



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN

BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN

**COMPARACIÓN MORFOLÓGICA Y DISTANCIA GENÉTICA EN DOS
POBLACIONES DE *Sceloporus minor* (SQUAMATA:
PHRYNOSOMATIDAE) EN EL ESTADO DE HIDALGO, MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y
CONSERVACIÓN**

PRESENTA:

GARCÍA ROSALES AARON

DIRECTOR: DR. AURELIO RAMÍREZ BAUTISTA

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO

Enero, 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

Dirección

M. EN A. JULIO CESAR LEINES MEDÉCIGO
DIR. ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E

Por este conducto le comunico que, después de revisar el trabajo titulado "COMPARACIÓN MORFOLÓGICA Y DISTANCIA GENÉTICA EN DOS POBLACIONES DE *Sceloporus minor* (SQUAMATA: PHRYNOSOMATIDAE) EN EL ESTADO DE HIDALGO, MÉXICO", que presenta el alumno de la Maestría en Ciencias en Biodiversidad y Conservación, **Biól. Aaron García Rosales**, el Comité Revisor de tesis 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 Comité Revisor.

PRESIDENTE: Dr. Numa P. Pavón Hernández
SECRETARIO: Dr. Adrián Nieto Montes de Oca
VOCAL: Dr. Aurelio Ramírez Bautista
PRIMER SUPLENTE: Dr. Luis Fernando Rosas Pacheco

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

ATENTAMENTE
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"
Mineral de la Reforma, Hgo., a 13 de enero del 2014.

DR. ORLANDO ÁVILA POZOS
DIRECTOR I.C.B.I.



**EMPRESA
SOCIALMENTE
RESPONSABLE**

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,
Carretera Pachuca - Tulancingo Km. 4.5, Ciudad del Conocimiento,
Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
Tel. +52 771 7172000 exts. 2230 y 2231, Fax 2109
avilap@uaeh.edu.mx



“Nadie más que uno puede liberar su mente de la esclavitud”

Robert Nesta Marley Booker **“Bob Marley”**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Aurelio Ramírez Bautista, por haberme aceptado como su alumno, y haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, enseñanzas. Muchas gracias doctor, es usted una persona admirable y un ejemplo a seguir.

Al Dr. Numa P. Pavón por el seguimiento que dio a lo largo de este proyecto, por sus comentarios siempre acertados que mejoraron este trabajo, por su constante motivación mil gracias.

Al Dr. Adrian Nieto Montes de Oca, por todas las observaciones realizadas al manuscrito y por el apoyo brindado durante mi estadía en el laboratorio de Herpetología de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

Al Dr. Fernando Rosas Pacheco, por todas las observaciones y el apoyo para mejorar y finalizar diversos aspectos de este trabajo, muchas gracias.

Así también quiero agradecer a la Dra. Rubí Meza Lázaro, por la capacitación en la elaboración de las diversas técnicas moleculares desarrolladas en este trabajo, durante mi estancia en la Facultad de Ciencias de la UNAM.

De manera muy especial, quiero agradecer al M. en C. Matías Martínez Coronel, por haberme aceptado como su alumno de licenciatura y formar parte de su grupo de trabajo, y de esa manera adentrarme en el estudio de los anfibios y reptiles, por todo el apoyo, consejos y enseñanzas recibidas hasta hoy en día, por esos buenos y memorables viajes a Oaxaca, mil gracias.

Al M. en C. Raciél Cruz Elizalde, por todo el apoyo recibido en las salidas al campo, por su disponibilidad de tiempo, por las buenas y largas pláticas y por todos aquellos momentos memorables que hemos compartido, gracias.

A toda la banda del laboratorio de ecología del paisaje (antes ecología de poblaciones) que de una u otra forma me ayudaron en la realización de este trabajo. En especial quiero agradecer a Raciél Cruz Elizalde, Itzel Magno Benítez y Jorge Luis Becerra López con quienes compartí excelentes momentos en campo, laboratorio y en lo personal, gracias a todos.

A la banda que ya conocía y a los que conocí en Pachuca, y me han brindado su apoyo y amistad: Ubaldo Márquez Luna, Karina Cue Hernández y Jorge Ernesto Becerra López.

Al CONACyT por el apoyo económico brindado durante mis estudios de maestría, mediante el programa de becas nacionales (becario número 441205).

A los habitantes de la localidad de La Manzana y El Enzuelado, por facilitarnos nuestro trabajo en campo, realizado en estas regiones.

DEDICATORIA

A mi pequeña **Marley** quien es mi mayor motivación y la persona más importante en mi vida, TE AMO.

A mi compañera **Jacqueline**, por todo el apoyo y comprensión, y principalmente por aguantarme todos estos años, TE AMO.

A mis padres **Teresa y Gildardo**, las personas que hicieron todo para que yo pudiera llegar hasta donde estoy, por ser unas personas admirables y un ejemplo a seguir, por su apoyo y cariño, por alentarme a seguir adelante y estar conmigo en los buenos y malos momentos, les estaré eternamente agradecido.

A toda mi **familia**.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	5
JUSTIFICACIÓN	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
OBJETIVOS	10
<i>General</i>	10
<i>Particulares</i>	10
DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO	11
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE	11
MÉTODOS	14
<i>Área de estudio</i>	14
<i>Trabajo de campo</i>	16
<i>Trabajo de laboratorio</i>	17
<i>Patrones de coloración</i>	19
<i>Distancia genética</i>	20
<i>Análisis estadísticos</i>	25
RESULTADOS	28
<i>Dimorfismo sexual</i>	28
<i>Variación morfológica entre poblaciones</i>	35
<i>Análisis de componentes principales</i>	39
<i>Caracteres codificados; multiestado y patrones de coloración</i>	42
<i>Distancia genética</i>	49
DISCUSIÓN	53
<i>Dimorfismo sexual</i>	53

Variación morfológica entre poblaciones	55
Distancia genética	58
CONCLUSIONES	60
LITERATURA CITADA	61
REFERENCIAS ELECTRÓNICAS	69
APÉNDICES	70
Apéndice I	70
Apéndice II	72
Apéndice III	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de las especies del complejo <i>jarrovii</i> en el norte de México y suroeste de Estados Unidos.....	12
Figura 2. Variación de la coloración dorsal en machos y hembras de <i>S. minor</i>	13
Figura 3. Mapa del estado de Hidalgo, en donde se indica el área de estudio...	14
Figura 4. Tipos de vegetación.....	15
Figura 5. Datos mensuales de temperatura y precipitación de La Manzana.....	15
Figura 6. Datos mensuales de temperatura y precipitación de El Enzuelado...	15
Figura 7. Extracción de ADN con el método de fenol-cloroformo.....	21
Figura 8. Extracción de ADN con el método de acetato de amonio.....	22
Figura 9. Patrón de bandeo resultado de las amplificaciones.....	24
Figura 10. Patrones de coloración en la región ventral de machos y hembras..	34
Figura 11. Variables morfométricas que explican la variación en ambas poblaciones.....	40

Figura 12. Algunos patrones de coloración de la región dorsal de los machos de La Manzana.....	47
Figura 13. Algunos patrones de coloración de la región dorsal de los machos de El Enzuelado.....	48
Figura 14. Análisis de máxima verosimilitud.....	50
Figura 15. Análisis de máxima verosimilitud en donde se observa la filogenia de las especies evolutivas del complejo <i>jarrovi</i> propuestas por Wiens et al., 1999.....	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracteres morfológicos analizados en este trabajo, agrupados según su naturaleza.....	18
Tabla 2. Secuencias de los <i>Primer</i> utilizados en este estudio.....	23
Tabla 3. Características morfológicas que se utilizaron para determinar si en ambas poblaciones existe dimorfismo sexual.....	29
Tabla 4. Análisis de covarianza dentro de cada población eliminando el efecto que tiene la LHC sobre las demás variables morfométricas.....	31
Tabla 5. Patrones de coloración para machos y hembras de La Manzana.....	32
Tabla 6. Patrones de coloración para machos y hembras de El Enzuelado.....	33
Tabla 7. Lista de características en las que se encontraron diferencias entre ambas poblaciones.....	36
Tabla 8. Análisis de covarianza entre poblaciones eliminado el efecto que tiene la LHC sobre las demás variables morfométricas.....	38
Tabla 9. Porcentaje de variación que explica cada componente en el Análisis de Componentes Principales (ACP).....	39
Tabla 10. Variables morfométricas que explican el diseño morfológico en ambas poblaciones.....	41
Tabla 11. Caracteres multiestado analizados en este estudio para los machos..	43
Tabla 12. Caracteres multiestado analizados en este estudio para hembras.....	44

Tabla 13. Patrones de coloración en machos analizados en este estudio.....	45
Tabla 14. Patrones de coloración en hembras analizados en este estudio.....	46
Tabla 15. Distancia genética entre especies del complejo <i>jarrovi</i>	51
Tabla 16. Distancia genética dentro de cada especie del complejo <i>jarrovi</i>	51

RESUMEN

Las lagartijas de la especie *Sceloporus minor* han sido utilizadas para realizar estudios enfocados a su conducta, sistemática, ecología y reproducción, entre otros. En relación con la reproducción. Ramírez-Bautista et al. (2013) estudiaron dos poblaciones en el estado de Hidalgo, donde encontraron variación inter-poblacional en: edad a la reproducción, tamaño de la camada, extensión reproductiva y variación en la actividad reproductiva entre machos y hembras. Sin embargo, no se clarifica a qué se deben estas diferencias. Se hipotetiza que puede ser una respuesta a las condiciones en las que habita cada población o bien, si son debido a un proceso de aislamiento reproductivo. Por lo que, en este trabajo se analizaron los niveles de variación morfológica intra e interpoblacional y se estimó la distancia genética entre poblaciones con base en el gen mitocondrial ND4 de *S. minor*. Los resultados indican un marcado dimorfismo sexual en ambas poblaciones, lo cual se ve reflejado en una mayor talla y patrones de coloración más conspicuos en diferentes regiones del cuerpo de los machos. Así también, se encontró que los individuos de la población de El Enzuelado son de mayor tamaño en longitud hocico-cloaca que los de La Manzana. Además entre poblaciones se encontraron diferencias en el patrón de coloración dorsal y del collar obscuro de los machos, y del área gular en hembras. La distancia genética entre ambas poblaciones fue de 0.024, un poco mayor a la distancia registrada dentro de cada población (0.015 para La Manzana y 0.003 para El Enzuelado). Un análisis de máxima verosimilitud indica que estas poblaciones (La Manzana y El Enzuelado) son conespecíficas, junto con las otras poblaciones analizadas de *S. minor*. En conclusión, las diferencias morfológicas aunada a la poca distancia genética registrada entre estas poblaciones, indican que estas poblaciones están estrechamente relacionadas (son conespecíficas), en este sentido, las diferencias morfológicas y la de algunos atributos relacionados con la reproducción y el dimorfismo sexual entre poblaciones estarían sugiriendo una plasticidad fenotípica en respuesta al ambiente contrastante en el que habitan estas poblaciones.

INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que existen variaciones en las características morfológicas, fisiológicas, conductuales, reproductivas y genéticas entre poblaciones de una especie con amplia distribución (Arévalo et al., 1991; Leyte-Manrique, 2011). Cuanto mayor sea la distancia entre una y otra población, más pronunciadas pueden ser las diferencias en estas características (Leo-Smith et al., 2001; Vitt et al., 1997). Estas diferencias pueden ser explicadas debido a que los organismos viven en ambientes físicos variables con respecto a la temperatura, humedad, luz, nutrientes, etc., factores que difieren de un sitio a otro según la latitud, altitud, la región o localidad. Además, los factores físicos varían con el tiempo (anual, estacional y diariamente). Cualquier factor ambiental puede potencialmente limitar la supervivencia de un organismo, su crecimiento, y por lo tanto, su adecuación (Leo-Smith et al., 2001).

En este sentido, la manera como se distribuyen las especies depende de diversos factores, que en general corresponden a dos clases principales: los componentes históricos y ecológicos (Strickberger, 1993). Los primeros ya no intervienen más en la actualidad, pero en el pasado afectaron profundamente la distribución de las especies por su gran escala, es decir, operaron durante millones de años y abarcaron áreas geográficas muy extensas, como continentes, países y regiones; los segundos actúan en el presente en función de las adaptaciones de los organismos al medio ambiente, es decir, la distribución de las especies depende de su tolerancia a los diferentes componentes ecológicos, se producen a escalas pequeñas de espacio y tiempo, como ecosistemas y microhábitats en cientos a miles de años (Strickberger, 1993; Eliosa-León et al 2010). Cualquiera de estos dos factores (históricos y/o ecológicos) puede provocar variación.

En ecología evolutiva, el estudio de las variaciones fenotípicas entre poblaciones de una especie, es un campo que ha sido de gran interés para poder explicar las causas y efectos de esta variación (Jetz et al., 2009). Estas variaciones pueden, finalmente promover la especiación (Leyte-Manrique, 2011), en el que una especie puede dar lugar a una o más especies (Coyne y Orr, 2004; Wiens, 2004). La problemática en la taxonomía de las especies se encuentra en gran medida implícita en el propio proceso de especiación (Strickberger, 1993; Ruiz-Gutiérrez, 1999). Esto es, las diferencias entre las poblaciones que muchas veces hacen que sean difíciles de clasificar como variedad, subespecie o especie, derivan del hecho de que están sufriendo cambios evolutivos que pueden diferir en intensidad y en secuencia (Strickberger, 1993; Valencia-Avalos, 1999), debido a que las distinciones fenotípicas y genotípicas no evolucionan de manera uniforme, si no que las comparaciones entre las diferentes poblaciones, generalmente muestran distintos grados de cambio en varios caracteres. En las

formas sexuales, el resultado global de tales diferencias se traduce en distintos grados de aislamiento reproductivo y diferencias morfológicas (Strickberger, 1993; Ruiz-Gutiérrez, 1999).

Las diferencias en las características morfológicas a nivel intrapoblacional e interpoblacional, podrían ser reflejo de las diferencias ambientales en que viven los individuos de las poblaciones y no necesariamente reflejar diferencias a nivel genético. En otras palabras, estas diferencias podrían ser atribuidas a plasticidad fenotípica, que se refiere a la diferente expresión del mismo genotipo como resultado de la variación en el medio ambiente (Sultan y Stearns, 2005). Esta idea ha sido probada en otras especies, que diferentes poblaciones de la misma especie que viven en ambientes contrastantes, presentan características morfológicas y de historia de vida (talla y edad a la madurez sexual, supervivencia, tamaño de puesta o camada, tamaño de la cría al nacer, etc.) distintas (Ferguson y Brockman, 1980; Benabib, 1994; Michaud y Echternacht, 1995; Ramírez-Bautista et al., 2002; Ramírez-Bautista et al., 2004; Leyte-Manrique, 2006). O bien, las causas que promueven la variación podrían ser consecuencia de la dinámica de los diferentes procesos/fuerzas evolutivas como la deriva génica, mutación, endogamia, flujo génico o selecciones locales (Wiens et al., 2006; Kozak et al., 2009).

Las especies son unidades biológicas importantes porque representan un nivel de integración básico en la naturaleza viviente, proveen las bases para describir y cuantificar la biodiversidad y los procesos postulados que operan en la naturaleza (por ejemplo especiación y competencia), y porque son la unidad básica de las clasificaciones taxonómicas (Valencia-Avalos, 1999). Aunque las especies son la unidad fundamental en los estudios de evolución, ecología, filogenia y conservación biológica, se presta una atención muy escasa a los métodos para reconocerlas y delimitarlas (Wiens y Penkrot, 2002). En reptiles, los trabajos históricos sobre taxonomía han usado los métodos morfológicos para describir nuevos géneros y especies (por ejemplo, Smith y Taylor, 1996). Hoy en día, las filogenias basadas en secuencias de datos de ADN se utilizan cada vez más para poner a prueba los métodos tradicionales de taxonomía basados en la morfología para describir especies o bien para tratar de aclarar complejos de especies (Hillis y Wiens, 2000; Marshall et al., 2006). Sin embargo, no se dejan de utilizar los métodos morfológicos (Woolrich-Piña y Smith, 2012; Nieto-Montes de Oca et al., 2013), ecológicos (Leyte-Manrique 2011), y los de historias de vida (Ferguson et al., 1980; Ramírez-Bautista et al., 2004). La delimitación de especies es importante si se considera a la especie como la unidad básica de análisis en diversas áreas de investigación (Marshall et al., 2006), no obstante, el concepto de especie o su delimitación no es tan sencillo y puede tener varias vertientes, dependiendo del enfoque y línea de investigación (Ruiz-Gutiérrez, 1999; Valencia-Avalos, 1999; Marshall et al., 2006).

El género *Sceloporus* pertenece a la familia Phrynosomatidae, en éste género se incluyen alrededor de 135 especies (Wilson et al., 2013), que se distribuyen desde Estados Unidos hasta Centro América (Smith, 1939). Entre las especies de este género se encuentra *S. minor*, una especie endémica de México (Wiens et al., 1999), perteneciente al grupo *Poinsetti* (Wiens et al., 2010). En el presente estudio se comparó la morfología (caracteres morfométricos, merísticos, multiestado y patrones de coloración) y se midió la distancia genética en base al gen mitocondrial ND4 de la lagartija *S. minor* procedente de dos localidades (La Manzana en el municipio de Zimapán y El Enzuelado municipio de San Agustín Metzquititlan) del estado de Hidalgo, México. Hasta donde se sabe, estas poblaciones se encuentran aisladas geográficamente y habitan ambientes contrastantes (altitud, tipo de vegetación, temperatura, precipitación etc.), por lo que, considerando el marco teórico, se esperaría que estas poblaciones fueran morfológicamente diferentes y que la distancia genética sea alta (alejada de cero).

ANTECEDENTES

Las historias de vida del género *Sceloporus* son quizá las más y mejor estudiadas en estas lagartijas (Tinkle et al., 1970; Benabib, 1994; Ramírez-Bautista et al., 2013). Dicho género representa un buen modelo para este tipo de estudios debido a que existen especies de vida corta, larga, con modo de reproducción ovípara y vivípara, con una sola puesta (ovípara) o camada (vivípara) o múltiples puestas por estación y habitan en prácticamente todos los tipos de clima en México (Ramírez-Bautista et al., 2004).

