



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**

**ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA**

**LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA PARTENOGENÉISIS EN EL COMPLEJO**  
*Aspidoscelis cozumela* (Squamata: Teiidae)

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA PRESENTA:**

**MARCELINO MARTÍNEZ NÚÑEZ**

**DIRECTOR: DRA. NORMA LETICIA MANRÍQUEZ MORÁN**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**  
**ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA**  
**COORDINACIÓN DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGIA**

**M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO**  
**DIRECTOR DE CONTROL ESCOLAR, UAEH**

**P R E S E N T E**

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado al pasante de Licenciatura en Biología **Marcelino Martínez Núñez** quien presenta el trabajo recepcional de tesis titulado “Origen y evolución de la partenogénesis en el complejo *Aspidoscelis cozumela* (Squamata: Teiidae)”, después de revisarlo en reunión de sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

**PRESIDENTE:** M. en C. Miguel Angel Cabral Perdomo

**PRIMER VOCAL:** Dra. Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea

**SEGUNDO VOCAL:** M. en C. Mario Segura Almaraz

**TERCER VOCAL:** Dra. Norma Leticia Manríquez Morán

**SECRETARIO:** Dra. María del Consuelo Cuevas Cardona

**PRIMER SUPLENTE:** Dr. Juan Márquez Luna

**SEGUNDO SUPLENTE:** Dra. Claudia Teresa Hornung Leoni

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

**A T E N T A M E N T E**  
**“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”**

**Mineral de la Reforma, Hidalgo a 19 de enero de 2010**



**Biol. Ulises Iturbe Acosta**  
**Coordinador Adjunto de la Licenciatura en Biología**

## **AGRADECIMIENTOS**

Sirva el presente escrito como muestra de mi más sincero agradecimiento a la Dra. Norma Leticia Manríquez Morán, directora de esta tesis, quien desde el primer momento me brindó su apoyo incondicional.

Sus enseñanzas, su dedicación y la confianza que depositó en mi, han sido piezas fundamentales en la culminación de este trabajo.

A los miembros del comité de sinodales: M. en C. Miguel Ángel Cabral Perdomo, Dra. Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea, M. en C. Mario Segura Almaraz, Dra. Norma Leticia Manríquez Morán, Dra. María del Consuelo Cuevas Cardona, Dr. Juan Márquez Luna, Dra. Claudia Teresa Hornung Leoni; por su tiempo y por los atinados comentarios para el mejoramiento del presente escrito.

A la bióloga Esmeralda Salgado Hernández, cuyo apoyo técnico estuvo presente en todo momento, pero sobre todo por hacerme participe de su amistad y de la alegría que siempre irradia.

A la bióloga Berenice López Gutiérrez, quien me ha mostrado el verdadero significado de la amistad, por acompañarme en este intenso viaje que es "La Vida" y por compartir mi pasión por ella.

Al biólogo Luis Gabriel Juárez Castillo, por contagiarme ese entusiasmo por el trabajo de campo y por la valiosa amistad que compartimos.

A la bióloga Anahí Esquivel, por todos esos momentos agradables que hemos compartido en nuestra estancia en el laboratorio.

A mi madre, María del Carmen, por descubrir en mi una fuerza interna que no creí tener.

A María de los Ángeles, a Karla, Mali y Dante, por demostrarme que no siempre los lazos de sangre son los más fuertes.

A María Guadalupe, por representar en mi vida ese amor desmedido que solo los abuelos dan.

## ÍNDICE GENERAL

1. Resumen .....	1
2. Introducción .....	3
3. Antecedentes.....	7
3.1 Mecanismos de origen de la partenogénesis en reptiles.....	7
3.2 Diversidad clonal en especies unisexuales.....	9
3.3 Uso de marcadores moleculares .....	11
3.4 El mtDNA y los patrones filogeográficos en los árboles de genes .....	13
3.5 El complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> .....	15
3.6 Los taxones partenogenéticos y su delimitación como especie .....	18
4. Justificación .....	21
5. Objetivos.....	22
5.1 General .....	22
5.2 Particulares .....	22
6. Descripción del área de estudio.....	23
6.1 Ubicación geográfica y geología de la Península de Yucatán .....	23
6.2 Clima y Precipitación pluvial en la Península de Yucatán .....	24
6.3 Vegetación.....	25
7. Método.....	26
7.1 Trabajo de campo .....	26
7.2 Trabajo de laboratorio .....	26
7.2.1 Selección del marcador genético .....	26
7.2.2 Extracción y amplificación del DNA .....	29
7.2.3 Reacción de secuenciación y obtención de las secuencias .....	30
7.2.4 Análisis de datos .....	31
7.2.5 Análisis filogenéticos.....	31

<b>8. Resultados</b> .....	35
<b>8.1</b> Reconstrucción filogenética con base en las secuencias del gen ND <sub>2</sub> del mtDNA..	35
<b>8.2</b> Reconstrucción filogenética mediante evidencia total (Cytb y ND <sub>2</sub> del mtDNA)...	38
<b>8.3</b> Diversidad genética .....	42
<b>9. Discusión</b> .....	44
<b>9.1</b> Distancias genéticas entre las especies unisexuales y sus especies parentales .....	44
<b>9.2</b> Relaciones filogenéticas y evolución de la partenogénesis .....	45
<b>9.3</b> Estado taxonómico de <i>Aspidoscelis maslini</i> y <i>A. cozumela</i> .....	49
<b>10. Conclusiones</b> .....	51
<b>11. Literatura citada</b> .....	52
Anexo 1 .....	61
Anexo 2 .....	62
Anexo 3 .....	63
Anexo 4 .....	64
Anexo 5 .....	65

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

<b>Cuadro 1</b> Descripción de los patrones filogeográficos establecidos para explicar la distribución característica de linajes en los árboles de genes.....	14
<b>Cuadro 2</b> Ejemplares del complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y sus especies parentales recolectados en la Península de Yucatán y utilizados para el análisis molecular.....	28
<b>Cuadro 3</b> Secuencias de los <i>primers</i> utilizados en la amplificación y secuenciación del DNA .....	30
<b>Cuadro 4</b> Distancias genéticas entre las especies unisexuales del complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y sus especies parentales, calculadas con el modelo general de tiempo reversible .....	43
<b>Figura 1</b> El complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y los eventos de hibridación que le dieron origen.....	17
<b>Figura 2</b> Poblaciones en las que se colectaron las distintas especies que integran al complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y sus especies parentales.....	27
<b>Figura 3</b> Árbol de consenso estricto generado a partir de las secuencias del gen mitocondrial ND <sub>2</sub> mediante el método de parsimonia, en el se indican las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y sus especies parentales.....	36
<b>Figura 4</b> Filograma generado a partir de las secuencias del gen mitocondrial ND <sub>2</sub> , en el se indican las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y sus especies parentales. ....	37
<b>Figura 5</b> Árbol en el que se muestra la topología de un consenso estricto de 18 árboles más parsimoniosos con 146 pasos cada uno (CI=0.7292, RI=0.8219, RC=0.7487), en el se indican las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y sus especies parentales .....	39
<b>Figura 6</b> Cladograma circular en donde se muestran las politomias de de los diferentes haplotipos de cada especie que integra el complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> .....	40
<b>Figura 7</b> Filograma en el que se muestran las relaciones existentes entre las especies del Complejo <i>Aspidoscelis cozumela</i> y sus especies parentales.....	41

## 1. RESUMEN

La partenogénesis, se define como el tipo de reproducción clonal en el que las hembras producen descendientes genéticamente idénticos a ellas, sin la necesidad de ser fecundadas por un macho. Esta vía de reproducción se ha dado de manera espontánea, aunque en la mayoría de los casos ha sido posible gracias a eventos de hibridación entre especies diferentes, donde el proceso meiótico es alterado y los individuos producidos mediante este mecanismo adquieren la capacidad de reproducirse clonalmente a partir de gametos no reducidos. Originalmente fue descubierta en invertebrados, actualmente también es conocida en reptiles del orden Squamata con más de 40 especies identificadas.

En el presente estudio, se obtuvieron y combinaron las secuencias de los genes mitocondriales ND<sub>2</sub> y Cytb de 50 ejemplares de lacertilios (especies unisexuales y parentales) ubicados en 14 poblaciones de la península de Yucatán, esto con el propósito de definir la variabilidad genética y esclarecer las relaciones genealógicas de los integrantes del complejo *Aspidoscelis cozumela*, así como determinar el origen y la evolución de la partenogénesis en el grupo. El análisis de dichas secuencias permitió observar los bajos niveles de divergencia entre las especies partenogenéticas y *A. angusticeps* (0.96%), confirmando que esta es la especie materna de las tres formas unisexuales (*A. rodecki*, *A. maslini* y *A. cozumela*) ya que con respecto a *A. deppii* (especie paterna) la divergencia promedio es de 5.40%.

La reconstrucción filogenética bajo los métodos de parsimonia e inferencia bayesiana sugiere que dos eventos de hibridación independientes entre *A. angusticeps* y *A. deppii* dieron origen a las especies unisexuales, uno de estos eventos originó a *A. rodecki*

mientras que el otro provocó el surgimiento de *A. maslini*, de quien posteriormente surgiría *A. cozumela* mediante cladogénesis.

Dado la baja diversidad genética que se exhibe entre los distintos haplotipos del complejo se asume un origen y una divergencia reciente del grupo, proponiendo con ello, que a partir de un solo organismo que colonizó la Península de Yucatán hubo un enorme incremento de la variedad, lo que ha provocado una radiación adaptativa en estos lacertilios.



## 2. INTRODUCCIÓN

La reproducción clonal se define como la acción de producir una entidad biológica genéticamente idéntica a otra a partir de una existente. Actualmente se sabe que aproximadamente el 0.1 % del total de las especies de vertebrados se reproducen utilizando algún mecanismo clonal (Avisé, 2008).

En los vertebrados es posible distinguir al menos tres formas de reproducción clonal: Partenogénesis, ginogénesis e hibridogénesis (Avisé *et al.*, 1992). La primera se caracteriza porque la reproducción por parte de las hembras se da en ausencia del esperma; la segunda es un proceso en el que las hembras producen gametos que requieren de la activación del espermatozoide para iniciar la embriogénesis; y finalmente, la hibridogénesis es considerada un tipo de reproducción hemiclonal<sup>1</sup> ya que en este proceso el genoma de una de las especies parentales es transmitido sin recombinación al gameto (femenino), mientras que el de la otra es eliminado. Dado que el óvulo presenta una condición haploide, se requiere de la fecundación del espermatozoide que contiene el genoma eliminado para restituir la condición híbrida diploide<sup>2</sup> (Dawley, 1989).

---

<sup>1</sup> «**Reproducción hemiclonal:** Modo de reproducción en el que la mitad del genoma es transmitido de forma sexual y la otra mitad es transmitida clonalmente. El núcleo del óvulo y el esperma se fusionan y los genes paternos son expresados en la progenie pero solo el genoma materno es transmitido a la siguiente generación» (Simon *et al.*, 2003).

<sup>2</sup> «**Células diploides:** Son aquellas células somáticas (cualquier célula a excepción de los gametos) que contienen a ambos miembros de cada par de cromosomas homólogos y proceden de células parentales diploides durante la mitosis»

Con base en lo anterior, la partenogénesis se entiende como un tipo de reproducción clonal en el que las hembras originan descendencia genéticamente idéntica a ellas, sin fecundación por parte de los machos. En otras palabras, es un mecanismo que consiste en el desarrollo de un nuevo ser a partir de un óvulo que no ha sido fecundado por un espermatozoide (Romero, 2001).

Se sabe que la partenogénesis está presente en una gran cantidad de invertebrados, tales como rotíferos, gasterópodos, crustáceos, insectos y arácnidos; mientras que en los vertebrados, sólo se presenta en algunos reptiles del orden Squamata (Darevsky, 1958).

A la fecha se conocen poco más de 40 especies de lagartijas partenogenéticas, mismas que pertenecen a 16 géneros de las familias Agamidae, Chamaeleonidae, Gekkonidae, Gymnophthalmidae, Lacertidae, Scincidae, Teiidae y Xantusiidae (Darevsky, 1992; anexo 1); de éstas, los casos mejor documentados se encuentran en las familias Lacertidae, Gekkonidae y Teiidae (Wright, 1993).

Los teiidos (Teiidae) son una familia de saurópsidos que restringen su presencia al continente Americano, muestran una mayor diversidad en los trópicos aunque han sido encontrados desde el norte de Estados Unidos hasta Chile y la parte media de Argentina (Zug *et al.*, 2001). Esta familia se caracteriza por incluir lagartijas de cuerpo alargado que generalmente llegan a medir de 7 a 50 cm de longitud hocico-cloaca según las especies; presentan miembros bien desarrollados, sus cuerpos están provistos de escamas granulares dorsales y placas ventrales grandes de forma rectangular, su cabeza, que tiene una forma afilada, presenta placas grandes al igual que el resto del cuerpo (Zug, 1993). Conforman un grupo moderadamente diverso que cuenta con diez géneros; de los cuales cuatro tienen representantes partenogenéticos: *Aspidoscelis* (12 especies y complejos de especies),

*Cnemidophorus* (3 especies), *Kentropyx* (1 especie) y *Teius* (1 especie); siendo el primero uno de los más estudiados debido a que en él se encuentra la mayor diversidad de especies partenogenéticas (Reeder *et al.*, 2002; Wright, 1993).

El género *Aspidoscelis* está compuesto por 87 taxones, muchos de los cuales son considerados subespecies debido a la incertidumbre taxonómica existente entre varios de ellos (Reeder *et al.*, 2002). Su distribución ha sido documentada desde el norte de Estados Unidos hasta el noroeste de Costa Rica, y se tiene registro de que ocupa todos los hábitats áridos y semiáridos de los lugares en los que se encuentran (Darevsky *et al.*, 1985). En México se han registrado nueve especies de lacertilios unisexuales que pertenecen al género *Aspidoscelis*, seis de estas especies se localizan en el norte de la República Mexicana y las tres restantes se encuentran en el sur, específicamente en la Península de Yucatán de donde son endémicas. Estas tres especies sureñas (*A. cozumela*, *A. maslini* y *A. rodecki*) forman en conjunto al complejo *Aspidoscelis cozumela* (Maslin y Secoy, 1986; Wright, 1993). Dicho grupo fue originalmente identificado como un complejo clonal por McCoy y Maslin (1962), estos autores describieron a *A. cozumela* con dos subespecies, *A. c. cozumela*, que se ubicaba en Cozumel, costa de Campeche y El Petén (Guatemala) y *A. c. rodecki* con distribución en Isla Mujeres, Isla Contoy y la región continental adyacente del noreste de la península de Yucatán. Tiempo después, en una revisión hecha a la sistemática de las lagartijas partenogenéticas de la Península de Yucatán, Fritts (1969) elevó a *A. c. rodecki* al nivel de especie y separó a *A. cozumela* en dos subespecies: *A. c. cozumela* y *A. c. maslini*, la primera únicamente localizada en Cozumel y la segunda distribuida en regiones continentales de Campeche, Quintana Roo, Belice y el norte de Guatemala (Taylor y Cooley, 1995).

Se han hecho algunos estudios evolutivos, taxonómicos, poblacionales y de distribución de las especies que integran al complejo *Aspidoscelis cozumela*, en los que entre otras cosas se han abordado aspectos sobre su origen y su diversidad clonal; sobre este último punto se tiene información que revela que pese a que la partenogénesis da origen a clones, las especies unisexuales resultantes presentan algún grado de diversidad genética, misma que es atribuida a mutaciones posteriores al origen de la partenogénesis (Manríquez-Morán, 2007).

