

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

VARIABILIDAD GENÉTICA Y PRINCIPIOS FILOGEOGRÁFICOS DE *Callisaurus draconoides* EN EL ESTADO DE SONORA CON BASE EN EL GEN CITOCROMO B (Cyt b)



TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
CON OPCIÓN EN:
RECURSOS NATURALES TERRESTRES

PRESENTA:

SAMAI ARCE JIMÉNEZ

Hermosillo, Sonora

Junio de 2019

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMATO DE APROBACIÓN

Los miembros del Comité de Tesis designado para revisar la Tesis de Samai Arce Jiménez la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito para obtener el Título de Licenciado en Biología con Opción en Recursos Naturales Terrestres.

M.C. Nohelia Guadalupe Pacheco Hoyos
Director de Tesis

Dr. Alejandro Varela Romero
Sinodal Secretario

Dr. Francisco Elizandro Molina Freaner
Sinodal

Biól. Javier Edgar Verdugo Molina
Suplente

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia, principalmente a mis padres que han sido las primeras personas que creyeron en mí y que me han apoyado en todas mis decisiones a lo largo de estos años, gracias por ayudarme a crecer y desarrollarme como la persona que soy actualmente, son el principal motor de mi vida y de todos mis logros. Gracias por siempre estar presente en cada paso que doy, estaré eternamente agradecida con la vida por tenerlos como padres.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a la Universidad de Sonora, al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora y al Laboratorio de Ecología Molecular por aceptarme, apoyarme y darme los conocimientos necesarios para llevar a cabo mi tesis de licenciatura.

Se agradece a la M.C. Nohelia Guadalupe Pacheco Hoyos, directora del presente proyecto quien me ha brindado todo su conocimiento, paciencia y tiempo a lo largo de estos últimos años. Gracias por haber sentado las bases para poder llevar a cabo este trabajo, por su apoyo inigualable y por todas sus enseñanzas que me abrieron las puertas para nuevas áreas de la biología logrando encontrar mi pasión por la evolución y conservación de las especies.

Agradezco al comité de tesis conformado por el Dr. Alejandro Varela Romero, el Dr. Francisco Elizandro Molina Freaner y el Biol. Javier Edgar Verdugo Molina quienes gracias a sus comentarios y gran apoyo permitieron la realización de esta investigación.

Se agradece al Laboratorio de Conservación de Fauna silvestre del Instituto de Ecología de la UNAM por haber extendido el permiso de colecta para poder llevar a cabo el muestreo de las lagartijas *Callisaurus draconoides*.

Un especial agradecimiento al Dr. Alejandro Varela Romero por su inigualable apoyo en la realización de este proyecto, por todos sus comentarios, su conocimiento y el tiempo brindado en mi formación tanto como estudiante de licenciatura como tesista de su laboratorio. Muchas gracias por siempre encontrar el tiempo y tener la mejor disposición para ayudarme no sólo en la realización de este trabajo, sino también, como su estudiante en la carrera.

Agradezco al Dr. Francisco Molina Freaner por todos sus conocimientos a lo largo de mi carrera como estudiante de Licenciatura, por todos sus comentarios y revisiones como parte de mi comité de tesis. Muchas gracias por todo su apoyo, paciencia, tiempo y por siempre tener la mejor disposición de ayudarme en el desarrollo y culminación de este trabajo de tesis.

Se agradece al Biólogo Javier Edgar Verdugo Molina por haberme brindado sus conocimientos en ecología de reptiles, principalmente de la especie *Callisaurus draconoides*.

Gracias por su apoyo en el muestreo de la tesis, por todos sus comentarios como parte del comité y por todo el tiempo brindado a lo largo de la realización de este proyecto.

Agradezco a mi compañera y gran amiga Karla Elisa Martínez Cota por su gran apoyo, tiempo y consejos a lo largo de toda mi carrera universitaria. Gracias por haberme ayudado tanto en el desarrollo como en la culminación de este proyecto, pero principalmente muchas gracias por haberme adoptado como una hermana y recibirme en tu hogar. Muchísimas gracias por todo, sin ti nada de esto hubiera sido posible.

Un especial agradecimiento a mis compañeros del Laboratorio de Ecología Molecular del DICTUS, principalmente a Román Rodríguez Ramírez y a Eduardo Sánchez Murrieta por siempre tener la mejor disposición de ayudar, por todos sus conocimientos y tiempo en toda mi estancia como tesista de licenciatura.

Agradezco a los miembros de la Red para la Conservación de los Anfibios y Reptiles de Sonora (RCARSON) principalmente a: Asael Alberto Grijalva Grijalva, Jesús Encinas Mungarro, María Guadalupe Rodríguez Valenzuela, Ximena Valeria Martínez Miranda, Karina Camalich Arvayo, Gerardo Rafael Bojórquez Martínez, Iván Roberto Barreras Gutiérrez y Daniela Barajas González, por todo su tiempo y gran apoyo en el trabajo y muestreo de campo. También agradezco a Jorge Jiménez Canale y Juan Pablo Cordova Castillo por sus maravillosas imágenes de la especie *C. draconoides* que pudieron ser utilizadas en el presente trabajo.

Doy gracias a mis compañeros y amigos de la licenciatura: Karla Elisa Martínez Cota, Andrea Marisol Paredes Gallardo, Zayra Patricia Mena Chavarría y Omar Ávila García. Gracias por su valiosa amistad que me brindaron a lo largo de estos años, por recibirme en sus hogares y por su gran apoyo para mi crecimiento tanto como bióloga como persona.

Se agradece al Laboratorio de Ecología de Zonas Áridas y Semiáridas del Instituto de Ecología de la Estación Regional del Noroeste, Unidad Hermosillo de la UNAM, principalmente a la Dra. Enriquena Bustamante, al Dr. Alberto Búrquez Montijo y a la Dra. Angelina Martínez Yrizar por todo su apoyo y enseñanzas de ecología y evolución.

Un especial agradecimiento al M.C. Apolinar Misael Hernández por todos sus conocimientos brindados en el trabajo de laboratorio, consejos y comentarios durante el desarrollo de la tesis.

Por último, agradezco infinitamente a mis padres y hermanos por todo su apoyo incondicional durante todos estos años, gracias por siempre creer en mí.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
II.1. Variabilidad genética	4
II.2. Parámetros para estimar la variabilidad genética con marcadores moleculares	6
II.3. Filogeografía	9
II.4. Filogeografía y Teoría de Coalescencia	13
II.5. Perrita del desierto o lagartija cola de cebra <i>Callisaurus draconoides</i>	15
III. JUSTIFICACIÓN	20
IV. HIPÓTESIS CIENTÍFICA	20
V. OBJETIVOS	21
V.1. Objetivo General	21
V.2. Objetivos Específicos	21
VI. METODOLOGÍA	22
VI.1. Descripción del área de estudio y colecta de datos	22
VI.2. Colecta de individuos y tejido	24
VI.3. Trabajo de laboratorio	24
VI.3.1. Extracción de ADN	24
VI.3.2. Amplificación del gen mitocondrial Citocromo b	25
VI.4. Análisis de datos	25
VI.4.1. Edición y alineamiento de las secuencias	25
VI.4.2. Diversidad genética	26
VI.4.3. Análisis filogeográficos	27
VII. RESULTADOS	28

VIII. DISCUSIÓN	42
IX. CONCLUSIONES	50
X. LITERATURA CITADA	51
XI. APÉNDICES	58

LISTA DE TABLAS

Tabla I	Lista de subespecies descritas para <i>Callisaurus draconoides</i> según la base de datos de reptiles (The reptile Database).	18
Tabla II	Datos geográficos y ubicación de las poblaciones muestreadas.	24
Tabla III	Haplotipos utilizados como grupos externos para análisis filogenéticos.	27
Tabla IV	Medidas de variabilidad genética para secuencias de <i>Callisaurus draconoides</i> con distribución en el estado de Sonora con base en el gen Cyt b.	28
Tabla V	Medidas de variabilidad genética para secuencias de cada una de las áreas de muestreo de <i>Callisaurus draconoides</i> con distribución en el estado de Sonora con base en el gen Cyt b.	30
Tabla VI	Prueba D de Tajima para secuencias de cada una de las áreas muestreadas de <i>Callisaurus draconoides</i> .	30
Tabla VII	Medidas de variabilidad genética para secuencias de cada una de las subespecies de <i>Callisaurus draconoides</i> encontradas en la base de datos del GenBank con base en el gen Cyt b.	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa genético del ADN mitocondrial.	11
Figura 2	Aspectos de la morfología de la lagartija “perrita del desierto” <i>Callisaurus draconoides</i> .	16
Figura 3	Ubicación geográfica de las poblaciones muestreadas.	23
Figura 4	Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de <i>C. draconoides</i> del Cerro El Bachoco.	31
Figura 5	Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de <i>C. draconoides</i> del Cerro Johnson.	31
Figura 6	Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de <i>C. draconoides</i> de Bahía de Kino.	32
Figura 7	Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de <i>C. draconoides</i> de la Playa Miramar.	32
Figura 8	Inferencia filogenética de <i>C. draconoides</i> con base en el gen mitocondrial Cyt b bajo el método de Máxima Verosimilitud.	36
Figura 9	Distribución geográfica de los haplotipos del gen mitocondrial Cyt b en las distintas poblaciones de <i>Callisaurus draconoides</i> en el estado de Sonora.	38
Figura 10	Red de haplotipos del gen mitocondrial Cyt b para los distintos linajes de <i>Callisaurus draconoides</i> en el estado de Sonora usando a <i>Holbrookia maculata</i> como grupo externo.	39
Figura 11	Red de haplotipos parcial del gen mitocondrial Cyt b para los distintos linajes de <i>Callisaurus draconoides</i> usando a <i>Holbrookia maculata</i> como grupo externo.	40

RESUMEN

Sonora es un estado que se encuentra ubicado en el noroeste de México y se localiza en una zona de transición entre la región Neotropical y la región Neártica. Debido a estas características geográficas, Sonora posee una gran diversidad de especies y de hábitats. *Callisaurus draconoides* comúnmente conocida como “perrita del desierto” es una lagartija emblemática del desierto Sonorense debido a las características biológicas que posee y a su abundancia. Actualmente se encuentra como especie amenazada según la NOM-059-SEMARNAT-2010 debido a los diferentes cambios que ha sufrido en su hábitat. La taxonomía de esta lagartija también ha cambiado durante los últimos años, en la actualidad la base de datos de reptiles reconoce 9 subespecies. Este trabajo describe la diversidad genética y los patrones filogeográficos de cuatro posibles demes poblaciones de *C. draconoides* con distribución en los municipios de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora con base en el gen mitocondrial Cyt b como marcador molecular.

Se analizaron 52 secuencias con 1166pb para las cuatro poblaciones, en donde se lograron obtener un total de 15 individuos para la población del Cerro El Bachoco, 23 para el Cerro Johnson, 8 para la Playa Miramar y 6 para Bahía de Kino. Las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson presentan una mayor variabilidad genética que las poblaciones costeras de Bahía de Kino y la Playa Miramar. Los análisis de redes de haplotipos indican la existencia de dos haplogrupos diferenciados: el primero corresponde a las poblaciones con distribución en el norte y el segundo corresponde a las poblaciones con distribución en los estados adyacentes al Golfo de California. Este estudio aporta información que servirá como un antecedente importante sobre la diversidad genética y filogeografía de las poblaciones de este reptil en Sonora.

I. INTRODUCCIÓN

La genética de poblaciones es una herramienta muy importante para comprender cómo las especies evolucionan y se adaptan a diferentes ambientes. Además, sirve para llevar a cabo análisis que permitan inferir el comportamiento futuro de las poblaciones dadas sus características (Eguiarte y Piñero, 1990). Uno de los principales objetivos de la genética de poblaciones es explicar los patrones de la variación genética entre y dentro de las poblaciones naturales con base a las diferentes fuerzas evolutivas (Eguiarte et al., 2013). Esta disciplina surgió alrededor de las décadas de los años 20 y 30 con los trabajos de Ronald A. Fisher, Sewall Wright y John Burdon S. Haldane y se convirtió en una de las principales herramientas para el estudio de la evolución.

El estudio de la variación del material genético de una población o especie es el primer paso de cualquier estudio evolutivo. Si no hay variación genética en una población no pueden actuar las fuerzas evolutivas y por lo tanto no hay evolución (Piñero et al., 2008). Cuando las poblaciones tienen altos niveles de variabilidad genética generalmente se debe a que son y han sido muy grandes o que existe un gran flujo genético entre ellas; sin embargo, cuando las poblaciones tienen muy poca variación genética es porque posiblemente sean muy pequeñas o que hay muy poco flujo genético entre ellas (Eguiarte et al., 2013).

En México se han utilizado distintos marcadores moleculares para describir la variación genética de las especies, tales como microsatélites, isoenzimas, polimorfismos de fragmentos de restricción (RFLP), repetidos de secuencias internas (ISSR), polimorfismos de ADN amplificados en mayor o menor grado (RAPD y AFLP) y secuencias de ADN (Piñero et al., 2008). Los marcadores moleculares que se utilizan dependen de la pregunta de investigación, las características del marcador, la viabilidad en su uso y de los recursos económicos disponibles.

La variación genética tiende a tener diferentes patrones de distribución geográfica con base al resultado de los diferentes procesos de la historia filogenética y geográfica del ADN de organelos como la mitocondria y el cloroplasto. La filogeografía es una disciplina encargada del estudio de esos procesos y se considera como un punto de unión entre la micro y macroevolución debido a que se pueden extrapolar los procesos microevolutivos que operan dentro de las

especies a las diferencias macroevolutivas entre especies (Avise et al., 1987; Hickerson et al., 2010).

Los análisis de datos mitocondriales a nivel de especie han sido de gran importancia en el desarrollo y consolidación para la filogeografía como disciplina. El ADN mitocondrial se convirtió en el marcador molecular de los animales vertebrados debido a sus características como la alta tasa de evolución, prácticamente nula recombinación, variación intraespecífica y, con algunas excepciones, su herencia estrictamente materna (Vázquez-Domínguez, 2007). La variabilidad genética que presenta el ADN mitocondrial se encuentra en los haplotipos, los cuales llevan un registro de la historia matrilineal de eventos mutacionales. Los haplotipos son importantes para la filogeografía ya que se pueden conectar filogenéticamente en un filograma y sobreponerse a la distribución geográfica de la especie (Avise, 2009).

La filogeografía se ha convertido en una herramienta muy importante debido a que permite comprender la influencia de la historia evolutiva en los patrones de diversidad de las especies (Avise, 1998). Además, la filogeografía en conjunto con la genética de poblaciones y la biogeografía han permitido tener impactos de gran importancia en las áreas de biología, evolución, ecología y conservación (Vázquez-Domínguez, 2007).

El estado de Sonora se encuentra ubicado en el noroeste de México en la frontera con Estados Unidos y se localiza en una zona de transición entre la región Neotropical y la región Neártica (Molina y Van Devender, 2010). Debido a estas características geográficas, Sonora posee una gran variedad de especies y de hábitats, desde el desierto árido hasta el bosque tropical caducifolio (Dimmit, 2000). La mayoría de las investigaciones biológicas de Sonora han sido realizadas por naturalistas extranjeros ya que la entidad está alejada de las instituciones del centro del país, de manera que los estudios ecológicos y evolutivos no han logrado incluir e integrar la mayor parte de la biodiversidad conocida (Molina y Van Devender, 2010).

Callisaurus draconoides (Blainville, 1835) es una lagartija emblemática del desierto Sonorense comúnmente conocida como “perrita del desierto” o “lagartija cola de zebra” debido a los patrones de coloración de su cola (Li et al., 2012). Su distribución geográfica incluye los estados mexicanos de Baja California Sur, Sonora y Sinaloa, así como el sureste de los Estados Unidos de América (Pianka y Parker, 1972). Actualmente según la NOM-059-SEMARNAT-2010 se encuentra bajo el estatus de amenazada debido a los diferentes cambios que han sufrido

en su hábitat en los últimos años tales como: la degradación de suelos, cambio de uso de suelo, contaminación y la reducción de flora y fauna.