La especie *S. minor* ha sido un buen modelo para realizar estudios enfocados a conducta, sistemática, ecología, reproducción, entre otros (Wiens et al., 1999; Ramírez-Bautista et al., 2008; Stephenson, 2010; Stephenson y Ramírez-Bautista, 2012; Ramírez-Bautista et al., 2013). El desarrollo de estos estudios ha sido posible por considerar a las lagartijas como “buenos modelos de organismo” que se reflejan en sus características ecológicas (presentan actividad todo el año, poblaciones grandes y manejables en áreas relativamente pequeñas), conductuales (fáciles de distinguir los despliegues para atraer a su pareja), fisiológicas y reproductivas (Vitt y Carvalho, 1995). No obstante, nada existe acerca de la morfología entre poblaciones de ésta, aún sabiendo que los criterios morfológicos son una herramienta importante que han usado los taxónomos para delimitar especies, y de igual forma, no se ha cuantificado la distancia genética entre poblaciones de esta especie.

Las variaciones en la morfología entre individuos de poblaciones separadas, pueden ser atribuidas a la plasticidad fenotípica, lo que podría no reflejar divergencia a nivel genético, simplemente que los organismos están respondiendo a las exigencias particulares del lugar donde ocurren (Stearns, 1992).

Este patrón se ha observado en poblaciones de *S. undulatus*, en las que se probó que en poblaciones independientes, los organismos difieren en su morfología y en otras características de historia de vida (tamaño de la camada, talla a la madurez; Tinkle y Ballinger, 1972). De manera similar, Vitt et al (1997) compararon la morfología en dos poblaciones de *Triopidurus hispidus*, y encontraron que existe variación morfológica entre los individuos de ambas poblaciones, lo cual alude a la presencia de morfos distintos; además, mencionan que esta variación se debe a los ambientes contrastantes en que viven estas lagartijas.

Por otro lado, trabajos más recientes, como el de Leyte-Manrique (2006) comparó la morfología y ecología de dos poblaciones de *S. grammicus*, en la que sólo encontraron diferencias en la LHC y la longitud de la mandíbula, lo cual sugiere una plasticidad morfológica como una posible respuesta a las

características ambientales específicas de cada localidad; sin embargo, las similitudes encontradas en las dimensiones de la cabeza, extremidades y patrones de coloración entre ambas poblaciones son parte de la historia filogenética de la especie, es decir, son caracteres fijos que únicamente mostraron diferencias en machos y hembras como parte de su dimorfismo sexual, y no como consecuencia de aislamiento y divergencia significativos entre poblaciones. Años más tarde, el mismo autor (Leyte-Manrique, 2011) determinó que la variación morfológica y ecológica son evidencias de que las poblaciones (de las razas cromosómicas) del complejo *Sceloporus grammicus* en su área de distribución dentro del estado de Hidalgo, se encuentra en un proceso de especiación. Los resultados de su estudio indican que morfológica y ecológicamente las razas presentan divergencias, y a partir de esto, delimitó a las razas cromosómicas en función de sus relaciones ecomorfológicas en siete unidades evolutivas, designada en su trabajo como ecomorfotipos. Por lo que, la morfología es una herramienta muy importante para comparar y saber cómo las variaciones de algunas estructuras morfológicas de los organismos pueden influir en la evolución de las historias de vida de los individuos (Stearns, 1992).

Recientemente se han utilizado nuevas técnicas para definir con precisión diferentes características de especies y subespecies mediante el análisis de ADN mitocondrial (ADNmt) y nuclear, que define las características genéticas de los individuos estudiados, apoyándose en la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), esta técnica queda restringida obviamente a los organismos contemporáneos, de los que es posible extraer ADN o ARN, no obstante las aproximaciones moleculares superan a muchas de sus limitaciones en cuanto a la toma de muestras, dado que los cambios evolutivos sobre el nivel de sustitución de aminoácidos y nucleótidos puede ser cuantificado y comparado entre los organismos en turno independientemente de lo diferente que sean sus características fenotípicas (Strickberger, 1993).

El genoma del ADNmt ha sido ampliamente utilizado en estudios de filogenia molecular (Wiens et al., 1999; Wiens y Penkrot 2002). En animales superiores, el ADNmt es generalmente pequeño (entre 15 a 20 mil bases = a 15 000 a 20 000 pares de bases) y contiene 37 genes: dos genes codifican para RNA ribosomal (RNAr), 13 para proteínas y 22 para RNA de transferencia (RNAt). Los genes mitocondriales tienen una tasa de evolución más rápida que los genes nucleares, por lo mismo los genes mitocondriales son marcadores idóneos cuando se pretende diferenciar organismos estrechamente relacionados (Boore, 1999). En muchos casos se utiliza el gen ND4, el cual contiene 889 pares de bases (pb), 133 caracteres de parsimonia informativa (Wiens y Penkrot, 2002) y codifica para un polipéptido de la subunidad hidrofílica del complejo I de la NADH deshidrogenasa. Este gen es un excelente marcador de estudios de genética de poblaciones y diversidad genética.

Sin embargo, existen pocos estudios donde combinen la técnica molecular con la morfología. Al respecto Wiens y Penkrot (2002) utilizaron estas dos técnicas a manera de ejemplo para poder explicarlas y compararlas, utilizando las lagartijas espinosas del complejo *Sceloporus jarrovii*, en el que dividen a este complejo de siete subespecies, en cinco especies diferentes. De manera similar, Soto-Marambio (2003), realizó un estudio comparativo en *Bufo spinulosus* orientado a establecer la variabilidad fenotípica y genética a nivel intra e interpoblacional a lo largo de su distribución geográfica en Chile, y observó una clara diferencia, tanto a nivel morfológico como genético entre las poblaciones del norte y centro de Chile, lo que indicó ser el producto del aislamiento por la distancia entre las poblaciones, reflejando un bajo flujo genético, siendo potenciadas por la presencia de barreras geográficas, la alta relación entre la distancia geográfica y la distancia genética reafirman este patrón.

Es común observar incongruencias entre los análisis basados en datos morfológicos y los basados en datos moleculares, lo que ha originado una polémica respecto a qué tipo de datos pueden proveer de información adecuada para sustentar y probar hipótesis evolutivas (Hillis y Wiens, 2000).

El principal argumento a favor de la utilización de caracteres moleculares es que son universales. En muchos casos, principalmente cuando se requiere comparar linajes con divergencia temprana, es posible establecer hipótesis de homologías morfológicas; en cambio, existen genes presentes en todos los genomas celulares como los ribosomales que pueden proveer información para reconstrucciones filogenéticas, en donde los caracteres morfológicos son inaplicables. Los datos moleculares también tienen la ventaja de trabajar directamente con la base genética de la variación, mientras que la base genética de la mayoría de los caracteres morfológicos se asume. En los estudios morfológicos, en cambio, los caracteres deben ser descubiertos y delimitados generalmente sin ningún criterio explícito para la selección o la codificación del carácter, por lo que tienen el potencial de ser arbitrarios. Por ejemplo, los morfólogos generalmente no divulgan los criterios utilizados para incluir o excluir caracteres y cuando se dan los criterios, estos varían considerablemente entre estudios (Hillis y Wiens, 2000). Sin embargo, tienen la ventaja de permitir un muestreo taxonómico mucho más cuidadoso que el que se realiza con análisis moleculares, lo que es importante para las revisiones sistemáticas, los estudios de la evolución del carácter y la valoración filogenética. Asimismo, las especies de museo ofrecen muchos caracteres morfológicos para una gran cantidad de taxones, mientras que un muestreo de este tipo para un estudio molecular puede ser difícil por el alto costo de la secuenciación, la necesidad de material relativamente fresco y la inaccesibilidad de las áreas donde se distribuyen algunos de ellos (Hillis y Wiens, 2000).

De lo anterior se puede apreciar que tanto los acercamientos moleculares como morfológicos tienen ventajas y desventajas. Sin embargo hoy en día se sigue utilizando la técnica morfológica para describir nuevas especies (Woolrich-Piña y Smith, 2012; Nieto-Montes de Oca et al., 2013) y en algunos casos combinan esta técnica con las medidas de distancia genética para tener un mayor apoyo en sus resultados (Nieto-Montes de Oca et al., 2013), entonces una estrategia que puede ser más fructífera es utilizar simultáneamente ambas estrategias para entender los procesos de diferenciación y divergencia de las poblaciones de la misma especie.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente se sabe que diferentes poblaciones de una especie con amplia distribución y que se encuentran aisladas una de otra, pueden presentar diferencias en su conducta, patrones de coloración, estructuras morfológicas y en las historias de vida (edad, talla a la madurez sexual, supervivencia y características reproductivas), variaciones que han evolucionado en respuesta al ambiente en que viven (Ramírez-Bautista et al., 2004; Leyte-Manrique, 2006; Leyte-Manrique y Ramírez-Bautista, 2010). O bien, las causas que promueven la variación podrían ser consecuencia de la dinámica de los diferentes procesos/fuerzas evolutivas como la deriva génica, mutación, endogamia, flujo génico o selecciones locales (Wiens et al., 2006; Kozak et al., 2009). Bajo este marco teórico, se espera que la morfología de las poblaciones de *S. minor* de este estudio presente diferencias, y que la distancia genética sea alta (alejada de cero), como se ha observado en poblaciones de otra especie que tienen amplia distribución, que habitan en ambientes contrastantes y/o se encuentra geográficamente aisladas (Ferguson y Brockman, 1980; Soto-Marambio, 2003; Ramírez-Bautista et al., 2004; Leyte-Manrique, 2006).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En 2013 Ramírez-Bautista et al., trabajaron con dos poblaciones de la lagartija *S. minor* (La Manzana y El Enzuelado) en el estado de Hidalgo, México. En donde encuentra diferencias en la edad a la reproducción, tamaño de la camada, extensión reproductiva y variación en la actividad entre machos y hembras. Los machos y las hembras de La Manzana presentan ciclos asincrónicos un patrón típico para especies vivíparas de reproducción otoñal, el cual no solo se ha reportado en los phrynosomatidos (Feria-Ortiz et al., 2001; Ramírez-Bautista y Pavón, 2009) sino también en scincidos (Guillette, 1983; Ramírez-Bautista et al., 1996, 1998) y ánguidos (Guillette y Casas-Andreu, 1978), en la que los machos empiezan su actividad reproductiva antes que las hembras (mayo-junio) y copulan sin que la hembra este activa reproductivamente, ésta guarda los espermias en una estructura denomina espermateca y fecunda sus óvulos cuando estos están maduros, para dar nacimiento a sus crías en primavera (Guillette, 1982). Sin embargo, el ciclo reproductivo de los machos y hembras de El Enzuelado es sincrónico, atípico para especies de alta montaña con reproducción otoñal y un patrón nunca antes reportado para otras especies del grupo *Poinsetti*. Así también la LHC mínima a la madurez sexual de los machos y de las hembras de La Manzana fue menor (56.3 mm y 41.6 mm, respectivamente) que la de El Enzuelado (59.2 mm y 55.3 mm, respectivamente); mientras que el tamaño medio de la camada fue mayor en la población de El Enzuelado que en la Manzana (7.5 y 5 respectivamente).

No obstante, aún no es claro a qué se deben estas diferencias, si es una respuesta a las condiciones en las que vive cada población (plasticidad fenotípica o normas de reacción, *sensu* Stearns, 1992; Sultan y Stearns, 2005) o a que estas poblaciones debido al aislamiento están en vías de especiación. Por lo que, este trabajo tiene como objetivo analizar las estructuras morfológicas intra e inter-poblacional y medir la distancia genética entre las dos poblaciones antes mencionadas, las cuales se encuentran geográficamente aisladas (hasta donde se sabe) una de otra, y por lo tanto, con características ambientales diferentes. Entonces, si las diferencias morfológicas entre poblaciones son significativas y la distancia genética es baja (cercana a cero) se podría sugerir una plasticidad fenotípica, mientras que si no existen diferencias morfológicas significativas y la distancia genética es alta se podría sugerir un conservadurismo filogenético del nicho, o bien, si existen diferencias morfológicas significativas y la distancia genética es alta se podría estar hablando de especies diferentes.

OBJETIVOS

General

- Evaluar la morfología (características morfométricos, merísticos, multiestado y patrones de coloración) y la distancia genética entre los individuos de dos poblaciones con ambientes contrastantes (La Manzana y El Enzuelado) de *S. minor* geográficamente aisladas en el estado de Hidalgo, México.

Particulares

- Evaluar las diferencias en los caracteres morfométricos, merísticos, de escutelación y patrones de coloración a nivel intrapoblacional.
- Evaluar los caracteres antes mencionados a nivel interpoblacional.
- Determinar qué conjunto de características morfológicas distinguen a cada población.
- Evaluar la distancia genética entre ambas poblaciones.
- Distinguir posibles factores que promueven estas variaciones.

DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO

El género *Sceloporus* pertenece a la familia Phrynosomatidae, que cuenta con más de 135 especies (Wilson et al., 2013). Las especies del género se distribuyen desde el sur de Canadá, oeste de Estados Unidos, México, Centro América y oeste de Panamá (Sites et al., 1992; Wiens et al., 2010). En el caso específico de México, su distribución es extensa, cubriendo casi todo el país (Smith, 1939). Habita en casi todos los ambientes, tropicales húmedos, estacionales, áridos y templados (Sites et al., 1992). Se distribuye en varios tipos de vegetación, desde matorral xerófilo a bosque de encino, pino, pino-encino, entre otros (Uribe-Peña et al., 1999). El género es de hábitos arborícolas, terrestres o saxícolas (utilizan rocas o grietas), todos sus representantes son de hábitos diurnos, con reproducción ovípara y vivípara, y de amplia distribución tanto altitudinal como latitudinal abarcando una gran cantidad de hábitats (Sites et al., 1992).

DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Sceloporus minor es miembro del grupo *poinsetii*. En México, esta especie se distribuye en el norte de Querétaro y Guanajuato, oeste de Zacatecas, San Luis Potosí, oeste de Nuevo León y este y oeste de Hidalgo (Wiens et al., 1999; Figura 1), habita ambientes tropicales húmedos, estacionales, áridos y templados (Sites et al., 1992). *Sceloporus minor* presenta una longitud hocico-cloaca (LHC) máxima de 90 mm (Ramos-Flores, 2003; Ramírez-Bautista et al., 2008), con un modo de reproducción vivípara (Smith, 1939; Ramírez-Bautista et al., 2008; Ramírez-Bautista et al., 2013). Su actividad reproductiva de tipo otoñal, similar a otras especies vivíparas del género *Sceloporus* que habitan en montaña (Ramírez-Bautista et al., 2002); el tamaño de camada varía de 3 a 13 crías (Ramos-Flores, 2003; Ramírez-Bautista et al., 2008). Son de hábitos terrestres y semi-arborícola donde utiliza principalmente troncos de árboles y rocas (Ramírez-Bautista et al., 2008). El patrón de coloración dorsal y ventral varía entre los machos (Figura 2; A, B, E y F) y las hembras (Figura 2; C, D, G y H); la zona ventral de los machos es más conspicua (diferentes tonos de azul) que la de las hembras (blanco o de color azul muy tenue).

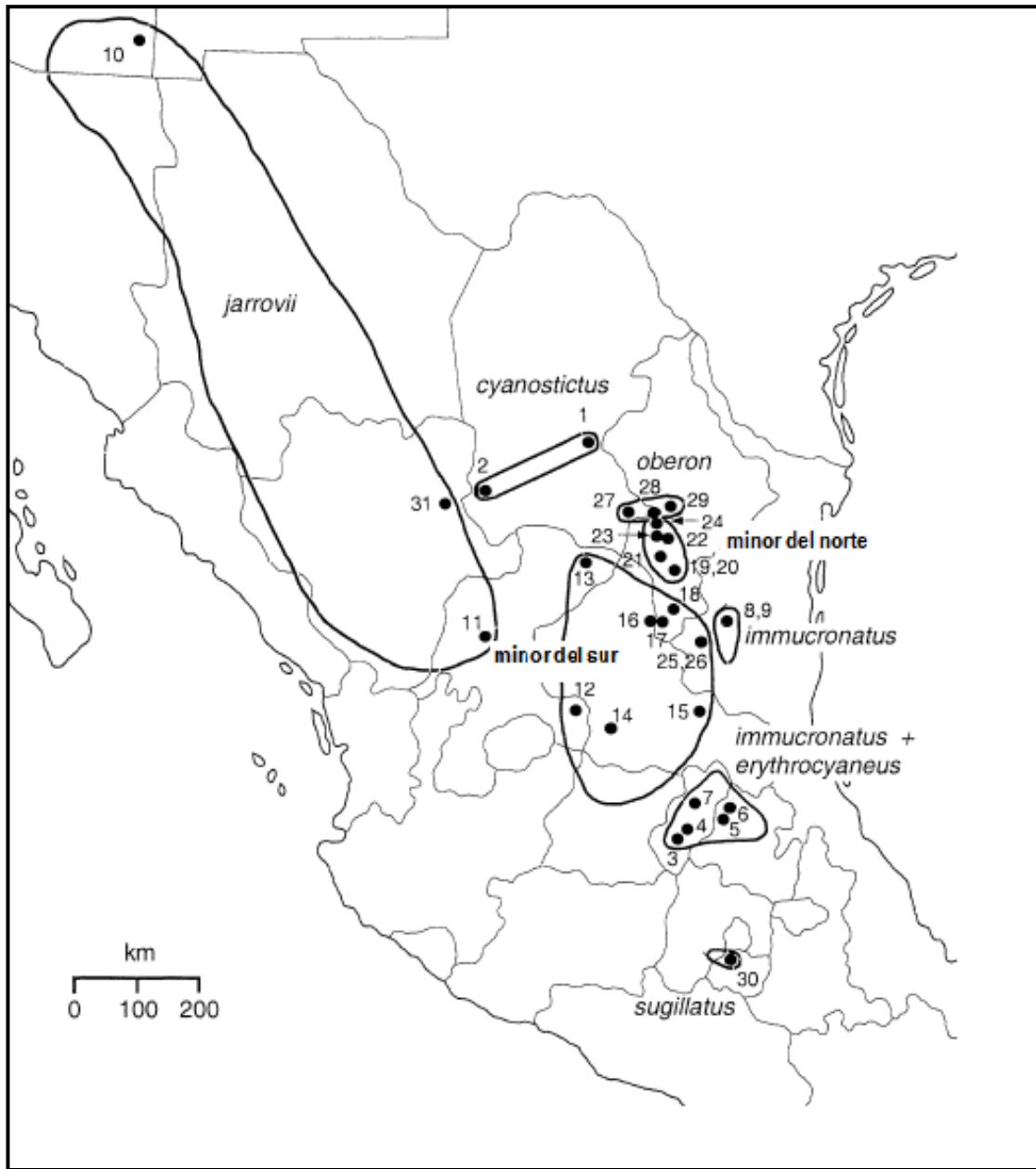


Figura 1. Distribución de las especies del complejo *jarrovii* en el norte de México y suroeste de Estados Unidos, en donde se observa la distribución de *S. minor*. Las subespecies *immucronatus* y *erythrocyaneus* que aparecen en la imagen fueron sinonimizados con la especie *minor*. Imagen tomada y modificado de Wiens et al., 1999.