La diversidad genética presente al interior del complejo *Aspidoscelis cozumela*, ha sido evaluada basándose en estudios de histocompatibilidad, morfología y cariotipos, sin embargo estudios más recientes han hecho de la secuenciación de DNA (mitocondrial y nuclear) una herramienta valiosa e innovadora. El mtDNA presenta una herencia de tipo materna, lo cual permite (además de evidenciar la diversidad existente) conocer la ruta de los eventos de hibridación que dieron origen al complejo del que se habla.

El citocromo b y la subunidad 4 de la NADH – deshidrogenasa (ND<sub>4</sub>) han sido hasta ahora las únicas regiones de mtDNA secuenciadas para el complejo *Aspidoscelis cozumela* (Manríquez-Morán, 2002). Sin embargo, estos marcadores revelan niveles bajos de divergencia, por lo que las relaciones filogenéticas no son claras. Es por esto que en la presente investigación se pretende descifrar algunas incógnitas sobre su diversidad clonal y las relaciones genealógicas entre las especies del complejo *A. cozumela* y su especie materna a partir del análisis del gen ND<sub>2</sub> del mtDNA para que con base en estos resultados se establezca una propuesta sólida sobre el origen y los procesos evolutivos que han ocasionado la reproducción clonal en estos lacertilios.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 MECANISMOS DE ORIGEN DE LA PARTENOGENÉISIS EN REPTILES

La partenogénesis en lacertilios fue descubierta en *Darevskia saxicola* (antes *Lacerta saxicola*) en el año de 1958 (Zug *et al.*, 2001) y desde entonces se han formulado dos teorías que intentan dar explicación al posible surgimiento y evolución de este mecanismo de reproducción clonal en los reptiles.

##### TEORÍA DEL ORIGEN ESPONTÁNEO

Fue propuesta por Peccinini-Seale en 1971 y posteriormente validada y apoyada por Peccinini-Seale y Frota-Pessoa (1974) y Cuellar (1974); esta teoría sugiere que la pérdida espontánea del sexo puede ocurrir a causa de mutaciones en los genes involucrados en la meiosis de hembras gonocóricas<sup>3</sup> (Simon *et al.*, 2003). A causa de esto ocurre una diploidización espontánea<sup>4</sup> de los óvulos, generando así hembras capaces de reproducirse por partenogénesis (Cuellar 1974; 1994 y Peccinini-Seale, 1971). La alotriploidía<sup>5</sup>, según esta teoría, surge únicamente después de que se ha adquirido genéticamente la capacidad de producir consistentemente óvulos no reducidos<sup>6</sup> por individuos que en un principio eran autodiploides<sup>7</sup> unisexuales (Manríquez-Morán, 1998).

---

<sup>3</sup> «**Gonocorismo:** Una especie gonocórica es aquella que posee sexos separados, es decir, cuando machos y hembras corresponden a individuos distintos durante todo su ciclo vital»

<sup>4</sup> «**Diploidización espontánea:** Es la producción de gametos no reducidos (diploides) estimulada por mutaciones en los genes que controlan la meiosis en hembras de especies gonocóricas diploides»

## TEORÍA DEL ORIGEN HÍBRIDO

Fue sugerida por Lowe y Wrigth en 1966 y menciona que la hibridación es un mecanismo que puede provocar el surgimiento de especies partenogenéticas, sugiere que la mayoría de los vertebrados que se reproducen por partenogénesis se originan en un principio como híbridos producidos entre dos especies gonocóricas estrechamente relacionadas (Avisé *et al.*, 1992). Posteriormente, la forma partenogenética diploide puede hibridar con un macho de una o ambas especies parentales y producir una forma partenogenética alotriploide (Cuellar, 1977).

---

<sup>5</sup> «**Alotriploidía:** El termino hace referencia a aquellos organismos que tienen más de dos grupos de cromosomas genéticamente distintos, derivados a su vez de dos o más especies progenitoras diferentes, como resultado de eventos de hibridación. Pueden ser alotriploides, alotetraploides y así sucesivamente, dependiendo del número de los diversos grupos haploides de cromosomas que contenga»

<sup>6</sup> «**Óvulos no reducidos:** Gametos femeninos diploides o poliploides»

<sup>7</sup> «**Autodiploides:** Hace referencia a los gametos femeninos diploides que surgen de manera espontánea (diploidización espontánea) »

### 3.2 DIVERSIDAD CLONAL EN LAS ESPECIES UNISEXUALES

En la reproducción sexual típica de los vertebrados, la diversidad genética es favorecida por la singamia<sup>8</sup> del óvulo y el espermatozoide, el entrecruzamiento de cromosomas homólogos y la segregación al azar de los mismos. En la partenogénesis se suprimen todos los efectos de estas formas de variabilidad (Dawley, 1989) y dado que es un método de reproducción clonal, favorece la producción de organismos genéticamente idénticos a la madre, por lo que se tiene la idea generalizada de que entre los individuos de las poblaciones unisexuales, la variabilidad genética es casi nula. Sin embargo, los últimos estudios realizados al respecto indican que todas las especies unisexuales de lacertilios presentan cierto grado de diversidad genética (Manríquez-Morán, 2007), la cual es atribuida a la recombinación presente durante la meiosis y a mutaciones de tipo postformacional. Sí estos factores se combinan resultan diversos grupos clonales, mostrando así variaciones genéticas y morfológicas en los organismos (Parker *et al.*, 1989). La diversidad clonal en las especies partenogénicas ha sido evaluada con base en morfología externa, transplantes de piel, cromosomas, aloenzimas y marcadores moleculares. La información resultante ha permitido la diferenciación de especies y el reordenamiento jerárquico de las mismas.

---

<sup>8</sup> «**Singamia:** Reproducción sexuada que implica un proceso de unión entre dos gametos haploides para formar un cigoto diploide»

Se ha observado que los clones de una especie con distribución amplia muestran mayor cantidad de variaciones cariológicas y morfológicas (en tamaño, coloración y escutelación), mientras que las presentes en un área geográfica restringida exhiben diferencias menores y menos evidentes (Manríquez Morán, 2007). Sin embargo, la variabilidad genética aún puede ser detectada mediante análisis moleculares y pruebas de histocompatibilidad, los cuales debido a su alta sensibilidad son capaces de evidenciar pequeñas diferencias entre clones de especies unisexuales (Manríquez Morán y Méndez de la Cruz, 2008).

Los estudios de histocompatibilidad por ejemplo, han mostrado diversos patrones de aceptación o rechazo hacia los trasplantes de piel realizados en varias especies de lacertilios. En muchos casos, se ha observado homogeneidad genética en poblaciones ampliamente separadas de una misma especie, lo cual sugiere un origen único y por lo tanto, la existencia de un solo clon. Pero muchos otros estudios han mostrado que la mayor parte de las especies unisexuales exhiben diversos patrones de variación. Lo anterior, ha sido corroborado con los datos moleculares, que indican que, sin excepción, las especies partenogenéticas de lacertilios, muestran diversos grados de variación (Awise, 1994).



### 3.3 USO DE MARCADORES MOLECULARES

Desde la década pasada, los patrones de evolución en la partenogénesis se han identificado con el uso de marcadores moleculares y la reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre las especies gonocóricas y formas unisexuales. La utilización de técnicas moleculares, tiene como principal finalidad resolver las dudas que existen sobre el origen de la partenogénesis, los mecanismos responsables en la pérdida del sexo y la antigüedad que tienen los linajes partenogenéticos (Simon *et al.*, 2003).

Por otra parte, los marcadores nucleares de herencia codominante<sup>9</sup> (aloenzimas y microsatélites, entre otros) en combinación con el mtDNA han permitido confirmar el origen por hibridación de varias especies y han revelado la dirección del cruzamiento original (Awise, 1994), ya que permiten hacer evaluaciones más precisas de las posibles especies parentales y confirmar de manera más directa la participación de las especies paternas (Awise, 2000). Además, los análisis moleculares permiten señalar el origen geográfico de una especie unisexual, al caracterizar genéticamente a los miembros geográficamente aislados de un complejo clonal (Murphy *et al.*, 2000).

El uso de marcadores moleculares (nucleares y mitocondriales) es fundamental cuando se trata de elegir entre alguna de las dos propuestas de origen (espontáneo o híbrido): Si una especie unisexual triploide<sup>10</sup> surgió de manera espontánea, los genomas nucleares homoespecíficos pareados deben provenir de la especie materna y estar acoplados con el mtDNA derivado de la misma especie. Contrariamente, bajo el modelo del origen híbrido, los genomas nucleares homoespecíficos pareados pueden estar acoplados con el mtDNA de cualquiera de los dos ancestros gonocóricos y de acuerdo con las evidencias existentes, esto último parece refutar el escenario del origen espontáneo en la mayoría de

las lagartijas, excepto en *Lepidophyma flavimaculatum* donde se observa lo contrario. En esta especie, los estudios morfológicos, cariológicos y de aloenzimas muestran que no existen diferencias entre organismos gonocóricos y partenogenéticos, lo que indica un origen espontáneo de la partenogénesis (Sinclair *et al.*, 2006).

---

<sup>9</sup> **«Marcadores nucleares de herencia codominante:** Los marcadores moleculares tienen diferentes características dependiendo del tipo de herencia y dominancia que presentan. El nDNA por ejemplo, es de origen biparental (heredado de la madre y del padre), mientras que el mtDNA es de origen monoparental ya que se hereda casi exclusivamente por vía materna. Es dominante cuando en el caso de individuos heterocigotos sólo es posible observar el alelo dominante; o codominante cuando pueden distinguirse los dos alelos en heterozigosis (Jiménez y Collada, 2000).»

<sup>10</sup> **«Especie triploide:** Son aquellos organismos que poseen tres juegos de cromosomas en sus células en lugar de los dos juegos que poseen los individuos diploides típicos.»

### 3.4 EL mtDNA Y LOS PATRONES FILOGEOGRÁFICOS EN LOS ÁRBOLES DE GENES

Debido a que presenta una alta tasa de mutación, no se recombina y su herencia es casi exclusivamente materna (Avice *et al.*, 1987), el mtDNA representa una herramienta valiosa que favorece el éxito de los análisis filogeográficos. Su aplicación en este tipo de estudios, permite hacer mejores descripciones de las distribuciones geográficas, así como de las distancias genéticas y las relaciones filogenéticas entre linajes evolutivos cercanos.

Los diferentes haplotipos, o variantes del mtDNA, registran la historia matrilineal de eventos mutacionales (Avice, 2000), por lo que al examinar las variaciones entre diferentes poblaciones de un mismo taxón, se pueden revelar asociaciones históricas, así como factores ecológicos, etológicos y procesos de reestructuración genética que conducen a la especiación (Bermingham y Moritz, 1998). A la síntesis de estos factores y a la relación entre genealogías de genes y geografía se le ha denominado patrones filogeográficos (Avice *et al.*, 1987), estos patrones se agrupan en cinco categorías (Cuadro 1) y cada una de ellas refleja los diferentes aspectos espaciales y la estructura genealógica de las poblaciones (Avice, 2000).

El estudio comparado de los patrones filogeográficos de varias especies ha contribuido a plantear hipótesis sobre posibles eventos de dispersión, especiación, radiación adaptativa y extinción. Su investigación fundamental se centra, en las relaciones que existen entre los patrones de diversidad en las especies y su biogeografía (Bermingham y Moritz, 1998).

Cuadro 1. Descripción de los patrones filogeográficos establecidos para explicar la distribución característica de linajes en los árboles de genes.

<b>Categorías de patrones filogeográficos</b>	
<p style="text-align: center;"><b>Categoría I</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Discontinuidad filogenética y separación espacial</i></p>	<p>Árbol genético con divergencia antigua, linajes alopátricos. Presencia de haplogrupos restringidos a un área geográfica determinada, separados por distancias genéticas relativamente grandes. La subestructura espacial también puede estar presente entre los linajes más cercanamente relacionados dentro de las regiones.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Categoría II</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Discontinuidad filogenética con linajes ampliamente simpátricos</i></p>	<p>Árbol genético con divergencia antigua, linajes ampliamente simpátricos. Se caracteriza por diferencias filogenéticas pronunciadas entre algunas ramas de un árbol genético y sus linajes principales se encuentran codistribuidos sobre un área amplia.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Categoría III</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Continuidad filogenética con linajes alopátricos</i></p>	<p>Árbol genético con divergencia reciente, linajes alopátricos. La mayoría de los haplotipos están cercanamente relacionados y están localizados geográficamente cada uno por separado.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Categoría IV</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Continuidad filogenética con linajes simpátricos</i></p>	<p>Árbol genético con divergencia reciente, linajes simpátricos. Este patrón se espera en especies con alto flujo génico cuyas poblaciones no han sido divididas por barreras biogeográficas antiguas.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Categoría V</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Continuidad filogenética con variación en la distribución de los linajes</i></p>	<p>Árbol genético con divergencia reciente, distribución de linajes variada. Es intermedio entre las Categorías III y IV, y consta de linajes comunes con amplia distribución y de linajes con distribución restringida (cada uno confinado a uno o más linajes locales cercanos).</p>

(Tomado y modificado de Avise, 2000).

### 3.5 EL COMPLEJO *Aspidoscelis cozumela*

El complejo *Aspidoscelis cozumela* está conformado por tres especies de lagartijas unisexuales endémicas de la Península de Yucatán: *Aspidoscelis cozumela*, *Aspidoscelis maslini*, y *Aspidoscelis rodecki*. Estudios recientes sobre este complejo revelan que las especies que lo integran deben su origen a dos eventos independientes de hibridación entre las dos especies gonocóricas de la región: *Aspidoscelis angusticeps* y *Aspidoscelis deppii* (Fritts, 1969; Moritz *et al.*, 1992; figura 1). Análisis de mtDNA realizados al respecto han permitido reconocer a *A. angusticeps* como la especie materna del grupo (Moritz *et al.*, 1992) y al mismo tiempo señalan que uno de estos eventos dio origen a *A. rodecki* mientras que el otro provocó el surgimiento de *A. maslini*, de quien posteriormente surgiría *A. cozumela* mediante cladogénesis<sup>11</sup> (Hernández Gallegos *et al.*, 1998; Manríquez-Morán, 2002). Esta idea es apoyada por los análisis de histocompatibilidad ya que han mostrado homogeneidad genética del 100 % entre *A. cozumela* y *A. maslini* (Hernández Gallegos *et al.*, 1998) e histoincompatibilidad entre ambas especies y *A. rodecki* (Manríquez-Morán, 1998), sin embargo la divergencia morfológica existente entre estos dos taxones, aunado al aislamiento geográfico que presentan, ha sido prueba suficiente para denominarlas como especies distintas (Taylor y Cooley, 1995).

---

<sup>11</sup> «Cladogénesis: Bifurcación o separación de dos linajes evolutivos»

Posteriormente la secuenciación de genes mitocondriales (citocromo b y la subunidad 4 de la NADH-deshidrogenasa) realizada al interior del complejo, reveló niveles bajos de divergencia en su DNA, esta divergencia va del 0.09 % al 0.45 % entre las cinco poblaciones de *A. maslini* utilizadas; 0.27 % entre las dos poblaciones de *A. rodecki* analizadas y del 0 % entre los individuos de *A. cozumela*. El mismo estudio indica que *A. cozumela* comparte el mismo haplotipo que presenta *A. maslini* en Puerto Morelos, lo que sugiere que *A. cozumela* evolucionó de individuos de esta población (Manríquez-Morán, 2002). Aparentemente la hembra partenogenética que colonizó la isla de Cozumel sufrió cambios cromosómicos y morfológicos que transmitió a sus descendientes, ocasionando así el surgimiento de una nueva especie (Manríquez Morán y Méndez de la Cruz, 2008). Cariológicamente las especies del complejo representan tres grupos que corresponden a cada uno de los taxones reconocidos (Manríquez Morán, 2002).