La taxonomía de la especie *C. draconoides* ha sufrido una serie de cambios a lo largo de los últimos años. En 1946, Smith reconoció a tres subespecies: *C. draconoides*, *C. gabii* y *C. myurus*. Por otro lado, Grismer en el año de 2002 realizó una modificación en la taxonomía y consideraba la existencia de seis subespecies basándose principalmente en los patrones de coloración, dichas especies fueron *C. carmenensis*, *C. crinitus*, *C. draconoides*, *C. inusitatus*, *C. rhodostictus* y *C. splendida* (Lemos et al., 2015). En la actualidad la base de datos de reptiles “The reptile Database” (<http://www.reptile-database.org/>) considerada la plataforma de registros sistemáticos para reptiles más importante a nivel mundial reconoce a nueve subespecies para *C. draconoides*: *C. draconoides bogerti*, *C. draconoides brevipes*, *C. draconoides carmenensis*, *C. draconoides crinitus*, *C. draconoides draconoides*, *C. draconoides inusitanus*, *C. draconoides myurus*, *C. draconoides rhodostictus* y *C. draconoides ventralis*.

Existe una gran variedad de estudios sobre la ecología de esta especie. Por ejemplo, Pianka y Parker (1972) estudiaron la historia de vida de *C. draconoides*, incluyendo microhábitats, dieta, tamaño, estructura poblacional, reproducción, etc., Gerson (2016) describió los patrones del uso del espacio y Goldberg (2014) estudió el ciclo reproductivo, mientras que Li et al. (2012) documentaron los mecanismos responsables de la rápida locomoción de esta especie, entre otros trabajos. Sin embargo, para la genética y evolución de *C. draconoides* solo existe un estudio específico realizado por Lindell et al. (2005) donde utilizaron secuencias de ADN mitocondrial para investigar patrones de genealogía y diferenciación genética dentro de las poblaciones de *C. draconoides*. De tal manera, que la cantidad de estudios ecológicos realizados para la lagartija *C. draconoides* es mucho mayor que la cantidad de estudios utilizando las herramientas de la genética de poblaciones.

El presente trabajo tiene como principales objetivos describir la variabilidad genética y la filogeografía de cuatro posibles demes con distribución en el estado de Sonora con base en análisis genéticos mitocondriales con el gen Citocromo b (Cyt b). Los resultados de estos análisis aportarán nueva información acerca del estado en el que se encuentran estas poblaciones de *C. draconoides*, los posibles procesos evolutivos que las afectan y las estrategias factibles para una propuesta inicial del manejo adecuado para la conservación de la especie.

II. ANTECEDENTES

II.1. Variabilidad genética

Para comprender cómo las especies logran adaptarse y evolucionar existe una herramienta muy poderosa que es la genética de poblaciones (Eguiarte y Piñero, 1990; Hedrick, 2011), la cual tuvo su origen en los años 20 y 30 cuando Ronald A. Fisher, J. B. S. Haldane y Sewall Wright, sentaron las bases matemáticas de la teoría y que han sido de gran importancia para el estudio de la evolución.

La genética de poblaciones se encarga de estudiar los niveles de variación genética entre y dentro de las poblaciones que forman a las especies y cómo esta variación ha sido afectada por las diferentes fuerzas evolutivas (Eguiarte et al., 2013). Por ejemplo, si las poblaciones tienen altos niveles de variabilidad genética probablemente su tamaño poblacional es grande y/o existe un gran flujo genético entre ellas, en cambio si los niveles de variación genética son muy bajos el tamaño poblacional es pequeño y/o hay poco flujo genético entre ellas (Eguiarte y Piñero, 1990; Hedrick, 2011).

Existe un modelo en genética de poblaciones propuesto por el inglés George Hardy y el alemán Wilhelm Weinberg en 1908 en donde se describe cómo se comporta la variación cuando no está actuando ninguna fuerza evolutiva y funciona como un modelo nulo que se cumple si las poblaciones son “ideales” (Gillespie, 1998; Eguiarte et al., 2013). Una población ideal es aquella en donde los organismos se aparean aleatoriamente, tienen la misma adecuación, tienen un tamaño infinito, no experimentan flujo genético ni nuevas mutaciones (Gillespie, 1998; Hedrick, 2011).

En una población que se encuentra en equilibrio, es decir, que cumple con los supuestos del modelo de Hardy-Weinberg, no ha estado sujeta a las fuerzas evolutivas y por lo tanto no puede pasar por procesos de evolución (Pierce, 2009), de tal manera que no hay cambios en las frecuencias alélicas en esa población (Hedrick, 2011). De tal manera que el modelo de Hardy-Weinberg menciona que la reproducción por sí sola no provocará la evolución, sino que son necesarios otros procesos como la selección natural, las mutaciones, el flujo genético o la deriva

genética para que las poblaciones cambien sus frecuencias alélicas y por lo tanto evolucionen (Pierce, 2009).

En los inicios de la genética de poblaciones se consideraba el análisis de acuerdo a las leyes de Mendel, es decir, en un gen se observaba cómo es el comportamiento de dos alelos y este principio se aplica en la base del equilibrio de H-W (Eguiarte et al., 2013). En el modelo de Hardy-Weinberg las frecuencias esperadas están dadas por $p^2 + 2pq + q^2 = 1$. Donde p^2 representa la frecuencia de los homocigotos A_1A_1 ; $2pq$ representa la frecuencia de los heterocigotos A_1A_2 ; y q^2 representa la frecuencia de los homocigotos A_2A_2 , donde p representa la frecuencia del alelo A_1 y q , la frecuencia del alelo A_2 (Hedrick, 2011).

Los seres vivos estamos compuestos por miles de genes y cada uno de ellos tiene muchas versiones alternas posibles que pueden estar sujetas a mutaciones y esto conlleva a que el número de los alelos sea posiblemente infinito (Eguiarte et al., 2013). De manera que debido a las mutaciones que existen en el material genético, las especies han logrado ser variables genéticamente y por lo tanto han podido adaptarse a nuevas condiciones (Jiménez y Collada, 2000).

En la actualidad existe una gran variedad de métodos que son accesibles para conocer la variación del material genético de los organismos y con ello produciendo una gran cantidad de datos que han servido para conocer algunos patrones sobre las fuerzas evolutivas presentes que controlan los niveles de variabilidad natural de las especies (Charlesworth, 2001). Cuando las fuerzas evolutivas han actuado durante largos periodos de tiempo sobre la variación genética y han dado como resultado a cambios en los organismos, es cuando ocurre la evolución (Gillespie, 1998).

Las dos principales fuentes de variación en el material genético son las mutaciones y la recombinación genética. Cuando las poblaciones son variables genéticamente tienen mayores probabilidades de sobrevivir a distintos cambios que se presenten en su medio ambiente. Pero, ¿qué pasa cuando la variabilidad genética es baja en una población?; en este caso, las poblaciones comienzan a tener niveles de adaptación más bajos; por lo tanto, su tamaño poblacional también disminuye y la reproducción entre organismos emparentados (endogamia) tiende a aumentar. Esto conlleva a que haya una disminución en la adecuación genética (W) debido a que existe una menor supervivencia, apareamiento y/o reproducción en la progenie de

individuos relacionados en comparación con la de individuos no relacionados, es decir, una depresión por endogamia. (Eguiarte et al., 2007; Hedrick et al., 2010; Hedrick, 2011).

II.2. Parámetros para estimar la variabilidad genética con marcadores moleculares

La variabilidad genética es el requisito que necesitan las poblaciones para que actúen las fuerzas evolutivas y se genere el proceso de evolución (Jiménez y Collada, 2000). La diversidad genética que existe entre organismos es consecuencia de las diferencias en las secuencias de ADN y de los efectos ambientales (Rischkowsky y Pilling, 2010). Dado que la variación es de gran importancia, uno de los objetivos principales para los genetistas de poblaciones ha sido su cuantificación.

En la actualidad se utilizan caracteres morfológicos y moleculares para estimar la variación dentro de las poblaciones (Rentaría, 2007). La principal ventaja de los estudios de biología evolutiva utilizando marcadores moleculares es que estos son universales y que existen una gran variedad de ellos que se eligen dependiendo de los objetivos de la investigación. Los marcadores moleculares se caracterizan por su capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples y si son de tipo dominante o co-dominante (Simpson, 1997) y se dividen de acuerdo a la molécula base utilizada, nuclear, mitocondrial, de cloroplasto, ribosomal, entre otros (Piñero et al., 2008). A continuación se presentan las principales ventajas de algunos marcadores moleculares:

1.- Marcadores nucleares. Los marcadores nucleares son utilizados para detectar polimorfismos del ADN nuclear (Rischkowsky y Pilling, 2010). En organismos eucariotas la mayoría de la información genética se encuentra contenida en el núcleo de la célula, específicamente en los cromosomas (Rentería, 2007). En estudios de diversidad genética intra e interespecífica para grupos de plantas o animales, los marcadores moleculares más utilizados son los microsatélites (Edwards et al., 1991; Devey et al., 1996). Los microsatélites son secuencias de ADN cortas que van de una a cuatro pares de bases que se repiten en tándem (Litt y Luty, 1989) y se encuentran en regiones codificantes y no codificantes del ADN (Avise, 2012). La ventaja de los microsatélites sobre otros marcadores moleculares es que son altamente

polimórficos, son codominantes, son selectivamente neutros y fáciles de interpretar (Golstein y Pollock, 1994; Rentería, 2007).

2.- Marcadores mitocondriales y de cloroplasto. Para estudios filogeográficos y de diversidad genética, los marcadores mitocondriales regularmente son los más utilizados principalmente por su herencia uniparental, una alta tasa de mutación y prácticamente nula recombinación (Vázquez-Domínguez, 2007). En cambio el ADN de cloroplasto es considerado muy conservado, ya que poseen el mismo genoma desde las hepáticas hasta las angiospermas. Es una molécula circular con un tamaño que varía entre 120 kilobases y 217 kilobases. El ADN del cloroplasto tiene una herencia clonal, uniparental, generalmente materna en angiospermas y paterna en gimnospermas (Brown et al., 1979; Donoso et al., 2004).

3.- Marcadores de ADN ribosomal. El ADN ribosomal se puede encontrar en mitocondrias, núcleo y cloroplasto y contiene la información para el ARN que conforma a los ribosomas (Rentería, 2007; Avise, 2012). El rADN se presenta en repeticiones tándem las cuales se encuentran conservadas a lo largo de todo un genoma y evolucionan en conjunto. Estas secuencias presentan baja tasa de sustitución, de manera que resultan ser muy útiles en estudios filogenéticos de aquellos taxa que poseen tiempos de divergencia muy antiguos (Hills et al., 1991).

4.- Isoenzimas. Las isoenzimas son formas moleculares múltiples de las enzimas que tienen funciones que son similares o en algunas ocasiones idénticas y que se encuentran presentes en un mismo individuo (Market y Moller, 1959). Regularmente suelen ser selectivamente neutras y son utilizadas como marcadores hereditarios para cuantificar las frecuencias tanto alélicas como genotípicas de los individuos. A partir de 1966 se comenzaron a utilizar para la cuantificación de la variación genética en poblaciones humanas, de moscas del género *Drosophila* y en planta superiores (Harris, 1966; Johnson et al., 1966; Hubby y Lewontin, 1966).

La diversidad genética se puede describir con base a varios estimadores, tales como π (π), θ (θ), la heterocigosis esperada y el polimorfismo. El polimorfismo genético es la variación genética observada en las poblaciones y representa una ventaja cuando la variación genética resultante conlleva a que los individuos tengan una mejor adaptación a diferentes condiciones ambientales (Passarge, 2007). En cambio, la heterocigosis es la probabilidad de encontrar un

genotipo heterocigoto en una población. Podemos mencionar dos tipos de heterocigosis, la observada y la esperada. La heterocigosis esperada sucede cuando la población se encuentra bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg y la observada es la heterocigosis real (Eguiarte et al., 2007).

Estos estimadores han sido desarrollados para casi todos los marcadores moleculares, aunque algunos de ellos no pueden estimarse con métodos tradicionales con marcadores, como la heterocigosis observada con los RAPD, AFLP o ISSR (Piñero et al., 2008). Los valores de π pueden ser interpretados como la heterocigosis esperada ya que tienen la particularidad de ser estimados de la heterocigosis en el nivel nucleotídico (Hedrick, 2011).

El estimado P_i (π) calcula la diversidad nucleotídica, es decir, el número de diferentes nucleótidos por sitio entre dos secuencias que son tomadas de manera aleatoria (Nei y Li, 1979; Eguiarte et al., 2007). Theta (θ) se obtiene a partir de $\theta = 4N_e\mu$ (Kimura, 1968), donde N_e se refiere al tamaño efectivo poblacional y μ a la tasa de mutación. La diversidad nucleotídica (π) puede verse afectada principalmente por los alelos que poseen mayor frecuencia y es independiente del tamaño de la muestra (Tajima, 1983; Eguiarte et al., 2007).

De manera que los resultados de ambos estimadores (P_i y Theta) nos permiten conocer si las secuencias se encuentran bajo el modelo neutral o no. La teoría de la evolución neutral propuesta por Kimura (1968, 1983) nos permite establecer los patrones de evolución de las secuencias cuando existen desviaciones del modelo neutro que son originadas por la mutación y la deriva génica y no por la fuerza de la selección natural, afectando la tasa de cambio a la que un nucleótido es sustituido por otro dentro de una población la cual resulta ser igual a la tasa de mutación de ese sitio y es independiente del tamaño poblacional (Kimura, 1968; 1983; Castillo, 2007).

Si P_i (π) y Theta (θ) dan el mismo resultado en variación genética, significa que el polimorfismo observado es neutro, es decir, que probablemente los cambios en las secuencias son causados por fuerzas como la mutación y la deriva genética y por lo tanto, la fijación de los alelos es causada por procesos azarosos y no por la selección. No obstante, si existen diferencias entre ambos estimadores probablemente la selección está afectando alguno de ellos provocando su incremento o decremento. Es decir, si las frecuencias alélicas están incrementándose y a su vez se refleja en el incremento de π , es muy probable que exista selección positiva; en cambio,

si la θ se incrementa es porque existe un mayor número de alelos deletéreos en la muestra (Watterson, 1975; Tajima, 1983).

Otro estimado de la variación con base en caracteres moleculares es el número de sitios segregantes (S), el cual resulta ser muy preciso si el modelo de mutación es de sitios finitos y cuando no haya homoplasia (Piñero et al., 2008). Estos estimadores tienen la ventaja de que pueden extrapolarse a secuencias de aminoácidos de forma sencilla. Para determinar si las frecuencias de los polimorfismos encontradas en un conjunto de secuencias se encuentra bajo la hipótesis de evolución neutral, existe un estimado llamado D de Tajima (Tajima, 1989). Este estimado permite comparar dos estimas de la cantidad de variación genética de un grupo de secuencias, las cuales se obtienen a partir del número de sitios polimórficos total y por la proporción de las diferencias nucleotídicas entre las secuencias. Cuando la D tiende a valores positivos puede indicar que está actuando la selección positiva, balanceadora o que el tamaño poblacional está disminuyendo (Perfectti et al., 2009).

II.3. Filogeografía

La filogeografía es una disciplina que pretende explicar los patrones de distribución geográfica de la variación genética con base en procesos de historia geográfica y filogenética del ADN del citoplasma (Avice et al., 1987; Cruzan y Templeton, 2000). Esta es una disciplina que es relativamente nueva que estudia los arreglos espaciales de los linajes genéticos, específicamente dentro y entre especies que se encuentran estrechamente relacionadas (Avice, 2009).

Se ha considerado a la filogeografía como un punto de unión entre la macroevolución y la microevolución, ya que refuerza la interacción entre estos dos niveles y en donde la genética molecular funge como una herramienta indispensable (Vázquez-Domínguez, 2007). De tal manera que gracias a la filogeografía los procesos microevolutivos que operan dentro de las especies se pueden extrapolar para poder explicar las diferencias macroevolutivas entre especies y taxones superiores (Avice et al., 1987; Hickerson et al., 2010).