Figura 2. Variación de la coloración dorsal en machos y hembras de *S. minor*. En A y B, y en C y D se observan machos y hembras respectivamente de la localidad de La Manzana. En E y F, y en G y H se observan machos y hembras respectivamente de la localidad de El Enzuelado.

MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en la localidad de La Manzana, municipio de Zimapán y El Enzuelado, municipio de San Agustín Metzquititlan, Hidalgo, México (Figura 3).

1. La Manzana se encuentra ubicada en las coordenadas $20^{\circ}52'30''\text{N}$, $99^{\circ}33'27''\text{O}$, a una elevación de 2500 msnm. El clima es templado con vegetación de bosque de pino-encino (Figura 4; A), la temperatura media anual de $14.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una precipitación de 565 mm (Figura 5).

2. El Enzuelado se localiza en las coordenadas $20^{\circ}31'54''\text{N}$, $98^{\circ}38'24''\text{O}$, a una elevación de 1955 msnm. El clima es seco con una vegetación de tipo pastizal inducido (Figura 4; B), la temperatura media anual es de $17.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una precipitación de 496.7 mm (Red de estaciones de INIFAP; Figura 6).

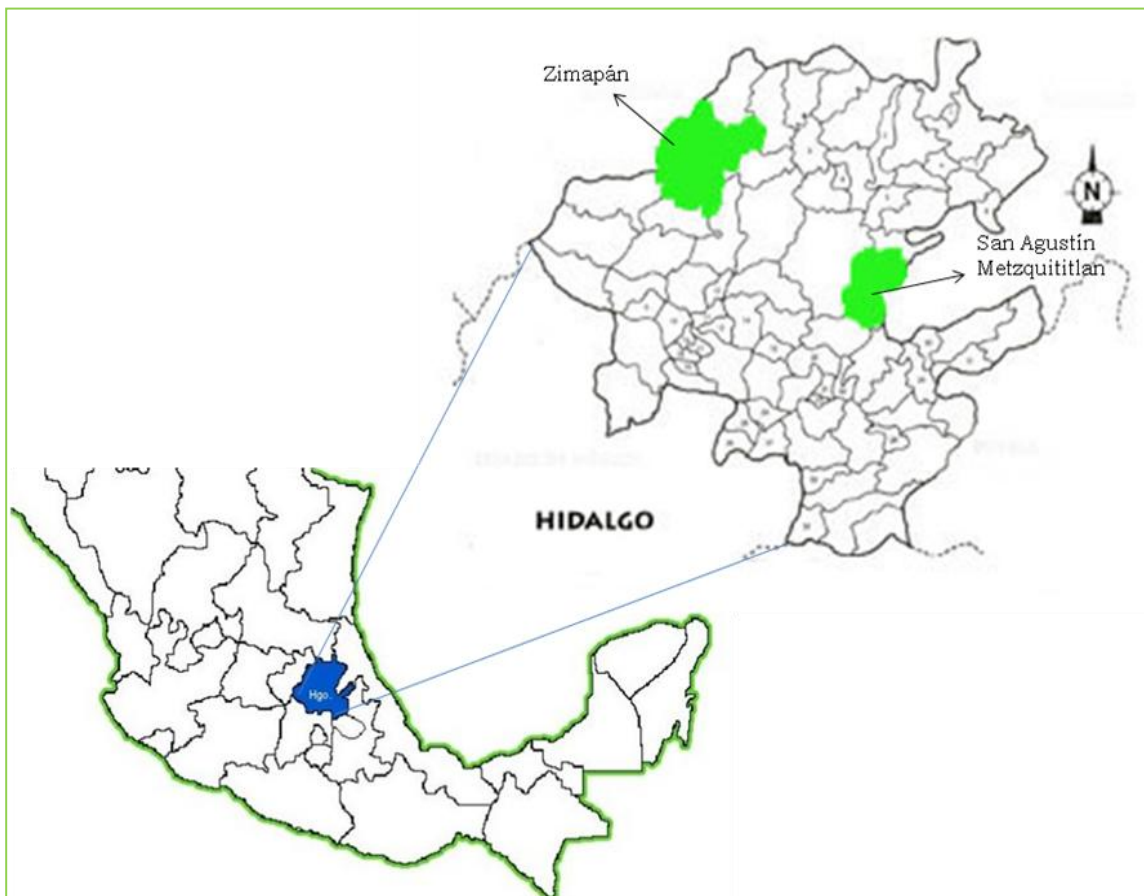


Figura 3. Mapa del estado de Hidalgo, en donde se indica el área de estudio, localizada en los municipios de San Agustín Metzquititlán y Zimapán.



Figura 4. Tipos de vegetación. A: La Manzana. B: El Enzuelado.

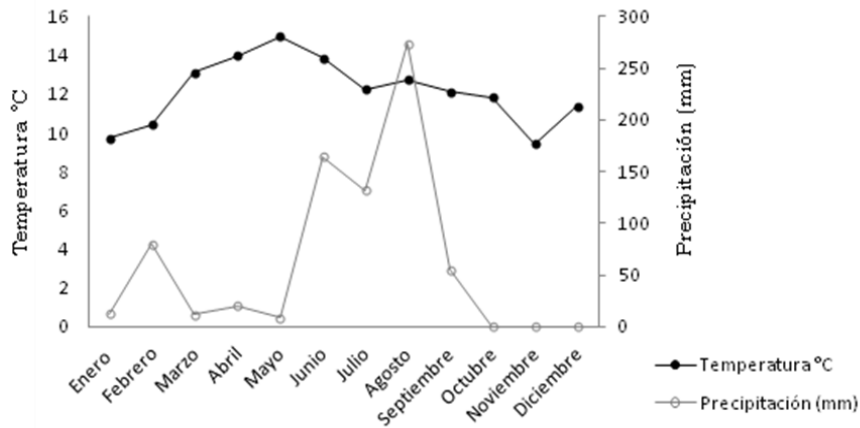


Figura 5. Datos mensuales de temperatura y precipitación de La Manzana. Datos tomados para el año 2012 de la “Red de estaciones del INIFAP”.

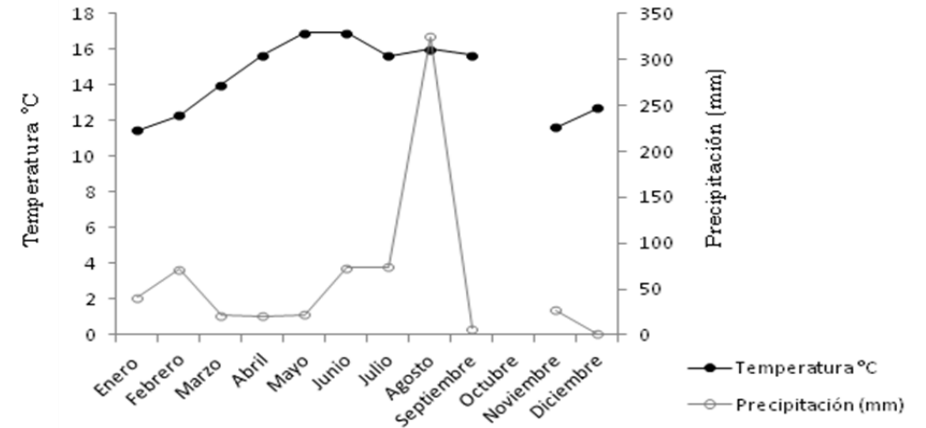


Figura 6. Datos mensuales de temperatura y precipitación de El Enzuelado. No se registraron datos para el mes de octubre. Datos tomados para el año 2012 de la “Red de estaciones del INIFAP”.

Trabajo de campo

Se realizaron siete muestreos en ambas localidades de febrero a diciembre de 2012, tratando de coleccionar el mismo número de machos (n= 3-5) y hembras (n= 3-5) en cada muestreo. Se recolectaron un total de 102 individuos, 45 individuos (19 machos y 26 hembras) para la localidad de La Manzana y 57 individuos (24 machos y 33 hembras) para El Enzuelado. La técnica utilizada para capturar a los organismos es la sugerida por Casas-Andreu *et al.* (1991), que consiste en buscar a los individuos en los diferentes sitios potenciales que se considere que se pueden encontrar (debajo o entre las rocas, en troncos caídos, etc.). Una vez localizados se capturaron directamente con la mano o en su defecto, utilizando ligas gruesas.

A cada individuo coleccionado se le tomaron fotografías digitales (vista dorsal, ventral y lateral), así como los datos de peso (con una Pesola con precisión de 0.1 g), y algunos datos ambientales, como tipo de vegetación, cobertura vegetal, altitud, clima, entre otros.

Trabajo de laboratorio

Los ejemplares colectados fueron trasladados en sacos de manta al laboratorio de Ecología de Poblaciones de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, donde fueron sacrificados con el método de congelación (Gadsden-Esparza et al, 1993), el cual consiste en disminuir su metabolismo hasta detenerlo y provocar la muerte. Una vez sacrificados los ejemplares, se procedió con la caracterización morfológica. La toma de datos morfométricos (longitud hocico-cloaca, largo y ancho del cráneo, largo y ancho de la mandíbula, etc.; Tabla 1) se realizó con el apoyo de un calibrador digital marca Truper con precisión de 0.1 mm, por lo que todas las medidas están dadas en milímetros. Los caracteres merísticos (número de escamas dorsales, poros femorales, lamelas subdigitales, etc.; Tabla 1) y de escutelación (posición de los parches ventrales, forma de los parches ventrales, etc.; Tabla 1) se contaron y/o midieron con ayuda de un microscopio estereoscópico con lámpara integrada. Posteriormente, se removieron los órganos (hígado, musculo e intestino) que fueron conservados en tubos eppendorf con alcohol al 100%, los cuales fueron guardados en el congelador para su posterior análisis. Los organismos se fijaron con formol al 10%, manteniéndolos en esta solución de seis a siete días para una buena fijación de los tejidos, posteriormente, éstos se lavan con agua de la llave por tres o cuatro días para eliminar los restos (vapor) de formol, realizando recambios del agua lo más frecuente posible, y finalmente, fueron colocados en frascos de plástico con alcohol al 70%. Para la identificación de los organismos se les colocó una etiqueta en la pata posterior izquierda con los datos de la colecta (acrónimo del colector, localidad a la que pertenece, fecha de la colecta, sexo y un número único para cada ejemplar).

Todos los ejemplares colectados se encuentran depositados en el Laboratorio de Ecología de Poblaciones del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, que al finalizar el estudio, éstos se depositarán en la Colección de anfibios y reptiles de este Centro.

Tabla 1. En el presente cuadro se agrupan los caracteres según su naturaleza y el acrónimo correspondiente.

Tipo de carácter	Número de caracteres	Caracteres y acrónimo
Morfométricos	9	Longitud hocico-cloaca (LHC), longitud del cráneo (LCr), ancho del cráneo (ACr), longitud del hocico (LH), ancho del hocico (AH), longitud del fémur (LFEMUR), longitud de la tibia (LTIBIA), longitud del antebrazo (LANTEBRAZO), largo del cuarto dedo de la pata posterior izquierda (L4°DEDO).
Merísticos	17	Número de poros femorales totales (PFEMORALES), número de escamas dorsales en la parte media del cuerpo (ESCDOR), número de lamelas subdigitales del cuarto dedo de la pata posterior izquierda (LAM4°DEDO), número de escamas que forman el collar oscuro en la parte media (ESCCOBS), número de escamas que forman el collar claro en la parte media (ESCCOCLR), número de escamas que abarcan cada uno de los parches ventrales en la parte media del cuerpo (ESCPVENTR), número de escamas internasales (ESCINAS), número de escamas circumorbitales (ESCCIR), número de escamas supraoculares (ESCSUPRAO), número de escamas superciliares (ESCSUPERC), número de escamas preoculares (ESCPREOC), número de escamas postoculares (ESCPOSOC), número de escamas supralabiales (ESCSUPRALAB), número de escamas lorilabiales (ESCLORILAB), número de escudos geniales (ESCDSG), número de escamas sublabiales (ESCSUBLAB), número de escamas que separan a los parches ventrales en la parte media (NESCPV).
Multiestado	8	Posición de los parches ventrales (arriba, abajo o en medio) en machos (POSPVENTR), presencia o ausencia de las franjas longitudinales dorsales en machos (FRLONG), escamas frontoparietales separadas o en contacto (ESCFRONT), franja longitudinal dorsal en machos continua o separada (FRLONGDOR), presencia de color en el área gular (AGULAR), franja lateral del cuello extendida o no al hombro (FLC), forma del collar nucal abierto o cerrado (FCnucal), collar nucal marcado o desvanecido (Cnucal).
Patrones de coloración	10	Coloración de la región dorsal del cuerpo (CDOR), coloración de los parches ventrales en machos (CVENTR), coloración de la región de los poros femorales (CRFEM), coloración de área gular (CAG), coloración del collar oscuro (interno; CCO), coloración del collar claro (externo; CCC), coloración de la región cloacal (CRCLOACA), coloración de la región pectoral (CRPECT), coloración de la región lateral del cuerpo (CRLC), coloración de la región ventral en hembras (CRVH).

Patrones de coloración

La medición del color se realizó con el programa Photoshop CS5, utilizando fotografías digitales mediante dos pasos generales:

1.- Estandarizar la luz.- Las imágenes digitales están formadas por unidades básicas llamadas píxeles, cada píxel contiene tres números incluidos entre el 0 y el 255; el primer número concierne al canal rojo, el segundo al del verde y el tercero al azul; es decir, que cada píxel está representado por un tema RGB (del inglés Red, Green, Blue; "rojo, verde, azul"), y su combinación puede llegar a determinar millones de colores, el cual vemos en cada píxel. Para que las medidas de tono, saturación y brillo, o cualquier otro espacio de color como HSV (del inglés Hue, Saturation, Value; "Matiz, Saturación, Valor") o RGB sean comparables entre fotos, antes de medir el color hay que estandarizar todas ellas con respecto a una escala de grises. Esto es así porque todos los tonos de grises se representan con tres valores iguales para los componentes rojo, verde y azul (ningún color predomina), es decir, que los valores de RGB siempre sean iguales para los tres colores (Gaudenzi-Asinelli, 2009), Por ejemplo, el color definido en la jerga como "gris claro" se representa como RGB (192, 192, 192), y el "gris oscuro" como RGB (128, 128, 128).

2.- Medir color.- en este punto se calculó el tono, la saturación y el brillo en un área determinada (o los valores de RGB). Una vez estandarizadas las fotografías, se procedió con la medición de color, para ello se cuadrículó la fotografía y mediante la función de muestra de color se obtuvieron los valores RGB, los cuales fueron transformados a hexadecimal en la siguiente página de internet: www.colorschemer.com/online.html, esto para hacer más pragmático el uso de los datos (Gaudenzi-Asinelli, 2009), con los cuales se construyeron las tablas de contingencia.

Distancia genética

La distancia genética se cuantificó a partir del análisis de variación en la secuencias del gen mitocondrial ND4, para ello, se analizaron 20 muestras (10 para cada población) para la extracción, amplificación y secuenciación de ADN. Primero se realizó la extracción de ADN mitocondrial (ADNm) del hígado mediante el método de fenol-cloroformo y el de acetato de amonio (10 muestras para cada método) que a continuación se detalla (Hillis et al., 1996).

La extracción de ADN con el método de fenol-cloroformo se realizó de la siguiente manera: se cortó un trozo pequeño de tejido para cada individuos (3 mm aproximadamente) el cual fue depositado en un tubo eppendorf de 1.5 ml, a cada tubo se le agregó 600 µl de buffer de lisis y 15 µl de proteinasa K (20 mg/ml), los cuales fueron agitado manualmente por 10 segundos aproximadamente y colocados en la estufa a 55 °C por toda la noche o hasta que el tejido se disolvió completamente.

Posterior a la incubación se le agregó a cada muestra 500 µl de Fenol:Cloroformo:Isoamilalcohol, agitándose manualmente por 20 segundos, para posteriormente centrifugarlo por 3 minutos a 14, 000 rpm (revoluciones por minuto). Al finalizar la centrifugación, se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo para repetir el lavado con Fenol:Cloroformo:Isoamilalcohol, terminando estos dos lavados, se transfirió nuevamente el sobrenadante a otro tubo nuevo al cual se le agregó 500 µl de Cloroformo:Isoamílico, el cual se agitó manualmente por 20 segundos, para consecutivamente centrifugarlo por 3 minutos a 14 000 rpm, una vez más se pasó el sobrenadante a un tubo nuevo para repetir el lavado con Cloroformo:Isoamílico, el sobrenadante fue colocado en un tubo nuevo al cual se le agregó 600 µl de isopropanol frío, se agitó brevemente y se dejó precipitar toda la noche a -20 °C.

Pasado ese tiempo, todos los tubos fueron centrifugados por 7 minutos a 14, 000 rpm, se desechó el alcohol de los tubos y se le agregó 600 µl de etanol al 70 % frío, para centrifugarlos por 2 minutos a 14, 000 rpm, se volvió a desechar el alcohol de los tubos, para secarlos en la centrifuga con vacío (vacuofuga) por 10-20 minutos a 30 °C o hasta que se secan completamente los tubos, por último, se agregó de 80 a 200 µl (dependiendo del tamaño del botón de ADN) de agua inyectable fría, y se colocaron los tubos en baño maría a 37 °C por 15 minutos para resuspender el ADN.

Las muestras de ADN fueron cargadas en geles de agarosa al 1 % (35 ml de buffer TBE 1%, 0.35 gramos de agarosa y .35 µl de red gel) y corridos a 120 volts durante 15 minutos en buffer TBE (tris base, ácido bórico y EDTA 0.5 M) 1%, transcurrido ese tiempo, el gel fue colocado en un transluminador UV, para poder observar la concentración e integridad de ADN extraído, y ser fotografiado (Figura

7). Estas muestras fueron guardadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de realizar la amplificación.

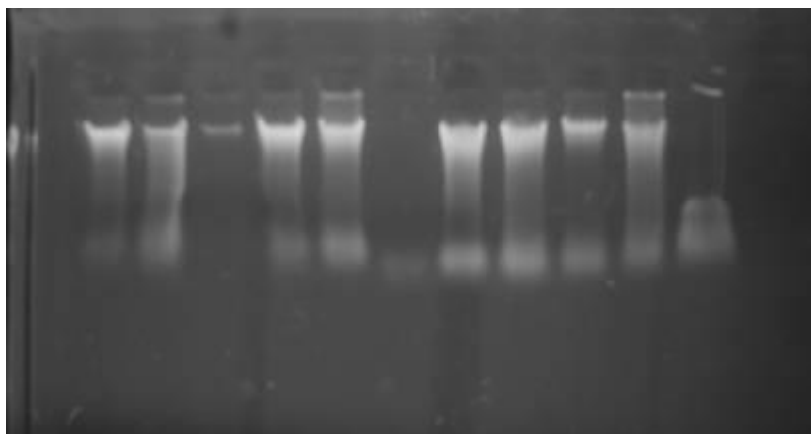


Figura 7. Extracción de ADN con el método de fenol-cloroformo. Se puede apreciar el patrón de bandeo producido por el ADN de cada muestra (línea más intensa) así como el subproducto producida por la misma.