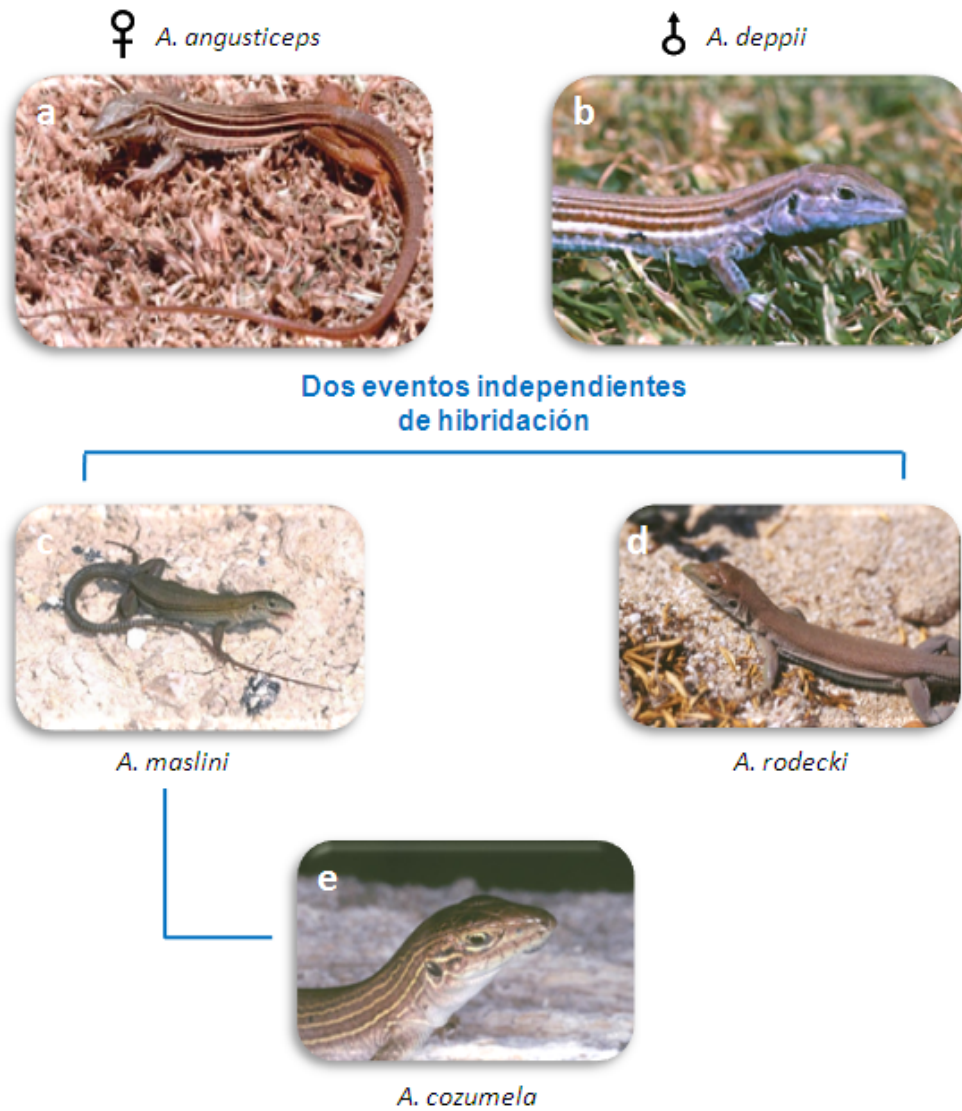


Figura 1. El complejo *Aspidoscelis cozumela* y los eventos de hibridación que le dieron origen. Fotos: a,b,d,e Fausto R. Méndez; c: Humberto Bahena.

### 3.6 LOS TAXONES PARTENOGENÉTICOS Y SU DELIMITACIÓN COMO ESPECIE

Tradicionalmente, los seres vivos han sido clasificados en grupos que se denominan especies. Estos grupos, son concebidos por el hombre de forma distinta dependiendo del grupo de organismos con que se trabaje, el grado de conocimiento que se tenga de ellos y el aspecto o punto de vista desde el cual se les enfoca (Valencia, 1991). Para definir lo que es una especie existen varios conceptos, cada uno sigue diferentes criterios por lo que los grupos que resultan de aplicar uno u otro, pueden ser diferentes; esto acarrea problemas serios que pueden repercutir en las clasificaciones taxonómicas y en el lenguaje científico (Agapow *et al.*, 2004).

El concepto biológico de especie fue probablemente el concepto más popular y aplicado por los sistemáticos de los años 40's (De Haro, 1999), quienes siguiendo la definición de Mayr, uno de sus mayores exponentes, conciben a la especie biológica como “*un grupo de poblaciones naturales que pueden reproducirse entre sí y que está reproductivamente aislado de otros grupos*” (Mayr, 2000). Dicho concepto ha sido criticado por no proporcionar mecanismos para el reconocimiento de las especies ya que únicamente puede ser aplicado a individuos con reproducción sexual (Agapow *et al.*, 2004; De Haro, 1990), dejando fuera a aquellos grupos que se reproducen mediante métodos clonales y en los que solo existe un sexo (Maslin, 1968).

Dado los problemas de aplicación de este concepto, el tratamiento taxonómico de las especies partenogenéticas de vertebrados ha sido complicado, entre otras cosas por sus características reproductivas y por haber sido descritos y nombrados antes de que su origen híbrido y su reproducción clonal fueran conocidos (Wright, 1993).



Debido a que el aislamiento reproductivo como mecanismo de diferenciación entre especies no resuelve el problema taxonómico de los grupos unisexuales, algunos trabajos publicados entre 1980 y 1990 propusieron algunos criterios que debían ser tomados en cuenta para delimitar a las especies clonales con origen híbrido (Cole, 1985; Frost y Wright, 1988; Cole, 1990; Echelle, 1990). Dichos criterios sugieren que aquellas poblaciones unisexuales de origen híbrido cuyas poblaciones difieran en ploidía y que sean claramente distintivas y diagnosticables, deben ser consideradas como especies distintas a sus especies parentales; así como diferentes debían ser, las poblaciones de especies partenogénicas con origen híbrido independiente entre los mismos ancestros gonocóricos (Cole, 1985).

Por otra parte, Frost y Wright (1988) proponen que el origen de un grupo histórico uniparental<sup>12</sup> a partir de ancestros biparentales representa el origen de una nueva especie, al igual que aquella entidad que surge de la hibridación entre un miembro de una especie unisexual y un macho de una especie gonocórica, solo que esta debe ser reconocida como una especie triploide. De igual manera, hacen hincapié en que los linajes uniparentales divergentes dentro de un grupo uniparental mayor con el que comparten el mismo origen, deben ser denominados con el mismo nombre ya que forman una misma especie (Frost y Wright, 1988).

---

<sup>12</sup> **«Especie uniparental:** Son aquellas en las que solo un individuo es el antecesor de la siguiente generación»

Dado la diversidad de criterios existentes para definir lo que una especie uniparental representa, Echelle (1990) retoma el concepto filogenético de especie propuesto originalmente por Cracraft (1987) *“una especie es un grupo irreductible de organismos dentro de los cuales existe un patrón parental de ancestría y descendencia, el cual es diagnosticablemente distinto de otros grupos”* (Cracraft, 1987), ya que es posible aplicarlo a las especies unisexuales de origen híbrido y permite el reconocimiento de especies unisexuales producidas postformacionalmente de una forma partenogenética preexistente (Manríquez-Morán, 2007).

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Los avances de la última década han sido de gran ayuda para proponer diversos estudios enfocados a evaluar la diversidad clonal y las relaciones genealógicas de las especies partenogenéticas del complejo *Aspidoscelis cozumela*, y aunque se han tenido avances significativos, aún es necesario realizar un análisis genético más detallado del grupo, esto con el fin de establecer características más precisas sobre las distintas poblaciones pertenecientes a las especies de este complejo. Al utilizar el mtDNA como marcador molecular se podrá corroborar y establecer con más precisión la participación de *Aspidoscelis angusticeps* como especie materna, además de que se trazaran relaciones genealógicas entre los haplotipos de las especies partenogenéticas que conforman este grupo. Así, la información resultante, facilitará formular una propuesta más firme sobre el origen y la evolución de la partenogénesis en el complejo *A. cozumela*.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 GENERAL**

Definir la variabilidad genética de los integrantes del complejo *Aspidoscelis cozumela* y determinar el origen y la evolución de la partenogénesis en el grupo.

### **5.2 PARTICULARES**

1.- Evaluar el grado de diversidad clonal en los taxones que integran el complejo *A. cozumela*.

2.- Establecer las relaciones genealógicas de los haplotipos de las especies partenogénicas del complejo *A. cozumela* y su especie materna a partir del análisis de mtDNA (subunidad 2 de la NADH-deshidrogenasa; ND<sub>2</sub>).

3.- Hacer una propuesta sobre el origen y la evolución de la reproducción clonal en estos lacertilios con base en los resultados obtenidos.

## **6. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO**

### **6.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y GEOLOGÍA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN**

La Península del Yucatán es una plataforma amplia de piedra caliza que se extiende del noreste del Golfo de México al norte del mar Caribe (Lee, 2000). Está situada en el extremo sureste de la República Mexicana, abarcando los territorios que conforman los estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán, así como la parte norte del departamento guatemalteco de Petén y la República de Belice (Pinet, 1998). Presenta una extensa franja litoral bañada por el Golfo de México y por el Mar Caribe, dicha posición geográfica permite que la flora y la fauna presentes en el lugar sean variadas y diversas, por lo que en este sitio confluyen grupos vegetales y animales de diferentes orígenes biogeográficos, incluyendo elementos neárticos, neotropicales y caribeños (Miranda, 1959). Los estudios geológicos más detallados de la Península de Yucatán son los de Butterlin y Bonet (1958,1963) y López- Ramos (1975). En ellos se le describe como una plataforma con diversos estratos, principalmente de rocas carbonatadas, mismas que en la superficie son reconocidas en una secuencia clara que va desde el Paleogeno hasta el Cuaternario (Hubp *et al.*, 1992). Estas rocas se pueden apreciar por todo el subsuelo y consisten principalmente en calizas, areniscas y evaporitas, todas pertenecientes al Paleoceno y Eoceno; el Oligoceno está ausente, excepto en la parte nororiental representado por calizas y lutitas principalmente (Hubp *et al.*, 1992). La morfología superficial de la Península de Yucatán se caracteriza por mostrar relieves planos o casi planos y ligeras pendientes que permiten considerarla uniforme, carece de elevaciones geográficas ostentosas por lo que ha sido descrita como una plataforma discreta de roca caliza, en donde la parte norte y noroeste están prácticamente desprovistas de montañas (Lee, 2000).

## 6.2 CLIMA Y PRECIPITACIÓN PLUVIAL EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN

En la mayor parte de la Península de Yucatán el clima es cálido subhúmedo (con diversos grados de humedad), y presenta un rango de temperatura promedio que varía entre 24 °C y 26 °C al año (Quero, 1992).

La precipitación pluvial media anual registrada por Vidal-Zepeda (1989), muestra una variedad enorme en la cantidad y estacionalidad de las lluvias que hay de una región a otra. Así, se han registrado datos que van de menos de 125 mm en el extremo occidental de la Península, hasta más de 1,500 mm en la costa opuesta, incluyendo a la isla de Cozumel. En la mayor parte de la superficie, el valor va de 800 a 1,200 mm (Hubp *et al.*, 1992), siendo el verano la estación más húmeda ya que las lluvias son abundantes entre los meses de mayo y octubre (Lee, 2000).

La estructura hidrológica demuestra que con excepción del Río Hondo al sur de Quintana Roo y los ríos Champotón, Candelaria y San Pedro, en Campeche, la Península de Yucatán carece de corrientes superficiales permanentes; las corrientes de agua existentes solo se forman en la época de lluvia y desaparecen por infiltración o van hacia los bajos, aguadas o lagunas interiores. Es notable también la presencia de grandes reservorios de agua denominados cenotes (Quero, 1992). La composición general de roca caliza en el suelo de la península hace comunes a las cuevas, cavernas y depósitos subterráneos de agua. En el sur se extiende un cinturón de lagos, que atraviesan Campeche y Quintana Roo. De oeste a este se encuentra la laguna de Silvituc, Laguna Noh, Laguna Chacanbacab, Laguna Om y el Lago Bacalar. Más al sur se encuentra el río más importante que es el Usumacinta, mismo que se origina en Guatemala y fluye hacia el noreste, desembocando en las tierras bajas de Tabasco (Lee, 2000).

### **6.3 VEGETACIÓN**

En la península se presentan diversos tipos de asociaciones vegetales, Miranda (1959) los clasifica en asociaciones óptimas o primarias y asociaciones no óptimas o secundarias. Dentro de las primeras destacan los diversos tipos de selvas que van desde selvas altas perennifolias hasta selvas bajas caducifolias; las asociaciones no óptimas son de naturaleza variada, destacando algunos tipos de palmeras denominados Botanal y Corazal (Quero, 1992).

Se han reconocido también tres grandes tipos de hábitats, estos abarcados por selvas medianas perennifolias al sur, hasta selvas caducifolias al noroeste, pasando por una transición de bosque subperennifolio; aunque a pequeña escala es posible reconocer una mayor diversidad de hábitats como bosques bajos secundarios, sabanas y zonas de manglar por citar algunos (Lee, 2000).

## **7. MÉTODO**

### **7.1 TRABAJO DE CAMPO**

Se recolectaron 50 ejemplares de lagartijas que pertenecen a distintas poblaciones de las especies partenogénicas del complejo *Aspidoscelis cozumela* y de sus especies parentales (figura 2; cuadro 2). Las lagartijas fueron recolectadas utilizando una trampa de intercepción hecha de tela de alambre con medidas de 2.5 m de largo por 50 cm de ancho. Cada ejemplar fue marcado mediante la ectomización de falanges y se le tomaron los siguientes datos: Longitud hocico - cloaca (LHC), peso, localidad de procedencia y coordenadas geográficas, fecha de captura, colector y número de colecta.

El sacrificio y preparación de los ejemplares se realizó mediante las técnicas estándar de fijación y preservación (Casas-Andreu *et al.*, 1991). Los tejidos extraídos (muscular y hepático) que se utilizaron para el análisis molecular fueron conservados en alcohol etílico al 100% y posteriormente se almacenaron en un ultracongelador.

Los especímenes recolectados se encuentran en el laboratorio de Sistemática Molecular, pero en breve formarán parte de la Colección de Reptiles del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

### **7.2 TRABAJO DE LABORATORIO**

#### **7.2.1 SELECCIÓN DEL MARCADOR GENÉTICO**

La subunidad 2 de la NADH – deshidrogenasa (ND<sub>2</sub>) fue elegida en virtud de que este gen ha resultado ser altamente informativo en estudios filogenéticos a nivel de especies y entre taxones estrechamente relacionados en varias familias de lagartijas (Macey *et al.*, 1999; Reeder *et al.*, 2002; Reeder, 2003).