La filogeografía ha podido desarrollarse y consolidarse como disciplina gracias a los análisis de datos mitocondriales a nivel de especie (Hickerson et al., 2010). El ADN mitocondrial se convirtió en el marcador molecular de los animales superiores debido a las

diferentes características que posee: es una molécula circular covalentemente cerrada, de tamaño pequeño con un total de 37 genes de los cuales 13 son ARN mensajeros, 22 son ARN de transferencia y dos son ARN ribosomales (Figura 1); además de que tiene una alta tasa de sustitución en muchos taxones y una región control en vertebrados (Brown, 1985; Vázquez-Domínguez, 2007).

El genoma mitocondrial de los animales es muy compacto en comparación con el genoma nuclear, ya que no están presentes las secuencias no codificantes conocidas como intrones, los cuales representan una característica principal en los genomas nucleares (Avise, 2009). Por otro lado, el ADN mitocondrial de los animales tiene altas tasas de sustituciones de nucleótidos en comparación del ADN nuclear, es decir, la molécula de ADN mitocondrial tiene un ritmo más rápido de evolución que el ADN que se encuentra en el núcleo. Esto probablemente se deba a que el ADN mitocondrial se encuentra expuesto a diferentes factores como un ambiente corrosivo con altas cantidades de oxígeno, las limitaciones funcionales como la codificación a unos pocos polipéptidos y no a la producción directa de proteínas que se encuentren implicadas en su propia replicación, transcripción o traducción (Johns y Avise, 1998; Avise et al., 2009). Además de la alta tasa de evolución que posee la molécula del ADN mitocondrial, para la filogeografía existen algunas otras características igual de importantes como su prácticamente nula recombinación, variación intraespecífica y con algunas excepciones, su estrictamente herencia materna (Vázquez-Domínguez, 2007).



Figura 1. Mapa genético del ADN mitocondrial. Fuente: Álvarez (2008).

Toda la variabilidad genética que presenta el ADN mitocondrial se encuentra en los haplotipos (Vázquez-Domínguez, 2007), es decir, registran la historia matrilineal de eventos mutacionales. Los haplotipos son variaciones del ADN o polimorfismos que tienden a heredarse en conjunto y que se encuentran en el mismo cromosoma (Pierce, 2009). La relevancia de los haplotipos en filogeografía es que pueden conectarse filogenéticamente en un filograma y al mismo tiempo puede sobreponerse a la distribución geográfica de la especie. De tal manera que como cada animal tiene un haplotipo de ADN mitocondrial específico, cada individuo en la genealogía de la especie puede tratarse como una “Unidad taxonómica operacional” y por lo tanto se pueden interpretar los procesos evolutivos implicados en la distribución geográfica actual de la especie o población (Vázquez-Domínguez, 2007; Avise, 2009).

Para saber si hay relación entre los niveles de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST}) y la distancia geográfica existe un modelo llamado aislamiento por distancia (Slatkin, 1993) el cual examina la relación del flujo génico entre pares de poblaciones con la distancia geográfica (Aguirre-Planter, 2007; Castro 2009). En este modelo, los cruzamientos al azar están limitados por la distancia, de manera que tiene mayor probabilidad que los individuos se apareen con individuos que se encuentran a una distancia más corta que con individuos que se encuentran más lejanos (Castro, 2009).

De tal manera que la filogeografía se ha convertido en una herramienta muy importante pues ha permitido resolver cómo la historia evolutiva reciente ha influido en los patrones de diversidad dentro de las especies (Avise, 1998; Vázquez-Domínguez, 2007). Por otra parte, esta disciplina ha ayudado a mejorar la descripción de la distribución geográfica, las distancias genéticas entre linajes, las relaciones filogenéticas y por ende a un mejor entendimiento de la biogeografía regional. Además, esta rama de la biología evolutiva ha ayudado a plantear estrategias de conservación de las especies gracias al conocimiento de sus respuestas históricas a diferentes cambios que se presentan en su medio ambiente (Moritz y Faith, 1998; Vázquez-Domínguez, 2007).

El citocromo b (Cyt b) es uno de los genes mitocondriales más utilizados en vertebrados debido a las siguientes razones: (1) es el gen que está más ampliamente secuenciado (Moore y DeFilippis, 1997), (2) tiene una dinámica evolutiva y bioquímica del producto proteico mejor que la mayoría de los otros sistemas moleculares (Esposti et al., 1993) que le permite asociar los niveles de divergencia genética con especies hermanas, congéneros y géneros confamiliares que están en un rango filogenéticamente informativo (Johns y Avise, 1998).

El citocromo b en reptiles ha sido utilizado en estudios para resolver historias genealógicas (Lindell et al., 2005), el efecto del tamaño poblacional en la diversidad genética (Hague y Routman, 2016), el código de barras de ADN para la herpetofauna de Corea (Jeong et al., 2013), la diversidad genética y estructura (Aplasca et al., 2016), la distribución de haplotipos de ADN mitocondrial (Fritz et al., 2005), entre otros trabajos.

II.4. Filogeografía y Teoría de Coalescencia

En 1987, John Avise y colaboradores introdujeron el concepto de filogeografía y con ello el desarrollo de la disciplina. Sin embargo, no fue hasta que genetistas de poblaciones y matemáticos desarrollaron las bases matemáticas de la teoría coalescente y la introdujeron a la filogeografía como un fundamento principal para predecir las frecuencias de los alelos en generaciones futuras con base en modelos de poblaciones enteras (Tajima, 1983; Hickerson et al., 2010).

La teoría de la coalescencia se basa en las relaciones genealógicas que existen en los genes y el principio fundamental es que bajo neutralidad todos los alelos de un gen que se encuentran presentes en una población actual derivan de o coalescen hacia un único alelo ancestral y a lo largo de las generaciones surgen nuevos alelos por mutación y se pierden otros por deriva génica (Hudson, 1990; Ayala, 2006; Vázquez-Domínguez, 2007). De tal manera que la coalescencia es un proceso que determina la forma de la genealogía de los genes con base en los eventos genéticos poblacionales, es decir, describe dentro de una muestra poblacional todos los alelos de un gen que coalescen hacia un ancestro en común más reciente (Domínguez-Domínguez et al., 2009).

La teoría de la coalescencia ha permitido obtener la mayor parte de la historia demográfica compleja que han proporcionado tiempos de divergencia, la historia de los tamaños poblacionales y tasas de migración (Hickerson et al., 2010). Esta teoría ha unido a dos disciplinas muy importantes como la genética de poblaciones y la filogenia a través del estudio del árbol de genes (Nielsen y Beaumont, 2009; Domínguez-Domínguez et al., 2009).

Aunque el ADN mitocondrial es la molécula con características más significativas para la filogeografía, su uso exclusivo puede suponer un riesgo en la interpretación de las genealogías ya que al estar implicado un solo locus, éste puede estar ligado a selección, puede que no sea posible la identificación de su dispersión entre poblaciones o incluso puede presentar introgresión. Es por ello que en la actualidad es más frecuente el uso combinado y comparativo de genealogías a partir de datos que han sido obtenidos del ADN mitocondrial y nuclear (Domínguez-Domínguez et al., 2009).

Para poder probar las hipótesis filogeográficas era necesario una metodología y un marco estadístico para poder ir más allá en la resolución de patrones genealógicos y los procesos biogeográficos (Avice, 2000). La coalescencia se ha convertido en una parte fundamental para la filogeografía pues ha permitido la estimación de las filogenias a nivel de especie a bajos niveles de divergencia con base en los datos de múltiples loci e individuos por subespecies o poblaciones (Hickerson et al., 2010).

Además de estimar las frecuencias alélicas, los métodos moleculares permiten conocer las relaciones genealógicas de los alelos y con ello el flujo genético y la fragmentación de poblaciones bajo el contexto histórico y geográfico (Vázquez-Domínguez, 2007). La teoría de la coalescencia usa normalmente el modelo Wright-Fisher el cual fue desarrollado por Fisher (1922) y Wright (1931) y tiene como principio básico que solo hay estocasticidad en la reproducción (Piñero et al., 2008). Este modelo se enfoca en sintetizar la información que se obtiene de una muestra y en compararla con lo que se esperaría obtener en una población ideal bajo neutralidad o un modelo nulo. Por otro lado, Sewall Wright también introdujo los estadísticos F los cuales han permitido cuantificar a partir de las frecuencias alélicas que se han obtenido en diferentes áreas procesos como el flujo genético y la estructura poblacional (Wright, 1965; Vázquez-Domínguez, 2007; Piñero et al., 2008).

Sewall Wright, también fue el responsable de proponer el tamaño efectivo poblacional (N_e) el cual se refiere al número de individuos reproductivos, ya que estos son los que contribuyen en la genética y demografía de las siguientes generaciones (Wright, 1969; Moreno, 2007). Sin embargo, no existe una única definición para este concepto, por lo que generalmente las definiciones se refieren al número de individuos en una población cuya heterocigosis decrece a una tasa $k=1/2N$, donde N es el número poblacional (Hedrick, 2011). Y, una de las principales bases para comprender los cambios que ocurren en el tamaño efectivo de una población es la teoría de la coalescencia (Vázquez-Domínguez, 2007).

La realización de análisis basados en la teoría de la coalescencia para inferir aspectos de la historia actual de las poblaciones depende si el tamaño de la muestra lo permite. Cuando las poblaciones resultan pequeñas, el tiempo de coalescencia es menor, ya que es muy probable que se encuentren cercanamente relacionadas, en cambio si la población es muy grande el tiempo de coalescencia es mayor (Hernández-Baños et al., 2007).

La teoría de la coalescencia se establece como una base fundamental para entender diferentes procesos como la distribución de la variación genética bajo diferentes contextos coalescentes, así como el tamaño efectivo de una población y el tiempo al ancestro más reciente. Sin embargo, la coalescencia no solo ha servido en la filogeografía para resolver problemas sino también en otras disciplinas como la genética de poblaciones, genética de la conservación, así como múltiples estudios de genética en humanos y sistemática molecular (Vázquez-Domínguez, 2007). Además de las aplicaciones anteriores, la coalescencia puede utilizarse en la estimación de parámetros que se encuentran relacionados con diferentes procesos y se conoce como coalescencia completa. La coalescencia completa permite identificar los procesos evolutivos que afectaron a la muestra e infiere los parámetros que se encuentran relacionados con estos procesos. A diferencia de los estadísticos de resumen, la coalescencia completa permite utilizar toda la información contenida en la muestra (Piñero et al., 2008).

II.5. Perrita del desierto o lagartija cola de zebra *Callisaurus draconoides*

La diversidad de reptiles en México es muy alta, ocupando el segundo lugar en el mundo después de Australia. En nuestro país existen alrededor de 417 especies de lagartijas (Enderson et al., 2010), y para el caso del estado de Sonora se han registrado 69 (Rorabaugh y Lemos-Espinal, 2016). Una de las especies más emblemáticas del desierto de Sonora es “la perrita del desierto”, *Callisaurus draconoides* BLAINVILLE 1835, debido a su abundancia y características biológicas.

Callisaurus draconoides comúnmente conocida como lagartija cola de zebra o perrita del desierto es una lagartija que se distribuye geográficamente en el norte de México en los estados de Baja California Sur, Sonora y Sinaloa y en Estados Unidos desde el sureste de California, sur de Nevada y oeste de Arizona (Pianka y Parker, 1972; Lemos-Espinal et al., 2015). Se le atribuye el nombre de “lagartija cola de zebra” por su distintiva característica de tener la parte ventral de la cola fuertemente marcada con barras negras y el nombre de “perrita del desierto” por su cola enrollada. Esta lagartija pertenece a la familia Phrynosomatidae y es relativamente pequeña con una Longitud Hocico Cloaca (LHC) máxima de 109mm aproximadamente (Figura 2) (Gerson, 2016).

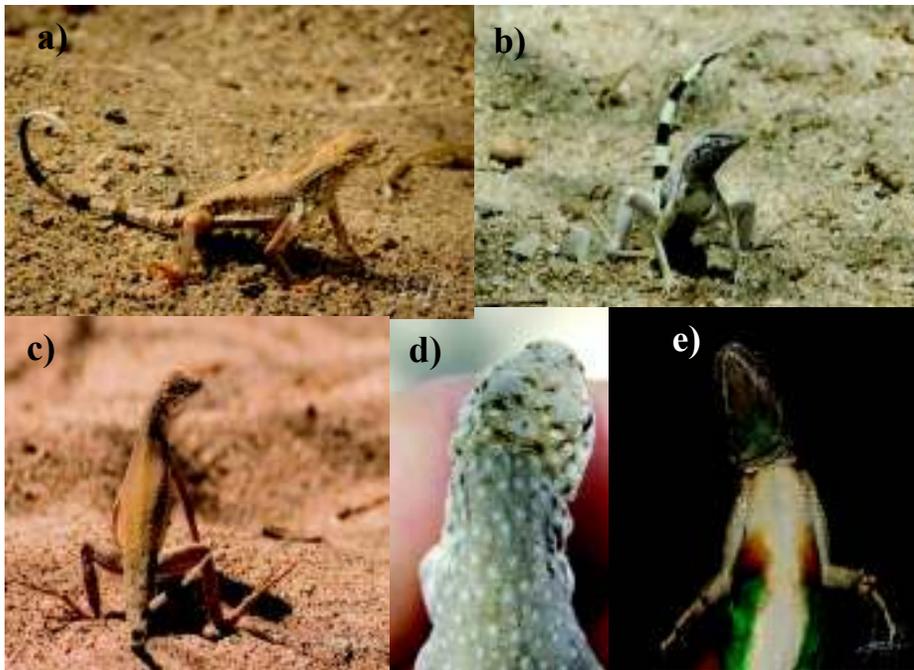


Figura 2. Aspectos de la morfología de la lagartija “perrita del desierto” *Callisaurus draconoides*. Fuente: Fotografías tomadas por miembros de la Red para la Conservación de Anfibios y Reptiles de Sonora (RCARSON). Fotografías: a, c y e tomadas por Jorge Jiménez Canale; b y d por Juan Pablo Córdova Castillo.

Callisaurus deriva del latín *kalos* que significa “hermoso” y *saurus* que significa “lagartija” y *draconoides* deriva de la palabra en latín *draco* que se refiere a “un animal fabuloso o dragón” y el sufijo *-noides*, que significa “parecido”. De tal manera que *Callisaurus draconoides* significa “lagartija hermosa con parecido a un dragón”. Es común encontrar a esta especie en porciones abiertas, es decir, se encuentra activa en una gran variedad de hábitats de desierto, desde lugares arenosos hasta cauces rocosos de ríos y su distribución altitudinal va desde el nivel del mar hasta los 1200msnm (Lemos-Espinal et al., 2015).

La perrita del desierto se encuentra activa durante todo el año, sin embargo los meses con mayor actividad para la especie son de abril a octubre, con la presencia de algunos individuos durante el mes de noviembre en los días cálidos (Grismer, 2002). Esta especie se encuentra activa en porciones abiertas con arena, gravas y en algunas ocasiones en áreas rocosas con poca o sin cubierta vegetal. Generalmente se encuentra asociada con *Prosopis-Acacia* o comunidades de vegetación de *Larrea tridentata*. La época de apareamiento de estas lagartijas es durante los meses de abril o mayo y su período de incubación es de 30 a 32 días aproximadamente (Packard

et al., 1980). La dieta de esta especie se basa principalmente en insectos, en donde aproximadamente un 50% de su alimento lo comprende de larvas de lepidópteros (Lemos et al., 2015; Rorabaugh y Lemos-Espinal, 2016).

Las principales características morfológicas que posee *C. draconoides* para su posible identificación son la presencia de la abertura auditiva, la parte ventral de la cola marcado con barras negras, las escamas granulares sobre la espalda y el muslo homogéneas y las escamas del labio superior fuertemente quilladas (Lemos-Espinal et al., 2015). Su coloración es un fondo que va de blanco a gris oscuro con algunas manchas pálidas, las cuales se encuentran presentes generalmente del mismo tamaño sobre el cuello y el cuerpo y la mayoría de las veces ausentes sobre la parte media del cuerpo. Las lagartijas adultas poseen una coloración amarilla en la región inguinal y de color naranja en la región axilar, la bolsa gular es gris con el centro rojo en machos (Rorabaugh y Lemos-Espinal, 2016).