La extracción de ADN con el método de acetato de amonio, se realizó de la siguiente manera: se cortó un trozo pequeño de tejido de cada individuo (3 mm aproximadamente), el cual fue depositado en un tubo eppendorf de 1.5 ml, a cada tubo se le agregó 600 μl de buffer de lisis y 15 μl de proteinasa K (20 mg/ml); se agitó manualmente cada tubo por 10 segundos aproximadamente y fueron colocados en la estufa a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ por toda la noche o hasta que el tejido se disolviera completamente.

Posterior a esto se sacaron las muestras de la estufa, para dejarlas enfriar a temperatura ambiente, consecutivamente se le añadieron 4 μl de RNasa (10 mg/ml) a cada tubo, se agitaron brevemente, se dejaron incubar a 37°C por una hora, pasado este tiempo, se dejaron enfriar a temperatura ambiente para después agregar 300 μl de acetato de amonio 7.5 M; se agitó vigorosamente y se dejó enfriar en hielo por 10-15 minutos, más tarde las muestras fueron centrifugadas por 3 minutos a 14, 000 rpm, el sobrenadante fue depositado en un tubo nuevo, el cual fue centrifugado por 3 minutos a 14, 000 rpm, y se volvió a depositar el sobrenadante en un tubo nuevo, al cual se le agregó 600 μl de isopropanol frío, se agitó brevemente y se dejó precipitar toda la noche a -20°C .

Pasado ese tiempo, todas las muestras fueron centrifugadas por 7 minutos a 14, 000 rpm, se desechó el alcohol de los tubos para agregarle 600 μl de etanol al 70% frío para volver a centrifugarlo por 2 minutos a 14, 000 rpm, se desechó el alcohol de los tubos y se secó en la centrifuga con vacio por 10-20 minutos a

30°C, por último se agregó de 80 a 200 µl (dependiendo del tamaño del botón de ADN) de agua fría, y se colocaron los tubos en baño maría a 37 °C por 15 minutos para resuspender el ADN.

Las muestras de ADN fueron cargadas en geles de agarosa al 1% y corridas a 120 volts durante 15 minutos en buffer TBE 1%, transcurrido ese tiempo, el gel fue colocado en un transluminador UV para poder observar la concentración e integridad de ADN extraído, y ser fotografiado (Figura 8). Estas muestras fueron guardadas a -20°C hasta el momento de la amplificación.

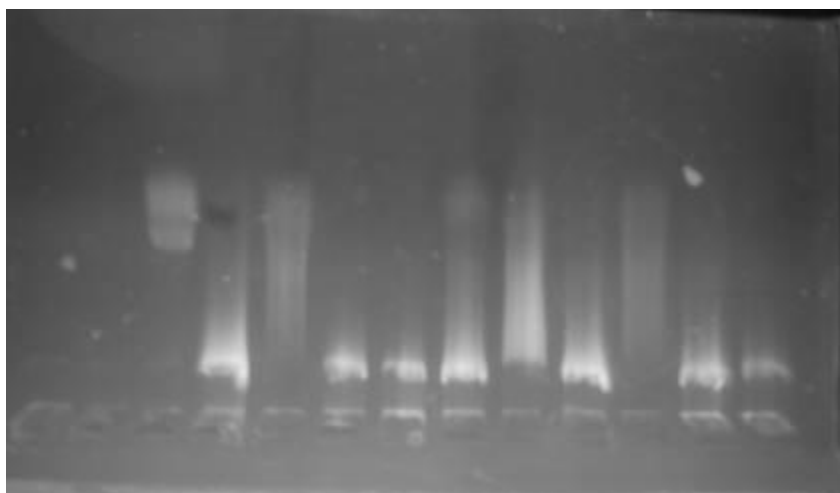


Figura 8. Extracción de ADN con el método de acetato de amonio. Se observa el patrón de bandeo producido por el ADN de cada muestra (línea más intensa) así como el subproducto producido por la misma.

La amplificación de ADN se realizó con una mezcla de reacción para PCR (por sus siglas en inglés de *Polymerase Chain Reaction* o Reacción en Cadena de la Polimerasa), la cual consiste en sintetizar muchas veces un pedazo o fragmento de ADN utilizando una polimerasa que puede trabajar a temperaturas muy elevadas (Palumbi, 1996). La amplificación se realizó de la siguiente manera: se utilizó un volumen total de mezcla de 25 µl con las siguientes cantidades: 5 µl de ADN diluido en agua inyectable (1:10), 0.15 µl de cada *Primer* (Tabla 2), 0.4 µl de dNTPs, 0.8 µl de MgCl₂, 2.5 µl de buffer, 0.2 µl de Taq y 15.8 µl de H₂O inyectable.

Tabla 2. Secuencias de los *Primer* utilizados en este estudio. Datos extraídos de Forstner et al., 1995.

Gen	<i>Primer</i>	Secuencia (5'-3')	Posición
ND4	ND4	TGACTACCAAAAGCTCATGTAGAAGC	11,427
	LEU	TRCTTTTACTTGGATTTGCACCA	12,314

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador Corbett research modelo CG1-96, bajo el siguiente programa: 5 minutos a 94°C, 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos y 72°C por 1.15 minutos, finalizando con 1 ciclo a 72 °C por 7 minutos. Los productos de amplificación fueron cargados en geles de agarosa al 1% (35 ml de buffer TBE 1%, 0.35 gramos de agarosa y .35 µl de red gel) y corridos a 100 volts durante 20-25 minutos en buffer TBE 1%, transcurrido ese tiempo, el gel fue colocado en un transluminador UV para poder ver el patrón de bandeo y ser fotografiado (Figura 9).

Antes de realizar la reacción de secuenciación, todas las muestras fueron purificadas (para eliminar subproducto o bandas múltiples) con el kit QIAquick marca Quiagen, siguiendo el procedimiento que a continuación se detalla: al producto del PCR se le agregó 6 µl de Blue juice, se mezcló y cargó en un gel de agarosa al 1%, para posteriormente correrlo a 100 volts por 30 minutos en buffer TBE 1%, transcurrido ese tiempo, el gel fue colocado en un transluminador UV en donde las bandas de ADN fueron cortadas y colocadas en tubos eppendorf de 1.5 ml, se le agregaron 3 volúmenes de buffer QG por 1 volumen de gel, los tubos fueron colocados en baño maría a 50°C por 10 minutos o hasta que se disolviera todo el gel, concluido este paso se le agregó 1 volumen de isopropanol por 1 volumen de gel y se revolvió, para posteriormente pasar la mezcla a una columna de color y centrifugar por 1 minuto a 13, 000 rpm, se desechó el sobrante para posteriormente agregarle 500 µl de buffer QG y centrifugarlo por 1 minuto a 13, 000 rpm, se desecho el sobrante para consecutivamente agregarle 700 µl de buffer PE y centrifugarlo por 1 minuto a 13, 000 rpm, se tiró el sobrenadante para volver centrifugar por 1 minuto a 13, 000 rpm, por último, se tiró el sobrante y para pasar la columna a un tubo eppendorf de 1.5 ml, se le agregó 50 µl de H₂O inyectable a la columna y se centrifugó por 1 minuto a 13, 000 rpm, la columna fue desechada y los tubos eppendorf fueron guardados a -20°C. El ADN purificado se volvió a correr en geles de agarosa para observar la concentración e integridad del ADN y que éste ya estuviera limpio (Figura 9). Así también los tubos eppendorf con el ADN purificado fueron colocados en la vacuofuga para centrifugarlos con vacio y poder concentrar el ADN hasta tener un volumen de ± 10 µl.

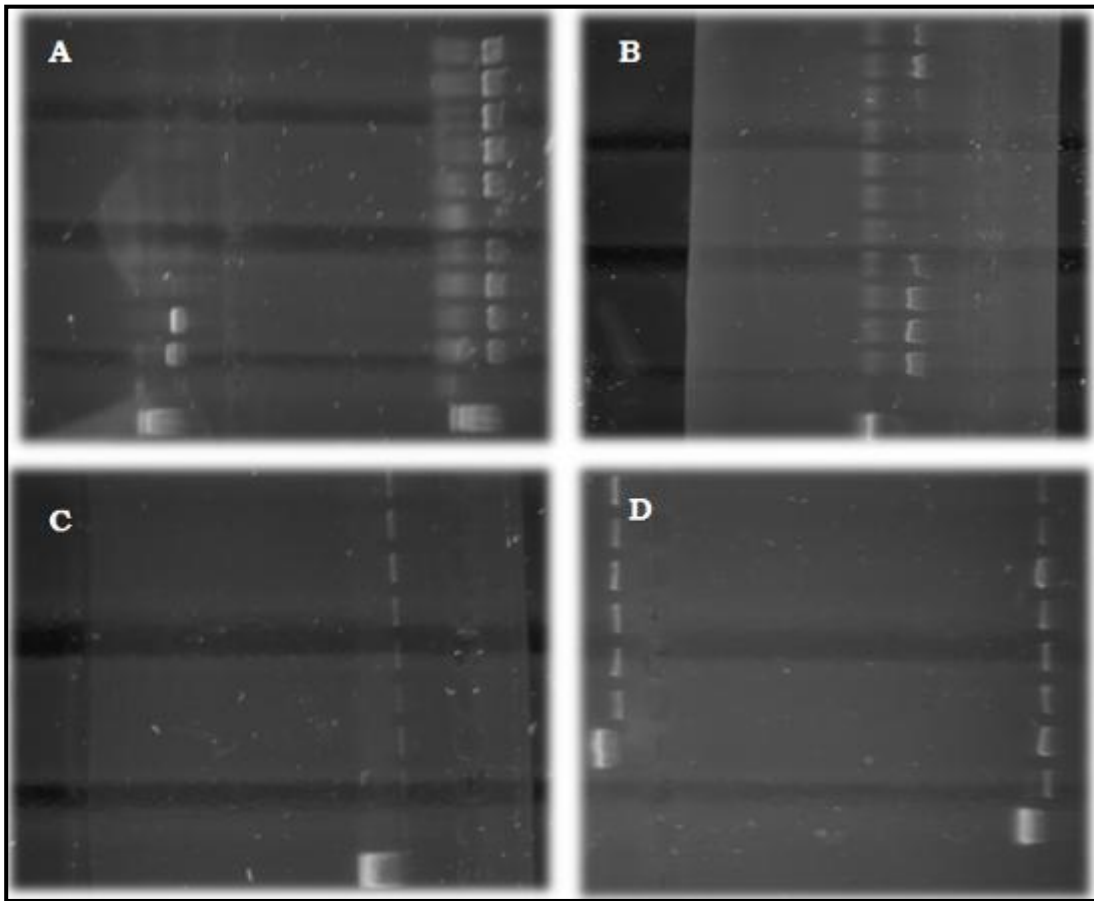


Figura 9. Patrón de bandeo resultado de las amplificaciones. En A y B se observa el subproducto producido en las amplificaciones de ND4. En C y D se observa el patrón de bandeo producido por las amplificaciones de ND4 después de ser purificadas

Para la reacción de secuenciación se utilizó el método desarrollado por Sanger en 1975. Este consiste en la incorporación de dideoxinucleótidos marcados fluorescentemente a una cadena de ADN durante el proceso de copiado de la misma. Los dideoxinucleótidos no poseen un grupo 3'-OH necesaria para la formación del enlace fosfodiéster que permite la unión entre nucleótidos, por lo tanto se interrumpe la elongación de la cadena cada vez que uno de estos es incorporado en ella. De este modo se generan secuencias de diferentes tamaños. Estas se hacen migrar a través de un gel de poliacrilamida donde se separan por tamaños. El equipo de secuenciación cuenta con un dispositivo que permite captar la emisión de la luz de los cuatro dideoxinucleótidos. La lectura se hace entonces partiendo de la secuenciación más corta hasta la secuencia completa, y se genera un gráfico con picos de emisión de luz en la posición de cada uno de los nucleótidos de la secuencia de interés.

Este proceso se realizó de la siguiente manera: se preparó una mezcla total de 10 μ l con las siguientes cantidades para cada *Primer* (forward y revers; Tabla 2): 3 μ l de ADN (purificado), 2.5 μ l de primer, 1 μ l de Big dye, 3 μ l de buffer y .5 μ l de H₂O inyectable, esta mezcla fue colocada en un termociclador Corbett research modelos CG1-96 bajo el siguiente programa: 30 ciclos a 96°C por 10 segundos, 51°C por 5 segundos y 60°C 4 minutos. Por último, estas muestras fueron purificadas bajo el siguiente método: se preparó una columna para cada muestra con 700 μ l de Sephadex, la cual se dejó escurrir hasta que se formara un gel, y fueron centrifugadas por 3 minutos a 2.5 rpm, para posteriormente pasar estas columnas a un tubo eppendorf de 1.5 ml, mientras que a los tubos de la reacción de secuenciación se le colocó 10 μ l de agua y fueron colocados en una columna con Sephadex, la cual fue centrifugada por 4 minutos a 2.6 rpm, la columna fue retirada y el tubo eppendorf se colocó en la vacuofuga hasta que el líquido se secase completamente. Los tubos con la reacción de secuenciación, fueron mandados al Instituto de Biología de la UNAM para finalizar la secuenciación. Los resultados de la reacción de secuenciación fueron ensambladas, y en su caso corregidas con el programa “CLC Main Workbench 6.5” (QIAGEN company).

Análisis estadísticos

Para evaluar si existe dimorfismo sexual y para comparar las diferencias morfológicas entre poblaciones (morfométricos y merísticos), se realizó una prueba no paramétrica de U Mann-Whitney debido a que los datos no tienden a la normalidad utilizando datos absolutos (Zar, 1997). Estos mismos datos (morfométricos) fueron transformados a logaritmo base 10 (para poder pasar normalidad), con los cuales se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) para eliminar el efecto que tiene la LHC sobre las demás variables. Además para el caso de los datos morfométricos, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para identificar aquellas variables que explican la variación morfológica entre poblaciones y entre sexos de cada localidad, además de conocer cómo responden las poblaciones a un diseño morfológico en particular.

Para el caso de los patrones de coloración y los caracteres multiestado, se construyeron tablas de contingencia donde se agruparon las frecuencias de cada estado posible de cada variable, con esto se realizó una prueba de bondad de ajuste para saber si alguna de las variables analizadas se ven afectadas por el hecho de pertenecer a una u otra población (Zar, 1997). Además, para los patrones de coloración se construyeron gráficas de barras para observar la distribución de frecuencia de los distintos estados de color. Los análisis estadísticos de esta sección fueron realizados con ayuda del paquete estadístico

Stat View IV (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA, 1992), el programa PAST y EXCEL (2007).

Para el caso de los análisis moleculares, se midió la distancia genética con el programa MEGA 5.20 (Molecular Evolutionary Genetic Analysis), estos índices se calculan entre pares de poblaciones y pretenden describir el grado de diferencia genética entre estas dos poblaciones. Así, se puede calcular directamente las *Fst* (correlación entre los genes de la subpoblación y los de la población total) entre dos poblaciones y usarse como distancia genética. Para esto, se utilizará el índice de Nei (1987). Con este índice se pretende estimar el número de mutaciones que a nivel nucleotídico se han acumulado en las secuencias de dos linajes a partir del tiempo que ha transcurrido desde su divergencia original (Piñero *et al.* 2008). Para ello se analizó el gen mitocondrial ND4, debido a que existen secuencias de otras poblaciones de esta especie analizadas con este mismo gen (Wiens *et al.*, 1999). Con ello se pretende comparar la distancia entre las dos poblaciones analizadas en este trabajo (La Manzana y El Enzuelado) con las otras poblaciones (Wiens *et al.*, 1999) y de esta forma poder inferir de manera más real, que tan emparentadas están estas poblaciones.

Existen adicionalmente una infinidad de índices de distancia genética, muchos de ellos diseñados originalmente para análisis cuantitativos de datos multivariados (Piñero *et al.* 2008). La medida de distancia genética más usada es la propuesta por Nei (1977). La idea de Nei (1987) es que los diferentes alelos (o a la presencia o ausencia de los loci en el caso de marcadores basados en PCR) es originada gracias a que un codón (o una base nucleotídica en el caso de marcadores relacionados con el PCR) es distinto. Por lo tanto, a partir de datos de frecuencia alélicas debería ser posible calcular estadísticamente el número promedio de las diferencias en los codones o en las bases nucleotídicas por locus (Piñero *et al.* 2008). Dado que este número es una medida directa de las diferencias genéticas entre dos poblaciones, se le considera como una medida de distancia genética (Nei 1973). Así, el promedio en el número neto de sustituciones nucleotídicas (*D*), estaría dado por $D = -\log_e I$ (identidad genética) que es igual a

$$\frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{1/2}}$$

Donde:

$J_x = \sum x_i^2$ (la sumatoria de las frecuencias alélicas al cuadrado en la población 1).

$J_y = \sum y_i^2$ (la sumatoria de las frecuencias alélicas al cuadrado de la población 2).

J_{xy} = sumatoria del producto, para cada alelo, de las frecuencias alélicas en la población 1 multiplicado por la frecuencia alélica de ese mismo alelo en la otra población.

Si la frecuencia alélica son las mismas $J_x = J_y$, y la I equivale a 1 (esto es, la identidad máxima posible), mientras que si no comparten ninguno de los alelos, las J_{xy} van a ser 0, y en consecuencia la I equivale a 0 (que implica la identidad mínima posible). La D por lo tanto toma valores de 0, si son idénticas las poblaciones, a infinito, si son completamente diferentes (Piñero et al. 2008).

Para ello, con ayuda el programa CLC Main Workbench 6.5, todas las secuencias fueron ensambladas (forward y revers) y en su caso corregidas para poder obtener secuencias completas (arriba de 800 pares de bases) estas secuencias fueron guardadas en formato fasta y exportadas al programa MEGA 5.20 (Molecular Evolutionary Genetic Analysis), al igual que todas las secuencias existentes del gen ND4 del complejo *jarrovii* (Wiens et al. 1999) para poder hacer el análisis en conjunto. Estas secuencias se alinearon y fueron guardadas en formato mega, donde se realizó un análisis de máxima verosimilitud, para poder observar las relaciones filogenéticas entre las poblaciones (ver si son conespecíficas o no), donde se asume que el fallo de los haplotipos de las diferentes localidades a agruparse en una región del árbol filogenético, es evidencia potencial de flujo genético, así también se asume implícitamente que cualquier flujo de genes entre los haplotipos es evidencia de que estos clados son conspecíficos (Wiens y Penkrot, 2002). Por último se calculó la distancia genética entre los grupos que se formaron.