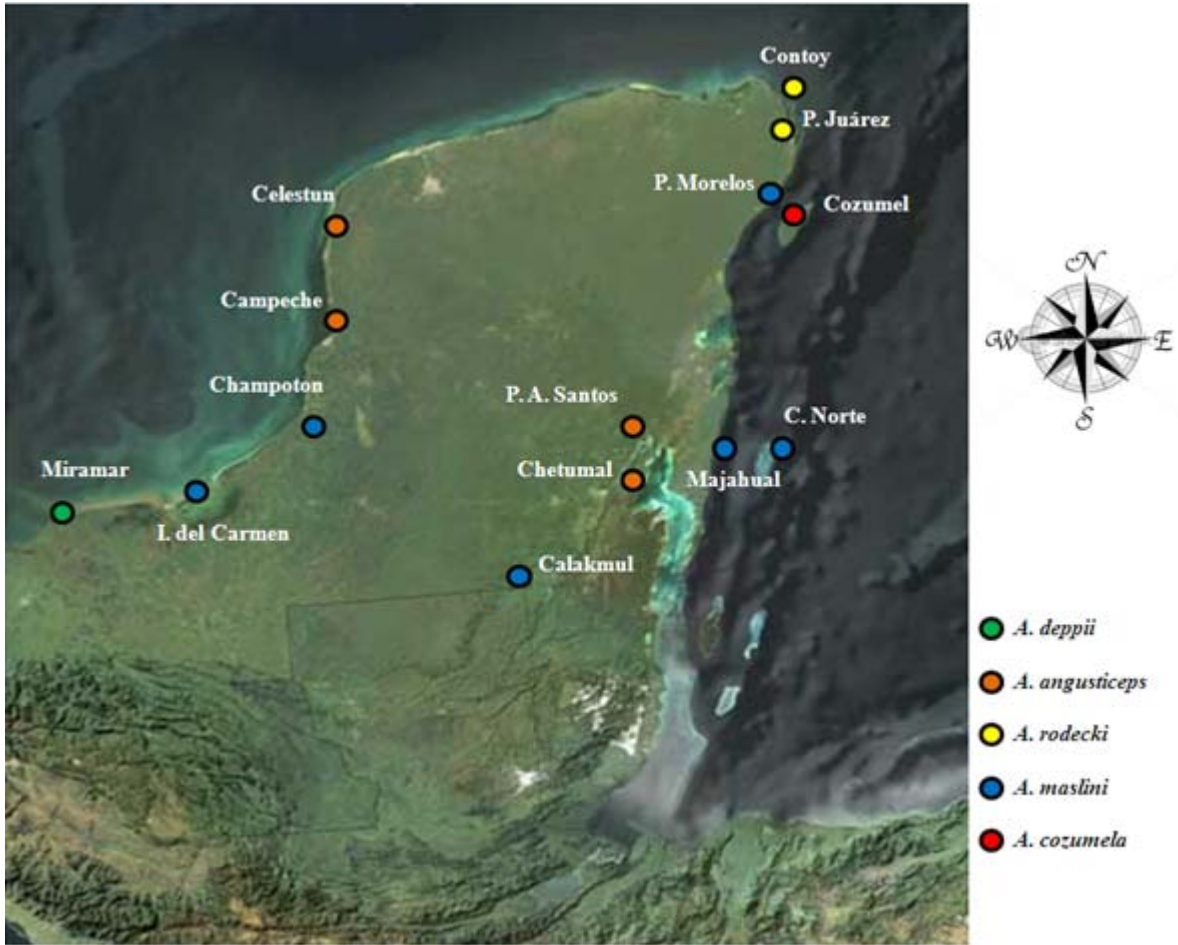


Figura 2. Poblaciones en las que se colectaron las distintas especies que integran al complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales.

Cuadro 2. Ejemplares del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales recolectados en la Península de Yucatán y utilizados para el análisis molecular. NLMM: Norma Leticia Manríquez Morán, ISZ: Israel Solano Zavaleta.

Número	Localidad	Colector	Especie
1	Cozumel	NLMM -001	<i>A. cozumela</i>
2	Cozumel	NLMM -002	<i>A. cozumela</i>
3	Cozumel	NLMM -136	<i>A. cozumela</i>
4	Cozumel	NLMM -191	<i>A. cozumela</i>
5	Cozumel	NLMM -107	<i>A. cozumela</i>
6	P. Juárez	NLMM -160	<i>A. rodecki</i>
7	P. Juárez	NLMM -012	<i>A. rodecki</i>
8	P. Juárez	NLMM -023	<i>A. rodecki</i>
9	P. Juárez	NLMM -175	<i>A. rodecki</i>
10	P. Juárez	NLMM -025	<i>A. rodecki</i>
11	P. Morelos	NLMM -003	<i>A. maslini</i>
12	P. Morelos	NLMM -004	<i>A. maslini</i>
13	P. Morelos	NLMM -125	<i>A. maslini</i>
14	P. Morelos	NLMM -123	<i>A. maslini</i>
15	P. Morelos	NLMM -005	<i>A. maslini</i>
16	Celestún	NLMM -138	<i>A. angusticeps</i>
17	Celestún	NLMM -170	<i>A. angusticeps</i>
18	Celestún	NLMM -139	<i>A. angusticeps</i>
19	Celestún	NLMM -168	<i>A. angusticeps</i>
20	Celestún	NLMM -006	<i>A. angusticeps</i>
21	Campeche	ISZ- 217	<i>A. angusticeps</i>
22	Miramar	NLMM - 007	<i>A. deppii</i>
23	Miramar	NLMM -008	<i>A. deppii</i>
24	Miramar	NLMM -009	<i>A. deppii</i>
25	Miramar	NLMM -010	<i>A. deppii</i>
26	Miramar	NLMM -011	<i>A. deppii</i>
27	Majahual	NLMM -046	<i>A. maslini</i>
28	Majahual	NLMM-012	<i>A. maslini</i>
29	Isla del Carmen	NLMM -013	<i>A. maslini</i>
30	Champotón	NLMM -014	<i>A. maslini</i>
31	Champotón	NLMM -070	<i>A. maslini</i>
32	Champotón	NLMM -015	<i>A. maslini</i>
33	Champotón	NLMM -016	<i>A. maslini</i>
34	Champotón	NLMM-088	<i>A. maslini</i>
35	Cayo Norte	NLMM-051	<i>A. maslini</i>
36	Cayo Norte	NLMM -052	<i>A. maslini</i>
37	Cayo Norte	NLMM -053	<i>A. maslini</i>
38	Cayo Norte	NLMM-054	<i>A. maslini</i>
39	Cayo Norte	NLMM-055	<i>A. maslini</i>
40	Calakmul	NLMM-049	<i>A. maslini</i>
41	Calakmul	NLMM-050	<i>A. maslini</i>
42	Calakmul	NLMM-066	<i>A. maslini</i>
43	Calakmul	NLMM-048	<i>A. maslini</i>
44	I. Contoy	NLMM-096	<i>A. rodecki</i>
45	I. Contoy	NLMM -017	<i>A. rodecki</i>
46	I. Contoy	NLMM-091	<i>A. rodecki</i>
47	I. Contoy	NLMM-018	<i>A. rodecki</i>
48	I. Contoy	NLMM-019	<i>A. rodecki</i>
49	P. A. Santos	NLMM-394	<i>A. angusticeps</i>
50	Chetumal	NLMM-393	<i>A. angusticeps</i>

### 7.2.2 EXTRACCIÓN Y AMPLIFICACIÓN DEL DNA

La extracción de DNA genómico se realizó a partir de pequeñas porciones de tejido muscular y hepático de cada uno de los ejemplares colectados, para ello se utilizó la técnica de acetato de amonio (Fetzner, 1999), la cual ha funcionado adecuadamente para extraer DNA tanto de mudas como de diversos tipos de tejidos de los reptiles (anexo 2).

La amplificación de DNA se realizó por medio del método de la reacción en cadena de la DNA-polimerasa (Polymerase Chain Reaction o PCR) descrito por Palumbi (1996) y los oligonucleótidos (*primers*) publicados por Reeder *et al.* (2002).

La amplificación de los fragmentos de aproximadamente 1150 pb se realizó utilizando los *primers* tMetR, tAla y ND<sub>2</sub>depR (cuadro 3) en reacciones de 25 µl (0.2 µl de cada uno de los *primers* (10X), 1 µl de dNTP's (2 mM), 2.5 µl de buffer (10X), 1.2 µl de MgCl<sub>2</sub> 30mM (30 X), 0.15 µL de *Taq* polimerasa (0-75 U), 18.8 µl de dH<sub>2</sub>O, y 1 µl de DNA), los parámetros utilizados para la amplificación en el termociclador fueron los siguientes: 96 °C por 30 segundos, 48 °C por 30 s, 72 °C por 60 s; 38 ciclos. Además se llevó a cabo una desnaturalización inicial de 96 °C por 5 minutos y una elongación final de 72°C por 7 minutos.

Con el fin de visualizar los productos de la PCR, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, y una vez que se identificaron las bandas con los fragmentos de DNA deseados, se purificaron con el método del polietilen glicol (PEG; anexo 3).

### 7.2.3 REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN Y OBTENCIÓN DE LAS SECUENCIAS

Los fragmentos de DNA purificados se utilizaron para realizar las reacciones de secuenciación con la ayuda del *kit* Big Dye 3.1 (Applied Biosystems, 2002) los *primers* utilizados fueron tMetR, tAla, ND<sub>2</sub> y ND<sub>2</sub>depR (cuadro 3). Cada reacción tuvo un volumen final de 10 µl (2 µl de primer, 1.8 µl de *Big Dye*, 1.1 µl de buffer, 3.6 µl de H<sub>2</sub>O, y 1.5 µl de DNA), los parámetros utilizados en el termociclador para la reacción de secuenciación fueron los siguientes: 96 °C por 30 s, 50 °C por 30 s, 60 °C por 4 min; 35 ciclos. El DNA obtenido de la reacción, fue purificado en *sephadex* con ayuda de las columnas Centri-sep (Princeton Separations; anexo 4). Para finalmente obtener las muestras y secuenciarlas de manera automática con ayuda de un secuenciador ABI 310 con un capilar largo y un tiempo de corrida de 1 hora 20 minutos.

Cuadro 3. Secuencias de los *primers* utilizados en la amplificación y secuenciación del DNA

Región del DNA	Primer	Secuencia del primer (5'/3')	Referencia
Subunidad 2 de la NADH – deshidrogenasa (ND <sub>2</sub> )	tAla	CTTAAT KAA GTGTK TGAGTTGATTCAG	Reeder <i>et al.</i> (2002)
	tMetR	AAGCTYTYGGGCCCATACCCGA	
	ND <sub>2</sub> depR	GGRGGWYTRCCYCCAATAACAGG	
	ND <sub>2</sub>	CAYCTVTGAYTRCCAGAAGTWATACA	

#### 7.2.4 ANÁLISIS DE DATOS

Las secuencias de cada uno de los ejemplares de las especies partenogenéticas y sus especies parentales fueron editadas y ensambladas usando el conjunto de programas conocidos como Staden Package v. 1.5.3 (Staden, 1996). La alineación de las secuencias fue realizada sin ambigüedades, utilizando la versión 2.0.11 de Clustal X (Thompson *et al.*, 1997) para producir una matriz de 1098 pb. Con la finalidad de enriquecer esta matriz, se decidió añadir la lectura de las secuencias del gen Cytb del mtDNA para las mismas poblaciones (671 pb), conformando así una matriz final de 1769 pb, cabe señalar que estas secuencias ya habían sido editadas y alineadas por el autor original con los mismos métodos que aquí se emplean (Manríquez-Morán, 2002).

#### 7.2.5 ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Para determinar las relaciones filogenéticas del complejo *A. cozumela* y hacer una evaluación sobre la evolución de la reproducción clonal, se utilizaron dos métodos de inferencia filogenética: Máxima parsimonia (MP) e Inferencia Bayesiana (IB).

El primero de estos métodos ha sido empleado anteriormente para esclarecer las relaciones genealógicas de estos lacertilios, y aunque la hipótesis generada con este procedimiento no paramétrico está bien sustentada, es necesario seguir explorando con otros marcadores y con métodos paramétricos y probabilísticos como la Inferencia Bayesiana para generar hipótesis alternativas que contribuyan a determinar las relaciones filogenéticas de este grupo.

Ambos análisis se llevaron a cabo utilizando una matriz de datos conformada por 50 secuencias pertenecientes a los individuos de cada una de las poblaciones analizadas. Las

secuencias corresponden a las regiones de los genes codificantes ND<sub>2</sub> y Cytb (parcial) del DNA mitocondrial, y en conjunto representan 1769 pb (1-1098 para ND<sub>2</sub> y 1099-1769 para Cytb)

#### MÁXIMA PARSIMONIA

El análisis de máxima parsimonia (MP) se realizó utilizando el programa PAUP versión 4.0b10 de Macintosh (Swofford 2000), en el que todos los caracteres fueron considerados como no ordenados y con el mismo peso, los *gaps* fueron tratados como datos faltantes. La construcción de los árboles se realizó mediante el método exacto de *branch and bound*, cuyas cualidades facilitaron trabajar con una matriz de catorce taxones en un corto tiempo computacional (solo revisa los cladogramas que probablemente son más cortos).

Es importante contar con una prueba estadística para estimar la confianza de los resultados de un análisis cladístico, para ello se realizó un análisis de remuestreo de *Bootstrap* (BT), cuyo enfoque permite estimar varianzas e intervalos de confianza entre las ramas del cladograma. Aunque existen otros análisis como el de *Apoyo de Bremer* y el *Indice de monofilia de Jackknife*, su principal limitación es que se trata de índices cualitativos, lo que dificulta tomar decisiones sobre la credibilidad del clado en cuestión; y aunque el análisis de *Bootstrap* también presenta inconsistencias de aplicación como sesgar sus valores por variables como el número de taxones, el de caracteres o la propia topología del árbol, sigue siendo el más intensamente utilizado en los estudios filogenéticos, principalmente en aquellos que utilizan datos moleculares.

El análisis de remuestreo (*bootstrapping*) se realizó mediante una búsqueda heurística con 1000 pseudoréplicas, y aunque ello no garantizan tener el árbol con menor número de pasos, si es posible encontrar el mínimo local, es decir, dado los árboles iniciales, se pueden encontrar los arboles más cortos de los mismos. Si alguno de estos mínimos locales hallados coincide con el mínimo global entonces se habrá hallado al menos uno de los árboles más parsimoniosos.

De la búsqueda heurística resultaron 18 árboles igualmente parsimoniosos, a partir de los cuales se construyó un árbol de consenso estricto.

#### INFERENCIA BAYESIANA

La reconstrucción filogenética bajo el método de inferencia bayesiana requiere forzosamente de la selección de un modelo de cambio entre estados para elegir entre las hipótesis (topologías) alternativas. Los modelos seleccionados en el presente análisis fueron obtenidos con el programa ModelTest v.3.06. (Posada y Crandall, 1998) y se aplicaron para estimar los mejores parámetros calculados para minimizar la dispersión de los datos.

Los modelos de sustitución nucleotídica se obtuvieron independientemente para cada uno de los marcadores moleculares, esto con el fin de realizar un análisis por separado de cada uno de los genes. El modelo evolutivo propuesto para ND<sub>2</sub> fue el TMV + G, mientras que para Cytb el sugerido fue GTR + G. Tras obtener los modelos evolutivos, el análisis fue realizado con el programa Mr. Bayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001).

