

-1 km al norte de Caldera (Latitud: -27,06°, Longitud: -70,81°, 24 m)

-40 km al sur de Copiapó (Latitud: -27,3°, Longitud: -70,3°, 391 m)

-Playa los Choros (Latitud: -29,24°, Longitud: -71,46°, 4 m)

En cuanto al hábitat de los nuevos especímenes encontrados en las tres localidades mencionadas, corresponde a semidesierto (30 – 40% del suelo está cubierto de vegetación). La principal diferencia entre el hábitat de los individuos encontrados y los ya descritos es la altura, ya que los de Punta de Choros, Copiapó y Caldera se encuentran a niveles que no sobrepasan los 391 m. de altura, mientras que los *Eligmodontia* ya descritos para

Chile habitan en lugares que bordean los 3000 m. de altura.

Adicionalmente, estos especímenes encontrados poseen características morfológicas, como su bajo peso, que no permite clasificarlos inequívocamente dentro de las especies ya conocidas.

Es relevante para este estudio destacar que no existen caracteres únicos para diferenciar a las especies de *Eligmodontia*. Las distintas descripciones de los tipos y subespecies se han basado en pocos caracteres y generalmente relacionados con morfología externa. Entre éstos, la coloración de los pelos del vientre (blanco hasta la base o base grisácea), la cola (bicolor o no, terminada en pincel o no, largo en relación al cuerpo) y otros que reflejan una gran variabilidad<sup>4</sup>.

Estos antecedentes abren la interrogante sobre la naturaleza de los especímenes encontrados, pudiendo ser éstos una nueva especie o proceder de otra ya conocida. En el segundo caso, lo más probable, por un criterio de cercanía, es que pertenezcan a *Eligmodontia puerulus*, el cual tiene un cariotipo de  $2n=34$ , o a *E. hirtipes*, el cual tiene un cariotipo de  $2n=50$ .

Para determinar si *Eligmodontia* sp es una especie distinta o no, utilizaremos como marco teórico conceptual el concepto de especie evolutiva que dice:

*“Una especie evolutiva es un linaje único de poblaciones de organismos, ancestro descendientes, que mantiene su identidad de otros linajes, y que tiene sus propias tendencias evolutivas y su destino histórico.”*<sup>6,7</sup>. Este concepto ha sido recientemente propuesto como el fundamental para una taxonomía integrativa, término que enmarca el uso de distintas líneas de evidencia para descubrir y delimitar especies, pero sin negar que una sola puede proveer suficiente evidencia para determi-

nar una especie en particular<sup>8</sup>. Interpretaremos nuestros datos bajo esta perspectiva.

## Hipótesis

La hipótesis inicial ( $H_0$ ) es que: los individuos aislados *Eligmodontia* sp pertenecen a una población de la especie *E. puerulus* o de *E. hirtipes* que migró hasta llegar a la zona donde fueron capturados los nuevos especímenes.

Si se descarta esta hipótesis nula, a través de comparaciones morfológicas, cromosómicas y de secuencias, aumenta la probabilidad de que la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) sea correcta, es decir, que *Eligmodontia* sp es una nueva especie.

## Objetivos

Este trabajo tiene como objetivo general clasificar dentro del género *Eligmodontia* a los especímenes encontrados, ya sea como una de las especies ya conocidas o como una nueva.

Los objetivos específicos son:

1) Evaluar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre diversas medidas corporales de *Eligmodontia* sp con los de las especies conocidas en Chile.

2) Determinar si el número cromosómico de *Eligmodontia* sp se diferencia o no del número cromosómico de las especies conocidas en Chile.

3) Evaluar posibles diferencias de las secuencias del gen para el citocromo b de *Eligmodontia* sp con los de las especies ya conocidas en Chile.

Estos objetivos nos permitirán descartar o no  $H_0$ . Si es descartada, el siguiente paso será iniciar estudios para caracterizar a esta nueva especie y dejar los especímenes como documentación de respaldo.