La taxonomía de la especie *Callisaurus draconoides* ha pasado por una serie de cambios a lo largo de los últimos años; en el año de 1946 Smith reconoció a tres subespecies: *C. draconoides*, *C. gabii* y *C. myurus*. Por otra parte, Grismer en el año de 2002 en el estado de Baja California reconoció que había seis subespecies las cuales habían sido propuestas por De Queiroz en el año de 1989. Sin embargo, Grismer (2002) realizó una modificación respecto a las clases de patrón de coloración para *C. carmenensis*, *C. crinitus*, *C. draconoides*, *C. inusitatus*, *C. rhodostictus* y *C. splendida* (Lemos-Espinal et al., 2015). Por otra parte la base de datos de reptiles (The reptile Database) reconoce a nueve subespecies de *C. draconoides*: *C. draconoides bogerti*, *C. draconoides brevipes*, *C. draconoides carmenensis*, *C. draconoides crinitus*, *C. draconoides draconoides*, *C. draconoides inusitanus*, *C. draconoides myurus*, *C. draconoides rhodostictus* y *C. draconoides ventralis* (Tabla I).

Durante los últimos años los hábitats de la especie han sufrido diferentes cambios que han afectado a la “Perrita del desierto” tales como: degradación de suelos, cambio de usos de suelo, contaminación, reducción de flora y fauna por la introducción de especies exóticas. Estos diversos cambios han llevado a que la especie se encuentre en el estatus de amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010.

Tabla I. Lista de subespecies descritas para *Callisaurus draconoides* según la base de datos de reptiles (The reptile Database).

Subespecie	Descrita por:
<i>C. draconoides bogerti</i>	Martin Del Campo, 1943.
<i>C. draconoides brevipes</i>	Bogert y Dorson, 1942.
<i>C. draconoides carmenensis</i>	Dickerson, 1919.
<i>C. draconoides crinitus</i>	Cope, 1896.
<i>C. draconoides draconoides</i>	Blainville, 1835.
<i>C. draconoides inusitanus</i>	Dickerson, 1919.
<i>C. draconoides myurus</i>	Richardson, 1915.
<i>C. draconoides rhodostictus</i>	Cope, 1896.
<i>C. draconoides ventralis</i>	Hallowell, 1852.

Algunos estudios muestran evidencia de que diversos factores como el hábitat, el suelo, la temperatura y la vegetación pueden llegar a ser muy importantes para el comportamiento de *Callisaurus draconoides*. El primer reporte significativo de la ecología de esta lagartija fue realizado por Stejneger (1893) quien proporcionó información inicial del hábitat, comportamiento y hábitos alimenticios. A partir de 1893 se han realizado numerosos trabajos que han documentado la mayor parte de la evidencia sobre la ecología de esta lagartija (conducta, relaciones de temperatura, dieta y reproducción, etc.). En el estado de Sonora existen pocos estudios ecológicos de esta especie. De los pocos podemos mencionar el de Quijada-Mascareñas realizado en el año de 1992 en el cual realizó una investigación con base en observaciones de campo y análisis estomacales acerca de la elección de alimento de la *C. draconoides* en la zona intermareal de la costa de Sonora.

Para la genética y evolución de *C. draconoides* solo existen tres estudios, los cuales fueron realizados por los siguientes autores: Lindell et al. (2005) utilizaron secuencias de ADN mitocondrial para investigar patrones de genealogía y diferenciación genética dentro de las poblaciones de *C. draconoides*; Adest (1987) investigó la diferenciación genética entre las poblaciones de *C. draconoides* con aloenzimas como marcador molecular y Wilgenbush y De Queiroz (2000) sobre la diferenciación filogenética entre lagartijas areneras de la familia

Phrynosomatidae por medio de secuencias de ADN mitocondrial. De tal manera, que la cantidad de estudios ecológicos realizados para la lagartija *C. draconoides* es mucho mayor que la cantidad de estudios utilizando las herramientas de la genética de poblaciones.

III. JUSTIFICACIÓN

Debido a la importancia ecológica que representa la especie *Callisaurus draconoides* y que actualmente se considera como especie amenazada, resulta de vital importancia llevar a cabo un estudio para comprender cómo se encuentran las poblaciones mediante la utilización de un marcador molecular. Para ello, se ha seleccionado un gen mitocondrial que permitirá conocer qué tan variables son genéticamente y cuáles son los patrones filogeográficos de cuatro posibles demes poblacionales con distribución en el estado de Sonora. Con estos estudios sentaremos las bases iniciales para plantear estrategias factibles para un plan de manejo para la conservación de la especie en la región estudiada. Además, este estudio aportará información que servirá como un antecedente con el uso de herramientas de la genética de poblaciones, específicamente para demes de *C. draconoides* en el estado de Sonora cuyas poblaciones no han sido evaluadas previamente con enfoques evolutivos.

IV. HIPÓTESIS CIENTÍFICA

Las preferencias de hábitats de *Callisaurus draconoides* por planicies, sierras y cerros pueden representar una barrera para la dispersión de las lagartijas. De tal manera que si existe una barrera geográfica o física entre las poblaciones se espera que la variabilidad genética se encuentre afectada y que haya haplotipos únicos para cada población.

V. OBJETIVOS

V.1. Objetivo general

Describir la variabilidad genética mitocondrial y los principios filogeográficos para cuatro posibles poblaciones de *Callisaurus draconoides* con distribución en el estado de Sonora.

V.2. Objetivos específicos

1. Describir la variabilidad genética mitocondrial entre las poblaciones de *C. draconoides* distribuidas en los municipios de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora.
2. Describir los aspectos filogeográficos de las poblaciones de *C. draconoides* distribuidas en los municipios de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora con base en el gen mitocondrial Cyt b.
3. Inferir las relaciones filogenéticas de las poblaciones de *C. draconoides* distribuidas en los municipios de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora con las secuencias encontradas en la base de datos GenBank con base en el gen Cyt b.
4. Inferir los fenómenos evolutivos implicados en las diferentes poblaciones de la especie en los municipios de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora.

VI. METODOLOGÍA

VI.1. Descripción del área de estudio y colecta de datos

Se seleccionaron cuatro poblaciones de lagartijas de la especie *Callisaurus draconoides* ubicadas en el municipio de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora. Debido a la contaminación y degradación de hábitat que ha sufrido la especie se centró especial interés en las poblaciones del Cerro Bachoco, Cerro Johnson y Bahía de Kino del municipio de Hermosillo y la zona costera de la Playa Miramar del municipio de Guaymas (Figura 3).

El estado de Sonora es una entidad que en la mayoría de sus municipios presentan alguna variante de clima seco debido a que las dos terceras partes del estado se encuentra dominado por el desierto sonorense, además de poseer altas temperaturas y poca precipitación durante los meses de julio y agosto principalmente. Las lluvias en Sonora van desde menos de 50mm por año hasta más de 1000mm, donde las mínimas se presentan en el norte en la gran mayoría de los casos y las precipitaciones máximas en el sur del estado. Por otro lado, en el estado de Sonora se presentan veranos e inviernos extremos, donde alcanzan los 40°C durante el verano y temperaturas por debajo de los 0°C durante el invierno (Brito-Castillo et al., 2010). En las poblaciones de estudio las altitudes van desde los 0msnm en las poblaciones de la costa tales como son la Playa Miramar de Guaymas y Bahía de Kino de Hermosillo, hasta altitudes entre 300 y 400msnm en las poblaciones del Cerro Bachoco y Johnson del municipio de Hermosillo (Tabla II).

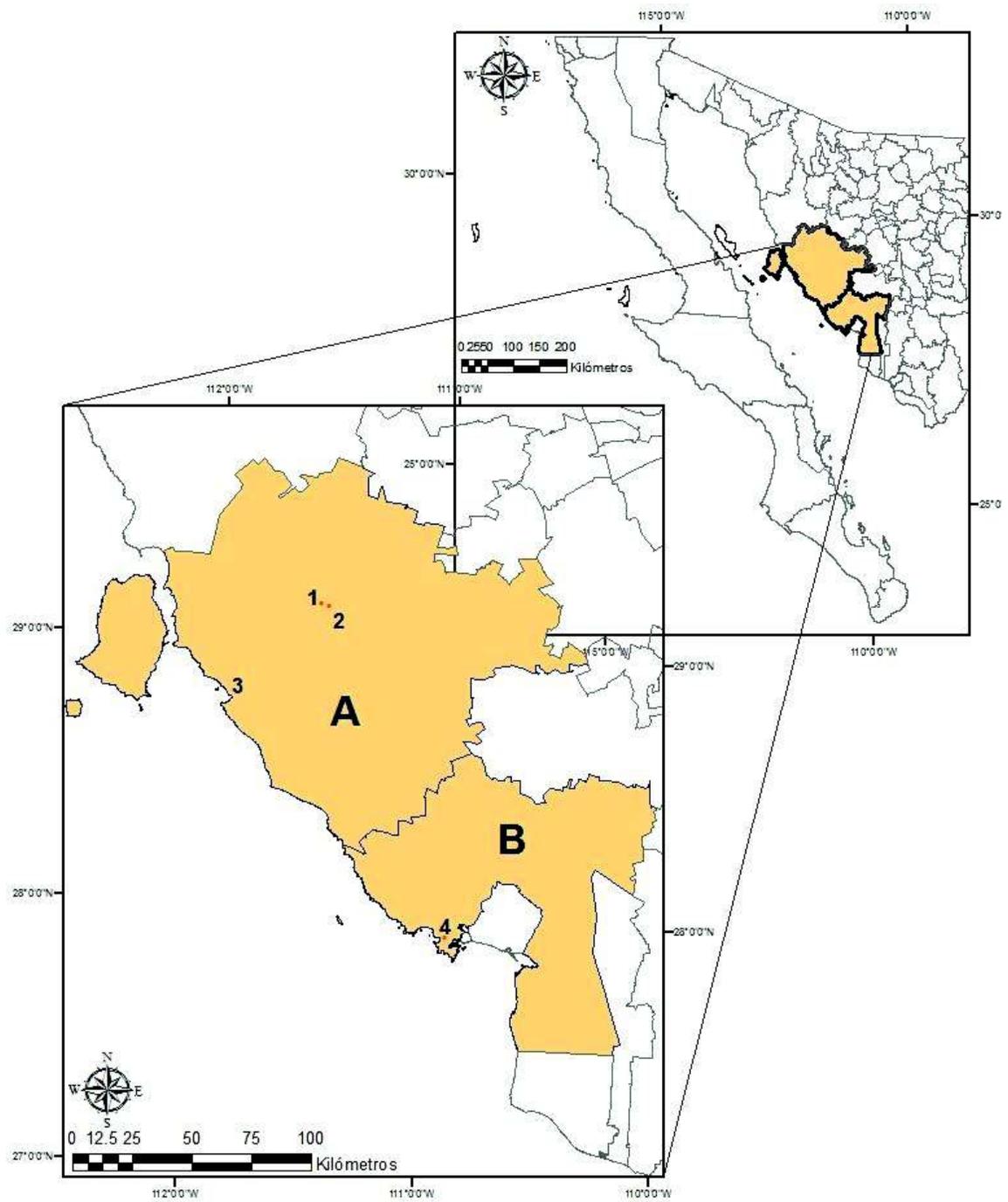


Figura 3. Ubicación geográfica de las poblaciones muestreadas, donde: A) Municipio de Hermosillo, 1) Cerro Johnson, 2) Cerro El Bachoco, 3) Bahía de Kino; B) Municipio de Guaymas, 4) Playa Miramar.

Tabla II. Datos geográficos y ubicación de las poblaciones muestreadas.

Población	Ubicación	Posición geográfica	Altitud (msnm)
Cerro Bachoco	Hermosillo, Sonora, México.	29°08'46.39"N 110°57'10.67"O	436
Cerro Johnson	Hermosillo, Sonora, México.	29°09'13.13"N 110°57'40.11"O	341
Bahía de Kino	Hermosillo, Sonora, México.	28°49'05.65"N 111°55'45.17"O	1
Playa Miramar	Guaymas, Sonora, México.	27°55'10.55"N 110°56'52.12"O	0

VI.2. Colecta de individuos y tejido

Las lagartijas de los municipios de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora se colectaron con trampas de caída, vara lazo y de forma manual. Se lograron colectar 15 individuos para la población del cerro El Bachoco, 23 del cerro Johnson, 8 de la Playa Miramar y 6 de Bahía de Kino. De cada ejemplar se cortó un segmento de cola de 2cm aproximadamente y se colocó la muestra del tejido en tubos Eppendorf de 1.5ml con alcohol al 96%. Además, se tomaron las medidas morfométricas de cada individuo (Longitud Hocico-Cloaca, Longitud Cloaca-Cola) y se tomaron fotografías. Para la identificación de la especie se utilizó la clave de Lemos-Espinal et al (2015).

VI.3. Trabajo de laboratorio

VI.3.1. Extracción de ADN

Se llevó a cabo la extracción de ADN por medio del método de extracción QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Se realizaron algunas modificaciones (Apéndice 1) en las cantidades de las sustancias y los tiempos del método original para la obtención de una mayor concentración de material genético. Se llevaron a cabo las cuantificaciones del ADN (ng/uL) por medio del

NanoDrop 1000 para cada una de las muestras. La calidad y concentración del ADN se observó en geles de agarosa al 1%. Los geles se tiñeron con Bromuro de Etidio ($2.5\mu\text{l}$) y se corrieron en un buffer TAE. Se utilizó un marcador de peso molecular de 100pb (Invitrogen).

VI.3.2. Amplificación del gen mitocondrial Citocromo b

Para la amplificación del gen mitocondrial Citocromo b (Cyt b) se prepararon reacciones de PCR (por su nombre en inglés: Polymerase Chain Reaction) con un volumen final de $25\mu\text{l}$. Para la reacción se utilizaron las siguientes concentraciones finales: $2\mu\text{l}$ de ADN, $8.5\mu\text{l}$ de H_2O libre de nucleasas, $12.5\mu\text{l}$ de Master Mix y $1\mu\text{l}$ de cada primer. Para la amplificación del Cytb se utilizaron primers universales de PCR modificados por Kocher et al., (1989) y Varela-Romero (2007), (L15058-F: 5'-TGACTTGAAAAMCCACCGTTG-3' y H16249-R: 5'-TCAGTCTCCGGTTTACAAGACC-3').

El gen Cyt b se amplificó bajo el protocolo de Blair et al. (2009). Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 2% teñidos con Bromuro de Etidio $2.5\mu\text{l}$. Los geles de agarosa se corrieron en un buffer TAE utilizando un marcador de peso molecular de 100pb (Invitrogen). Los fragmentos del ADN mitocondrial se mandaron a secuenciar a Corea con la compañía MacroGen.

VI.4. Análisis de datos

VI.4.1. Edición y alineamiento de las secuencias

Las secuencias de ADN mitocondriales se importaron y editaron con el programa ChromasPro v.2.6.5 (Technelysium, 2012). Se llevó a cabo el alineamiento en el programa MEGA versión X (Kumar et al., 2018) bajo el algoritmo de MUSCLE (Edgar, 2004).

VI.4.2. Diversidad genética

Para la estimación de diversidad genética mitocondrial se utilizó el programa DNAsp v.6.10.04 (Librado y Rozas, 2009) y se calculó la diversidad nucleotídica (π), el número de sitios segregantes, la diversidad haplotídica (Hd), número de haplotipos y la Theta de Waterson (θ , Theta-W) para medir la tasa de mutación de las poblaciones, bajo las fórmulas de Nei (1987):

- Fórmula para la Diversidad nucleotídica (π):

$$\pi = \frac{n}{n-1} \sum p_i p_j \pi_{ij}$$

Donde: π = Diversidad nucleotídica; n = número de secuencias que fueron examinadas; p_i = frecuencia de la secuencia i y p_j = frecuencia de la secuencia j .