La matriz de datos se corrió en dos análisis independientes por 5 millones de generaciones con cuatro cadenas Markov Monte Carlo, llevándose a cabo un muestreo de arboles cada 100 generaciones. De los 50000 árboles obtenidos, se eliminaron los primeros

1500 (ya que a partir de estos los valores de verosimilitud fueron estables), y de los árboles restantes se obtuvo un árbol de consenso de mayoría, que representa la hipótesis filogenética.

#### DISTANCIA GENÉTICA

Para estimar la divergencia genética entre las secuencias de mtDNA, se utilizó el programa PAUP\* versión 4.0b10 de Macintosh (Swofford 2000), en donde se empleó el modelo general de tiempo reversible. Con las distancias corregidas se construyó un fenograma a partir del método de UPGMA (*unweighted pair – group method using arithmetic average*) en donde se evaluaron dichas distancias.



## 8. RESULTADOS

### 8.1 RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA CON BASE EN LAS SECUENCIAS DEL GEN ND<sub>2</sub> DEL mtDNA.

Los análisis filogenéticos realizados en un inicio de manera independiente para valorar el nivel de información que aporta la subunidad 2 de la NADH-deshidrogenasa (ND<sub>2</sub>) en el esclarecimiento de las relaciones genealógicas al interior del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales, revelan la baja variación que existe entre las especies del grupo. Dicha variación se ve reflejada en los resultados obtenidos mediante ambos métodos (Parsimonia e Inferencia bayesiana); en el de parsimonia por ejemplo, se obtuvo que de 1098 caracteres analizados, 926 fueron constantes y 155 variables pero no informativos, mientras que solo 17 resultaron parsimoniosamente informativos.

El análisis produjo un total de 5 árboles igualmente parsimoniosos con una longitud de 182 pasos cada uno (CI=0.962, RI=0.848, RC=0.815), con ellos se construyó un árbol de consenso estricto (figura 3) cuya topología muestra a las poblaciones de *A. rodecki* (I. Contoy y P. Juarez), *A. angusticeps* (Celestún, Chetumal, Campeche y Pedro A. Santos), *A. maslini* (Calakmul, Cayo Norte, I. del Carmen, Champotón, Majahual. P. Morelos) y *A. cozumela* (I. Cozumel) dentro del grupo interno, mientras que el grupo externo está definido por una población de *A. deppii* (Miramar).

Dentro del grupo interno es posible distinguir dos grupos principales, uno de ellos formado por las dos poblaciones de *Aspidoscelis rodecki* (BT = 94) y otro, por las poblaciones de *A. angusticeps* y el complejo formado por *A. maslini* y *A. cozumela* (BT = 72), que forman un grupo más interno (BT = 88).

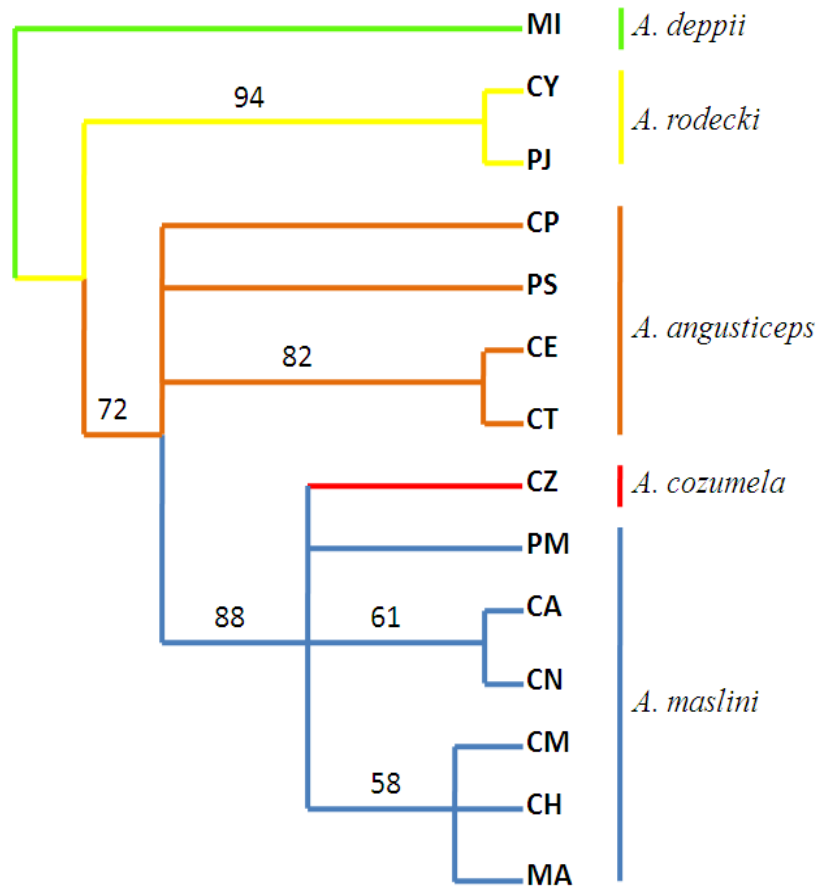


Figura 3. Árbol de consenso estricto generado a partir de las secuencias del gen mitocondrial ND<sub>2</sub> mediante el método de parsimonia, en el se indican las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales. (CE=Celestún, CP= Campeche, CT= Chetumal, PS= Pedro Santos, CY= Contoy, PJ= Puerto Juarez, CM= I. del Carmen, CH=Champton, MA=Majahual, CA= Calakmul, CN= Cayo Norte, PM= Puerto Morelos, CZ= Cozumel, MI= Miramar).

Por su parte, el método de inferencia bayesiana aporta poca resolución en la filogenia de el complejo *Aspidoscelis cozumela*, la topología del filograma resultante muestra la enorme distancia genética que existe entre las especies del complejo y *A. deppii* (especie paterna), sin embargo aparece mezclada con el grupo formado por las distintas poblaciones de *A. maslini* - *A. cozumela*, integrando una politomía. Este grupo, se encuentra más relacionado con el formado por las poblaciones de *A. angusticeps* y el clado basal está integrado por las dos poblaciones de *A. rodecki* (figura 4).

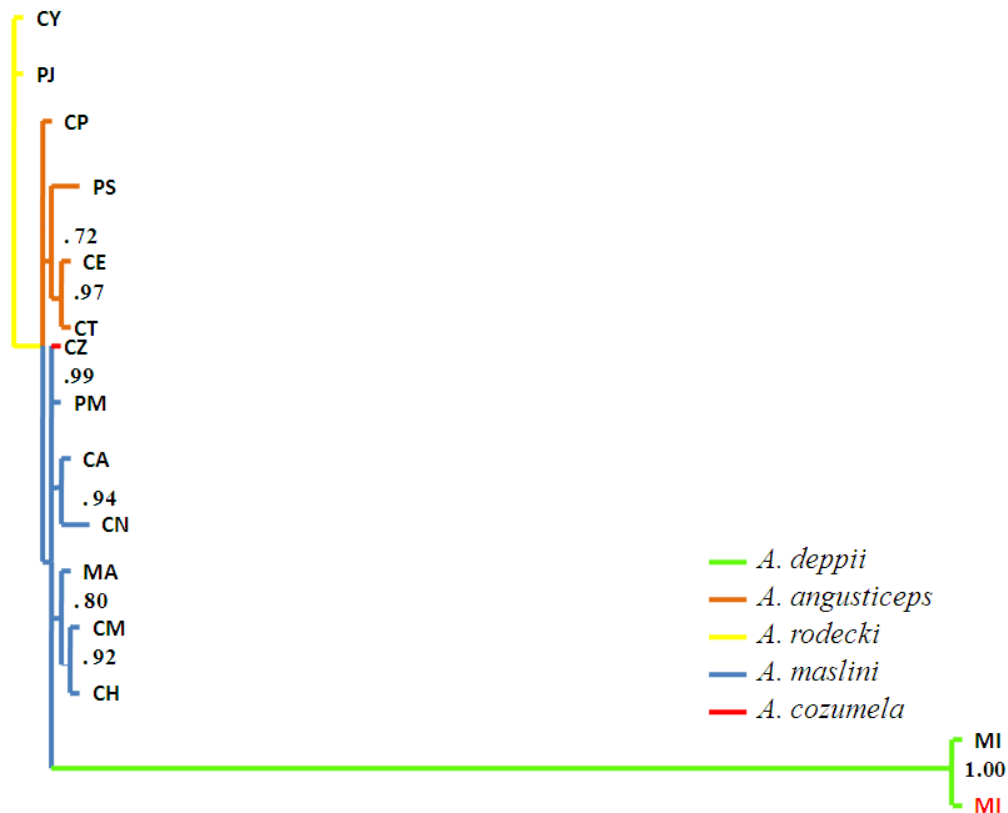


Figura 4. Filograma generado a partir de las secuencias del gen mitocondrial ND<sub>2</sub>, en el se indican las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales. Los números por encima de las ramas indican las probabilidades posteriores (CE=Celestún, CP= Campeche, CT= Chetumal, PS= Pedro Santos, CY= Contoy, PJ= Puerto Juarez, CM= I. del Carmen, CH=Champton, MA=Majahual, CA= Calakmul, CN= Cayo Norte, PM= Puerto Morelos, CZ= Cozumel, MI= Miramar).

## **8.2 RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA MEDIANTE EVIDENCIA TOTAL (Cytb Y ND<sub>2</sub> DEL mtDNA).**

El análisis de parsimonia reveló que de los 1769 caracteres analizados, 1639 fueron constantes y 98 variables pero no informativos, mientras que 32 fueron variables y parsimoniosamente informativos. El análisis produjo un total de 18 árboles igualmente parsimoniosos de 146 pasos cada uno (CI=0.7292, RI=0.8219, RC=0.7487), con los que a su vez se construyó un árbol de consenso estricto (figura 5) en el que el grupo interno queda conformado por las poblaciones de *Aspidoscelis angusticeps* (Celestún, Chetumal, Campeche y Pedro A. Santos), y las poblaciones de las especies partenogenéticas: *Aspidoscelis rodecki* (I. Contoy y P. Juarez), *Aspidoscelis maslini* (Calakmul, Cayo Norte, I. del Carmen, Champotón, Majahual, P. Morelos) y *Aspidoscelis cozumela* (I. Cozumel), mientras que el grupo externo está definido por una población de *Aspidoscelis deppii* (Playa Miramar).

El cladograma final muestra una topología en la que se pueden distinguir dos grupos, el primer clado está integrado por las diferentes poblaciones de *A. maslini* y *A. cozumela*, formando una politomía. El segundo clado (BT = 97%), está conformado por las distintas poblaciones de *A. rodecki* y *A. angusticeps*, destacando un grupo formado por las dos poblaciones de la especie unisexual (CY y PJ, BT = 98) y otro formado por las poblaciones de Celestún y Chetumal de *A. angusticeps* (BT = 82), que en conjunto forman una politomía con las poblaciones restantes de la especie materna (figura 6).

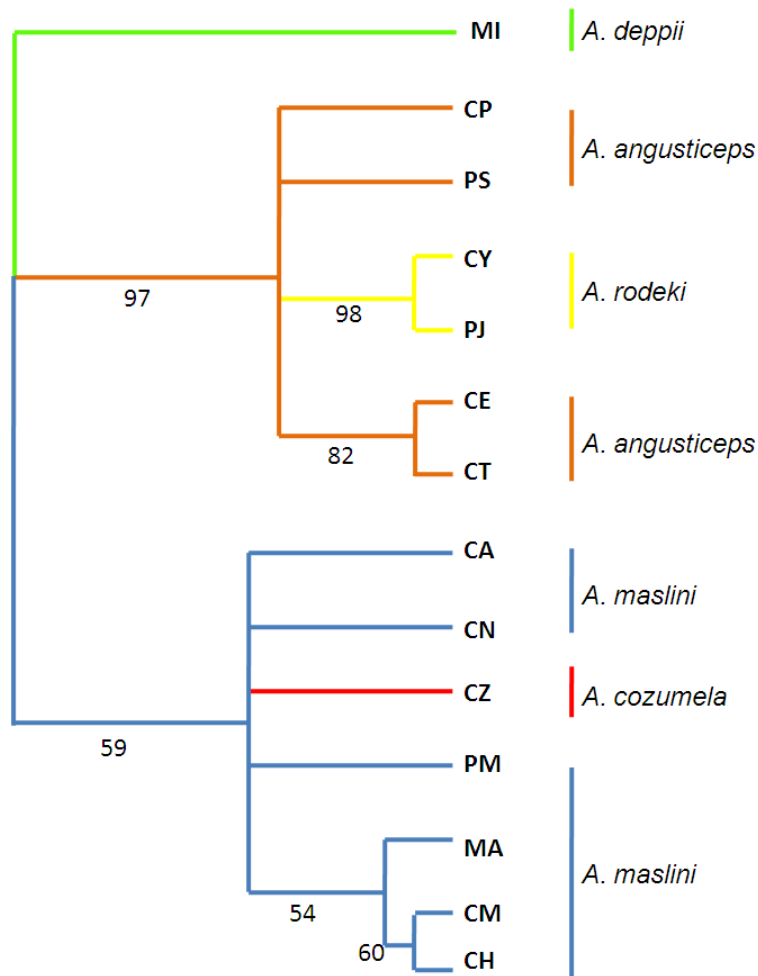


Figura 5. Árbol en el que se muestra la topología de un consenso estricto de 18 árboles más parsimoniosos con 146 pasos cada uno (CI=0.7292, RI=0.8219, RC=0.7487), en el se indican las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales. (CE=Celestún, CP= Campeche, CT= Chetumal, PS= Pedro Santos, CY= Contoy, PJ= Puerto Juarez, CM= I. del Carmen, CH=Champton, MA=Majahual, CA= Calakmul, CN= Cayo Norte, PM= Puerto Morelos, CZ= Cozumel, MI= Miramar).

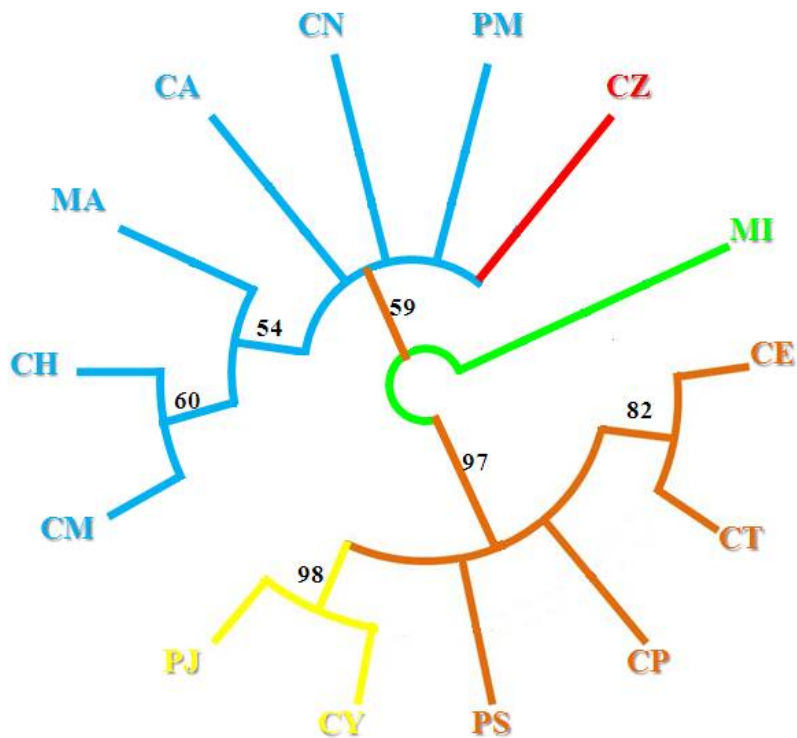


Figura 6. Cladograma circular en donde se muestran las politomias de de los diferentes haplotipos de cada especie que integra el complejo *Aspidoscelis cozumela*. (CE=Celestún, CP= Campeche, CT= Chetumal, PS= Pedro Santos, CY= Contoy, PJ= Puerto Juárez, CM= I. del Carmen, CH=Champton, MA=Majahual, CA= Calakmul, CN= Cayo Norte, PM= Puerto Morelos, CZ= Cozumel, MI= Miramar).