## Materiales y métodos

Los *Eligmodontia* sp fueron capturados vivos en el campo, en las 3 localidades ya mencionadas, por varios colectores mediante trampas Sherman y procesados en el Laboratorio de Citogenética Evolutiva del Dr. Angel Spotorno de acuerdo a procedimientos estándar<sup>9</sup>.

### *Actividad 1). Comparación morfológica*

Para esta actividad se utilizaron medidas corporales de una muestra de *E. sp* (n=19 individuos), de *E. puerulus* (n=20) y de *E. hirtipes* (n=34). Los datos de *E. puerulus* y *E. hirtipes* fueron facilitados por el Dr. Angel Spotorno de su colección personal y de archivos de la Universidad de California, Berkeley. Los individuos *E. sp* que se obtuvieron de las 3 localidades descritas anteriormente fueron pesados con una balanza de precisión de 0,1g y medidos con Vernier. Fueron excluidos de esta muestra individuos juveniles (evidenciado por su bajo peso o bajo desarrollo de las gónadas) y hembras preñadas.

Los parámetros analizados fueron: peso, largo del cuerpo, largo de la cola, cuerpo más cola, largo de pata y largo de la oreja. Para cada parámetro se hizo una comparación mediante el programa STATA utilizando test de t para 2 muestras (*E. sp*-*E. hirtipes* y *E. sp*-*E. puerulus*) con un nivel de significación de 0,05.

### *Actividad 2). Comparación citogenética*

De la muestra de *Eligmodontia* sp se procesaron 3 individuos de la localidad 40 km al sur de Copiapó de acuerdo al protocolo de obtención de placas metafásicas<sup>10</sup>. Se inyectó colchicina intraperitonealmente, se extrajo la médula ósea de los fémures y la muestra fue suspendida en solución salina hipotónica, con ácido acético y metanol, y

posteriormente goteada sobre un portaobjetos. Estos individuos fueron identificados como 4487 (hembra), 4488 (hembra) y 4489 (hembra).

De cada individuo, tres placas metafísicas fueron teñidas con Giemsa y observadas al microscopio para ser evaluadas. Luego de observar todas las placas, se eligieron las mejores metafases (según tamaño y separación de cromosomas), las cuales fueron fotografiadas de acuerdo al protocolo para Microfotografía en Campo Claro de la cámara Nikon Coolpix 4500 para uso en microscopía. Las metafases elegidas para realizar el conteo fueron siete y correspondieron a los individuos 4488 y 4489.

Finalmente, para realizar el cariotipo, se eligió una metafase correspondiente al individuo 4488. Los cromosomas fotografiados de esta placa metafísica se montaron de mayor a menor tamaño por medio del programa Photoshop y se compararon con los de *Eligmodontia puerulus* e *hirtipes* ya publicados<sup>1</sup> de acuerdo al número cromosómico, morfología y número de brazos cromosómicos.

### *Actividad 3). Comparación molecular*

Por medio del programa MEGA5 se obtuvieron de GenBank 53 secuencias para el gen de citocromo b, descritas por Mares et al., correspondientes a especímenes de las seis especies ya descritas de *Eligmodontia*.

Estas serán comparadas con 10 secuencias obtenidas de los especímenes de *Eligmodontia sp* provenientes de las tres localidades, cuyas muestras de hígado fueron amplificadas por PCR en el laboratorio y posteriormente enviadas a secuenciar.

Las secuencias del gen para el citocromo b de todos los especímenes, fueron alineadas, compara-

das, agrupadas y evaluadas estadísticamente en su agrupación por medio de la técnica estadística de remuestreo (Bootstrap con 500 réplicas)<sup>11</sup>. Para esta comparación y elaboración de filogenia mediante el programa MEGA5, se obtuvieron las distancias genéticas (número de diferencias nucleotídicas) intraespecie e interespecie. Como grupos externos se usaron las secuencias de géneros filotinos como *Phyllotis* y *Calomys*.