RESULTADOS

Dimorfismo sexual

Mediante una prueba de U Mann-Whitney, se encontró que los individuos de la población de El Enzuelado presenta dimorfismo sexual en la LHC, en donde los machos son 6% más grandes (80.50 ± 1.24 mm) que las hembras (75.50 ± 1.14 mm; $U = 230$, $P = 0.0074$). Así también se encontraron diferencias significativas en LCr, ACr, LH, AH, LFEMUR, LTIBIA, LANTEBRAZO, L4°DEDO, ESCSUPRAO, PFEMORALES y LAM4°DEDO (Tabla 3). Un patrón similar se encontró en los individuos de la población de La Manzana, donde los machos son 8% más grandes (73.5 ± 1.5 mm) que las hembras (67.2 ± 0.94 mm; $U = 97$, $P = 0.00059$). De la misma forma se encontraron diferencias significativas en LCr, ACr, LH, AH, LFEMUR, LTIBIA, L4°DEDO y LAM4°DEDO (Tabla 3). Sin embargo, en ambos casos al quitar el efecto que tiene la LHC sobre las demás variables morfométricas, ninguna de ellas fue significativa (Tabla 4).

En cuanto a los patrones de coloración analizados (ver tabla 1), se encontró una dependencia de la coloración dorsal con respecto al sexo en los individuos de El Enzuelado ($X^2=109.1$, $P<0.0001$), en donde el color rojo y amarillo es más frecuente en la región dorsal (CDOR) de los machos y el gris en las hembras (Figura 2; E, F, G y H, Apéndice I y II). De la misma forma se encontró dependencia en la CVENTR, CRFEM, CAG, CCC, CRCLOACA y CRPECT (Tabla 6, Figura 10; E, F, G y H, Apéndice I y II). De manera similar, se encontró una relación de la coloración dorsal con respecto al sexo en los individuos de La Manzana ($X^2= 47.77$; $P = 0.0001$), donde el color azul es el más común para los machos y el gris para las hembras (Figura 2; A, B, C y D, Apéndice I y II). Así también se encontró dependencia en la CVENTR, CRFEM, CAG, CCO, CCC, CRCLOACA y CRCL (Tabla 5, Figura 10; A, B, C y D, Apéndice I y II).

Tabla 3. Características morfológicas que se utilizaron para determinar si en ambas poblaciones existe dimorfismo sexual, todas las medidas mostradas están ordenadas en: la media, E.E. (error estándar) y entre paréntesis el intervalo de los datos, todas las medidas están dadas en milímetros. La prueba estadística es Mann-Whitney en el cual se presenta su valor (*U*) y la probabilidad (*P*).

	El Enzuelado				La Manzana			
	Machos (24)	Hembras (33)	<i>U</i>	<i>P</i>	Machos (19)	Hembra (26)	<i>U</i>	<i>P</i>
LHC	80.5 ± 1.24 (67.5-87.6)	75.5 ± 1.14 (64.9-87.3)	230	0.0074	73.5 ± 1.5 (58.1-85.9)	67.2 ± 0.94 (57.7-78)	97	0.00059
LCr	18.3 ± 0.24 (15.5-20.54)	16.1 ± 0.22 (13.7-18.3)	99.5	0.00001	16.9 ± 0.3 (13.9-18.9)	15.1 ± 0.17 (12.9-17.3)	84	0.00001
ACr	16.52 ± 0.3 (12-18.3)	14.4 ± 0.2 (11.4-17.1)	143	0.0004	15.1 ± 0.3 (12.1-17.6)	13.2 ± 0.27 (9.78-16.13)	92	0.00038
LH	12.5 ± 0.2 (10-14.8)	11 ± 0.1 (9.3-14)	155.5	0.0001	11.5 ± 0.26 (8.9-13.64)	10.1 ± 0.17 (8.7-12.5)	68	0.00005
AH	13.52 ± 0.3 (10.2-15.5)	12.1 ± 0.2 (9.8-14.8)	203.5	0.00019	12.6 ± 0.27 (9.1-13.9)	10.9 ± 0.23 (8.1-12.9)	73	0.00005
LFEMUR	15.36 ± 0.4 (12.1-19.4)	13.84 ± 0.3 (10-16.7)	237	0.010	13.7 ± 0.28 (11.3-15.2)	11.9 ± 0.25 (10.1-14.1)	118	0.0031

	El Enzuelado				La Manzana			
	Machos (21)	Hembras (30)	<i>U</i>	<i>P</i>	Machos (19)	Hembra (26)	<i>U</i>	<i>P</i>
LTIBIA	12.7 ± 0.29 (10.1-15.17)	11.5 ± 0.18 (9.9-13.1)	178.5	0.0004	11.5 ± 0.21 (9.8-13.1)	10.4 ± 0.23 (8.7-12.8)	144	0.0185
LANTEBRAZO	10.9 ± 0.21 (8-12.6)	9.7 ± 0.19 (7.8-11.8)	157.5	0.00011	9.69 ± 0.24 (7.2-11.8)	8.9 ± 0.21 (7.1-11.1)	172.5	0.089
L4°DEDO	12.6 ± 0.20 (10.1-13.9)	11.4 ± 0.18 (9.6-12.9)	168.5	0.00024	11.9 ± 0.19 (10.3-13.2)	10.8 ± 0.19 (9.8-13.3)	124.5	0.005
ESCSUPRAO	35.8 ± 1.46 (25-51)	31.9 ± 0.93 (20-42)	262	0.049	38.4 ± 2.4 (20-63)	37.7 ± 1.2 (28-53)	220.5	0.550
PFEMORALES	31.3 ± 0.52 (28-35)	29.3 ± 0.39 (24-33)	199	0.0027	29.6 ± 0.50 (27-34)	30.4 ± 0.55 (25-35)	221	0.55
LAM4°DEDO	20.5 ± 0.28 (19-24)	19.5 ± 0.23 (17-22)	229.5	0.012	21.6 ± 0.39 (19-25)	21.2 ± 0.23 (19-23)	242	0.93

Tabla 4. Análisis de covarianza dentro de cada población eliminando el efecto que tiene la LHC sobre las demás variables morfométricas. La prueba estadística es ANCOVA en el cual se presenta su valor (F) y la probabilidad (P) para cada localidad.

	La Manzana		El Enzuelado	
	F	P	F	P
LCr	1.62	0.20	0.68	0.43
ACr	2.04	0.15	1.73	0.19
LH	0.48	0.49	0.16	0.68
AH	0.068	0.79	0.67	0.40
LFEMUR	0.046	0.83	0.55	0.46
LTIBIA	0.067	0.79	0.62	0.43
LANTEBRAZO	0.411	0.52	0.36	0.55
L4°DEDO	3.86	0.61	0.001	0.98

Tabla 5. Patrones de coloración para machos y hembras de La Manzana. En la primera columna se muestra el acrónimo (Ver tabla 1), seguido de los diferentes estados que presentó cada carácter, en la siguiente columna se encuentran los valores de X^2 y los valores de P resultantes de la prueba, así como la moda para cada sexo.

Variable	Estado	X^2	P	Machos (Mo)	Hembras (Mo)
CDOR	1-Gris, 2-Rojo, 3-Azul, 4-Marron, 5- Amarillo, 6-Naranja y 7-Purpura	47.77	0.0001	3	1
CVENTR	1-Azul acero claro, 2-Azul claro, 3-Azul aciano, 4-Azul de media noche, 5-Marino, 6-Azul real, 7-Azul oscuro, 8-Azul medio, 9-Azul pizarra medio, 11-Azul acero, 12-Blanco y 13-Gris	149.5	<0.0001	4	12
CRFEM	1-Gainsboro, 2-Gris claro. 3-Beige, 4-Bronceado, 5-Plata, 6-Azul acero claro, 7-Marron rosado, 8-Gris, 9-Gris oscuro, 10-Madera fornida, 11-Trigo y 12 Lino	36.7	0.0001	5 y 9	2
CAG	1-Azul acero claro, 2- Azul claro, 3-Azul pálido, 4-Azul cielo claro, 5-Azul cielo, 6-Azul acero, 7-Azul aciano, 8-Turquesa pálido, 9-Azul polvo, 10-Azul de media noche, 11-Azul real, 12-Azul oscuro, 13-beige, 14-Humo blanco, 15-Plata y 16-Azul Alicia	41.8	0.0002	7	15
CCO	1-Negro, 2-Gris pizarra oscuro, 3-Azul de media noche y 4-Gris pizarra	105.7	<0.0001	1	2
CCC	1-Cian claro, 2-Marron rosado, 3-Azul acero claro, 4-Turquesa pálido, 5-Azul cielo, 6-Azul pizarra oscuro, 7-Azul cadete, 8-Azul acero, 9 – Azul real, 10-Azul aciano, 11-Azul polvo, 12- azul claro, 13- Madera fornida y 14-Bronceado	31.1	0.005	7	7 y 14
CRCLOACA	1-Madera fornida, 2-Gris claro, 3-Blanco antiguo, 4-Gainsboro, 5-Cian claro, 6-Gris oscuro, 7-Plata, 8-Marron rosado, 9-Bronceado, 10-Trigo, 11-Gris, 12 Rosa empañado y 13-Humo blanco	27.2	0.011	2	13
CRPECT	1-Miel, 2-Cian claro, 3-Blanco, 4-Turquesa pálido, 5-Azul cielo, 6-Azul acero claro, 7-Plata, 8-Gris claro, 9-Gris pizarra oscuro, 10-Azul cadete, 11-Gris oscuro, 12-Azul acero, 13-Gainsboro, 14-Gris, 15-Azul aciano, 16-Beige, 17-Blanco y 18-Humo blanco	8.16	0.96	6, 8 y 10	13 y 18
CRCL	1-Turquesa pálido, 2-Azul acero claro, 3-Azul acero, 4-Azul aciano, 5-Azul real, 6-Gris oscuro, 7-Azul oscuro, 8-Azul cielo, 9- Sienna, 10-Gris pizarra oscuro, 11-Azul cadete, 12-Gris, 13-Ladrillo, 14-Naranja oscuro, 15-Oro oscuro, 16-Acuamarino y 19-Plata	38.6	0.009	3	6

Tabla 6. Patrones de coloración para machos y hembras de El Enzuelado. En la primera columna se muestra el acrónimo (Ver tabla 1), seguido de los diferentes estados que presentó cada carácter, en la siguiente columna se encuentran los valores de X^2 y los valores de P resultantes de la prueba, así como la moda para cada sexo.

Variable	Estado	X^2	P	Machos (Mo)	Hembras (Mo)
CDOR	1-Gris, 2-Rojo, 3-Azul, 4-Marron, 5- Amarillo, 6-Naranja y 7-Purpura	109.1	<0.0001	2 y 5	1
CVENTR	1-Azul acero claro, 2-Azul claro, 3-Azul aciano, 4-Azul de media noche, 5-Marino, 6-Azul real, 7-Azul oscuro, 8-Azul medio, 9-Azul pizarra medio, 11-Azul acero, 12-Blanco y 13-Gris	158.6	<0.0001	4	12
CRFEM	1-Gainsboro, 2-Gris claro. 3-Beige, 4-Bronceado, 5-Plata, 6-Azul acero claro, 7-Marron rosado, 8-Gris, 9-Gris oscuro, 10-Madera fornida, 11-Trigo, 12 Lino, 13-Beige y 14-Humo blanco	73.7	0.0006	7	1
CAG	1-Azul acero claro, 2- Azul claro, 3-Azul pálido, 4-Azul cielo claro, 5-Azul cielo, 6-Azul acero, 7-Azul aciano, 8-Turquesa pálido, 9-Azul polvo, 10-Azul de media noche, 11-Azul real, 12-Azul oscuro, 13-Beige, 14-Humo blanco, 15-Plata, 16-Azul Alicia, 17-Gainsboro y 18- Gris claro	85.5	0.0002	6 y 11	17
CCO	1-Negro, 2-Gris pizarra oscuro, 3-Azul de media noche, 4-Gris pizarra y 5-Gris oscuro	8.47	0.07	2	2
CCC	1-Cian claro, 2-Marron rosado, 3-Azul acero claro , 4-Turquesa pálido, 5-Azul cielo, 6-Azul pizarra oscuro, 7-Azul cadete, 8 -Azul acero, 9 -Azul real, 10-Azul aciano, 11-Azul polvo, 12- azul claro, 13 Madera fornida, 14-Bronceado, 15-Azul cadete claro, 16-Sienna y 17-Gris claro	46	0.0008	8	7 y 17
CRCLOACA	1-Madera fornida, 2-Gris claro, 3-Blanco antiguo, 4-Gainsboro, 5-Cian claro, 6-Gris oscuro, 7-Plata, 8-Marron rosado, 9-Bronceado, 10-Trigo, 11-Gris, 12 Rosa empañado y 13-Humo blanco	54.1	0.003	8	13
CRPECT	1-Miel, 2-Cian claro, 3-Blanco, 4-Turquesa pálido, 5-Azul cielo, 6-Azul acero claro, 7-Plata, 8-Gris claro, 9-Gris pizarra oscuro, 10-Azul cadete, 11-Gris oscuro, 12-Azul acero, 13-Gainsboro, 14-Gris, 15-Azul aciano, 16-Beige, 17-Blanco, 18-Humo blanco y 19-Nieve	112	<0.0001	7	18
CRCL	1-Turquesa pálido, 2-Azul acero claro, 3-Azul acero, 4-Azul aciano, 5-Azul real, 6-Gris oscuro, 7-Azul oscuro, 8-Azul cielo, 9 -Sienna, 10-Gris pizarra oscuro, 11-Azul cadete, 12-Gris, 13-Ladrillo, 14-Naranja oscuro, 15-Oro oscuro, 16-Acuamarino , 17-Plata y 18-Gris oscuro	33.53	0.08	4	18

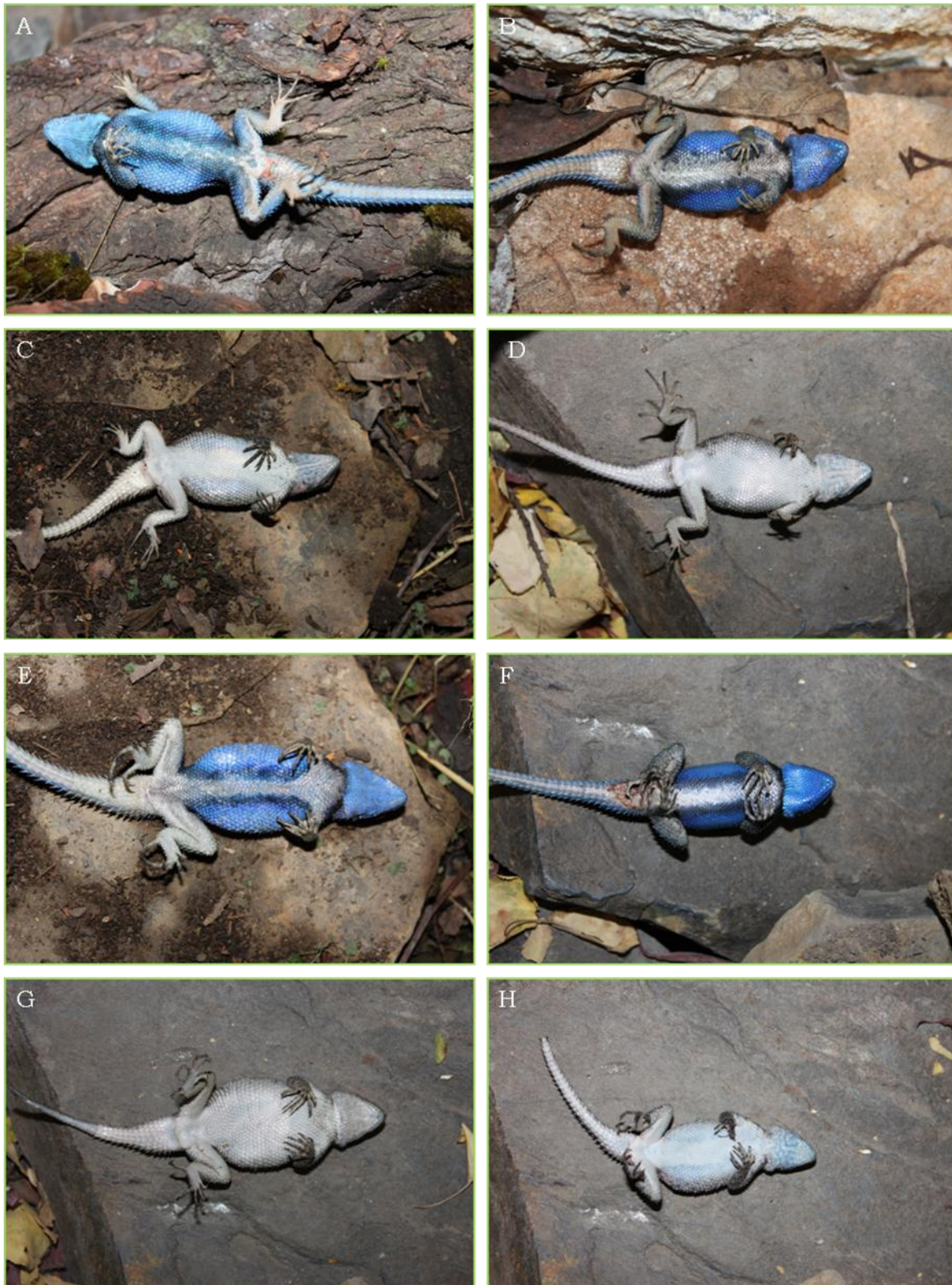


Figura 10. Patrones de coloración en la región ventral de machos y hembras. En A y B, y en C y D se observa machos y hembras, respectivamente de La Manzana y en E y F, y en G y H se observan machos y hembras, respectivamente de El Enzuelado.

Variación morfológica entre poblaciones

Machos

Mediante una prueba de U Mann-Whitney se encontró que los machos de El Enzuelado son 8 % más grandes en LHC (80 ± 1.12 mm) que los de La Manzana (73.5 ± 1.55 mm; $U = 105$, $P = 0.0027$). Además se encontraron diferencias significativas en LCr, ACr, LH, AH, LFEMUR, LTIBIA, LANTEBRAZO, L4°DEDO (Tabla 7). Sin embargo, al quitar el efecto que tiene la LHC sobre las demás variables morfométricas, ninguna de ellas presento diferencias significativas (Tabla 8).