El árbol generado mediante la inferencia bayesiana, presenta una topología congruente con la exhibida por el cladograma obtenido con MP, ya que el filograma también presenta dos grupos (figura 7), uno conformado por las poblaciones *A. rodecki* y *A. angusticeps* (PP = 100). Al interior de este grupo, las poblaciones de *A. rodecki* (I. Contoy y P. Juárez) también aparecen como grupos hermanos (PP = 100), y este grupo tiene como grupo hermano (PP = 49) al formado por tres poblaciones de *A. angusticeps*: Celestún y Chetumal (grupos hermanos, PP = 100) y Pedro A. Santos (PP =, 76). El grupo anterior a su vez, constituye un grupo con la población de *A. angusticeps* de Campeche (PP = 100).

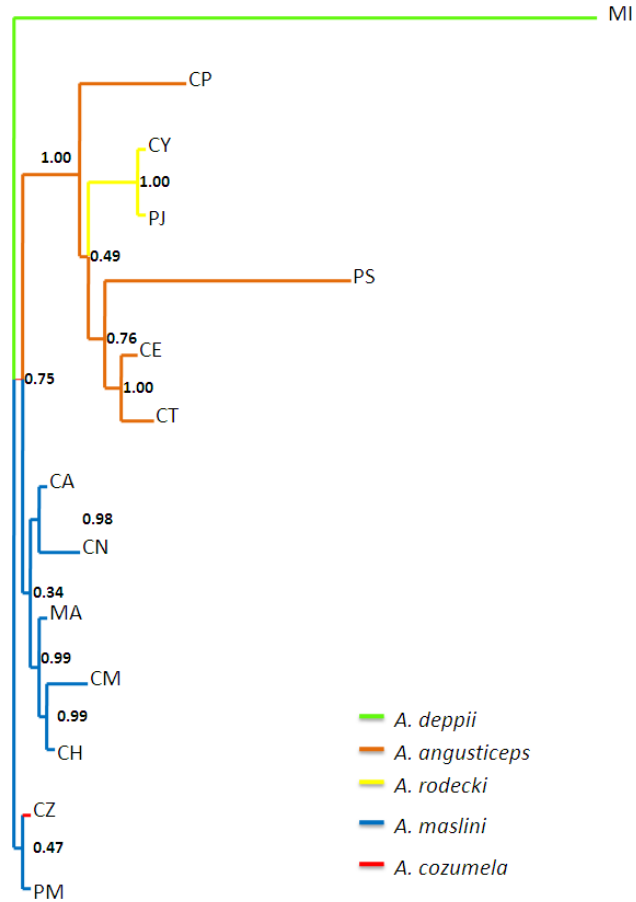


Figura 7. Filograma en el que se muestran las relaciones existentes entre las especies del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales. Los números por encima de las ramas corresponden a las probabilidades posteriores. (CE=Celestún, CP= Campeche, CT= Chetumal, PS= Pedro Santos, CY= Contoy, PJ= Puerto Juárez, CM= I. del Carmen, CH=Champoton, MA=Majahual, CA= Calakmul, CN= Cayo Norte, PM= Puerto Morelos, CZ= Cozumel, MI= Miramar).

En un segundo grupo se aprecian dos clados formados por poblaciones distintas de *A. maslini*, uno de ellos constituido por las poblaciones de Calakmul y Cayo Norte (PP = 98), y el otro por las poblaciones de Majahual, Cd. del Carmen y Champotón (PP = 99), las últimas formando un grupo hermano (PP = 99; figura 2). Respecto a *A. cozumela* y *A. maslini* de Puerto Morelos el análisis indica que la divergencia genética entre estas dos poblaciones es nula, por lo que la topología del filograma las une con probabilidades

posteriores de 47, cabe destacar que estas dos poblaciones no se integran al grupo de *A. maslini* (como ocurre en el análisis de máxima parsimonia).

### **8.3 DIVERSIDAD GENÉTICA**

La variabilidad genética presente entre las diferentes poblaciones analizadas, fue calculada a partir de las 1769 pares de bases (pb) que resultaron de la unión de las secuencias de los genes ND<sub>2</sub> y Cytb del mtDNA. Las distancias corregidas fueron calculadas con el modelo general de tiempo reversible y en ellas se muestra que genéticamente, las especies unisexuales y *Aspidoscelis angusticeps* son más cercanas que con respecto a *Aspidoscelis deppii* (la especie paterna). En promedio, *Aspidoscelis maslini*, *Aspidoscelis cozumela* y *Aspidoscelis rodecki* presentan el 5.40% de divergencia con respecto a *A. deppii*, mientras que solo el 0.96% respecto a *A. angusticeps* (cuadro 4).



Cuadro 4. Distancias genéticas entre las especies unisexuales del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales, calculadas con el modelo general de tiempo reversible. (CE=Celestún, CP= Campeche, CT= Chetumal, PS= Pedro Santos, CY= Contoy, PJ= Puerto Juárez, CM= I. del Carmen, CH=Champton, MA=Majahual, CA= Calakmul, CN= Cayo Norte, PM= Puerto Morelos, CZ= Cozumel, MI= Miramar).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	CE	CP	CT	PS	CY	PJ	CM	CH	MA	CA	CN	PM	CZ	MI
<b>1 CE</b>	-													
<b>2 CP</b>	0.00696	-												
<b>3 CT</b>	0.00396	0.00683	-											
<b>4 PS</b>	0.00949	0.00820	0.00935	-										
<b>5 CY</b>	0.00735	0.00821	0.01018	0.01073	-									
<b>6 PJ</b>	0.00622	0.00822	0.00904	0.01073	0.00113	-								
<b>7 CM</b>	0.01055	0.00729	0.01041	0.01002	0.00989	0.00989	-							
<b>8 CH</b>	0.01074	0.00778	0.01244	0.01031	0.01018	0.01131	0.00000	-						
<b>9 MA</b>	0.01074	0.00693	0.01244	0.01136	0.01131	0.01244	0.00106	0.00113	-					
<b>10 CA</b>	0.01018	0.00685	0.01074	0.01128	0.01074	0.01187	0.00286	0.00170	0.00170	-				
<b>11 CN</b>	0.01413	0.00951	0.01470	0.01395	0.01470	0.01583	0.00549	0.00565	0.00452	0.00396	-			
<b>12 PM</b>	0.01018	0.00602	0.01187	0.01045	0.01074	0.01187	0.00202	0.00170	0.00170	0.00113	0.00509	-		
<b>13 CZ</b>	0.01018	0.00602	0.01187	0.01045	0.01074	0.01187	0.00202	0.00170	0.00170	0.00113	0.00509	0.00000	-	
<b>14 MI</b>	0.05936	0.00611	0.05879	0.01051	0.06162	0.06105	0.00206	0.05596	0.05596	0.05540	0.05596	0.05427	0.05427	-

## 9. DISCUSIÓN

### 9.1 DISTANCIAS GENÉTICAS ENTRE LAS ESPECIES UNISEXUALES Y SUS ESPECIES PARENTALES

La comparación de las secuencias de mtDNA entre especies gonocóricas de distintas especies de lacertilios, ha mostrado la existencia de haplotipos distinguibles entre sí, mientras que las especies unisexuales exhiben haplotipos que son muy similares o indistinguibles de sólo uno de los progenitores gonocóricos (especie materna; Avise *et al.*, 1992).

La distancia genética que se observa al comparar las secuencias de genes mitocondriales entre las especies partenogenéticas del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales, permite destacar la estrecha relación que existe entre *Aspidoscelis angusticeps* y las especies unisexuales del grupo. Manríquez-Morán (2002) registró divergencias promedio de 1.34 % entre las especies unisexuales y *A. angusticeps*, y de 16.28 % con respecto a *A. deppii* (especie paterna). En el presente estudio se evaluó un número mayor de poblaciones y se encontraron divergencias promedio de 0.96% entre *A. angusticeps* y los tres taxones unisexuales (*Aspidoscelis maslini* = 1.04 %, *Aspidoscelis cozumela* = 0.96%, y *Aspidoscelis rodecki* = 0.88%), y de 4.48% (4.66%, 5.42% y 3.36%) entre estos y *Aspidoscelis deppii*.

Comparando ambos datos, es posible observar que los haplotipos encontrados en las distintas poblaciones de las especies unisexuales, son genéticamente más cercanos a los haplotipos reportados para *A. angusticeps*, apoyando así la idea de que ésta es la especie materna de todas las poblaciones conocidas de las lagartijas unisexuales de la Península de Yucatán (Moritz *et al.*, 1992).

Tomando en cuenta que el mtDNA es heredado casi exclusivamente por vía materna, no recombina y presenta una alta tasa de evolución (sustitución; Avise *et al.*, 1987), es posible establecer que el mtDNA de las especies unisexuales evaluadas en el presente estudio proviene de *Aspidoscelis angusticeps*, lo que permite reconocerla como la especie materna del grupo.

Estudios realizados en otros lacertilios unisexuales, muestran el mismo patrón de divergencia genética que se aprecia entre los integrantes del complejo *Aspidoscelis cozumela* y su especie materna, tal es el caso de *Aspidoscelis neomexicana*, en donde análisis de mtDNA entre *Aspidoscelis inornata* y *Aspidoscelis marmorata* señalan a esta última como la especie materna (Brown y Wright, 1979), lo mismo ocurre para *Aspidoscelis laredoensis*, cuyo origen híbrido entre *Aspidoscelis gularis* y *Aspidoscelis sexlineata* fue propuesto con base en estudios aloenzimáticos y cariológicos, mientras que con el análisis de su mtDNA se sugiere la participación de *Aspidoscelis gularis* como la especie materna (Wright *et al.*, 1983). Estos ejemplos avalan que el grado de diversidad genética presente entre las especies unisexuales y sus ancestros gonocóricos maternos es menor al que exhiben las especies gonocóricas entre sí, permitiendo con ello conocer la dirección de los eventos de hibridación que les dieron origen (Avise *et al.*, 1992).

## **9.2 RELACIONES FILOGENÉTICAS Y EVOLUCIÓN DE LA PARTENOGENÉESIS**

Los métodos de inferencia filogenética, utilizando secuencias de mtDNA, han permitido establecer la existencia de tres tipos de relaciones filogenéticas entre las formas unisexuales y su especie materna: I) Monofilia recíproca, en la que todos los linajes pertenecientes a la especie gonocórica están más relacionados entre sí que con cualquiera de los linajes partenogénéticos o viceversa; II) Parafilia, en la que todos los linajes de la

especie uniparental están más relacionados entre sí que con cualquier linaje de la especie gonocórica, pero en la que algunos linajes de la especie materna se encuentran más relacionados con los linajes partenogenéticos que con los otros de la especie parental; III) Polifilia, cuando ninguna de las especies (ni la partenogenética, ni la gonocórica) forman clados separados, los linajes de una y otra se encuentran mezclados (anexo 5; Avise *et al.*, 1992). Los métodos de inferencia filogenética utilizados en el presente estudio, muestran árboles constituidos por dos grupos que reflejan orígenes independientes de la partenogénesis en el complejo *Aspidoscelis cozumela*, uno de ellos une a los haplotipos de *A. rodecki* y *A. angusticeps*, mientras que el otro asocia a los haplotipos de *A. maslini* y *A. cozumela*, dicha esquematización sugiere una relación de polifilia entre *A. angusticeps* y las formas unisexuales del complejo *A. cozumela* (Avise *et al.*, 1992), así como la existencia de dos eventos de hibridación independientes entre *A. angusticeps* y *A. deppii*, uno de ellos dando origen a *A. rodecki* y el otro a *A. maslini* - *A. cozumela*, lo cual confirma las propuestas provenientes de evidencias cariológicas, moleculares, morfológicas, y por el grado de histoincompatibilidad entre *A. rodecki* y las otras dos formas unisexuales (Fritts, 1969; Hernández Gallegos *et al.*, 1998; Manríquez-Morán *et al.*, 2000; Manríquez-Morán, 2002).

Analizando por separado, los clados partenogenéticos que resultan de los dos análisis filogenéticos, es posible observar que ambos presentan una relación de parafilia con la especie materna del grupo, lo que de acuerdo con Avise *et al.*, (1992) resulta lógico cuando el origen de las especies partenogenéticas es reciente y empiezan un proceso de diferenciación que finalmente conduce a la monofilia recíproca (Avise *et al.*, 1992).

Un aspecto que destaca de los árboles filogenéticos obtenidos, es la politomía establecida entre las distintas especies del complejo *Aspidoscelis cozumela* y su especie

materna, por un lado *Aspidoscelis maslini* y *A. cozumela* y por el otro *A. angusticeps* y *A. rodecki*. Con base en caracteres moleculares, Manríquez-Morán (2002) sugiere que las especies partenogénicas se originaron por la hibridación de individuos genéticamente distantes de *Aspidoscelis angusticeps* con *A. deppii*, y de acuerdo a lo que menciona; *A. rodecki* parece tener como ancestro materno a un organismo con un haplotipo semejante al que actualmente presentan los individuos de Celestún o Chetumal (Manriquez-Morán, 2002), sin embargo, la escasa divergencia genética entre las poblaciones de *Aspidoscelis angusticeps* que se muestra en el presente estudio, no permite descifrar la ruta evolutiva ni la población que originó a *A. rodecki*.

Lo mismo ocurre para *Aspidoscelis maslini* y *A. cozumela*, taxones cuya relación indica una radiación mediante la que estas poblaciones han logrado diversificarse, y por la cual se han originado distintos haplotipos exclusivos de cada zona geográfica. Tomando en consideración las cinco categorías filogeográficas propuestas por Avise (2000; Cuadro 1) se considera que el complejo *Aspidoscelis cozumela* se rige por el patrón filogeográfico descrito dentro de la categoría III, y dado que los distintos haplotipos del complejo muestran diferencias genéticas muy pequeñas entre sí y son característicos de cada una de las poblaciones analizadas (Avise, 2000), se asume un origen y una divergencia reciente del grupo, proponiendo con ello, que a partir de un solo organismo que colonizó la Península de Yucatán se originaron diversos clones (Schluter, 2003). Por lo tanto, las características morfológicas, citogenéticas y de comportamiento en que difieren las poblaciones de *Aspidoscelis maslini* (Fritts, 1969; Manríquez Morán, 2002; Elizalde-Rocha, 2007) indican que las condiciones del ambiente y sus presiones selectivas, han posibilitado que estos lacertilios hayan tenido una radiación adaptativa (Schluter, 2003) en donde el proceso evolutivo a nivel ecológico y fenotípico ha ido acompañado por una multiplicación de

linajes, cuyos descendientes ocupan nichos ecológicos distintos en los que pueden aprovechar sus recursos dado las características morfológicas y fisiológicas de las cuales han sido dotados (Ornelas, 1996; Schluter, 2003).