- Fórmula para la Diversidad haplotídica (Hd):

$$Hd = \frac{2n (1 - \sum P_i^2)}{(2n - 1)}$$

Donde: Hd = diversidad haplotídica; P_i = frecuencia del i -ésimo haplotipo y n = número de individuos en la muestra.

- Fórmula de la estimación de la Tasa de mutación poblacional (θ , Theta-W):

$$\theta = \frac{Pn}{A}$$

Donde: θ = Tasa de mutación poblacional; Pn = número de sitios segregantes en las secuencias que fueron examinadas y $A = 1 + 1/2 + \dots + (n-1)^{-1}$ donde n es el número de secuencias que fueron examinadas.

VI.4.3. Análisis filogeográficos

VI.4.3.1. Inferencia filogenética. Se utilizó el programa MEGA versión X (Kumar et al., 2018) para buscar el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustara a los datos del gen Cyt b. Para el gen mitocondrial Cyt b se escogió el modelo GTR y se utilizaron como grupos externo a *Cophosaurus texanus*, *Holbrookia maculata* y *Dipsosaurus dorsalis* donde se utilizó una secuencia por especie (Tabla III). Las secuencias de los grupos externos fueron obtenidas de la base de datos GenBank y se alinearon bajo el algoritmo MUSCLE en el programa MEGA versión X (Kumar et al., 2018).

Se obtuvo la topología del árbol filogenético de *C. draconoides* y las secuencias de las subespecies obtenidas del banco de datos GenBank con el programa MEGA versión X (Kumar et al., 2018) bajo el método de Máxima verosimilitud.

VI.4.3.2. Redes de haplotipos. Se obtuvo el número de haplotipos encontrados para el gen mitocondrial Cyt b y la diversidad haplotídica de cada una de las poblaciones con el programa DNAsp v.6.10.04 (Librado y Rozas, 2009) y se obtuvo el índice de diferenciación F_{st} de Wright para el análisis de las siguiente pruebas.

Con los resultados obtenidos del programa DNAsp se construyó una red de haplotipos para el gen mitocondrial Cyt b con el programa Network v.5.0 (Bandelt et al., 1999) bajo el algoritmo de red MJ (The median-joining) y se elaboró un mapa de la distribución geográfica de los haplotipos. Se utilizaron como grupos externos secuencias de *Holbrookia maculata*, *Cophosaurus texanus* y *Dipsosaurus dorsalis* (Tabla III).

Tabla III. Haplotipos utilizados como grupos externos para análisis filogenéticos.

Especie	Clave de acceso a GenBank	Referencia
<i>Holbrookia maculata</i>	AY141100.1	Hodges y Zamudio, 2004
<i>Cophosaurus texanus</i>	AY141099.1	Hodges y Zamudio, 2004
<i>Dipsosaurus dorsalis</i>	EU116509.1	Noonan et al., 2013

VII. RESULTADOS

VII.1. Diversidad genética

Se llevó a cabo un análisis de 52 secuencias con 1166 pares de base del gen Cyt b para las cuatro poblaciones de la lagartija *Callisaurus draconoides*, en donde se lograron obtener un total de 15 individuos para la población del Cerro El Bachoco, 23 para el Cerro Johnson, ocho para la Playa Miramar y seis para la población de Bahía de Kino. En la muestra total se encontraron 131 sitios polimórficos (P) y 136 mutaciones. Se obtuvo un total de 26 haplotipos cuya diversidad haplotípica (Hd) fue de 0.938. Para el número promedio de diferencias nucleotídicas (k) se obtuvo como resultado 48.789 y una diversidad nucleotídica (π) de 0.04228. La Theta de Watterson (θ_W) para la muestra total fue de 0.02512 y una D de Tajima de 2.21507 (Tabla IV).

Tabla IV. Medidas de variabilidad genética para secuencias de *Callisaurus draconoides* con distribución en el estado de Sonora con base en el gen Cyt b. Donde: S= número de sitios segregantes, P= número de sitios polimórficos, H= número de haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, k= número promedio de diferencias nucleotídicas, π = diversidad nucleotídica, θ_W = Theta de Watterson.

No. de individuos	No. de Mutaciones totales	S	P	H	Hd	k	π	θ_W	D de Tajima
52	136	131	131	26	0.938	48.789	0.04150	0.02512	2.21507

Se presentó un mayor número de sitios polimórficos (P) para las secuencias de las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson con 98 y 107 respectivamente en comparación con las poblaciones costeras de la Playa Miramar en Guaymas con 10 y Bahía de Kino en Hermosillo con 33 sitios polimórficos. Se obtuvo un mayor número promedio de diferencias nucleotídicas (k) para la población del Cerro El Bachoco con un total de 48.990 y un valor menor para la población de la Playa Miramar con un total de 2.964. Además, se presentó un valor mayor de diversidad nucleotídica (π) para las poblaciones de los cerros Bachoco y Johnson, siendo el Cerro Bachoco la población con mayor diversidad nucleotídica con un total

de 0.04231 en comparación de las poblaciones costeras de Bahía de Kino y la Playa Miramar, siendo ésta última la población con menor diversidad nucleotídica con un total de 0.00256 (Tabla V).

Los valores de la Theta de Watterson (θ_W) para las poblaciones de los cuatro sitios de muestreo varían entre 0.003 a 0.026. También se obtuvieron los valores de la D de Tajima en donde las poblaciones de los cerros Bachoco y Johnson tuvieron resultados positivos, en cambio para las poblaciones costeras de la Playa Miramar y Bahía de Kino fueron valores negativos (Tabla VI).

Se obtuvieron las gráficas para la prueba D de Tajima para cada una de las poblaciones en el programa DnaSP. Para la población del cerro El Bachoco podemos observar que en los rangos de 500-600, 800-900 y de 900-1000 pares de base probablemente estén pasando por procesos de selección (Figura 4). Los rangos de nucleótidos para la población del cerro Johnson que posiblemente se encuentran bajo selección son: 300-400, 450-480, 490-510, 520-550, 620-630, 800-830, 900-920 y 950-970 (Figura 5). Para la población de Bahía de Kino los rangos fueron de 620-650, 700-720, 800-820, 900-910 y 950-1010 pares de base que probablemente estén pasando por algún efecto de la selección (Figura 6). Por último, para la población de la Playa Miramar la mayoría de las posiciones de sus nucleótidos, es decir, desde la posición 1 hasta la 1166pb probablemente se encuentren bajo selección (Figura 7).

Tabla V. Medidas de variabilidad genética para secuencias de cada una de las áreas de muestreo de *Callisaurus draconoides* con distribución en el estado de Sonora con base en el gen Cyt b. Donde: S= número de sitios segregantes, P= número de sitios polimórficos, H= número de haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, k= número promedio de diferencias nucleotídicas, π = diversidad nucleotídica, θ_W = Theta de Watterson.

Población	No. de individuos	No. de mutaciones totales	S	P	H	Hd	k	π	θ_W
Cerro Bachoco	15	98	98	98	10	0.914	48.990	0.04231	0.02603
Cerro Johnson	23	109	107	107	6	0.775	31.474	0.02720	0.02506
Playa Miramar	8	10	10	10	5	0.857	2.964	0.00256	0.00332
Bahía de Kino	6	33	33	33	6	1.00	12.667	0.01094	0.01248

Tabla VI. Prueba D de Tajima para secuencias de cada una de las áreas muestreadas de *Callisaurus draconoides*.

Población	D de Tajima
Cerro Bachoco	2.74021
Cerro Johnson	0.26337
Playa Miramar	-1.14554
Bahía de Kino	-0.78479

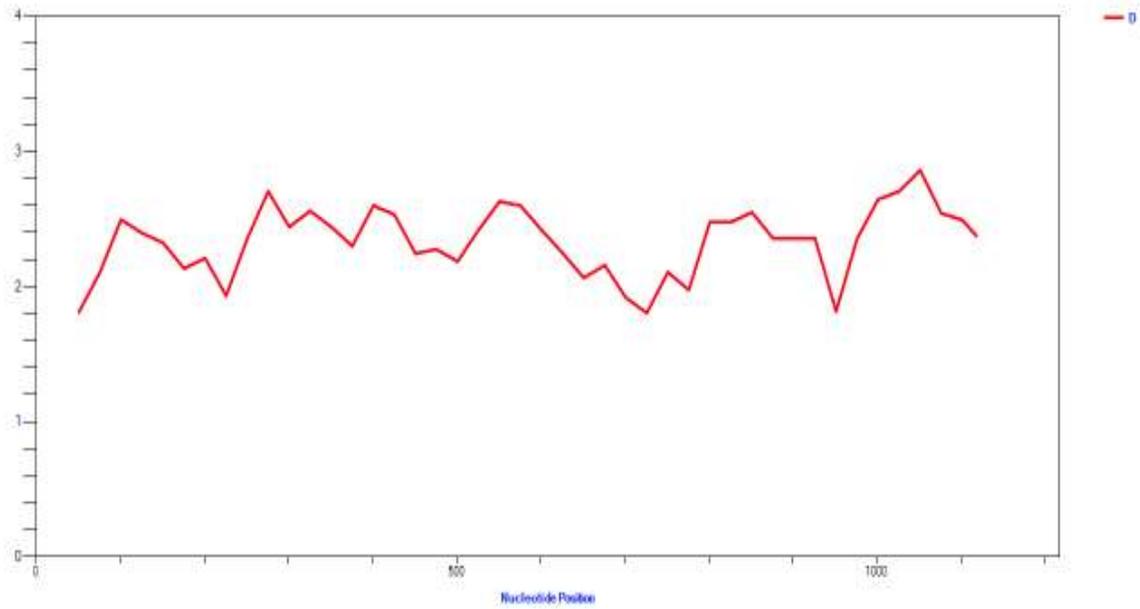


Figura 4. Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de *C. draconoides* del Cerro El Bachoco.

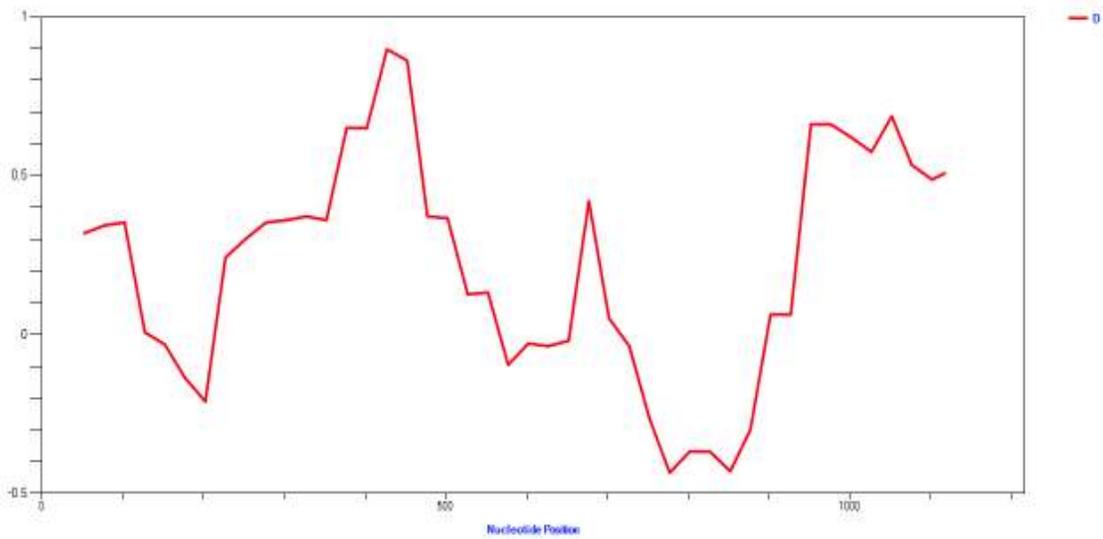


Figura 5. Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de *C. draconoides* del Cerro Johnson.

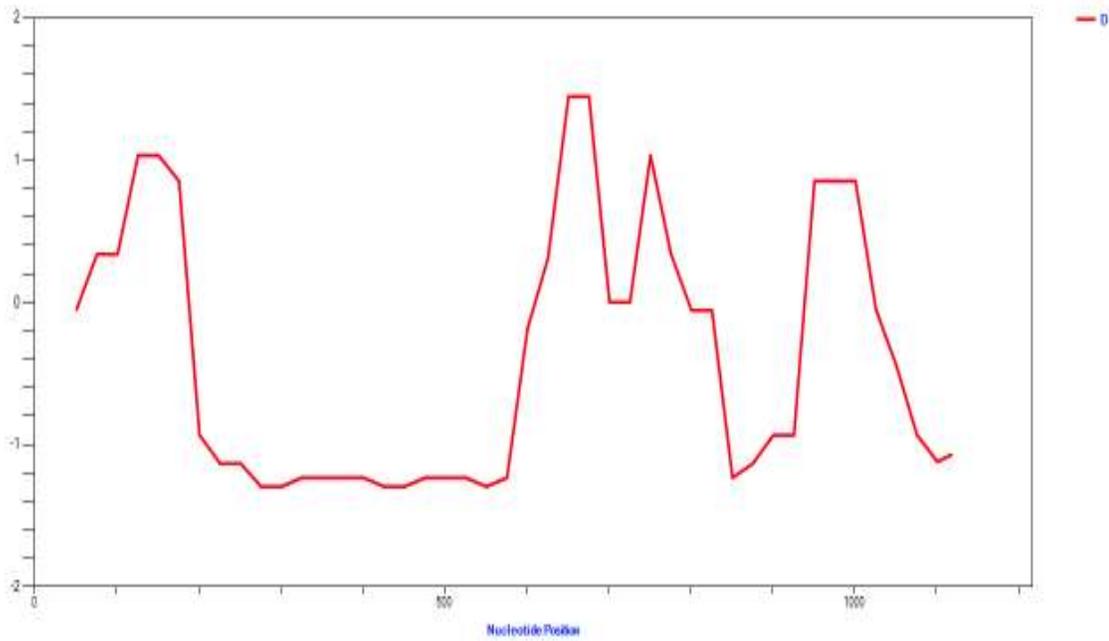


Figura 6. Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de *C. draconoides* de Bahía de Kino.

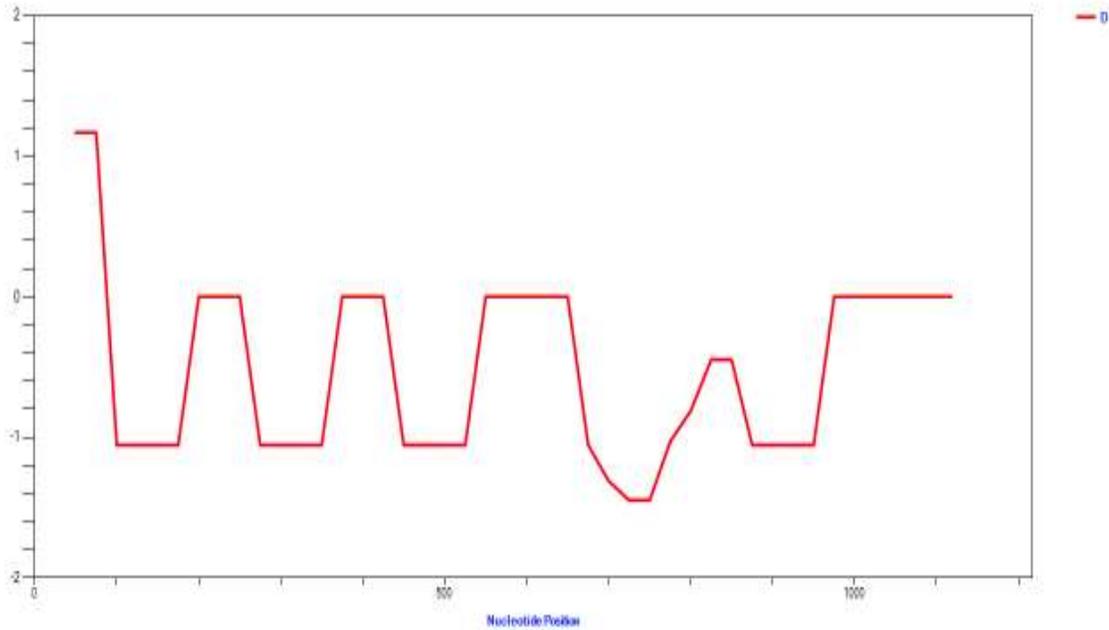


Figura 7. Gráfica de la prueba D de Tajima para la población de *C. draconoides* de la Playa Miramar.