Hembra

Una prueba de U Mann-Whitney mostró que las hembras de El Enzuelado son 11 % más grandes en LHC (75.5 ± 1.14 mm) que las de La Manzana (67.2 ± 1.03 mm; $U = 144$, $P = 0.00005$). Además se encontraron diferencias significativas en LCr, ACr, LH, AH, LFEMUR, LTIBIA, LANTEBRAZO, L4°DEDO, ESCDOR y LAM4°DEDO (Tabla 7). No obstante, al igual que los machos, al quitar el efecto de la LHC sobre las demás variables morfométricas, ninguna de ellas presento diferencias significativas (Tabla 8)

Tabla 7. Lista de características en las que se encontró diferencias entre ambas poblaciones. Se muestra la media, seguida del error estándar, y entre paréntesis, el intervalo de las mediciones. La prueba utilizada es Mann-Whitney con el valor calculado (*U*) y su probabilidad (*P*).

	Machos				Hembras			
	El Enzuelado (24)	La Manzana (19)	<i>U</i>	<i>P</i>	El Enzuelado (33)	La Manzana (26)	<i>U</i>	<i>P</i>
LHC	80 ± 1.12 (67.5-87.6)	73.5 ± 1.55 (58.1-85.9)	105	0.0027	75.5 ± 1.14 (64.9-87.3)	67.2 ± 1.03 (57.7-77.1)	144	0.00005
LCr	18.1 ± 0.23 (15.5-20.5)	16.9 ± 0.34 (13.9-18.9)	115	0.0059	16.1 ± 0.22 (13.7-18.3)	15.1 ± 0.19 (12.9-17.3)	224.5	0.0018
ACr	16.3 ± 0.32 (12.1-18.3)	15 ± 0.37 (12.1-17.6)	130	0.017	14.4 ± 0.24 (11.4-17.1)	13 ± 0.29 (9.7- 16.1)	228	0.0022
LH	12.3 ± 0.25 (10-14.8)	12.6 ± 0.27 (9.1-13.9)	189	0.034	11 ± 0.18 (9.3-14)	10.1 ± 0.19 (8.7- 12.5)	228.5	0.0022
AH	13.4 ± 0.29 (10.2-15.5)	12.6 ± 0.27 (9.1-13.9)	142	0.036	12.1 ± 0.23 (9.8-14.8)	10.8 ± 0.25 (8.1-12.9)	236.5	0.0033
LFEMUR	15.1 ± 0.39 (12.1-19.4)	13.3 ± 0.33 (10.5-15.2)	89	0.0007	13.8 ± 0.30 (10-16.79)	11.9 ± 0.25 (10-14.1)	174	0.00010

	Machos				Hembras			
	El Enzuelado (24)	La Manzana (19)	<i>U</i>	<i>P</i>	El Enzuelado (33)	La Manzana (26)	<i>U</i>	<i>P</i>
LTIBIA	12.7 ± 0.29 (10.1-15.1)	11.5 ± 0.21 (9.8-13.1)	89	0.0007	11.5 ± 0.18 (9.9-13.1)	10.4 ± 0.23 (8.7-12.8)	232.5	0.0027
LANTEBRAZO	10.9 ± 0.21 (8-12.6)	9.6 ± 0.24 (7.2-11.8)	53	0.00005	9.7 ± 0.19 (7.8-11.8)	8.9 ± 0.21 (7.1-11.1)	239	0.0038
L4°DEDO	12.6 ± 0.20 (10.1-13.9)	11.9 ± 0.19 (10.3-13.2)	117	0.0068	11.4 ± 0.18 (9.6-12.9)	10.8 ± 0.19 (8.9-13.3)	311	0.072
ESCDOR	40.4 ± 0.46 (37-45)	41.4 ± 0.53 (38-45)	148	0.1137	39.4 ± 0.29 (36-43)	41.3 ± 0.41 (38-45)	198	0.00043
LAM4°DEDO	20.5 ± 0.28 (19-24)	21.6 ± 0.39 (19-25)	143	0.058	19.5 ± 0.23 (17-22)	21.2 ± 0.23 (19-23)	122.5	0.00006

Tabla 8. Análisis de covarianza entre poblaciones eliminado el efecto que tiene la LHC sobre las demás variables morfométricas. La prueba estadística es ANCOVA en el cual se presenta su valor (F) y la probabilidad (P) para cada sexo.

	Machos		Hembras	
	F	P	F	P
LCr	1.34	0.25	0.67	0.41
ACr	1.64	0.20	2.24	0.14
LH	0.13	0.72	0.66	0.41
AH	0.14	0.70	0.54	0.46
LFEMUR	0.21	0.64	2.59	0.11
LTIBIA	0.27	0.60	0.003	0.99
LANTEBRAZO	0.21	0.65	0.24	0.60
L4°DEDO	1.56	0.21	0.02	0.86

Análisis de componentes principales

Mediante el análisis de componentes principales (ACP) se determinaron las variables morfológicas (morfométricas) que explican la variación para ambas poblaciones. Se observa que el componente uno explica el 60.4 % de la variación y el componente dos, el 9.6 %, explicando ambos una variación total del 70% (Tabla 9). Para este caso, los valores de los coeficientes con valores arriba de 60 % (Tabla 10) son las variables que tienen una mayor importancia en el valor de cada componente para cada individuo. Entonces el componente uno explica un gran porcentaje de la variación la cual se debe al tamaño de los individuos, mientras que la variación del componente dos, básicamente es explicada por el tamaño de la cola (Tabla 10). En este sentido, en la figura 11 se aprecian las variables morfométricas que explican el diseño morfológico para ambas poblaciones, es decir, cuales son los caracteres que explican la variación entre poblaciones. Al respecto, se observa una separación a lo largo del componente uno (eje X), que corresponde básicamente al tamaño corporal, en donde los puntos que están más hacia la derecha corresponden a organismos más grandes y los puntos a la izquierda a organismos más pequeños, puesto que la mayoría de las variables tienen coeficientes con valores altos y positivos (Tabla 10). Sin embargo, no se observa una separación a lo largo del componente dos.

Tabla 9. Porcentaje de variación que explica cada componente.

PC	Autovalor	% de varianza
1	6.04668	60.467
2	0.960617	9.6062
3	0.781068	7.8107
4	0.629089	6.2909
5	0.502893	5.0289
6	0.415009	4.1501
7	0.265008	2.6501
8	0.164794	1.6479
9	0.130313	1.3031
10	0.10453	1.0453

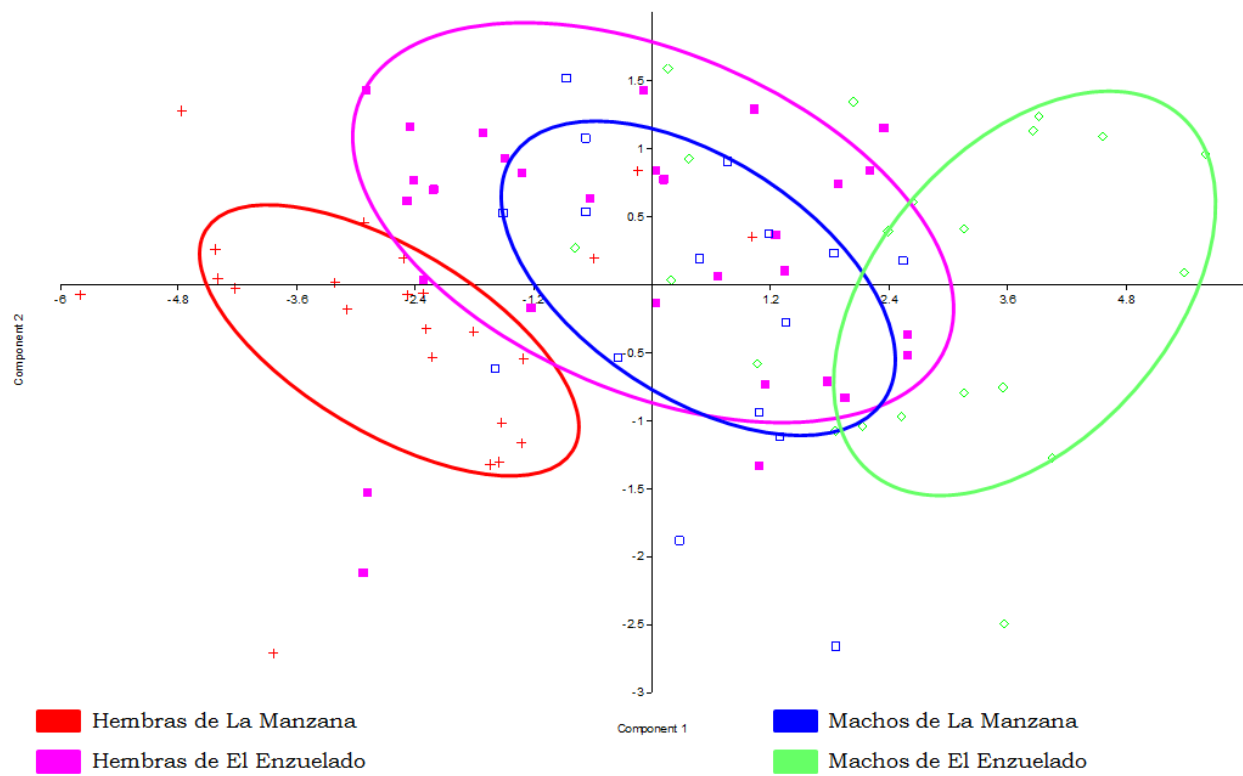


Figura 11. Variables morfométricas que explican la variación en ambas poblaciones.

Tabla 10. Variables morfométricas que explican el diseño morfológico en ambas poblaciones, en los cuales se muestra el valor de importancia de cada carácter con respecto a cada eje (componente). Los valores marcados en negritas y cursivas se refieren a aquellos caracteres que indican una variación entre las poblaciones y son altamente significativos para su respectivo componente.

CARÁCTER	COMPONENTE 1	COMPONENTE 2
LHC	<i>0.9113</i>	-0.1765
LCOLA	0.36	<i>0.8216</i>
LCr	<i>0.8805</i>	-0.1917
ACr	<i>0.7278</i>	-0.2604
LH	<i>0.8495</i>	-0.1375
AH	<i>0.7153</i>	-0.1386
LFEMUR	<i>0.8211</i>	0.1559
LTIBIA	<i>0.8571</i>	0.03456
LANTEBRAZO	<i>0.8309</i>	0.1242
L4°DEDO	<i>0.6703</i>	0.2662

Caracteres codificados; multiestado y patrones de coloración

Mediante la prueba de bondad de ajuste (Chi cuadrada), se encontró que ninguno de los caracteres multiestado analizados en machos se ve afectada por el hecho de pertenecer a una u otra población (Tabla 11). Un patrón similar ocurre con las hembras (Tabla 12).

En cuanto a los patrones de coloración analizados en este estudio (Ver Tabla 1), se encontró una dependencia de la coloración dorsal de los machos con respecto a la localidad ($X^2= 13.4$, $P = 0.032$), donde el color azul es el más común para los machos de La Manzana, mientras que el rojo y el amarillo es más común en los machos de El Enzuelado. Cabe señalar que se encontraron 20 tipos diferentes de color en la región dorsal (Figuras 12 y 13), y que para fines prácticos de este estudio, se agruparon en 7 colores generales (gris, rojo, azul, marrón, amarillo, naranja y púrpura; Apéndice I). Un patrón similar ocurrió con la coloración del collar obscuro ($X^2 = 8.41$, $P = 0.038$), donde el color negro es más común para los individuos de La Manzana, mientras que el gris pizarra obscuro es más común en los individuos de El Enzuelado (Tabla 13; Apéndice II). Sin embargo, en el caso de las hembras, estas presentan patrones de coloración muy similares, solo difieren en la coloración del área gular ($X^2= 12.5$, $P= 0.04$), en donde el color plata es más común para las hembras de La Manzana y el gainsboro para las de El Enzuelado (Tabla 14).

Tabla 11. Caracteres multiestado analizados en este estudio para los machos. En la primera columna se muestra el acrónimo (ver tabla 1), en la segunda columna están enlistados los diferentes estados que presenta cada carácter, seguida de los valores de X^2 y en la última columna se encuentran los valores de P resultantes de la prueba.

Variable	Estados	X^2	P
POSPVENTR	1-Arriba	0.340	0.559
	2-Abajo		
	3-En medio		
FRLONG	1-Presente	1.311	0.25
	2-Ausente		
ESCFRONT	1-Separada	1.374	0.24
	2-En contacto		
FRLONGDOR	1-Continua	1.933	0.38
	2-Separada		
	3-Ausente		
AGULAR	1-Con color	0.579	0.74
	2-Sin color		
	3-Colores tenues		
FLC	1-Extendida al hombro	2.355	0.12
	2-No extendida al hombro		
FCnucal	1-Abierto	0.516	0.47
	2-Cerrado		
Cnucal	1-Marcado	3.416	0.064
	2-Desvanecido		

Tabla 12. Caracteres multiestado analizados en este estudio para hembras. En la primera columna se muestra el acrónimo (ver tabla 1), en la segunda columna están enlistados los diferentes estados que presentó cada carácter, seguido de los valores de X^2 y en la última columna se encuentran los valores de P , resultantes de la prueba.

Variable	Estados	X^2	P
ESCFRONT	1-Separada	0.679	0.40
	2-En contacto		
AGULAR	1-Con color	0.580	0.44
	2-Sin color		
	3-Colores tenues		
FLC	1-Extendida al hombro	2.54	0.11
	2-No extendida al hombro		
FCnucal	1-Abierto	1.091	0.29
	2-Cerrado		
Cnucal	1-Marcado	4.87	0.056
	2-Desvanecido		

Tabla 13. Patrones de coloración en machos analizados en este estudio. En la primera columna se muestra el acrónimo (ver tabla 1), seguido de los diferentes estados que presentó cada carácter; en la siguiente columna se encuentran los valores de X^2 y los valores de P , resultantes de la prueba, así como la moda para cada localidad.

Variable	Estado	X^2	P	La Manzana (Mo)	El Enzuelado (Mo)
CDOR	1-Gris, 2-Rojo, 3-Azul, 4-Marron, 5- Amarillo, 6-Naranja y 7-Purpura	13.445	0.032	3	2 y 5
CVENTR	1-Azul acero claro, 2-Azul claro, 3-Azul aciano, 4-Azul de media noche, 5-Marino, 6-Azul real, 7-Azul oscuro, 8-Azul medio, 9-Azul pizarra medio y 10-Azul acero	1.62	0.998	4	4
CRFEM	1-Gainsboro, 2-Gris claro. 3-Beige, 4-Bronceado, 5-Plata, 6-Azul acero claro, 7-Marron rosado, 8-Gris, 9-Gris oscuro, 10-Madera fornida y 11-Trigo	4.34	0.93	5 y 9	7
CAG	1-Azul acero claro, 2- Azul claro, 3-Azul pálido, 4-Azul cielo claro, 5-Azul cielo, 6-Azul acero, 7-Azul aciano, 8-Turquesa pálido, 9-Azul polvo, 10-Azul de media noche, 11-Azul real y 12-Azul oscuro	7.02	0.79	7	6 y 11
CCO	1-Negro, 2-Gris pizarra oscuro, 3-Azul de media noche y 4-Gris pizarra	8.41	0.038	1	2
CCC	1-Cian claro, 2-Marron rosado, 3-Azul acero, 4-Turquesa pálido, 5-Azul cielo, 6-Azul pizarra oscuro, 7-Azul cadete, 8 -Azul real, 9-Azul aciano, 10-Azul polvo y 11- azul claro	7.79	0.73	7	8
CRCLOACA	1-Madera fornida, 2-Gris claro, 3-Blanco antiguo, 4-Gainsboro, 5-Cian claro, 6-Gris oscuro, 7-Plata, 8-Marron rosado, 9-Bronceado, 10-Trigo y 11-Gris	5.10	0.88	2	8
CRPECT	1-Miel, 2-Cian claro, 3-Blanco, 4-Turquesa pálido, 5-Azul cielo, 6-Azul acero claro, 7-Plata, 8-Gris claro, 9-Gris pizarra oscuro, 10-Azul cadete, 11-Gris oscuro, 12-Azul acero, 13-Gainsboro, 14-Gris y 15-Azul aciano	8.73	0.84	6, 8 Y 10	7
CRLC	1-Turquesa pálido, 2-Azul acero claro, 3-Azul acero, 4-Azul aciano, 5-Azul real, 6-Gris oscuro, 7-Azul oscuro, 8-Azul cielo, 9 -Sienna, 10-Gris pizarra oscuro, 11-Azul cadete, 12-Gris, 13-Ladrillo, 14-Naranja oscuro, 15-Oro oscuro y 16-Acuamarino	1.68	1	3	4

Tabla 14. Patrones de coloración en hembras analizados en este estudio. En la primera columna se muestra el acrónimo (ver tabla 1), seguido de los diferentes estados que presenta cada carácter, en la siguiente columna se encuentran los valores de X^2 y los valores de P , resultantes de la prueba, así como la moda para cada localidad.

Variable	Estado	X^2	P	La Manzana (Mo)	El Enzuelado (Mo)
CDOR	1-Gris oscuro, 2-Plata y 3-Gris pizarra oscuro	1.3	0.52	1	1
CRVH	1-Lino, 2-Nieve, 3-Humo blanco, 4-Gainsboro y 5- Azul Alicia	3.3	0.50	3 y 4	3
CRFEM	1-Lino, 2-Gainsboro, 3-Gris claro, 4 -Beige y 5-Humo blanco	8.6	0.12	3	2
CAG	1-Beige, 2-Humo blanco, 3-Azul Alicia, 4-Plata, 5-Gris claro y 6 -Gainsboro	12.5	0.041	4	6
CCO	1-Gris pizarra oscuro y 2-Negro	5.2	0.11	1	1
CCC	1-Marron rosado, 2-Madera fornida, 3-Bronceado, 4-Azul cadete, 5-Sienna, 6-Gris claro, 7-Gris, 8-Gainsboro y 9-Gris pizarra	8.6	0.46	3 y 4	4 y 6
CRCLOACA	1-Rosa empañado, 2-Humo blanco, 3-Gris claro, 4-Plata y 5-Gainsboro	1.7	0.83	2	2
CRPECT	1-Beige, 2-Blanco, 3-Humo blanco, 4-Gainsboro, 5-Nieve	2.6	0.73	3 y 4	3
CRLC	1-Gris oscuro, 2-Plata, 3-Gris	0.5	0.91	1	1



Figura 12. Algunos patrones de coloración de la región dorsal de los machos de La Manzana.



Figura 13. Algunos patrones de coloración de la región dorsal de los machos de El Enzuelado.