## Consideraciones bioéticas

Para la presente investigación, no fue necesario realizar una solicitud de aprobación al Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, ya que las muestras fueron facilitadas por el Dr. Angel Spotorno, y obtenidas por personal capacitado del Laboratorio de Citogenética Evolutiva.

## Resultados

### *Comparación morfológica*

El análisis realizado por el programa STATA arrojó como resultado diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0,05$ ) para todos los parámetros corporales analizados. La probabilidad de que *Eligmodontia sp* pertenezca a una población de *E. puerulus* o *E. hirtipes* es menor a  $10^{-4}$ .

El programa STATA no muestra la probabilidad exacta del parámetro analizado, pero cálculos adicionales realizados con un programa estadístico proporcionado por el Dr. Carlos Valenzuela determinaron que la probabilidad de que por simple azar las muestras provengan de una misma población es menor a  $10^{-6}$ .

Los datos de las diversas medidas corporales obtenidas para el análisis mediante el test de t son presentadas en la Tabla [2].

	Peso (gr)		Largo cuerpo (mm)		Largo cola (mm)	
Taxon	n	X + DS	n	X + DS	n	X + DS
E. hirtipes	32	24,05 + 5,22	34	89,02 + 7,8	34	81,2 + 7,38
E.sp	19	12,17 + 2,01	17	70,7 + 3,99	17	67,58 + 4,91
E. puerulus	20	22,8 + 4,67	20	81,75 + 5,26	20	76,4 + 5,47
	Cuerpo + cola (mm)		Largo pata (mm)		Largo oreja (mm)	
Taxon	n	X + DS	n	X + DS	n	X + DS
E. hirtipes	34	170,23 + 13,67	34	24,29 + 1,66	34	18,5 + 2,5
E.sp	17	138,29 + 7,85	17	19 + 0,79	17	13,7 + 1,68
E. puerulus	20	158,15 + 9,62	20	24,3 + 1,03	20	16,97 + 1,76

**Tabla 2:** Medidas corporales de las especies de *Eligmodontia*. Tamaño de muestra [n], promedio [X] y desviación estándar [DS] son indicadas para cada medida.

### Comparación citogenética

Luego de realizar el conteo cromosómico de las 7 placas seleccionadas, se estableció que el número cromosómico de *Eligmodontia* sp es  $2n=50$ , con un número de brazos cromosómicos autosómicos (NF) de 48. Este número difiere de todas las especies sudamericanas de *Eligmodontia*, excepto de *E. hirtipes* que tiene el mismo número diploide  $2n=50$ , y  $NF=48$ .

El cariotipo obtenido de *Eligmodontia* sp (Figura [1A]) permite hacer una comparación con los cromosomas del cariotipo de *Eligmodontia hirtipes* (Figura [2B]), la cual no arrojó diferencias significativas entre la morfología