Se llevó a cabo también un análisis de diversidad genética para las secuencias encontradas en la base de datos GenBank del NCBI (National Center for Biotechnology Information) para las subespecies de *Callisaurus draconoides* con base en el gen mitocondrial Cyt b con el objetivo de realizar una comparación con los resultados obtenidos para las poblaciones de Sonora (Tabla VII). Se encontró un rango de valores para la diversidad nucleotídica (π) de 0 a 0.0035, en donde *C. draconoides crinitus* fue la subespecie con un resultado más alto. Sin embargo, los valores obtenidos de π para todas las subespecies fueron muy bajos.

Las subespecies con mayor número de sitios polimórficos (P) fueron *C. draconoides inusitanus*, *C. draconoides draconoides*, *C. draconoides carmenensis*, *C. draconoides crinitus* y *C. draconoides rhodostictus*, siendo esta última la que obtuvo un resultado más alto con 120 sitios polimórficos. En cambio, las subespecies con menor número de sitios polimórficos fueron *C. draconoides brevipes*, *C. draconoides bogerti*, *C. draconoides ventralis*, *C. draconoides myurus*, las cuales obtuvieron valores entre 0 a 5 sitios polimórficos.

Tabla VII. Medidas de variabilidad genética para secuencias de cada una de las subespecies de *Callisaurus draconoides* encontradas en la base de datos del GenBank con base en el gen Cyt b. Donde: S= número de sitios segregantes, P= número de sitios polimórficos, H= número de haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, k= número promedio de diferencias nucleotídicas, π = diversidad nucleotídica, θW = Theta de Watterson.

Población	No. de secuencias	No. de mutaciones totales	S	P	H	Hd	k	π	θW
<i>C. draconoides rhodostictus</i>	47	128	120	120	31	0.979	13.601	0.01345	0.02687
<i>C. draconoides brevipes</i>	2	5	5	5	2	1.00	5.00	0.00476	0.00476
<i>C. draconoides bogerti</i>	2	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>C. draconoides inusitanus</i>	2	19	19	19	2	1.00	19.00	0.01908	0.01908
<i>C. draconoides ventralis</i>	2	0	0	0	1	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>C. draconoides draconoides</i>	4	30	30	30	4	1.00	16.333	0.01584	0.01587
<i>C. draconoides myurus</i>	3	2	2	2	2	0.667	1.333	0.00135	0.00135
<i>C. draconoides carmenensis</i>	17	74	68	68	17	1.00	22.941	0.02249	0.01972
<i>C. draconoides crinitus</i>	5	87	87	87	5	1.00	35.800	0.03500	0.04082

VII.2. Análisis filogeográficos

VII.2.1. Inferencia filogenética

El análisis filogenético bajo el método de máxima verosimilitud con base en el gen mitocondrial Cyt b sugiere que las cuatro posibles poblaciones de *C. draconoides* se encuentran en dos clados bien diferenciados (Figura 8). El primer clado agrupa a los haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson y el segundo clado agrupa a las poblaciones costeras de Bahía de Kino y la Playa Miramar con las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson y las subespecies *C. draconoides bogerti*, *C. draconoides inusitanus* y *C. draconoides brevipes*. La distribución geográfica para las subespecies *C. draconoides inusitanus* y *C. draconoides brevipes* se encuentra en el estado de Sonora, en cambio, para *C. draconoides bogerti* su distribución geográfica se encuentra en el estado de Sinaloa.

El clado de las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson se encuentra relacionado con las subespecies *C. draconoides rhodostictus*, *C. draconoides ventralis* y *C. draconoides myurus* cuya distribución geográfica se encuentra en los estados del norte como Sonora, Arizona, California y Nevada.

VII.2.2. Redes de Haplotipos

En la figura 5 se muestra la distribución geográfica de los haplotipos para las distintas poblaciones de *Callisaurus draconoides* con base en el gen mitocondrial Cyt b. Los resultados indican que se encontró un mayor número de haplotipos en la población del Cerro Bachoco con un total de 10 haplotipos, mientras que la población con un menor número de haplotipos fue la Playa Miramar con cinco. Sin embargo, la población con mayor diversidad haplotípica (Hd) fue Bahía de Kino con un total de 1 y para la población del Cerro Johnson se obtuvo la menor con un total de 0.775 (Tabla V).

En la red de haplotipos (Figura 10) se encontró que los linajes que componen a las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson están diferenciadas de los linajes de las poblaciones costeras. En el primer haplogrupo se encontraron la mayoría de los haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson y en el segundo haplogrupo se diferenciaron los haplotipos de las poblaciones costeras de Bahía de Kino y Guaymas con algunos haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson. Además, el cerro El Bachoco comparte los haplotipos 7 y 9 con el cerro Johnson por lo que probablemente existió cierto flujo genético entre estas poblaciones.

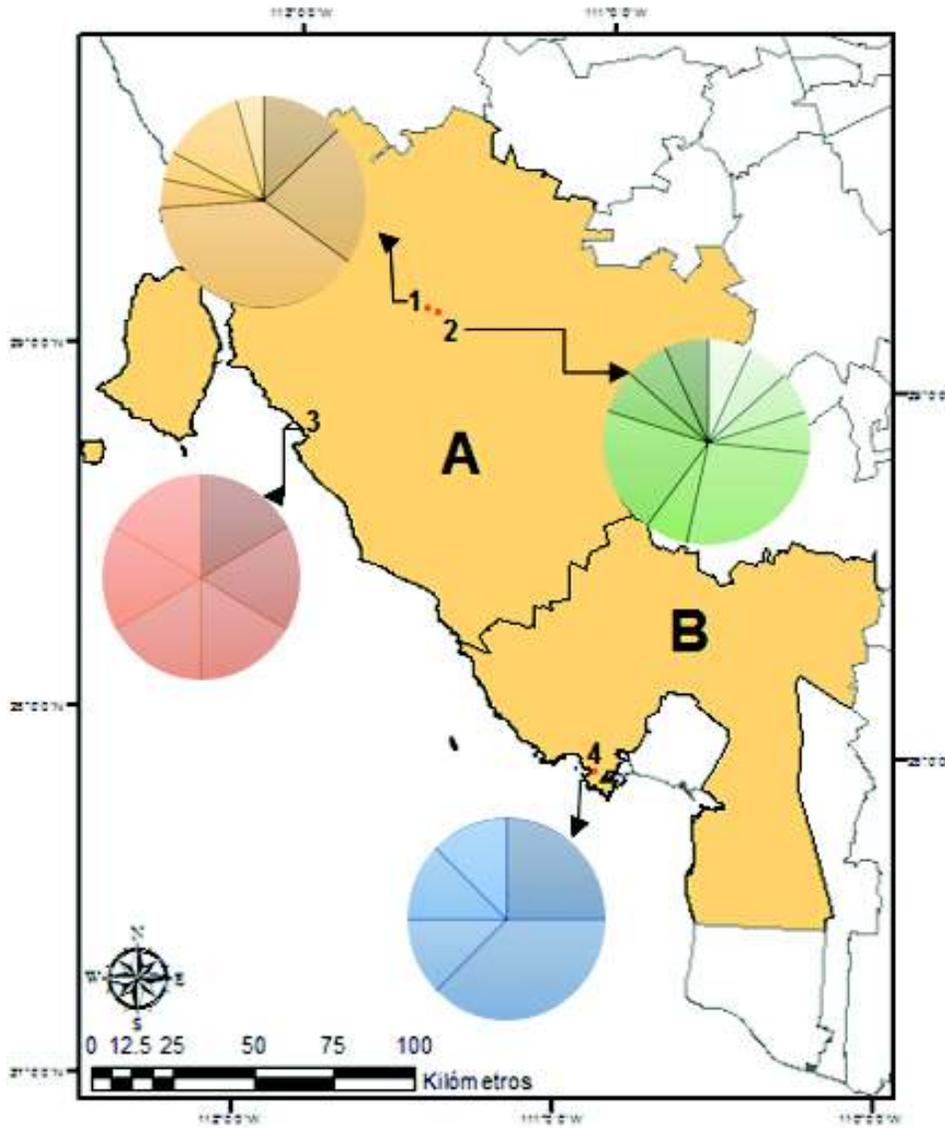


Figura 9. Distribución geográfica de los haplotipos del gen mitocondrial Cyt b en las distintas poblaciones de *Callisaurus draconoides* en el estado de Sonora, donde: A) Municipio de Hermosillo, 1) Cerro Johnson, 2) Cerro El Bachoco, 3) Bahía de Kino; B) Municipio de Guaymas, 4) Playa Miramar.

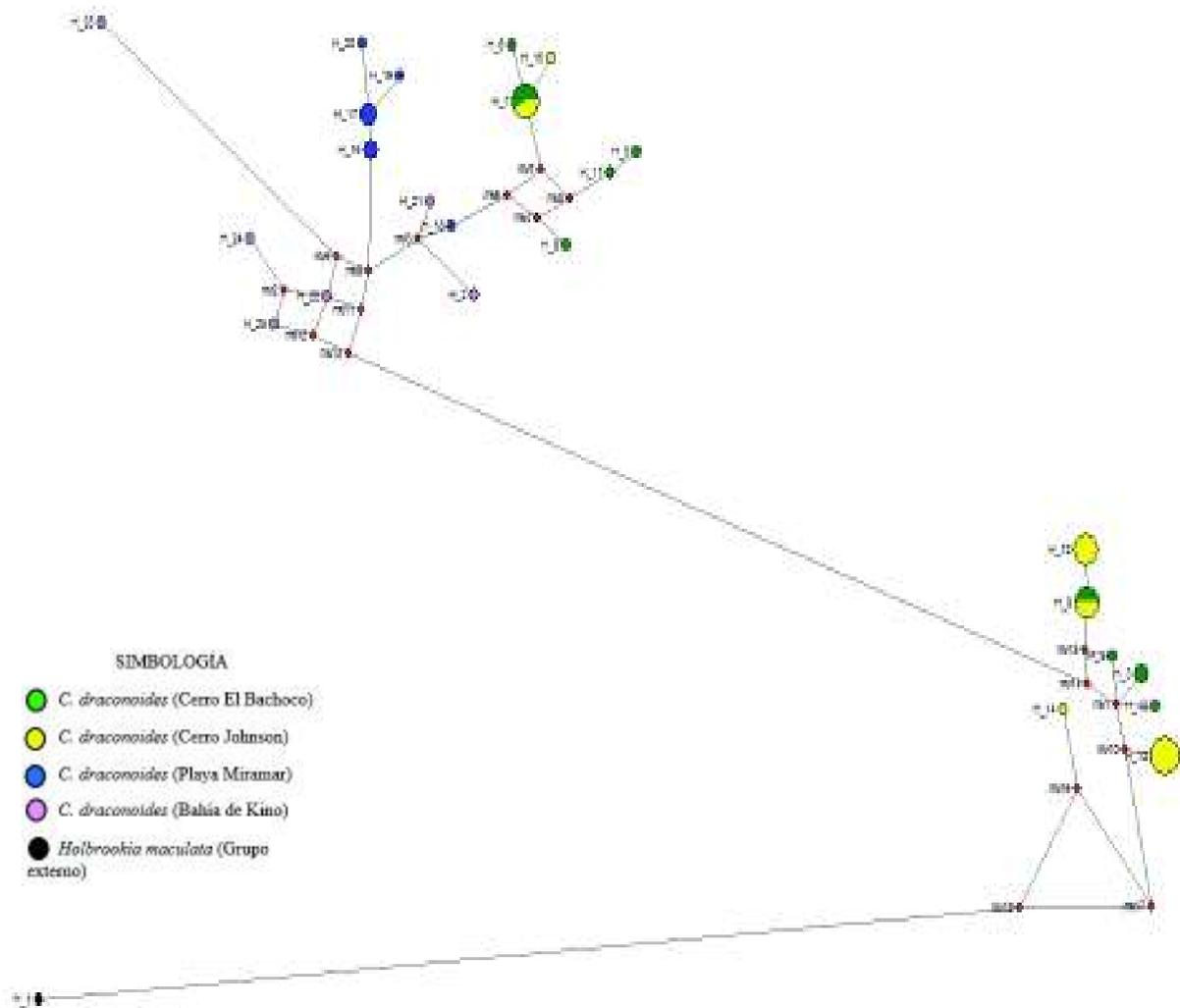


Figura 10. Red de haplotipos del gen mitocondrial Cyt b para los distintos linajes de *Callisaurus draconoides* en el estado de Sonora usando a *Holbrookia maculata* como grupo externo.

SIMBOLOGÍA

- C. draconoides (Cerro El Bacheo)
- C. draconoides (Cerro Johnson)
- C. draconoides (Playa Miramar)
- C. draconoides (Bahía de Kino)
- C. draconoides rhodocricetus
- C. draconoides brevipes
- C. draconoides bogerti
- C. draconoides inaequalis
- C. draconoides ventralis
- C. draconoides draconoides
- C. draconoides mysurus
- C. draconoides capromensis
- C. draconoides critialis
- *Holbrookia maculata* (Grupo externo)

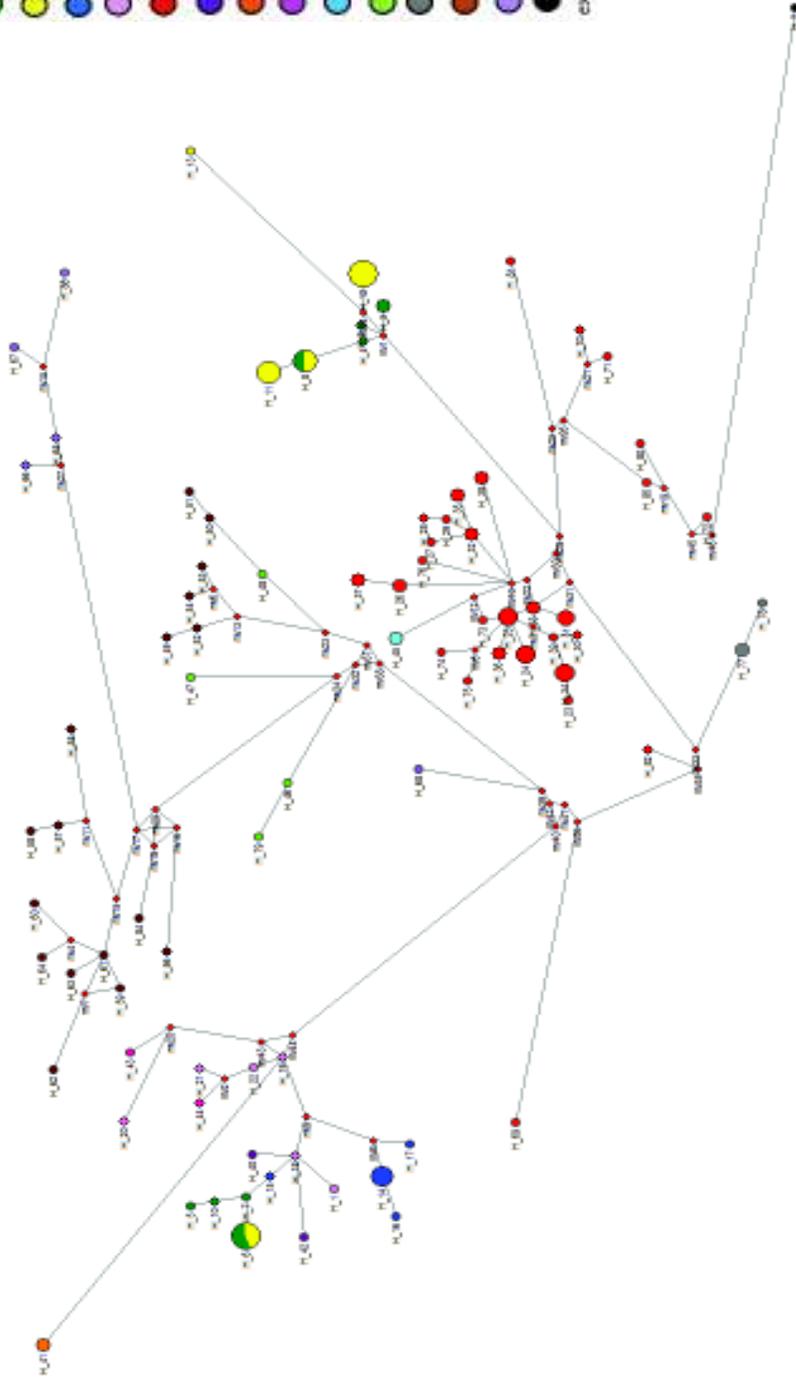


Figura 11. Red de haplotipos parcial del gen mitocondrial Cyt b para los distintos linajes de *Callisaurus draconoides* usando a *Holbrookia maculata* como grupo externo.