Distancia genética

Se obtuvo un total de 12 secuencias (6 para La Manzana y 6 para El Enzuelado), con más de 800 pares de bases (pb). Estas secuencias fueron analizadas con 46 secuencias ya existentes del complejo *jarrovii* (Wiens et al., 1999) de las que: 4 son de *Sceloporus cyanostictus*, 3 de *S. jarrovii*, 23 de *S. jarrovii minor*, 14 de *S. oberon* y 2 de *S. sugillatus*.

Con estos datos se realizó un análisis de máxima verosimilitud (Figura 14) en el cual se observa que las dos poblaciones analizadas en este estudio se encuentran anidadas en un solo clado junto a las demás poblaciones de *S. minor*.

De acuerdo a la clasificación que propone Wiens et al., 1999, el complejo *jarrovii* lo divide en cinco especies evolutivas: A) *Sceloporus jarrovii* para *S. jarrovii jarrovii*; (B) *Sceloporus sugillatus* para *S. j. sugillatus*; (C) *Sceloporus cyanostictus* para *S. j. cyanostictus*; (D) *Sceloporus oberon* para *S. j. oberon* y las poblaciones norteñas de *S. j. minor*; y (E) *Sceloporus minor* para las poblaciones sureñas de *S. j. minor* y todas las poblaciones de *S. j. erythrocyaneus* y *S. j. immucronatus* (Figura 15).

Con base en esta nueva clasificación, se calculó la distancia genética para cada especie, en donde se observa una menor distancia (5.7 %) entre *S. minor* (dentro de las cuales se encuentran los individuos de las poblaciones analizadas en este estudio; Figura 14) y *S. oberon*, mientras que la mayor distancia (14.3 %) se registro entre *S. sugillatus* y *S. jarrovii* (Tabla 15), esto muy probablemente esta dado por la distancia geográfica que existe entre estas poblaciones (Figura 1). De igual forma, se calculó la distancia genética dentro de cada grupo (Tabla 16), donde se observa claramente que las distancias son mucho menores dentro de cada grupo que entre los grupos.

Por último, se hicieron dos grupos para medir la distancia genética entre los individuos de La Manzana y El Enzuelado, la cual fue de 2.4 %, un poco menos que la distancia registrada dentro de todo el grupo en donde se encuentra (3% para *S. minor*).

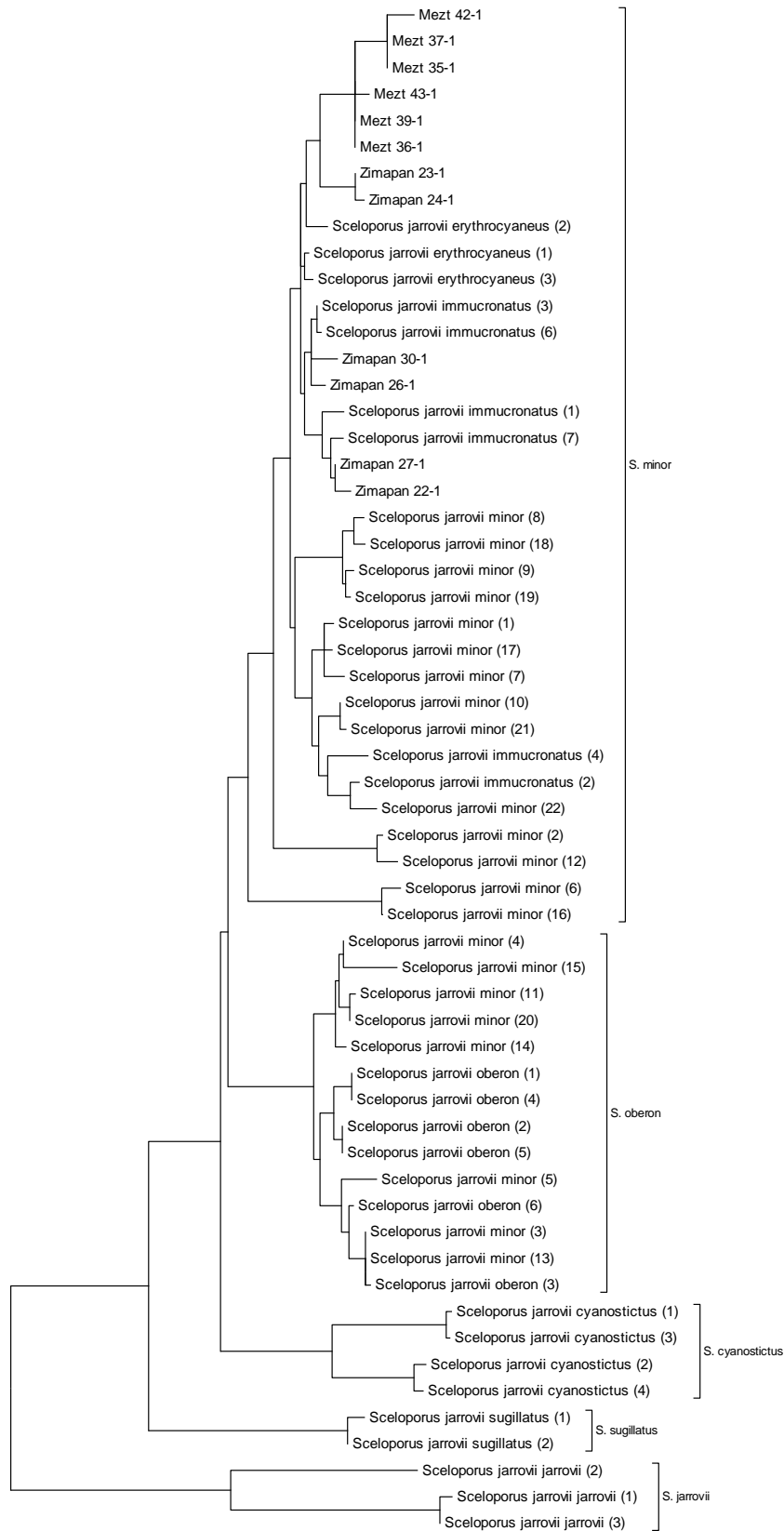


Figura 14. Análisis de máxima verosimilitud. En la parte superior se observan agrupadas las dos poblaciones analizadas junto con las demás poblaciones *S. minor*.

Tabla 15. Distancia genética entre especies del complejo *jarrovi*.

Especie	<i>S. minor</i>	<i>S. cyanostictus</i>	<i>S. jarrovi</i>	<i>S. oberon</i>
<i>S. minor</i>				
<i>S. cyanostictus</i>	0.071			
<i>S. jarrovi</i>	0.137	0.141		
<i>S. oberon</i>	0.057	0.069	0.131	
<i>S. sugillatus</i>	0.088	0.103	0.143	0.088

Tabla 16. Distancia genética dentro de cada especie del complejo *jarrovi*.

Especie	Distancia genética
<i>S. minor</i>	0.0304
<i>S. cyanostictus</i>	0.0312
<i>S. jarrovi</i>	0.0636
<i>S. oberon</i>	0.0163
<i>S. sugillatus</i>	0.0045

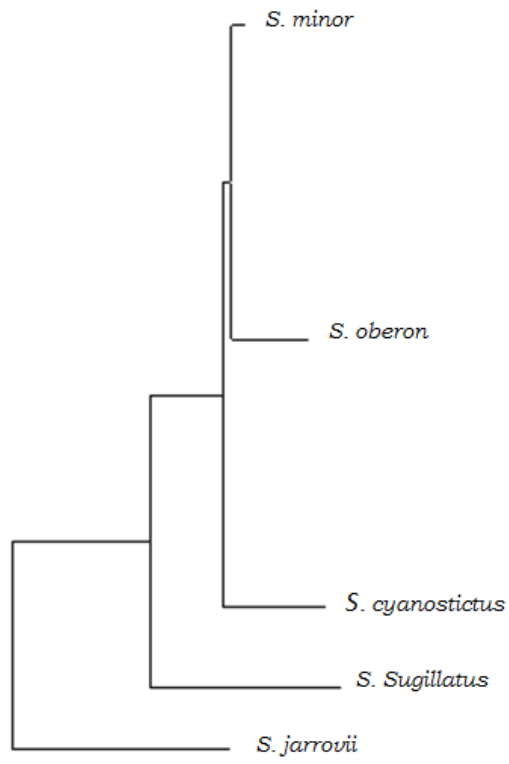


Figura 15. Análisis de máxima verosimilitud en donde se observa la filogenia de las especies evolutivas del complejo *jarrovi* propuestas por Wiens et al., 1999.

DISCUSIÓN

Dimorfismo sexual

Las diferencias en las características morfológicas y patrones de coloración entre machos y hembras son conocidas como dimorfismo sexual (Berry y Shine, 1980; Schoener et al., 1982; Wiens, 1999), el cual es generalizado en todo el reino animal y ha sido descrito para muchos taxa (Anderson y Vitt, 1990). En este sentido, los caracteres morfométricos utilizados para determinar el dimorfismo sexual, se encontró que en ambas poblaciones (La Manzana y El Enzuelado) es muy marcado. En ambos casos, los machos presentan una mayor talla (LHC) y son más coloridos que las hembras (Tabla 3, 5 y 6).

En general, el dimorfismo sexual es común en el género *Sceloporus* (Fitch, 1978), en particular, varias poblaciones cercanamente relacionadas a la especie *minor* muestran dimorfismo sexual. Por ejemplo, los machos de *S. minor* en dos localidades en el municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí son más grandes en LHC, y tienen la cabeza y la tibia más grande que las hembras (Ramírez-Bautista et al., 2008). Los machos de *Sceloporus jarrovi* del norte y las regiones centrales templadas de México (Ramírez-Bautista et al., 2002), los del desierto central de Chihuahua (Gadsden y Estrada-Rodríguez, 2007), así como los del sureste de Arizona (Ruby y Dunham, 1984) son más grandes y tienen la cabeza y miembros más grandes que las hembras. Características que han evolucionado en machos para defender su territorio (Stamps, 1983), competencia macho-macho (Shine, 1978), e incluso para separar el nicho alimentario entre machos y hembras, y evitar así la competencia entre sexos (Schoener et al., 1982).

Sin embargo, el dimorfismo sexual en el tamaño del cuerpo también se encuentran ausentes en algunas otras especies del género como en *S. palaciosi* (Lemos-Espinal et al., 2002), *S. formosus* (Ramírez-Bautista y Pavón, 2009), *S. horridus* y *S. spinosus* (Valdéz-González y Ramírez-Bautista, 2002). Lo que podría estar sugiriendo que en estas poblaciones no existen peleas macho-macho por el acceso a las hembras (selección sexual) o bien que la proporción de sexos es de 1:1, o que estas poblaciones habitan en ambientes con suficientes recursos (alimento y espacio), lo que evita una competencia macho-hembra por los recursos.

Al respecto, Anderson y Vitt (1990) llegan a la conclusión de que el dimorfismo sexual ha surgido principalmente a través del proceso de selección sexual. Donde la variación en el éxito reproductivo entre los individuos en competencia del mismo sexo resulta en selección para un tamaño del cuerpo adulto y morfología específica (Shine, 1989), en donde frecuentemente los machos

más grandes de una población son favorecidos por la selección natural para competir mejor por el recurso espacio (territoriales) o por un mayor número de hembras (polígamos) para aparearse. Sin embargo otros autores (Shoener, 1967 y Shine, 1989) proponen que cada sexo se adapta a diferentes nichos ecológicos, y por lo tanto, las diferencias en el dimorfismo sexual en el tamaño del cuerpo y/o la morfología evolucionaron debido a influencias ecológicas.

Como se menciono anterior-mente, el dimorfismo sexual puede ser explicado por la selección sexual (Shine, 1989), no obstante pocos estudios han resaltado la importancia de varios rasgos en la elección de pareja, tal es el caso del estudio que realizaron Hamilton y Sullivan (2005), quienes demostraron en un experimento de laboratorio que las hembras de *Urosaurus ornatus*, seleccionan a machos con cabezas anchas, cuerpos delgados, parches ventrales grandes y colores brillantes, sin embargo, la contribución de cada una de estas variables independientes eran insignificantes y solo era evidente un patrón examinando todos los rasgos de manera simultánea. En este sentido, está idea podría explicar parcialmente el porqué existe una amplia gama de variedades y/o rangos en los diferentes caracteres analizados en los machos de este estudio, siendo las tallas y los patrones de color favorecidos por selección natural para atraer a las parejas.

Por otra parte, el hecho de que los machos de *S. minor* en ambas poblaciones sean más grande (Tabla 3) que las hembras sugiere que esta especie es polígama, ya que un indicador de un sistema de apareamiento polígamo es la diferencia en el tamaño corporal entre los sexos, donde los machos son más grandes que las hembras, así también mayores grados de poligamia están altamente correlacionados con un mayor grado de dimorfismo sexual, sesgado hacia los machos (Daly y Wilson, 1978). Esto se debe a que, como la competencia por las hembras aumenta, la ventaja general pasa a los machos más grandes (Trivers, 1976). Los machos de las lagartijas de la familia Phrynosomatidae son generalmente territoriales y su grado de poligamia se ha correlacionado con el dimorfismo sexual en tamaño, en otras palabras, machos más grandes defienden un territorio grande con más hembras que un macho de menor tamaño (Stamps, 1977, 1983).

En cuanto a los patrones de coloración dentro de las poblaciones, también se encontraron diferencias significativas, donde los machos son más vistosos que las hembras en cuanto al color de la región dorsal en ambas poblaciones, además difieren en el patrón de coloración de la región ventral, femoral, gular, cloacal, entre otros (Tabla 5 y 6). Estas diferencias entre machos y hembras en cuanto a los patrones de coloración son comunes, ya que generalmente las hembras prefieren como pareja a machos con colores conspicuos (Kwiatkowski y Sullivan, 2002; Macedonia et al., 2004) y dichos machos a menudo logran una mayor dominancia social o mayor acceso a los recursos o ambos (Zamudio y Sinervo, 2003).

La elección de una pareja apropiada es esencial si un organismo desea contribuir genéticamente a la siguiente generación (Strickberger, 1993). Generalmente los machos no son tan selectivos a la hora de seleccionar con quien se aparean, en consecuencia las hembras no tienen problema por conseguir pareja, y por ende no tendrían que ser tan llamativos como los machos para poder copular (Strickberger, 1993; Contreras-Garduño et al., 2009). En este sentido, en ambas poblaciones, las hembras presentaron un patrón de coloración más críptico que el de los machos en varios de sus caracteres (Tabla 5 y 6), principalmente en la coloración dorsal, ventral y gular, en ambas poblaciones los patrones de coloración de la región dorsal de las hembras son diferentes tonos de grises, los cuales pasan desapercibidos en los microhábitats (rocas) que utilizan estas lagartijas, mientras que la coloración ventral y gular son diferentes tonos de blanco y gris (Tabla 14, Apéndice II). Este patrón se ha observado en otras poblaciones de lagartijas como en *Crotaphytus collaris* en Oklahoma (Macedonia et al., 2004), en donde los machos de tres localidades presentan diferentes patrones de coloración en la región dorsal, que van del amarillos, turquesa y verde, una color para cada localidad, mientras que las hembras de las tres localidades son de color marrón claro. Este patrón de coloración en hembras podría ser una estrategia para pasar desapercibidas en los microhábitats que utilizan y así poder escapar a la depredación.

Variación morfológica entre poblaciones

Al comparar los datos morfológicos entre poblaciones, se encontró que los machos y hembras de la población de El Enzuelado son más grandes en LHC que los individuos de La Manzana (Tabla 7). Así también se encontraron diferencias en la coloración dorsal de los machos y en el área gular en hembras (Tabla 13 y 14). Sin embargo no se encontraron diferencias en los caracteres merísticos ni en los multiestado (Tabla 11 y 12). La poca distancia genética registrada entre las dos poblaciones analizadas en este estudio (0.024) indica que estas poblaciones están estrechamente relacionadas, y que la divergencia es reciente, por lo cual no se ha tenido una historia de aislamiento genético (Vitt et al., 1997). Así también la poca distancia genética estaría sugiriendo un flujo genético entre estas dos poblaciones de manera directa o indirecta a través de otras poblaciones. El análisis de máxima verosimilitud indica que estas poblaciones (La Manzana y El Enzuelado) son conespecíficas, junto con las otras poblaciones de *S. minor* analizadas.

En este sentido, las diferencias morfológicas aunado a la poca distancia genética entre estas poblaciones (Tabla 7; Figura 14) estaría sugiriendo una plasticidad fenotípicas, en donde la información genética y el medio ambiente interactúan para dar cierto fenotipo (Sultan y Stearns, 2005), en otras palabras,

un conjunto de fenotipos fue producido por un solo genotipo que está expuesto a condiciones ambientales diferentes (Schlichting y Pigliucci, 1998). Este fenómeno ha sido demostrado en un gran número de organismos, incluyendo plantas y animales (Sultan, 1987; Schlichting y Pigliucci, 1998), en donde las poblaciones que habitan ambientes que varían en tiempo y espacio expresan un fenotipo que es adecuado para las condiciones en las que se encuentra (Kawecki y Stearns, 1993).

La forma más común de representar la plasticidad es a través de una norma de reacción, a través de una función genotipo-específico que relaciona el valor de un rasgo fenotípico con el ambiente en el cual dicho valor se observa. En otras palabras, una norma de reacción es la trayectoria desarrollada por un genotipo en el espacio ambiente-fenotipo, mientras que la plasticidad es la desviación de dicha trayectoria con respecto a una recta paralela al eje de las abscisas (Sultan y Stearns, 2005). La norma de reacción puede ser plástica o no, esto es, el fenotipo puede cambiar o quedarse fijo en respuesta a cambios en el medio, y aunque la plasticidad fenotípica y la norma de reacción frecuentemente se utilizan intercambiamente, la plasticidad siempre se refiere a una norma de reacción, pero una norma de reacción no necesariamente es plástica (Schlichting y Pigliucci, 1998). La plasticidad fenotípica es un fenómeno que se da a escala ecológica y sus consecuencias a este nivel son evidentes, sin embargo, además de la adaptación a ambientes heterogéneos, sus consecuencias evolutivas pueden ser significativas, al modular la acción de selección natural (Sultan, 1987), esto ocurre al moderar las direcciones de la adecuación biológica (*fitness*) de los genotipos de una población dada, como resultado de la variación de su expresión fenotípica en los diferentes ambientes experimentados por las poblaciones (Sultan, 1987).

Al respecto, Vitt et al. (1997), compararon la morfología y evaluaron la distancia genética de dos poblaciones geográficamente cercanas de la lagartija tropical *Tropidurus hispidus*, en donde encuentran que existe una variación morfológica entre los individuos de ambas poblaciones, lo cual alude a la presencia de morfos distintos, además, indican que dicha variación se debe al ambiente contrastante en el que viven estas lagartijas debido a que la distancia genética es muy baja (1.4 %).