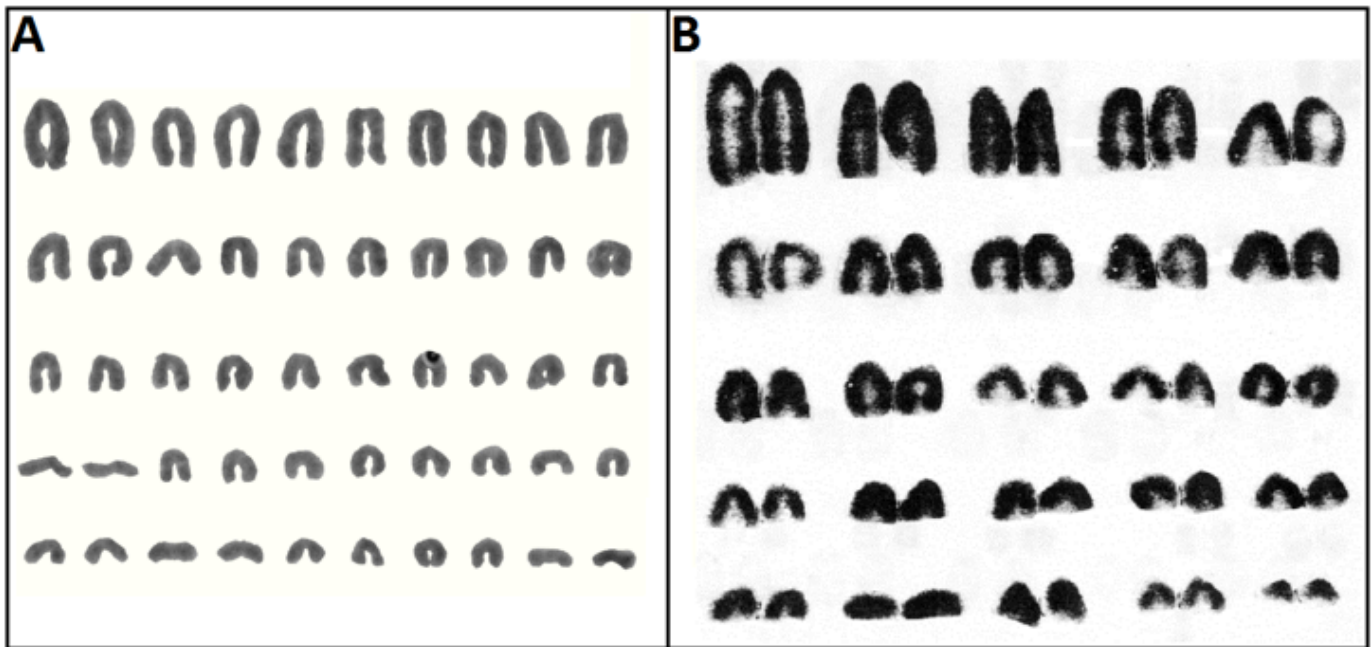


Figura 1A Cariotipo Eligmodontia sp. [ind. 4488]

Figura 1B: Cariotipo Eligmodontia hirtipes12.

### Comparación molecular

Las 10 secuencias de Eligmodontia sp del gen para el citocromo b obtenidas tienen un largo de 935 pb. Con las secuencias disponibles de E. sp y de todas las especies de Eligmodontia, se obtuvieron las distancias intra e interespecie mostradas en la Tabla [3].

#### Interespecie

Taxon	Intraespecie	1	2	3	4	5	6
1 E. hirtipes	5,78						
2 E. sp	6,51	92,62					
3 E. puerulus	4,60	65,00	80,76				
4 E. moreni	5,39	69,83	73,72	36,77			
5 E. bolsonensis	7,33	95,16	92,93	89,20	93,74		
6 E. typus	7,92	93,26	91,38	88,33	88,93	20,93	
7 E. morgani	9,29	91,90	86,70	88,35	81,14	93,86	92,77