En la figura 11 se muestra la red de haplotipos parcial del gen mitocondrial Cyt b para los distintos linajes de *Callisaurus draconoides*, usando a *Holbrookia maculata* como grupo externo, donde se encontró una diferenciación en los linajes de las subespecies con distribución en el Norte, en los estados de Baja California en México y en California, Nevada y Arizona en los Estados Unidos de América, y un segundo haplogrupo con las subespecies distribuidas en el Golfo de California en el noroeste de México en los estados de Baja California, Sonora y Sinaloa.

VIII. DISCUSIÓN

VIII.1. Diversidad genética

En las poblaciones del Cerro Johnson y Bahía de Kino del municipio de Hermosillo y la Playa Miramar del municipio de Guaymas, así como las subespecies *C. draconoides brevipes*, *C. draconoides bogerti*, *C. draconoides inusitanus*, *C. draconoides ventralis*, *C. draconoides draconoides* y *C. draconoides myurus*, los valores de π y θ fueron similares o iguales (Tabla VII). Estos resultados indican que probablemente el polimorfismo observado en las poblaciones es neutro y que se encuentra distribuido de forma aleatoria. En cambio, para la población del Cerro El Bachoco el valor de π fue más alto que el valor obtenido de θ . La diversidad nucleotídica (π) se ve afectada mayormente por los alelos que poseen mayor frecuencia y es independiente del tamaño de la muestra, por lo que probablemente la fuerza de la selección positiva esté actuando sobre esta población incrementando sus frecuencias alélicas (Watterson, 1975; Tajima, 1983, 1989).

La diversidad genética es el requisito básico que necesitan las especies para pasar por procesos de evolución, solo los loci genéticamente variables son capaces de un cambio evolutivo (Gillespie, 2001). Sin embargo, cuando las poblaciones se encuentran bajo un modelo neutral, la diversidad genética depende de su tamaño efectivo poblacional y la tasa de mutación del gen (Kimura, 1983). El tiempo de generación puede ser un factor demográfico que contribuye a diferencias genéticas en las especies (Hague y Routman, 2016), de tal manera que tiempos de generación más prolongados significan que hay menos generaciones por unidad de tiempo. *Callisaurus draconoides* tiende a madurar en un año y tiene una supervivencia anual mucho menor que las especies con una diversidad genética menor (Tanner y Krogh, 1975). De tal manera que, la combinación de tiempos de generación más cortos y mayores tamaños de población probablemente sean contribuyentes demográficos importantes en la diversidad genética neutral para esta especie.

En el análisis de secuencias basado en la prueba de D de Tajima se obtuvieron resultados positivos para las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson, indicando que probablemente algunos alelos se encuentran bajo selección positiva, afectando sus frecuencias. Por otro lado,

las poblaciones costeras de la Playa Miramar y Bahía de Kino dieron resultados negativos, de manera que probablemente exista la presencia de mutaciones deletéreas (Tajima, 1983, 1989; Eguiarte, 2007).

Las poblaciones de lagartijas de los cerros El Bachoco y Johnson presentaron niveles de diversidad nucleotídica (π) más altos que las poblaciones costeras. Esto puede deberse a un sesgo de muestreo, ya que para las poblaciones costeras como la Playa Miramar y Bahía de Kino el tamaño de la muestra fue muy bajo, de manera que pudo haber afectado los resultados para la diversidad genética. Sin embargo, los valores obtenidos para las poblaciones de los cerros y las costeras varían entre 0.002 a 0.04 los cuales coinciden con la diversidad nucleotídica para las subespecies (Tabla VII) *C. draconoides brevipes* y *C. draconoides inusitanus* con 0.00476 y 0.01908 respectivamente, las cuales podemos encontrar en el estado de Sonora.

Estudios realizados con el gen Citocromo b para especies de lagartos relacionados de la Reserva Nacional Mojave (MNP) en el Condado de San Bernardino, California en Estados Unidos de América muestran que las especies abundantes casi siempre tienen niveles más altos de diversidad genética y haplotípica como *Callisaurus draconoides* y *Coleonyx variegatus* en comparación de las especies menos comunes como *Sauruomalus ater* y *Dipsosaurus dorsalis* (Hague y Routman, 2016).

Los resultados de diversidad nucleotídica (π) para las poblaciones de *C. draconoides* coinciden con los obtenidos para otros reptiles del estado de Sonora, tal como es el caso para las especies de iguanas espinosas del género *Ctenosaura* (Pacheco, 2016), en donde se obtuvo un rango de valores de 0.007 a 0.0236 para el gen ND4 y 0.0005 a 0.0237 para el gen COIII. Además, estos resultados también son similares para los reportados para otros reptiles en el mundo, tal como la especie *Shinisaurus crocodilurus* en China en donde se llevó a cabo un estudio de diversidad genética y demografía poblacional y se obtuvieron valores de π para genes mitocondriales como el Cyt b y ND6 entre 0 y 0.0094 cuyos valores son similares con los obtenidos por Hague y Routman (2016) de 0.0063 (± 0.0067) para la lagartija *C. draconoides* (Huang et al., 2014). Por lo tanto, la mayor diversidad genética en las poblaciones más abundantes probablemente se debe a una serie de factores demográficos como tamaños de población local más grandes (posiblemente tamaños efectivos), tiempos de generación más rápidos y altas tasas de flujo genético con otras poblaciones (Hague y Routman, 2016).

Las regiones asociadas al noroeste de México y la península de Baja California forman una de las áreas geológicamente más interesantes del mundo, desde interacciones de placas tectónicas intensas, cambios en el nivel del mar y hasta la actividad volcánica se han combinado para dar como resultado a una compleja biota regional (Carreño y Helenes, 2002). Lindell y colaboradores en el año 2005 llevaron a cabo un estudio de la historia genealógica de *C. draconoides* con base a genes mitocondriales y reportaron que la existencia de la división genealógica dentro de la especie es debido a una vía marítima peninsular en Baja California. Las poblaciones de *C. draconoides* probablemente pudieron haber estado históricamente aisladas a lo largo de esta vía marítima, generando la división genealógica en el ADN mitocondrial y posteriormente, cuando el océano retrocedió, las poblaciones se reunieron y comenzaron a cruzarse nuevamente, generando así el suficiente flujo genético. Por lo tanto, asumen que los patrones geográficos de las genealogías de esta especie están estrechamente vinculados con la historia materna, incluidos los patrones de dispersión (Lindell et al., 2005).

Adest (1987) en sus estudios utilizando a las aloenzimas como marcador molecular reportó bajas divergencias genéticas entre siete poblaciones de *C. draconoides* que representaban a seis subespecies que tenían una distribución geográfica separada. Estos bajos niveles de divergencia coincidieron con lo reportado de diferenciación intraespecífica para otros reptiles de Baja California (Murphy, 1983).

Gerson (2016) llevó a cabo un estudio de los patrones de uso de espacio de *C. draconoides* y menciona que, si bien algunas lagartijas pueden ser residentes de un sitio en particular, pueden existir otros individuos que podrían estar en movimiento y considerarse como “transitorios”. Es decir, se mueven a través de cierta área a una nueva ubicación y es posible que ambos sexos se dispersen en esta especie. Por lo tanto, resulta probable que exista cierto flujo genético entre los individuos que se encuentran en un área geográfica cercana como las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson del municipio de Hermosillo, Sonora.

VIII.2. Análisis filogeográficos

VIII.2.1. Inferencia filogenética

Se lograron diferenciar en el árbol filogenético a dos clados, el primero agrupa a los haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson y el segundo clado agrupa a las poblaciones costeras de Bahía de Kino y la Playa Miramar con las poblaciones de los cerros y las subespecies *C. draconoides bogerti*, *C. draconoides inusitanus* y *C. draconoides brevipes*. Las subespecies *C. draconoides inusitanus* y *C. draconoides brevipes* tienen distribución geográfica en el estado de Sonora por lo que se encuentran más cercanamente relacionadas con las cuatro posibles poblaciones de este estudio. En cambio, la subespecie *C. draconoides bogerti* se encuentra distribuida en el estado de Sinaloa, de manera que probablemente las poblaciones costeras y de los cerros correspondan a alguna de las subespecies *C. draconoides inusitanus* o *C. draconoides brevipes* las cuales se encuentran en el estado de Sonora.

El clado de los cerros El Bachoco y Johnson se encuentra relacionado con los linajes de las subespecies *C. draconoides rhodostictus*, *C. draconoides ventralis*, *C. draconoides myurus* y *C. draconoides crinitus*, cuya distribución geográfica corresponde a los estados del norte de México y los estados de California, Nevada y Arizona en los Estados Unidos de América. Las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson fueran las únicas con haplotipos compartidos. La distribución geográfica de estos estados corresponde a los desiertos de Sonora y Mojave.

El reconocimiento de componentes bióticos forma una primera etapa hacia una teoría biogeográfica sintética. Los componentes bióticos pueden definirse como conjuntos de taxones integrados espacio-temporalmente debido a una historia común, que caracterizan áreas geográficas. El componente Neártico incluye las áreas áridas subtropicales del norte del país, en las provincias biogeográficas de California, Baja California, Sonora, Altiplano Mexicano y Tamaulipas. Los eventos vicariantes asociados con la evolución biótica del componente Neártico se relacionan con la formación de la Sierra Madre Occidental, que aisló el desierto de Chihuahua de los de Sonora y Mojave, y la expansión del Mar de Cortés, que aisló la Península de Baja California del continente (Morrone, 2005).

Grismer (1994) realizó un análisis biogeográfico cladístico de la herpetofauna de Baja California y concluyó que esta se originó por vicarianza, cuando el Golfo de California se formó

y se extendió hacia el norte, aislando así a la península. Además, menciona que el desarrollo de los desiertos de Sonora, Mojave y la Gran Cuenca coadyuvó a la fragmentación de las especies de la península de Baja California de las del suroeste de los Estados Unidos de América y el noroeste de México.

Lindell et al. (2005) sugieren que la historia genealógica que obtuvieron como resultado en su estudio plantea la cuestión de si *Callisaurus draconoides* en realidad consiste de varias subespecies. Llevaron a cabo una filogenia bajo el método de Parsimonia con Cyt b y ATPasa como marcadores moleculares y obtuvieron como resultado tres clados independientes. El primero corresponde a las poblaciones con distribución geográfica en el estado de Sonora, conformado por las subespecies *C. draconoides inusitanus* y *C. draconoides brevipes*, las cuales pertenecen a la Isla Tiburón, Bahía de Kino y Álamos y por Mazatlán en el estado de Sinaloa la subespecie *C. draconoides bogerti*. El segundo clado corresponde a las poblaciones cuya distribución geográfica se encuentra en el estado de Nevada para la subespecie *C. draconoides myurus*, en California, Arizona y Baja California para *C. draconoides rhodostictus* y para la subespecie *C. draconoides crinitus* en Baja California. Por último, el tercer clado se encuentra compuesto por las poblaciones cuya distribución geográfica corresponde a Baja California Sur, conformada por las subespecies *C. draconoides carmenensis*, *C. draconoides draconoides* y *C. draconoides crinitus*. La división genealógica más profunda la obtuvieron entre el clado de Baja California y la parte continental de México.

Los resultados de Lindell et al. (2005) coinciden con los obtenidos en este estudio. Se encontró una división genealógica más profunda entre los clados cuyos estados se encuentran hacia el norte o sur con respecto a Baja California. El clado en donde se encuentran las poblaciones costeras de Bahía de Kino y la Playa Miramar junto con las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson, se agruparon con las subespecies *C. draconoides inusitanus*, *C. draconoides brevipes* y *C. draconoides bogerti* (Figura 8) el cual coincide con el primer clado en la filogenia bajo el método de Parsimonia de Lindell y colaboradores en el año 2005. Sin embargo, los resultados del árbol filogenético de este estudio, separa a algunos haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson en un clado independiente con respecto al clado donde se encuentran las poblaciones del estado de Sonora y Sinaloa, aspecto que no coincide con la filogenia de Lindell et al. (2005).

VIII.2.2. Redes de haplotipos

En la red de haplotipos (Figura 10) se encontraron dos haplogrupos, el haplogrupo de las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson y el grupo de haplotipos para las poblaciones costeras de la Playa Miramar y Bahía de Kino, e incluye también algunos haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson. Además, estos cerros comparten los haplotipos 7 y 9, de tal manera que estos resultados refuerzan la posibilidad de que los individuos de estas dos poblaciones al estar en un área geográfica cercana tiendan a desplazarse de un cerro a otro, y por lo tanto exista un constante flujo genético (Gerson, 2016).

En la figura 11 se muestra la red de haplotipos parcial con base en el gen mitocondrial Cyt b para las subespecies de *C. draconoides* y para los individuos de los cerros El Bachoco y Johnson, Bahía de Kino y la Playa Miramar del estado de Sonora. Se lograron diferenciar dos haplogrupos, el primero con distribución geográfica en el norte para las subespecies *C. draconoides rhodostictus*, *C. draconoides ventralis* y *C. draconoides myurus* con haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson de Hermosillo, Sonora.

El segundo haplogrupo se encuentra formado por poblaciones con distribución geográfica en los estados que conforman el Golfo de California como *C. draconoides rhodostictus*, *C. draconoides crinitus*, *C. draconoides draconoides*, *C. draconoides carmenensis*, *C. draconoides inusitanus*, *C. draconoides bogerti* y *C. draconoides brevipes* con haplotipos de las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson, la Playa Miramar y Bahía de Kino del estado de Sonora. La separación de estos dos filogrupos, las poblaciones con distribución en el norte y las poblaciones con distribución en los estados que corresponden al Golfo de California, el número de pasos mutacionales que separan a estos linajes no reflejan que exista cierta diferencia entre la distribución de los haplotipos para cada una de las distintas subespecies de esta lagartija.

Se encontraron a los haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson, la Playa Miramar y Bahía de Kino junto con los haplotipos de las subespecies *C. draconoides inusitanus* y *C. draconoides brevipes* las cuales son las que también se distribuyen en el estado de Sonora, de manera que probablemente las poblaciones muestreadas en este estudio correspondan a alguna de esas dos subespecies.

La diversidad de haplotipos entre las poblaciones de *C. draconoides* probablemente se deba al fenómeno de aislamiento por distancia, el cual examina la relación del flujo génico entre pares de poblaciones con la distancia geográfica (Slatkin, 1993; Aguirre-Planter, 2007), es decir, la probabilidad de que exista flujo génico disminuye al incrementarse la distancia espacial y por lo tanto los individuos tienden a reproducirse con sus vecinos más cercanos. Este puede ser el caso para las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson que al estar geográficamente cercanas puede que los individuos de ambas poblaciones estén desplazándose y por lo tanto, llevando sus genes de una población a otra.