La diversificación de un híbrido ancestral en varios clones ecológicamente diferentes, asociada con la adaptación morfológica (Seehausen, 2004), son cualidades que distinguen al complejo *Aspidoscelis cozumela*, y cumpliendo con las cuatro características básicas de una radiación adaptativa: 1) ancestría común de las especies, 2) correlación fenotipo-ambiente, 3) utilidad de los caracteres fenotípicos involucrados, y 4) eventos de diversificación rápida (Schluter, 2003); es posible reconocer que el origen reciente de estas especies, está determinado por la divergencia fisiológica y la adaptación; facultades que les han permitido invadir ambientes libres de competidores y explotar recursos subutilizados (Schluter, 2003).

Sin embargo, pese a las evidencias que en la actualidad existen, el origen geográfico y genético de las poblaciones que originaron la partenogénesis en el complejo *Aspidoscelis cozumela* es desconocido, por lo que quizá sea necesario hacer estudios filogeográficos más detallados que incluyan mas poblaciones de *Aspidoscelis angusticeps* y así analizar las genealogías génicas para el estudio de la evolución en las poblaciones donde el complejo *A. cozumela* está presente. Así, se podrá definir el proceso de colonización y diversificación de los linajes genéticos, lo cual a su vez permitirá plantear hipótesis sobre posibles eventos de dispersión y las causas ecológicas que pudieron haber influido en esta radiación de especies.

### 9.3 ESTADO TAXONÓMICO DE *Aspidoscelis maslini* Y *A. cozumela*

Es importante destacar que al igual que en los análisis con enzimas de restricción (Moritz *et al.*, 1992) las poblaciones de *Aspidoscelis maslini* y *Aspidoscelis cozumela* presentan niveles bajos de divergencia en las secuencias de los genes ND<sub>2</sub> y Cytb de su mtDNA, incluso se observó que la población de Puerto Morelos (*A. maslini*) y la especie endémica de Isla Cozumel comparten el mismo haplotipo, es decir no presentan diferencias a nivel genético, tal y como lo sugerían los análisis de histocompatibilidad realizados anteriormente (Hernández Gallegos *et al.*, 1998).

La homogeneidad genética que se presenta entre estos dos taxones y sobre todo la divergencia genética nula que revelan las secuencias de mtDNA, apoyan la idea de que *Aspidoscelis cozumela* no representa una especie partenogenética que se haya originado por la hibridación entre dos especies gonocóricas, sino que su origen se debe a un evento de cladogénesis en la que esta especie se derivó de un taxón uniparental preexistente que muy probablemente es *Aspidoscelis maslini* (Manríquez-Morán, 2002). Por lo tanto, la consideración taxonómica de *Aspidoscelis cozumela* sigue siendo complicada, ya que por la nula divergencia de su mtDNA con respecto a la población de P. Morelos (*A. maslini*) y su posición dentro de los árboles filogenéticos que resultan de este trabajo, se podría considerar que es un morfotipo más de *Aspidoscelis maslini*, sin embargo, destacando la evidencia morfológica, cariológica, y sobre todo el aislamiento geográfico que hace de *Aspidoscelis cozumela* un taxón claramente diagnosticable, es posible definirla como distinta a *Aspidoscelis maslini*. Además, bajo el concepto filogenético de especie que Echelle (1990) propone utilizar para delimitar taxones unisexuales, “una especie es un grupo irreductible de organismos dentro de los cuales existe un patrón parental de ancestría y descendencia, el cual es diagnosticablemente distinto de otros grupos”

(Cracraft, 1987), es posible que *Aspidoscelis cozumela* siga conservando su identidad y su rango de especie, ya que este concepto tiene la ventaja de reconocer a aquellos taxones unisexuales que se diferencian de una forma partenogenética preexistente (Manríquez-Morán, 2007). Lo que no ocurre bajo el concepto biológico propuesto por Mayr (2000), cuya principal limitante es su aplicación exclusiva a organismos con reproducción sexual y el aislamiento reproductivo con que deben cumplir aquellas poblaciones pertenecientes a distintas especies (De Haro, 1990), donde desde luego, no hay cabida para reconocer aquellos grupos que se reproducen mediante mecanismos clonales y en los que solo existe un sexo (Maslin, 1968).

Los análisis cariológicos realizados con los miembros del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies parentales, muestran la existencia de tres fisiones en el cariotipo híbrido del ancestro que dio origen a *Aspidoscelis cozumela* (Manríquez-Morán, 2007), estas modificaciones cromosómicas permiten diferenciar a los lacertilios de Isla Cozumel y las poblaciones continentales de *Aspidoscelis maslini*; y de acuerdo con Cole, (1985), esto representa un punto a favor para reconocer a *Aspidoscelis cozumela* como un taxón partenogenético distinto a aquel que le dio origen (Cole, 1985), además, al presentar diferencias morfológicas e inconsistencias en su ecología y distribución no es posible asegurar que se trata de una misma especie (Cole, 1985).



## 10. CONCLUSIONES

- Las especies del complejo *Aspidoscelis cozumela* presentan haplotipos exclusivos y genéticamente poco variables en cada una de las poblaciones analizadas.
- Dichos haplotipos, son genéticamente más cercanos a los haplotipos encontrados en *Aspidoscelis angusticeps* que el reportado para *Aspidoscelis deppii*.
- *Aspidoscelis angusticeps* se confirma como la especie materna de dos de los taxones del complejo (*Aspidoscelis maslini* y *Aspidoscelis rodecki*).
- *Aspidoscelis cozumela* se originó mediante cladogénesis de la población con haplotipo PM de *Aspidoscelis maslini*.
- La filogenia muestra la existencia de dos complejos unisexuales originados independientemente.
- La evolución de la partenogénesis en el complejo *Aspidoscelis cozumela* se registra como una radiación adaptativa.

## 11. LITERATURA CITADA

- Agapow, P. M., O. R. P. Briminda-Emonds, K. A. Crandall, J. L. Gittleman, G. M. Mace, J. C. Marshall, A. Purvis. 2004. The impact of species concept on biodiversity studies. *The quarterly review of biology*. 79:161-174.
- Applied Biosystems. 2002. BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing: Protocol. 72 pp.
- Avise, J. C. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman & Hall. New York, USA. 511 pp.
- Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press. USA. 447 pp.
- Avise, J. C. 2008. *Clonality: The genetics, ecology, and evolution of sexual abstinence in vertebrate animals*. Oxford: Oxford University Press. 237 pp.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. Martin Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb y N. C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18:489-522.
- Avise, J. C., J. M. Quatroy y R. C. Vrijenhoek. 1992. Molecular clones within organismal clones: Mitochondrial DNA phylogenies and the evolutionary histories of unisexual vertebrates. *Evolutionary Biology*. 26:225-246.
- Bermingham, E. y C. Moritz. 1998. Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology*. 7:367-369.
- Brown, W. M. y J. Wriuth. 1979. Mitochondrial DNA analysis and the origin and relative age of parthenogenetic lizard (genus *Cnemidophorus*). *Science* 203:1247-1249.
- Butterlin, J. y F. Bonet. 1958. Reconocimiento geológico preliminar del territorio de Quintana Roo: *Boletín de la Asociación Mexicana de Geólogos Petroleros*. 10:531-570.

- Butterlin, J. y F. Bonet. 1963. Las formaciones cenozoicas de la parte mexicana de la Península de Yucatán. *Ingeniería Hidráulica en México*. 17:63-71.
- Casas Andreu, G., G. Valenzuela López y A. Ramírez Bautista. 1991. Cómo hacer una colección de anfibios y reptiles. Instituto de Biología. UNAM. México D.F. 68 PP.
- Cole, C. J. 1985. Taxonomy of the parthenogenetic species of hybrid origin. *Systematic Zoology*. 34:359-363.
- Cole, C. J. 1990. When is an individual not a species? *Herpetologica*. 46:104-108.
- Cole, C. J., y H. C. Dessauer. 1993. Unisexual and bisexual whiptail lizards of the *Cnemidophorus lemniscatus* complex (Squamata: Teiidae) of the Guiana region, South America, with descriptions of new species. *American Museum Novitates*. 3081: 1-30 pp.
- Cracraft, J. 1987. Species concepts and the ontology of evolution. *Biology and Philosophy*. 2:329-346.
- Cuellar, O. 1974. On the origin of parthenogenesis in vertebrates: The cytogenetic factors. *American Naturalist*. 108:625-648.
- Cuellar, O. 1977. Animal parthenogenesis. *Science*. 197:837-843.
- Cuellar, O. 1994. Biogeography of parthenogenetic animals. *Biogeographica* 70:1-13.
- Darevsky, I. S. 1958. Natural parthenogenesis in certain subspecies of rock lizard, *Lacerta saxicola*. *Doklady Akademii Nauk SSSR* 122:730-732.
- Darevsky, I. S., L. A. Kupriyanova y T. Uzzel. 1985. Parthenogenesis in reptiles. En C. Gans y F. Billet (eds.), *Biology of the Reptilia*, Pp. 412-526. Wiley Interscience, New York.
- Darevsky, I. S. 1992. Evolution and ecology of parthenogenesis in reptiles. En *Herpetology: Current research on the biology of amphibians and reptiles*. Adler K. (ed.). Pp. 21-39. Proceedings of the first world congress of herpetology. Society for Study of Amphibians and Reptiles. Oxford, Ohio.

- Dawley, R. M. 1989. An introduction to unisexual vertebrates. En: Evolution and ecology of unisexual vertebrates. Dawley R. M. y J. P. Bogart (eds). Pp. 1-21. New York State Museum Bulletin 466, New York.
- De Haro, J. J. 1990. ¿Que es una especie?. P. 105-112. En: Evolución y filogenia de artrópoda. Melic, A., J. J. De Haro, M. Méndez e I. Ribera (Eds.) Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa. 26:806.
- Echelle, A. A. 1990. Nomenclature and non-Mendelian (“clonal”) vertebrates. Systematic Zoology. 39:70-78.
- Elizalde R. S. P. 2007. Evolución y sistemática de las lagartijas partenogénicas del género *Aspidoscelis* (Squamata: Teiidae) de la Península de Yucatán. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. 45 pp.
- Fetzner, J. W. 1999. Extracting high quality DNA from shed reptile skins: A simplified method. Biotechniques 26(6):1052-1054.
- Fritts, T. H. 1969. The systematics of the parthenogenetic lizards of the *Cnemidophorus cozumela* complex. Copeia 519-535.
- Frost, D. R. y J. W. Wright. 1988. The taxonomy of uniparental species, with special reference to parthenogenetic *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae). Systematic Zoology. 37:202-209.
- Gardner, M. G., K. Ottewell y M. Adams. 2004. Isolation of microsatellites in a parthenogenetic lizard *Menetia greyii* (Scincidae) and their utility in sexual species of the *Menetia greyii* complex. Molecular Ecology Notes. 4:219-221.
- Hernández Gallegos, O., N. L. Manríquez Morán, F. R. Méndez de la Cruz, M. Villagrán Santa Cruz y O. Cuellar. 1998. Histocompatibility in parthenogenetic lizards of the *Cnemidophorus cozumela* complex from the Yucatan Peninsula of México. Biogeographica. 74:117-124.

- Hubp, J. L., Q. J. Aceves y E. R. Pereña. 1992. Rasgos geomorfológicos mayores de la Península de Yucatán. Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México. 10:143-150.
- Huelsenbeck J. y F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Biometrika*. 17:754-755.
- Jiménez P. y C. Collada. 2000. Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. *Investigación agraria sistemas y recursos forestales*. 9:237-248.
- Lee, J. C. 2000. A field guide to the amphibians and reptiles of the Maya world. Cornell University Press, Ithaca, New York. 402 pp.
- López-Ramos, E. 1975. Geological summary of the Yucatán Península. En: The ocean basins and margins. III. The Gulf of Mexico and the Caribbean. Naim, A. E. M. y F. G. Stelhi (eds), Pp. 257–282. Plenum Press. New York. 347.
- Lowe, C. H., Jr y J. W. Wright. 1966. Evolution of parthenogenetic species of *Cnemidophorus* (Whiptail lizards) in Western North America. *J. Arizona Acad. Sci.* 4:81-87.
- Macey, J. R., J. A. Schulte, A. Larson, B.S., Tuniyev, N. Orlov, T. J. Papenfuss. 1999. Molecular phylogenetics, tRNA evolution, and historical biogeography in Anguid lizards and related taxonomic families. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12:250-272.
- Malysheva, D. N., I. S. Darevsky, O. N. Tokarskaya, V. G. Petrosyan, I. A. Martirosyan, y A. P. Ryskov., 2006. Analysis of genetic variation in unisexual and bisexual lizard species of the genus *Leiolepis* from southeast Asia. *Russian Journal of Genetics*. 5:463-467.
- Manríquez Morán, N. L. (1998). Origen, histocompatibilidad y ciclo reproductor de la lagartija partenogenética *Cnemidophorus cozumela* (Reptilia: Teiidae). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 94 pp.

- Manríquez Morán, N. L., M. Villagrán Santa-Cruz, y F. R. Méndez de la Cruz. 2000. Origin and evolution of the parthenogenetic lizards, *Cnemidophorus maslini* and *C. cozumela*. *Journal of Herpetology* 34:634-637.
- Manríquez Morán, N. L. 2002. Origen y diversidad clonal en las especies de lagartijas partenogenéticas del complejo *Cnemidophorus cozumela* (Reptilia: Teiidae). Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 108 pp.
- Manríquez Morán, N. L. 2007. Diversidad clonal en los lacertilios unisexuales del género *Aspidoscelis*. *Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana*. 15:1-12 pp.
- Manríquez Morán, N. L. y F. R. Méndez de la Cruz. 2008. Genetic homogeneity between two populations of the parthenogenetic lizard *Aspidoscelis cozumela*. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 79:421-426.
- Martori, R. A. y L. Aun. 1993. Reproductive cycle of the parthenogenetic lizard *Teius suquiensis*. *Amphibia – Reptilia*. 14:389-393.
- Maslin, T. P. 1968. Taxonomic problems in parthenogenetic vertebrates. *Systematic Zoology*. 17:219-231.
- Maslin, T. P. y D. M. Secoy. 1986. A checklist of the lizard genus *Cnemidophorus* (Teiidae). *Contributions in Zoology University of Colorado Museum, Number 1*. Boulder, Colorado, USA.
- Mayr, E. 2000. The biological species concept. P. 17-29. En: *Species concepts and phylogenetic theory*. Wheeler, Q. D. y R. Meier (eds). Columbia University Press. New York, USA.
- McCoy, C. J. y T. P. Maslin. 1962. A review of the teiid lizard *Cnemidophorus cozumelus* and the recognition of a new race, *Cnemidophorus cozumelus rodecki*. *Copeia* 1962:620-627.
- Miranda, F. 1959. La vegetación de la península de Yucatán. En: *Los recursos naturales del sureste y su aprovechamiento*. Beltrán, E. (ed.), Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables, México, 2:215-276.