**Tabla 3:** Distancias genéticas [número de diferencias nucleotídicas] intraespecie e interespecies.

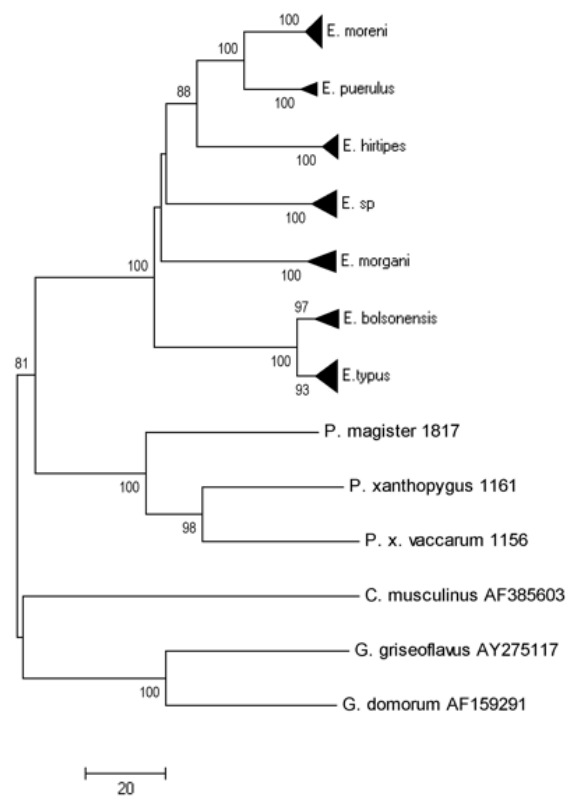


Todas las distancias intraespecies (promedio  $d=6,7$  nucleótidos) fueron menores en un orden de magnitud a las interespecies (promedio  $d=82,6$  nucleótidos). Así la distancia intraespecie de *Eligmodontia* sp fue menor que la distancia que hay entre *E. sp* y cualquier otra especie de *Eligmodontia*. Esto indica que existen diferencias biológicamente significativas en cuanto a la comparación de las secuencias del gen para el citocromo b.

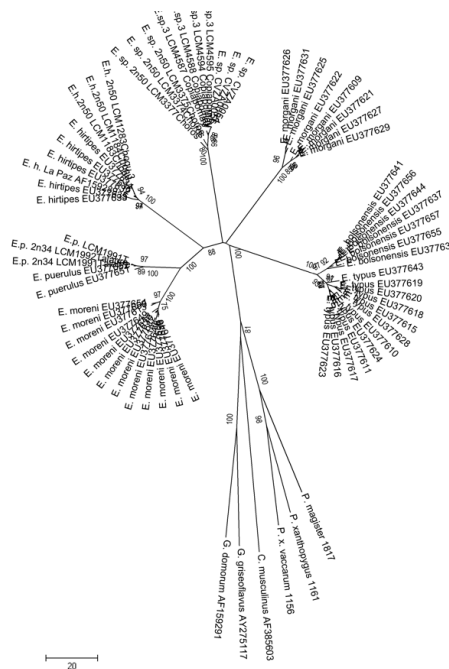
Con las secuencias del gen para el citocromo b fue posible construir un árbol filogenético para estos especímenes de *Eligmodontia* mediante el programa MEGA5 (Figura [2]). Esta filogenia muestra, a simple vista, a *Eligmodontia* sp como un grupo claramente separado, con un nodo que para este grupo resultó con un 100% bootstrap, es decir consistente en las 500 réplicas.

Los resultados de las distancias genéticas son posibles de ver gráficamente en la Figura [3], donde se pueden apreciar 3 aspectos:

- 1) Todos los *Eligmodontias* comparten un ancestro común separado de los outgroups, por lo tanto el género *Eligmodontia* constituye un grupo monofilético.
- 2) Cada especie de *Eligmodontia* se encuentra constituyendo clados separados entre si.
- 3) *Eligmodontia* sp constituye un único clado separado genéticamente de las demás especies de *Eligmodontia* y con una baja distancia genética intraespecie.



**Figura 2:** Filogenia de las especies de *Eligmodontia* y *E. sp* resultante del análisis del gen para el citocromo b utilizando el método Neighbor-Joining. Esta filogenia sólo muestra valores de bootstrap > 50%.



**Figura 3:** Filogenia de radiación de las especies de *Eligmodontia* y *E. sp* resultante del análisis del gen para el citocromo b utilizando el método Neighbor-Joining.

## Discusión

Las diversas comparaciones realizadas apuntan a una misma conclusión general, aunque no todos los resultados obtenidos son completamente congruentes en primera instancia.