Estudios realizados anteriormente para *Callisaurus draconoides* asumen que las relaciones jerárquicas entre los haplotipos de ADN mitocondrial solo siguen los linajes maternos (Lindell et al., 2005). Aunque la herencia paterna ha sido descrita en otros taxones, para vertebrados solo se ha reportado en tres especies y ninguno corresponde al grupo de los reptiles, por lo que los patrones de las genealogías están estrechamente relacionadas con la historia uniparental por vía materna, incluidos los patrones de dispersión. Wilgenbusch y de Queiroz (2000) cuestionaron si *C. draconoides* es un género monotípico debido a los valores altos obtenidos para las distancias genéticas. De manera que, las divisiones de genealogías profundas probablemente estén asociadas al flujo génico y la diferenciación de la población.

VIII.3. Implicaciones en la conservación

Con base a los resultados obtenidos en este estudio, las poblaciones de la lagartija *Callisaurus draconoides* con distribución en los municipios de Hermosillo y Guaymas del estado de Sonora presentan una baja variabilidad genética. Si la variabilidad genética en una población es baja, tienen menores probabilidades de sobrevivir y adaptarse a las diferentes condiciones ambientales que puedan presentarse (Piñero et al., 2008). Cuando los ambientes cambian de manera rápida, la diversidad debe estar presente dentro de las poblaciones que vayan a experimentar estas nuevas condiciones y poder responder y adaptarse a dichos cambios (Loo, 2011).

Conocer cómo se encuentra la variabilidad genética en una población es el primer paso en todo análisis evolutivo. Para las poblaciones de este estudio, la variabilidad genética es

relativamente baja, de manera que estos resultados sirven como un primer antecedente para conocer cómo se encuentran las poblaciones de esta lagartija en el estado de Sonora. Sin embargo, para un futuro plan de manejo para la conservación de la especie, son necesarios otros estudios para evaluar a estas poblaciones, como el uso de otros marcadores moleculares, aumentar el tamaño de la muestra, la existencia de flujo genético entre poblaciones, conocer el tamaño efectivo poblacional, entre otros factores que ayudarán a dar mayor confiabilidad a las posibles estrategias necesarias para la conservación de esta especie.

Uno de los principales problemas que ha sufrido *C. draconoides* a lo largo de los últimos años es la pérdida del hábitat por la degradación de suelos, cambio de uso de suelo, contaminación y la reducción de flora y fauna por la introducción de especies exóticas. Estos diversos cambios han llevado a que la especie se encuentre bajo el estatus de amenazada según la NOM-059-SEMARNAT-2010. Además de conocer la variabilidad genética de esta especie es necesario también evaluar las condiciones actuales de su hábitat y si estos cambios posiblemente se encuentren relacionados y estén influyendo en los resultados de la baja variabilidad genética encontrada para “la perrita del desierto”.

La genética de la conservación tiene como principales objetivos 1) conservar la variación genética maximizando el tamaño efectivo poblacional, facilitando el flujo genético entre poblaciones y manteniendo la capacidad de adaptación, 2) evitar la endogamia y sus efectos dañinos y 3) evitar la depresión por exogamia, es decir, evitar el flujo genético entre poblaciones diferenciadas (Eguiarte et al., 2007). De manera que, preservar la variabilidad genética de esta especie es crucial en las estrategias de conservación para contrarrestar las principales amenazas a la diversidad.

IX. CONCLUSIONES

1. Las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson presentan una mayor variabilidad genética con respecto a las poblaciones costeras de Bahía de Kino y la Playa Miramar de Guaymas, lo cual coincide con el número de mutaciones y sitios polimórficos encontrados en los análisis con base en el gen mitocondrial Cyt b.
2. Según los resultados de las inferencias filogenéticas del gen Cyt b se encontraron dos clados diferenciados. El primero agrupa a las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson y el segundo agrupa a las poblaciones costeras de Bahía de Kino y la Playa Miramar con las poblaciones de los cerros y las subespecies *C. draconoides bogerti*, *C. draconoides inusitanus* y *C. draconoides brevipes*; siendo estas dos últimas las más relacionadas de manera que probablemente estas cuatro poblaciones correspondan a alguna de esas dos subespecies.
3. Los análisis de redes de haplotipos indican la existencia de dos haplogrupos diferenciados: el primero corresponde a las poblaciones con distribución en el norte con haplotipos de los cerros El Bachoco y Johnson de Hermosillo, Sonora y el segundo corresponde a las poblaciones con distribución en los estados que conforman el Golfo de California con haplotipos de las poblaciones de los cerros El Bachoco y Johnson, la Playa Miramar y Bahía de Kino del estado de Sonora.
4. Es necesario el uso de otros marcadores moleculares, mayor tamaño de muestra y otros análisis para crear un posible plan de manejo de la especie con estrategias factibles para las condiciones actuales en las que se encuentran las poblaciones de *C. draconoides* con distribución en el estado de Sonora.

X. LITERATURA CITADA

- Adest, G.A., 1987. Genetic differentiation among populations of the zebratail lizard, *Callisaurus draconoides* (Sauria: Iguanidae). *Copeia* 854–859.
- Aguirre-Planter, E. 2007. Flujo génico: Métodos para estimarlo y marcadores moleculares, 49-61 p. En: Eguiarte, E., V. Souza y X. Aguirre (Eds), *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. Ciudad de México, México.
- Álvarez, V. 2008. Estudio multidisciplinar de la variabilidad del ADN mitocondrial en poblaciones humanas. Tesis de doctorado. Universidad Santiago de Compostela. España.
- Avice, J. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* 36: 3-15.
- Avice, J. 2012. *Molecular markers, natural history and evolution*. Springer Science & Business Media.
- Avice, J., J. Arnold, R. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. Neigel, C. Reeb y N. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489-522.
- Blair, C., F. Méndez, A. Ngo, J. Lindell, A. Lathrop y R. Murphy. 2009. Molecular phylogenetics and taxonomy of leaf-geckos (Phyllodactylidae: *Phyllodactylus*) inhabiting the peninsula of Baja California. *Zootaxa* 2027: 28-42.
- Brown, A. H. D. 1979. Enzyme polymorphisms in plant populations. *Theoretical Population Biology* 15:1-42.
- Brown, W.M. 1985. The mitochondrial genome of animals, 95-130 p. En: R.J. MacIntyre (Ed.), *Molecular evolutionary genetics*. Plenum, Nueva York, Estados Unidos de América.
- Castro, M. 2009. Evolución de los Retrotransposones con LTRs del grupo Ty3/gypsy en los Genomas de *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti* y *Drosophila melanogaster*. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Departamento de Genética. Santiago de Compostela, Galicia, España.

- Cruzan, M. y A. Templeton. 2000. Paleoecology and coalescence: phylogeographic analysis of hypotheses from the fossil record. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 491-496.
- Devey, M., J. Bell, D. Smith, D. Neale y G. Moran. 1996. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD, and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 673-679.
- Domínguez-Domínguez, O. y E. Vázquez-Domínguez. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation* 32: 52-70.
- Donoso, C., A. Premoli y R. Ipiniza. 2004. Variación Intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria. Santiago de Chile, Chile.
- Edwards A., A. Civetello, H. Hammond y T. Caskey. 1991. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal Human Genetics* 49: 746-756.
- Eguiarte, L. E. y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *Ciencias. Número especial 4. Ecología y conservación en México: 34 –47* (reimpreso en Núñez-Farfán J. y L. E. Eguiarte (editores). *La evolución biológica*. Facultad de Ciencias, Instituto de Ecología, UNAM, CONABIO. Pp. 371-398.
- Eguiarte, L., J. Aguirre-Liguori, L. Jardón-Barbolla, E. Aguirre-Planter y V. Souza. 2013. Genómica de poblaciones: Nada en evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución. *Revista Especializada en Ciencia Químico-Biológicas* 16: 42-56.
- Enderson, E., A. Quijada-Mascareñas, D. Turner, R. Bezy y P. Rosen. 2010. Una sinopsis de la herpetofauna con comentarios sobre las prioridades en investigación y conservación, 357-383 p. En: Molina-Freaner, F. y T.R. Van Devender (Eds), *Diversidad biológica de Sonora*. UNAM, México.
- Gerson, M. 2016. Patterns of space use in zebra-tailed lizards (*Callisaurus draconoides*) in Joshua Tree National Park, California, USA. *Herpetological Conservation and Biology* 11: 112-121.

- Gillespie, J. 1998. Population Genetics: A concise guide. The Johns Hopkins University Press, United States of America.
- Grismer, L. L. 1994. The origin and evolution of the peninsular herpetofauna of Baja California, México. *Herpetological Natural History* 2: 51-106.
- Grismer, L. L. 2002. Amphibians and reptiles of Baja California, including its Pacific island and the islands in the Sea of Cortes. University of California Press, Berkeley, United States of America.
- Golstein, D. y D. Pollok. 1994. Least-squares estimation of molecular distance noise abatement in phylogenetic reconstruction. *Theoretical Applied Genetics* 12: 432-440.
- Hague, M.T.J. y E.J. Routman. 2016. Does population size affect genetic diversity? A test with sympatric lizard species. *Heredity* 116: 92-98.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Harris, H. 1966. Enzyme polymorphisms in man. *Proceedings of the Royal Society Series B* 164:298-31.
- Hedrick, P. 2011. *Genetics of Populations*. Jones and Bartlett Publishers. Sundbury, Massachusetts, United States of America.
- Hernández-Baños, B., M. Honey-Escandón, M. Cortés-Rodríguez y G. García. 2007. Filogeografía de aves mexicanas, 467-495 p. En: Eguiarte, E., V. Souza y X. Aguirre (Eds), *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. Ciudad de México, México.
- Hickerson, M., B., J. Carstens, K. Cavender-Bares, C. Crandall, J. Graham, L. Johnson, L. Rissler, P. Victoriano y A. Yoder. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 291-301.
- Hillis D. y M. Dixon. 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Quarterly Review of Biology* 66: 411-453.

- Huang, H., H. Wang, L. Li, Z. Wu y J. Chen. 2014. Genetic diversity and population demography of the Chinese crocodile lizard (*Shinisaurus crocodilurus*) in China. PLoS ONE 9: e91570.
- Hodges, W. y K. Zamudio. 2004. Horned lizard (*Phrynosoma*) phylogeny inferred from mitochondrial genes and morphological characters: understanding conflicts using multiple approaches. Molecular Phylogenetics and Evolution 31: 961-971.
- Hubby J.L. y R.C. Lewontin. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 54:577-59.
- Jiménez, P. y C. Collada. 2000. Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. Revista de Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales, fuera de serie No.2.
- Kimura, M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. Nature 217: 624-626.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16:111-120.
- Kimura, M. 1983. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press. Cambridge.
- Kocher, T., W. Thomas, A. Meyer, S. Edwards, S. Pääbo, F. Villablanca y A. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences 86: 6196-6200.
- Lemos, J., H. Smith, J. Dixon y A. Cruz. 2015. Anfibios y reptiles de Sonora, Chihuahua y Coahuila, México. CONABIO. Ciudad de México, México.
- Librado, P. y J. Rozas. 2009. DNAsp v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25: 1451-1452.

- Litt, M., y J. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44: 397.
- Loo, J. A. 2011. Manual de genética de la conservación: Principios aplicados de genética para la conservación de la diversidad biológica. Comisión Nacional Forestal. México.
- Malone, C. L., V.H. Reynoso y L. Buckley. 2017. Never judge an iguana by its spines: Systematics of the Yucatan spiny tailed iguana, *Ctenosaura defensor* (Cope, 1866). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 115: 27-39.
- Markert C.L., y F. Moller 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenic and species-specific patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 45:753-763.
- Moreno, A. 2007. Tamaño efectivo de la población, 63-86 p. En: Eguiarte, E., Souza, V. y X. Aguirre (Eds), *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. Ciudad de México, México.
- Morrone, J.J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76: 207-252.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York, United States of America.
- Nei, M. y W. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76:5269-5273.
- Noonan, B. P., J.B. Pramuk, R.L. Bezy, E.A. Sinclair, K. de Queiroz y J. W. Sites. 2013. Phylogenetic relationships within the lizard clade Xantusiidae: Using trees and divergence times to address evolutionary questions at multiple levels. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69: 109-122.
- Pacheco, N. 2016. Flujo genético entre las poblaciones de iguanas insulares y continentales en el Golfo de California. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Ciudad de México, México.

- Passarge, E. 2007. Color Atlas of Genetics. Editorial Thieme. New York, United States of America.
- Pianka, E. y W. Parker. 1972. Ecology of the Iguanid Lizard *Callisaurus draconoides*. *Copeia* 3: 493-508.
- Pierce, B. 2009. Genética: Un enfoque conceptual. W. H. Freeman and Company. New York, United States of America.
- Piñero, D., A. Barahona, L. Eguiarte, A. Rocha y R. Salas. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, 415-435 p. En: Soberón, J., Halffter, G. y J. Llorente-Bousquets (Eds). 2008. Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO. México, DF.
- Rentería, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares, 541-566 p. En: Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre (Eds). 2007. Ecología molecular. Instituto de Ecología, SEMARNAT. México, DF.
- Rischkowsky, B. y D. Pilling. 2010. La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y agricultura. FAO. Roma, Italia.
- Rorabaugh, J. y J. Lemos-Espinal. 2016. A Field Guide to the Amphibians and Reptiles of Sonora, Mexico. ECO Herpetological Publishing and Distribution. U.S.A.
- Slatkin, M. 1981. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of ADN sequences in finite populations. *Genetics* 105:437-460.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei y S. Kumar. 2011. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731-2739.

- Varela-Romero, A. 2007. Variación genética mitocondrial en bagres del género *Ictalurus* (Pisces: Ictaluridae) en el Noroeste de México. Tesis de doctorado. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Hermosillo, Sonora.
- Vázquez-Domínguez, E. 2007. Filogeografía y vertebrados, 441-466 p. En: Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre (Eds), Ecología molecular. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. Ciudad de México, México.
- Watterson, G. 1975. On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theoretical Population Biology* 7:256-276.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.

XI. APÉNDICES

APÉNDICE 1.

Método de Extracción de ADN QIAamp DNA Mini Kit.

Día 1

1. Coloque 25mg de tejido (aproximadamente) en un tubo estéril de 1.5ml con 80 a 100µl de PBS y dejar reposar durante un tiempo de 20 a 40 minutos aproximadamente. Homogenice la muestra y agregue 100µl de buffer ATL.
2. Agregue 20µl de proteinasa K y mezcle por vórtex.
3. Incube la muestra a 56°C hasta que el tejido esté completamente lisado o deje durante toda la noche.

Día 2

4. Centrifugue brevemente los microtubos para concentrar las gotas de las paredes.
5. Agregue 200µl de buffer AL y mezcle por vórtex 15 segundos.
6. Incube a 70°C por 10 minutos.
7. Centrifugue brevemente.
8. Agregue 200µl de etanol (96-100%), mezcle por vórtex durante 15 segundos.
9. Centrifugue brevemente.
10. Cuidadosamente transfiera la mezcla del paso 8 (incluyendo el precipitado) a la columna 2IAamp Spin (en un tubo de colecta de 2ml) sin humedecer el borde. Tape bien.
11. Centrifugar a 6000xg por un minuto.
12. Colocar la columna 2IAamp Spin en un tubo limpio de colecta de 2ml y descartar el tubo que contiene el filtrado.
13. Abra cuidadosamente la columna 2IAamp Spin y agregue 500µl de buffer AW1 sin humedecer el borde. Tape bien.
14. Centrifugue a 6000xg por un minuto (8000rpm o 6000rcf).
15. Coloque la columna 2IAamp Spin en un tubo limpio de colecta de 2ml y descarte el tubo que contiene el filtrado.

16. Abra cuidadosamente la columna 2IAamp Spin y agregue 500µl de buffer AW2 sin humedecer el borde. Tape bien.
17. Centrifugue a máxima velocidad (20,000xg) por tres minutos.
18. Coloque la columna 2IAamp Spin en un microtubo limpio de 1.5ml y descarte el tubo colector que contiene el filtrado.
19. Abra cuidadosamente la columna y agregue 200µl de buffer AE.
20. Incube a temperatura ambiente por un minuto.
21. Centrifugue a 6000xg por un minuto.
22. Elimine la columna y almacene el filtrado con el ADN a -20°C.