- Moritz, C., T. J. Case, D. T. Bolger y S. Donnellan. 1993. Genetic diversity and the history of pacific island house geckos (*Hemidactylus* and *Lepidodactylus*). *Biological Journal of the Linnean Society*. 48:113–133.
- Moritz, C., J. W. Wright, V. Singh y W. M. Brown. 1992. Mitochondrial DNA analyses and the origin and relative age of parthenogenetic *Cnemidophorus*. V. The *cozumela* species group. *Herpetologica*. 48:417-424.
- Murphy, R. W., J. Fu, R. D. Macculloch, I. S. Darevsky, y L. A. Kupryyanova. 2000. A fine line between sex and uisexuality: The phylogenetic constraints on parthenogenesis in lacertid lizards. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 130: 527-749.
- Ornelas, J. F. 1996. Origen y evolución de los colibríes. *Ciencias*. 42:38-47.
- Palumbi, S. R. 1996. Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. Pp. 205-247. En: *Molecular Systematics*. Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable (eds.). SinauerAssociates, Sunderland, MA.
- Parker, E. D., J. M. Walker y M. A. Paulissen (1989). Clonal diversity in *Cnemidophorus*: ecological and morphological consequences. En: *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*. Dawley. R. M. y J. P. Bogart (eds.) Pp. 72-86. New York State Museum Bulletin 466, New York.
- Peccinini Seale, D. 1971. Chromosome variation in population of *Cnemidophorus lemniscatus* in the Amazon Valley (Sauria: Teiidae). *Ciencia e Cultura*. 23:135-136.
- Peccinini Seale, D. y O. Frota Pessoa. 1974. Structural heterozygosity in parthenogenetic populations of *Cnemidophorus lemniscatus* (Sauria: Teiidae) from the Amazonas Valley. *Chromosoma*. 47:439-451.
- Pinet, A. (1998). La Península de Yucatán en el archivo general de la nación. México, D. F. UNAM. 432 pp.
- Posada, D. y K. A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 817-818.

- Princeton Separations. Centri-Sep Protocol. 2 pp.
- Quero, H. J. 1992. Las palmas silvestres de la Península de Yucatán. México, D. F. Instituto de Biología, UNAM.. Publicaciones especiales 10. 63 pp.
- Reeder, T. W. 2003. A phylogeny of the Australian *Sphenomorphus* group (Scincidae: Squamata) and the phylogenetic placement of the crocodile skinks (*Tribolonotus*): Bayesian approaches to assessing congruence and obtaining confidence in maximum likelihood inferred relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27:384-397.
- Reeder, T. W., C. J. Cole y H. C. Dessauer. 2002. Phylogenetic relationships of whiptail lizards of the genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae): A test of monophyly, reevaluation of karyotypic evolution, and review of hybrid origins. *American Museum Novitates* 3365:1-61.
- Rocha, D. C. F., B. H. Godoy y S. D. Peccinini. 1997. Evidence of an unisexual population of the Brazilian whiptail lizard genus *Cnemidophorus* (Teiidae), with description of a new species. *Herpetologica*. 53:374-382.
- Romero, V. J. R. 2001. Reproducción asexual clónica: Un dilema ético. *Revista Cubana Medicina*; 40:3-9.
- Schluter, D. 2003. The ecology of adaptive radiation. Oxford, University Press Oxford. 288pp.
- Simon, J. C., F. Delmotte, C. Rispe y T. Crease. 2003. Phylogenetic relationships between parthenogens and their sexual relatives: The possible routes to parthenogenesis in animals. *Biological Journal of the Linnean Society* 79:151-163.
- Sinclair, A. E., R. Scholl R., R. L. Bezy, K. A. Crandall, y J. W. Sites. 2006. Isolation and characterization of di- and tetranucleotide microsatellite loci in the yellow-spotted night lizard *Lepidophyma flavimaculatum* (Squamata: Xantusiidae). *Molecular Ecology Notes*. 6:233–236.
- Staden, R. 1996. The Staden Sequence Analysis Package. *Molecular Biotechnology*, 5:233-241.



- Swofford, D. L. 2000. PAUP\*, phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland.
- Taylor, H. L. y C. R. Cooley. 1995. A multivariate analysis of morphological variation among parthenogenetic Teiid lizards of the *Cnemidophorus cozumela* complex. Department of Biology Denver USA. 51:67-76.
- Thompson, J.D., T.J Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, D.G. Higgins. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 24: 4876-4882.
- Valencia A. S. El problema de la especie. 1991. *Ciencias.* 24:13-22.
- Vidal-Zepeda, R. 1989. Precipitación (mapa de la República Mexicana): Universidad Autónoma de México, núm. IV.4.6, escala 1: 4'000,000.
- Vrijenhoek, R. C., R. M. Dawley, C. J. Cole, y J. P. Bogart. 1989. A list of the known unisexual vertebrates. En: *Evolution and ecology of unisexual vertebrates.* Dawley. R. M. y J. P. Bogart (eds.) Pp. 19-23. New York State Museum Bulletin 466, New York.
- Vyas, D., C. Moritz, D. Peccinini-Seale, J. W. Wright y W. M. Brown. 1990. The evolutionary history of parthenogenetic *Cnemidophorus lemniscatus* (Sauria: Teiidae). II Maternal origin and age inferred from mitochondrial DNA analysis. *Evolution.* 44:922-932.
- Wright, J. W., C. Spolski y W. M. Brown. 1983. The origin of the parthenogenetic lizard *Cnemidophorus laredoensis* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Herpetologica.* 39:410-416.
- Wright, J. W. 1993. Evolution of the lizards of the genus *Cnemidophorus*. En: *Biology of whiptail lizards (genus Cnemidophorus).* Wright, J. W. y L. J. Vitt (eds.), Pp. 27-81. Oklahoma Museum of Natural History, Norman, Oklahoma, U. S. A.

Zug, G. R. 1993. Herpetology, An introductory biology of amphibians and reptiles. San Diego, California U. S. A. Academic Press. 527 pp.

Zug, G. R., L. J. Vitt y J. P. Caldwell. 2001. Herpetology, An introductory biology of amphibians and reptiles. Second edition. San Diego California U. S. A. Academic Press. 630 pp.

## ANEXO 1

### LISTA DE ESPECIES PARTENOGENÉTICAS DE LACERTILIOS

Familia	Género	Grupo	Especie		
Teiidae	Aspidoscelis	A. tessellata	A. tessellata	(Manríquez-Morán, 2007)	
			A. dixoni		
			Complejo A. neotesselata		
			A. neomexicana		
		A. cozumela	A. maslini		
			A. cozumela		
			A. rodecki		
			Especie G		
		A. sexlineata	A. exsanguis		
			Complejo A. uniparens		
			Complejo A. flagellicauda		
			Complejo A. sonora		
			Complejo A. opatae		
	Complejo A. laredoensis				
				Complejo A. velox	
		Cnemidophorus		C. cryptus	(Cole y Dessauer, 1993).
				C. pseudolemniscatus	
			C. nativo	(Rocha <i>et al.</i> , 1997).	
		Kentropyx	K. borckianus	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
		Teius	Teius suquiensis	(Martori, 1993)	
Lacertidae	Darevskia		D. unisexualis	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
			D. uzzelli		
			D. bendimahiensis	(Murphy <i>et al.</i> , 2000).	
			D. sapphirina		
			D. rostombekowi		
			D. armeniaca	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
			D. dahli		
Xantusiidae	Lepidophyma		L. flaviculatum	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
Gekkonidae	Hemidactylus		H. garnotii	(Moritz <i>et al.</i> , 1993; Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
			H. vietnamensis	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
	Heteronotia		H. binoei		
	Lepidodactylus		L. lugubris	Moritz <i>et al.</i> , 1993; Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
	Nactus		N. arnouxi	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
Agamidae	Leiolepis		L. triploida	(Malysheva <i>et al.</i> , 2006)	
			L. guentherpetersi		
			L. boehmei		
Chamaeleonidae	Brookesia		Brookesia spectrum affinis	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	
Scincidae	Menetia		M. greyii	(Gardner <i>et al.</i> , 2004)	
Gymnophthalmidae	Gymnophthalmus		G. underwoodi	(Vrijenhoek <i>et al.</i> , 1989)	

## ANEXO 2

### EXTRACCIÓN DE DNA CON ACETATO DE AMONIO (Fetzner, 1999).

1. Colocar el tejido (en pequeños fragmentos) en 900  $\mu$ l de buffer de lisis con 20  $\mu$ l de proteinasa K (10 mg/ml).
2. Mezclar con vortex y colocarlos a 55° C durante toda la noche, con agitación ocasional durante las primeras horas.
3. Sacar la muestra de la estufa y dejar enfriar a temperatura ambiente.
4. Una vez que la muestra alcance la temperatura ambiente, agregar 4  $\mu$ l de RNasa (10 mg/ $\mu$ l). Agitar con vortex y colocar en baño maría a 37° C por una hora.
5. Enfriar la muestra a temperatura ambiente y agregar 300  $\mu$ l de acetato de amonio 7.5 M. Agitar con vortex por 10 segundos y colocarla en hielo por 10 – 15 minutos.
6. Remover la muestra del hielo y centrifugar a velocidad máxima (13 – 14 rpm) por 3 minutos.
7. Transferir el sobrenadante a un tubo nuevo (1.5 ml) y centrifugar por 2 – 3 minutos más.
8. El sobrenadante de la segunda centrifugación es transferido a un tubo de 2 ml que debe contener 900  $\mu$ l de isopropanol. Invertir el tubo aproximadamente 20 veces para observar el DNA. Sí el DNA no es observado, colocar la muestra a –20 ° C durante toda la noche. Sí se observa DNA, centrifugar inmediatamente a velocidad máxima para obtener el botón de DNA.
9. Después de la centrifugación, eliminar el isopropanol y lavar el botón con 500  $\mu$ l de etanol al 70 %. Centrifugar la muestra por 2 minutos y eliminar el etanol (completamente). Colocar los tubos en un concentrador de DNA a temperatura media (50 – 60° C) por 5 minutos (o hasta que todo el alcohol se haya evaporado).
10. Resuspender el botón de DNA en 30 – 100  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O, dependiendo de su tamaño.

### **ANEXO 3**

#### **PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE PCR (PRECIPITACIÓN CON POLIETILEN GLICOL; Reeder, 2003).**

##### **PARA REACCIONES DE 25 µl**

- 1.** Transferir los productos de PCR a un tubo de 1.5 ml y agregar 20 µl de PEG 20% - NaCl 2.5 M
- 2.** Incubar a 37° C por 20 minutos
- 3.** Centrifugar a velocidad máxima por 20 minutos
- 4.** Eliminar el sobrenadante con una pipeta (tratando de no tocar el botón)
- 5.** Agregar 150 µl de etanol al 80% frío (-20 ° C)
- 6.** Centrifugar a velocidad máxima por 10 minutos
- 7.** Eliminar el sobrenadante con una pipeta (tratando de no tocar el botón)
- 8.** Agregar 150 µl de etanol al 95% frío (-20 ° C)
- 9.** Centrifugar a velocidad máxima por 10 minutos
- 10.** Eliminar el sobrenadante con una pipeta (tratando de no tocar el botón)
- 11.** Colocar los tubos en un concentrador de DNA a temperatura media (50 – 60° C) por 10 minutos (o hasta que todo el alcohol se haya evaporado)
- 12.** Resuspender el botón de DNA en 10-15 µl de H<sub>2</sub>O, dependiendo del tamaño del botón

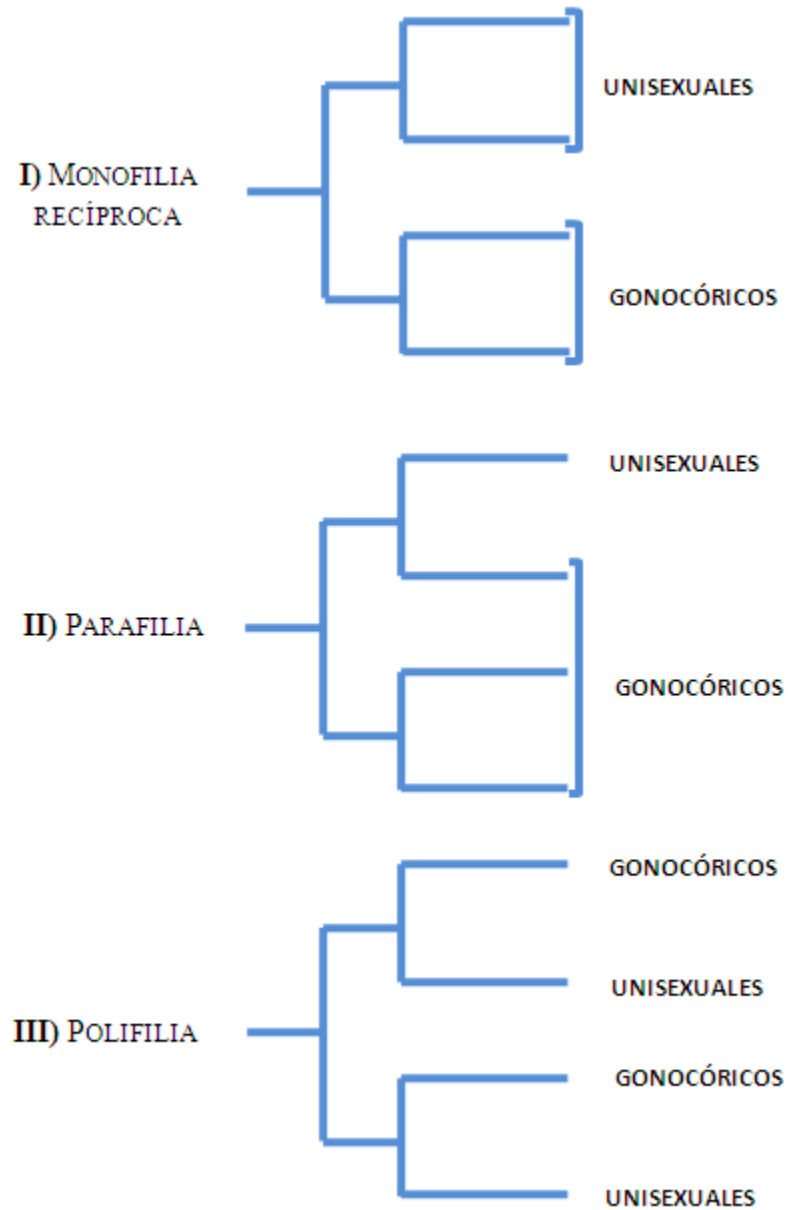
## ANEXO 4

### PURIFICACIÓN DE LA REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN (SEPHADEX EN COLUMNAS CENRI-SEP; Princeton Separations).

1. Colocar la tapa a cada una de las columnas de plástico
2. Agregar 750  $\mu$ l de la solución de *sephadex* (2.6 g/40ml H<sub>2</sub>O) a cada una de las columnas
3. Mover la tapa de las columnas para extraer las burbujas
4. Quitar las tapas y cuando las columnas comiencen a gotear, colocarlas en el tubo colector
5. Centrifugar por 2 minutos a 2800 rpm
6. Rotular tubos de 1.5 ml con los datos de las muestras
7. Colocar las columnas en los tubos rotulados y vaciar los productos de la reacción de secuenciación (a los que previamente se les agregó 10  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O) justo en el centro de la columna de *sephadex*
8. Centrifugar por 4 minutos a 2800 rpm
9. Secar en un concentrador de DNA a temperatura media por 20 minutos o hasta que el agua sea totalmente evaporada

## ANEXO 5

RELACIONES FILOGENÉTICAS QUE SE PRESENTAN EN LOS TAXONES UNISEXUALES SEGÚN SU ORIGEN Y LA RELACIÓN QUE ESTABLECEN CON SU ESPECIE MATERNA.



Tomado y modificado de *Awise et al.* (1992).