La primera comparación realizada sobre las distintas medidas corporales entre *E. sp.*, *E. puerulus* y *E. hirtipes*, establece la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre ellas, indicando que la probabilidad de que *Eligmodontia sp* pertenezca a *E. hirtipes* o *E. puerulus* es muy baja, menor a  $10^{-6}$ . Además, los resultados (Tabla [2]) indican que se trata de individuos adultos de *Eligmodontia sp* de muy pequeño tamaño corporal. Este primer resultado apunta claramente a descartar la hipótesis nula e inclinarse a la hipótesis alternativa, de manera inicial.

En cuanto a la comparación citogenética, éste es el único resultado que no permite descartar la hipótesis nula, ya que el número diploide obtenido para *Eligmodontia sp* ( $2n=50$ ) permite descartar a todas las especies conocidas de *Eligmodontia*<sup>1</sup>, excepto a *E. hirtipes* que también posee un número cromosómico  $2n=50$ . Además, la comparación morfológica de los cromosomas tampoco arrojó diferencias significativas entre *E. sp* y *E. hirtipes*, teniendo ambas especies cromosomas telocéntricos que no se diferencian en cuanto a tamaño (Figuras [IA] y [IB]). Por lo tanto esta comparación por sí sola rechaza que *Eligmodontia sp* pertenezca a *E. puerulus*  $2n=34$ <sup>1</sup>, pero no rechaza la posibilidad de que pertenezca a *E. hirtipes*. Además establece que, en cuanto a la citogenética, ambos grupos resultan bastante parecidos y podrían, por tanto, pertenecer al mismo linaje.

Finalmente, la comparación molecular del gen

para el citocromo b arroja que las diferencias entre *Eligmodontia sp* y todas las especies de *Eligmodontia* resultan significativamente mayores que la diferencia intraespecie de *Eligmodontia sp.*, lo cual concuerda con lo obtenido para las otras especies del género<sup>1</sup>. Lo anterior entonces, también apunta en contra de nuestra hipótesis nula. Además, cabe indicar que la diferencia entre *Eligmodontia sp* y *E. hirtipes* es de 92,62 nucleótidos, siendo la segunda mayor diferencia interespecie que tiene *E. sp* (Tabla [3]). Y el hecho de que el nodo de *E. sp* resultara con 100% bootstrap indica también que constituyen efectivamente un clado separado genéticamente de las demás especies de *Eligmodontia*.

En conclusión, todos los resultados apuntan a descartar la hipótesis nula, excepto la comparación cromosómica, lo que podría ser explicado si *E. sp* fue una especie derivada originalmente de una población de *E. hirtipes*. Respecto de la evolución del género *Eligmodontia*, existe evidencia que apoya la hipótesis de que su evolución y diferenciación en las distintas especies está relacionada con cambios en la vegetación, clima y geología de Sudamérica<sup>1</sup>. Particularmente relevante es la emergencia de la Cordillera de los Andes y sus cadenas, que comenzó durante el Mioceno medio, generando un aislamiento geográfico, y una diversificación de la flora y fauna local. La divergencia de los *Eligmodontia* desde los filotinos se ha estimado en 7-13 mya (millones de años atrás)<sup>1</sup>. Durante el Plioceno, las poblaciones de *Eligmodontia* en el semidesierto argentino se separaron en dos clados: uno que originaría las especies *typus* y *bolsonensis*, y el segundo, siguiendo el flanco este de la Cordillera de los Andes,

da origen a hirtipes (2,6 mya), puerulus, moreni, morgani, los primeros tres compartiendo un ancestro común<sup>1</sup>.

Es posible entonces proponer que *E. sp* comparte una historia evolutiva con *E. hirtipes*, dadas las altas similitudes citogenéticas evidenciadas por nosotros. La divergencia entre ambas podría tener relación con el aislamiento geográfico que genera el desierto de Atacama, que divide dos hábitats muy distintos: el Altiplano para los *Eligmodontia hirtipes*, y las planicies de la zona centro-norte de Chile para los *Eligmodontia sp*.

Al analizar estos resultados bajo una taxonomía integrativa<sup>8</sup>, y específicamente la definición evolutiva de especie<sup>6,7</sup>, es razonable concluir que este grupo de individuos *E. sp* del centro-norte de Chile, por sus diferencias genéticas (Tabla [3]), y corporales (Tabla [2]), constituyen un linaje biológico con una identidad genético-molecular y corporal claramente diferente a la de *E. hirtipes* o *E. puerulus*. Por otra parte, su aislamiento geográfico actual, con el desierto de Atacama separando sus poblaciones de las de *E. puerulus* y de *E. hirtipes*, así como sus distancias moleculares sustantivas, también indican que *E. sp* constituye un linaje independiente con tendencias evolutivas propias, y con una adaptación no a las tierras altas y secas del Altiplano de la I y I Región, sino a las planicies semi-áridas de la III Región de Atacama donde vive actualmente. Un estudio más profundo de otros sitios intermedios geográficamente, podría definir las capacidades ecológicas y reproductivas de este nuevo linaje, así como eliminar la posibilidad de la existencia de poblaciones intermedias hasta ahora no detectadas.

Entonces, al tomar en cuenta los resultados en su conjunto, y siguiendo una taxonomía integrativa, rechazamos la hipótesis nula de que *Eligmodon-*

*tia sp* pertenece a una población de *E. puerulus* o *E. hirtipes*, haciéndose más plausible la hipótesis alternativa: que *E. sp* es una nueva especie no descrita para la ciencia. Este resultado tiene otras implicancias, ya que sería la primera especie endémica de *Eligmodontia* en Chile y además el mamífero más pequeño de las especies propias de Chile. Por otra parte, la presencia de una nueva especie con individuos de tamaño corporal tan pequeño abre la perspectiva de encontrar características fisiológicas particulares nuevas que resultan de la adaptación a ambientes tan secos y desafiantes como los de la III Región, al borde de un super desierto como el de Atacama.

## Agradecimientos

Agradecemos a los Dres. C. Zuleta y JP. Valladares por la provisión de animales y datos, a la Dra. L. Walker por su ayuda en la parte citogenética, y a los Dres. JC. Marín y E. Palma por los datos de secuencias.

## Referencias

- 1.- Mares MA, Braun JK, Coyner BS y Van Den Bussche RA. Phylogenetic and biogeographic relationships of gerbil mice *Eligmodontia* [Rodentia, Cricetidae] in South America, with a description of a new species. *Zootaxa* 2008; 1753: 1-33
- 2.- Mares MA. Water economy and salt balance in a South American desert rodent, *Eligmodontia typus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1977; 56A:325-332
- 3.- Díaz GB, Ojeda RA. Kidney structure of Argentine desert rodents. *Journal of Arid Environments* 1999; 41:453-461
- 4.- Lanzone C, Ojeda RA. Citotaxonomía y distribución del género *Eligmodontia* [rodentia, cricetidae, sigmodontinae]. *Mastozoología Neotropical* 2005; 12[1]:73-77
5. Muñoz A, Yañez J. Mamíferos de Chile. CEA Ediciones, Santiago, 2009.
- 6.- Wiley EO. The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Zoology* 1978; 27: 17-26.
7. Simpson GG. Principles of animal taxonomy. Columbia University Press, New York, USA, 1961.
8. Padiál J, de la Riva I. A response to recent proposals for integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 2010; 101: 747-756
9. Sikes R, Gannon W, The Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammology* 2011; 92[1]: 235-253.
10. Lee MR, y Elder FFB. Yeast stimulation of bone marrow mitoses for cytogenetic investigations. *Cytogenet. Cell Genet* 1980; 26:36-40.
11. Kumar S, Tamura K, Jacobsen IB y Nei M. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software, Version 2.1. Arizona State University, Tempe, 2001.
12. Spotorno AE, Sufan-Catalan J y Walker L. Cytogenetic diversity and evolution of Andean species of *Eligmodontia* [Rodentia, Muridae]. *Z. Säugetierkunde* 1994; 59: 299-308.