Entonces, las diferencias en las tallas (LHC) entre poblaciones podrían ser una respuesta a las condiciones del medio en que habitan estas poblaciones. Por ejemplo, algunos estudios realizados con *Sceloporus grammicus* (Lemos-Espinal et al., 1998; Ramírez-Bautista et al., 2011), mostraron una relación negativa entre la LHC y el factor altitud, es decir, a medida que incrementa el gradiente altitudinal (ambientes templados) disminuye la LHC, tal y como sucede en estas poblaciones, donde la LHC es menor en la población de La Manzana la cual está

ubicada a una mayor altitud que El Enzuelado donde la LHC es mayor (Tabla 7). Este patrón probablemente se debe a que la mayoría de los procesos fisiológicos y de comportamiento en ectotermos depende directamente de su temperatura corporal (Vitt y Caldwell, 2009), entonces la tasa de calentamiento en ectotermos esta esencialmente determinada por la masa corporal, y en ambientes fríos las adaptaciones a las ganancias rápidas de calor, están bajo fuertes selecciones positivas para permitir una alimentación optima, apareamiento y evitar la depredación. Por lo tanto, la evolución de un mayor tamaño corporal en ambientes fríos no parece ser una estrategia termorreguladora ventajosa (Pincheira-Donoso et al., 2008).

Otra explicación de las diferencias en la LHC está directamente relacionada con la reproducción, ya que machos y hembras de cada localidad alcanzan la madurez sexual a diferentes tallas, la LHC mínima a la madurez sexual de los machos y de las hembras de La Manzana fue menor (56.3 mm y 41.6 mm, respectivamente) que las de El Enzuelado (59.2 mm y 55.3 mm, respectivamente; Ramírez-Bautista et al., 20013), esto se ha probado en otras poblaciones de otras especies, como es el caso de *Sceloporus udulatus*, en donde individuos procedentes de diferentes poblaciones, presentan diferentes tallas mínimas a la madurez sexual (Tinkle y Ballinger, 1972). En el caso específico de las hembras, las diferencias en LHC están directamente relacionadas con la reproducción ya que se ha demostrado que las hembras de El Enzuelado (LHC= 75.5 ± 1.14 mm) tienen un mayor número de crías (7.2 embriones) que las hembras de La Manzana (LHC= 67.2 ± 1.03 mm; 5.2 embriones; datos tomados de las mismas lagartijas que se utilizaron en este trabajo). Además se observa una relación positiva y significativa ($P < 0.05$) entre el tamaño de la hembra (LHC) y en número de embriones para ambas localidades (Apéndice III). Este patrón se ha observado en muchas especies de lagartijas, incluyendo algunas poblaciones cercanas a la especie, como lo es *S. jarrovi* (Ramírez-bautista et al., 2002; Gadsden y Estrada-Rodríguez, 2007), en donde el tamaño de la camada incrementa con el tamaño del cuerpo de la hembra.

Los patrones de color dorsal de los machos de *S. minor* son polimórficos (Wiens et al., 1999; Stephenson y Ramírez-Bautista, 2012). El patrón de coloración dorsal dominantes en El Enzuelado es el rojo y el amarillo, lo cual podría estar relacionado con el alimento, ya que se ha observado en estudios con anolinos; que la gama de colores rojos, anaranjados y amarillos son producidos por accesorios fotosintéticos como los “carotenos”, sintetizados por las plantas y que los animales adquieren a través de su dieta, o bien estos colores pueden ser producto de compuestos fluorescentes ricos en nitrógeno y que los animales sintetizan de precursores de bases puricas (guanina) como las “pterinas” (Steffen y McGraw, 2007). Aunque la coloración también podría estar relacionado con el tipo de sustrato dominante donde se encuentra cada población, la edad y la época reproductiva (Ferguson, 1966). O bien, estos colores podrían estar

determinados genéticamente como sucede con *Uta stansburiana* que exhibe diferentes coloraciones en la garganta, los cuales están determinados por un único gen con tres alelos, que es denominado sistema “orange, blue, yellow” OBY (Sinervo y Lively, 1996; Sinervo y Clobert 2003; Zamudio y Sinervo, 2003).

En contraste el patrón de coloración dominante en La Manzana es el azul, el cual también se encuentra presente en El Enzuelado aunque no con la misma frecuencia. Éste color se encuentra en la garganta y en el vientre de los machos de varias especies del género *Sceloporus* y géneros cercanamente relacionados, lo que sugiere que la coloración azul es una característica importante como señal visual en estas especies de lagartijas (Wiens et al., 1999). Asumiendo que la coloración dorsal azul evolucionó por selección sexual, algunos autores (Wiens et al., 1999; Stephenson y Ramírez-Bautista 2012) mencionan que los machos de *S. minor* evolucionaron de manera extensa la coloración dorsal azul para explotar preexistentes sensibilidad femenina o masculina a este color asociado con la garganta y los parches ventrales. Esta hipótesis predice que debería haber una preferencia general por el color dorsal azul. Así también, se cree que el color azul de la región dorsal está más ligado a ambientes cerrados, como los bosques de pino-encino (como en La Manzana donde ocurre la mayor frecuencia de morfos azules) que ambientes abiertos (como en El Enzuelado donde hay una menor frecuencia de morfos azules que en La Manzana y una mayor frecuencia de morfos amarillos y rojos), como una respuesta a las zonas abiertas para disminuir la tasa de depredación (Wiens et al., 1999).

Distancia genética

Como se menciona anteriormente, el agrupamiento de las poblaciones analizadas en esta trabajo (La Manzana y El Enzuelado) junto a las otras poblaciones de *S. minor* que se observa en el análisis de máxima verosimilitud aunado a la baja distancia genética indican que estas poblaciones están estrechamente relacionadas.

La distancia genética es un método que ha sido utilizado hace relativamente bastante tiempo, para observar la relación genética entre poblaciones y/o especies (Gorman y Kim, 1975; Kim et al., 1976), que hoy en día se sigue utilizando como apoyo para delimitar especies (Nieto-Montes de Oca et al., 2013). En muchos de estos casos, la distancia genética está relacionada con la distancia geográfica, por ejemplo, Buth et al. (1980) evaluaron la distancia genética entre tres poblaciones de *Anolis carolinensis* de Estados Unidos y una población de *Anolis Porcatus* en Cuba, en donde observaron que la distancia genética entre dos poblaciones de *A. carolinensis* en Texas es casi nula (0.002), mientras que la distancia entre las dos poblaciones de *A. carolinensis* de Texas y

una de Georgia es de 0.070, y el promedio de las distancias genéticas de *A. carolinensis* y *A. porcatius* es de 0.16, así también menciona que la poca distancia entre las especies de Estado Unidos probablemente es debido al flujo genético, mientras que la mayor distancia entre *A. carolinensis* y *A. porcatius* es debido al tiempo en que estas especies se separaron (3-4 millones de años aproximadamente).

Un patrón similar se observa en las poblaciones analizadas en este trabajo en donde la distancia genética aumenta conforme aumenta la distancia geográfica, así la menor distancia genética se registra entre la población de La Manzana y la de El Enzuelado, con el 0.024, a nivel especie la menor distancia se registró entre *Sceloporus minor* y *S. oregon* (0.057) mientras que la mayor distancia se registro entre *S. sugillatus* y *S. jarrovi* (0.143). Sin embargo no siempre sucede de esta forma, por ejemplo Kim et al. (1976) evaluaron la distancia genética en tres especies del género *Bipes* en México. *Bipes tridactylus* en Guerrero, *B. canaliculatus* en Guerrero y Michoacán y *B. biporus* en la península de Baja California, los valores absolutos de distancia genética indican que *B. biporus* está más cercanamente relacionado con las dos especies del continente que estas entre sí, sin embargo cuando se incluye el error estándar, se observa que las poblaciones son más o menos equidistantes (0.8) a pesar de la distancia geográfica. Los autores mencionan que la distancia genética muy similar entre estas tres especies se debe a que estas poblaciones estuvieron unidas hasta antes de que se formara la península de Baja California y que el tiempo de separación no ha sido lo bastante grande para generar una mayor distancia genética. En este sentido el valor de distancia genética van a estar dados por el tiempo en el que las poblaciones analizadas se hayan separado y por el flujo genético que pudiera o no haber entre ellas.

Finalmente, como se mencionó anteriormente, las dos poblaciones (La Manzana y El Enzuelado), previamente se usaron para estudiar su reproducción (Ramírez-Bautista et al., 2013), en la que se encontraron variaciones en las características reproductivas, como en el ciclo reproductivo, la talla mínima a la madurez sexual, y tamaño medio de la camada (ver, Ramírez-Bautista et al., 2013). Sin embargo, con estas características se llegó a una conclusión de que estas diferencias pueden ser una respuesta a las condiciones en las que habita cada población (plasticidad fenotípica, *sensu* Stearns, 1992) o a que estas poblaciones debido al aislamiento están en vías de especiación. Con base en esto, se comparó la morfología y la distancia genética entre estas dos poblaciones para aportar mayor información y poder generar una conclusión más clara sobre el estatus de estas poblaciones. Entonces, las diferencias morfológicas aunada a la poca distancia genética registrada entre estas poblaciones, indican que estas poblaciones están estrechamente relacionadas (son conespecíficas), pero existe una ligera divergencia, la cual es reciente, por lo que no se ha tenido el tiempo suficiente para tener un aislamiento genético. La diferenciación

morfológica y la de algunos atributos relacionados con la reproducción y el dimorfismo sexual entre poblaciones parece haber sido bastante rápida en relación a la evolución molecular, sin embargo, estas diferencias en algún momento producirá individuos tan distintos que serán reconocidos como especies separadas.

CONCLUSIONES

- Se encontró que ambas poblaciones (La Manzana y El Enzuelado) presentan dimorfismo sexual, lo cual se ve reflejado en una mayor talla (LHC) y patrones de coloración más conspicuos en diferentes regiones del cuerpo de los machos.
- Los individuos (machos y hembras) de la población de El Enzuelado son de mayor tamaño en LHC que los de La Manzana. Así también se encontraron diferencias en el patrón de coloración dorsal de los machos, siendo el color azul más común para los machos de La Manzana y el rojo y el amarillo para los machos de El Enzuelado. El color negro del collar interno en machos es el más común para los individuos de La Manzana, y el color gris pizarra oscuro para los de El Enzuelado. Mientras que en las hembras, los patrones de coloración solo difieren en la coloración del área gular, en donde el color plata es más común para las hembras de La Manzana y el gainsboro para las de El Enzuelado.
- No se encontraron diferencias en los caracteres merísticos ni en los multiestado entre poblaciones.
- La distancia genética entre ambas poblaciones fue de 0.024, un poco mayor a la distancia registrada dentro de cada población (0.015 para La Manzana y 0.003 para El Enzuelado).
- El ambiente contrastante en términos generales (bosque de pino encino y pastizal) en el que habitan estas lagartijas, es el factor que estás promoviendo la variación fenotípica entre estas poblaciones.

LITERATURA CITADA

- Anderson, R. A. y L. J. Vitt. 1990. Sexual Selection Versus Alternative Causes of Sexual Dimorphism in Teiid Lizards. *Oecología*.- 84: 145-157.
- Arévalo, E., C. A. Porter, A. Gonzáles, F. Mendoza, J. L., Camarillo, y J. W., Sites, Jr. 1991. Population Cytogenetics and Evolution of the *Sceloporus gramicus* Complex (Iguanidae) in Central Mexico. *Herpetological Monographs*.- 5:79-115.
- Benabib, M. 1994. Reproduction and Lipid Utilization of Tropical Population of *Sceloporus variabilis*. *Herpetological monographs*.- 8:160-180.
- Berry, J. F. y R. Shine. 1980. Sexual Size Dimorphism and Sexual Selection in Turtles (Order Testudines). *Oecologia*.- 44(2), 185-191.
- Boore, J. L. 1999. Animal Mitochondrial Genomes. *Nucleic Acids Research*.- 27(8), 1767-1780.
- Buth, D. G., G. C. Gorman y C. S. Lieb. 1980. Genetic Divergence between *Anolis carolinensis* and its Cuban Progenitor, *Anolis porcatius*. *Journal of Herpetology*.- 14 (3): 279-284.
- Casa-Andreu, G., G. L. Valenzuela y A. R. Bautista. 1991. Cómo Hacer Una Colección de Anfibios y Reptiles. Cuaderno numero 10. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 68 pp
- Contreras-Garduño, J., A. Córdoba-Aguilar, A. Peretti y H. Drummond. 2009. Selección Sexual. En Evolución Biológica. Primera Edición. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de México. 619 pp.
- Coyne, J. A., y H. A. Orr. 2004. Speciation. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Daly, M. Y M. Wilson. 1978. Sex, Evolution and Behavior. Wadsworth Publ. Co., Belmont, California
- Elosa-León, H. R., A. Nieto-Montes de Oca y M. C. Navarro-Carbajal. 2010. Conservadurismo Filogenético del Nicho Ecológico: Un Enfoque Integral de la Evolución. *Ciencias* 98.
- Ferguson, G.W. 1966. Releaser of Courtship and Territorial Behaviour in the Side Blotched Lizard *Uta stansburiana*. *Animal Behaviour*.- 14: 89-92.
- Ferguson, G. W., C. H. Bohlen y H. P. Woolley. 1980. *Sceloporus undulatus*: Comparative Life History and Regulation of a Kansas Population. *Ecology*.- 61: 313-322.
- Ferguson, G. W., y T. Brockman. 1980. Geographic Differences of Growth Rate *Sceloporus* lizard (Sauria: iguanidae). *Copeia*.- 1980: 259-264.

- Feria-Ortíz, M., Nieto-Montes de Oca, A. y Salgado Ugarte, I. H. 2001. Diet and Reproductive Biology of the Viviparous Lizard *Sceloporus torquatus torquatus* (Squamata: Phrynosomatidae). *Journal of Herpetology*.- 35: 104–112.
- Fitch, H. 1978. Sexual Size Differences in the Genus *Sceloporus*. *University of Kansas Science Bulletin*.- 51: 441-461.
- Forstner, M. R., S. K. Davis y E. Arévalo. 1995. Support for the Hypothesis of Anguimorph Ancestry for the Suborder Serpentes from Phylogenetic Analysis of Mitochondrial DNA Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*.- 4(1), 93-102.
- Gadsden-Esparza, H. y G. Aguirre-León. 1993. Historia de Vida Comparada en una Población de *Sceloporus undulatus* (Sauria: Iguanidae) del Bolsón de Mapimí. *Boletín de la Sociedad Herpetológica de México*.- 5:21-41
- Gadsden-Esparza, H. y J. L. Estrada-Rodríguez. 2007. Ecology of the Spiny Lizard *Sceloporus jarrovi* in the Central Chihuahuan Desert. *Southwestern Naturalist*.- 52: 600–608.
- Gaudenzi Asinelli, M. 2009. Análisis Colorimétricos Alternativos: Mediciones a Partir de la Elaboración Informática de Imágenes Digitales. Máster Universitario en Conservación y Restauración de Bienes Culturales. Universidad Politécnica de Valencia.
- Gorman, G. C. y Y. J. Kim. 1975. Genetic Variation and Genetic Distance Among Populations of Anolis Lizards on Two Lesser Antillean Island Banks.-*Systematic Biology*.- 24(3): 369-373.
- Guillette, L. J. Jr. 1982. The Evolution of Viviparity and Placentation in the High Elevation Mexican Lizard *Sceloporus aeneus*. *Herpetologica*.- 38: 94-103
- Guillette, L. J. Jr 1983. Notes Concerning Reproduction of the Montane Skink, *Eumeces copei*. *Journal of Herpetology*.- 17: 144–148.
- Guillette, L. J. Jr y G. Casas-Andreu. 1987. The Reproductive Biology of the High Elevation Mexican Lizard *Barisia imbricata*. *Herpetologica*.- 43 (1): 29-38.
- Hamilton P. S. y B. K. Sullivan. 2005. Female Mate Attraction in Ornate Tree Lizards, *Urosaurus ornatus*: a Multivariate Analysis. *Animal Behaviour*.- 69: 219-224.
- Hillis, D. M., B. K. Mable, A. Larson, S. K. Davis, y E. A. Zimmer. 1996. Nucleic acids IV: Sequencing and Cloning. Pp. 321-381 in D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable, eds. *Molecular systematics*, 2° ed. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hillis, D. M. y J. J. Wiens. 2000. Molecular Versus Morphology in Systematic: Conflicts, Artifacts, and Misconceptions, en *Phylogenetic*

Analysis of Morphological Data. Smithsonian Institution Press.
Washington. 220 pp.

- Jetz, W., K. G. Asthon, y F. A., La Store. 2009. Phenotypic Population Divergence in Terrestrial Vertebrates at Macro Scale. *Ecology letters*.- 12:1137-1146.
- Kawecki, T. J. y S. C. Stearns. 1993. The Evolution of Life Histories in Spatially Heterogeneous Environments: Optimal Reaction Norms Revisited. *Evolutionary Ecology*.- 7(2): 155-174.
- Kim, Y. J., G. C. Gorman, T. Papenfuss y A. K. Roychoudhury. 1976. Genetic Relationships and Genetic Variation in the Amphisbaenian Genus *Bipes*. *Copeia*.- 1976 (1): 120-124.
- Kozak, K. H., R. W. Mendyk, y J. J. Wiens. 2009. Can Parallel Diversification Occur in Sympatry? Repeated Patterns of Body-Size Evolution in Coexisting Clades of North American Salamander. *Evolution*.- 63 (7); 1769-1784.
- Kwiatkowski, M. A., y B. K. Sullivan. 2002. Geographic Variation in Sexual Selection Among Populations of an Iguanid Lizard, *Sauromalus obesus*. *Evolution*.- 56(10), 2039-2051.
- Lemos-Espinal, J. A., Smith, G. R. and Ballinger, R. E. 2002. Body Temperature and Sexual Dimorphism of *Sceloporus aeneus* and *Sceloporus palaciosi* from Mexico. *Amphibia-Reptilia*.- 23: 114-119.
- Lemos-Espinal J., R. E. Ballinger y R. Geoffrey. 1998. Comparative Demography of the High Altitude, *Sceloporus grammicus*, on the Iztacchihualt Volcano, Puebla, México. *Great Basin Naturalist*.- 58: 375-379
- Leo-Smith R. y T. M. Smith. 2001. *Ecología*. 4ª edición. Pearson Educación, S. A., Madrid. 664 pp.
- Leyte-Manrique, A. 2006. *Ecología y Morfología de Sceloporus grammicus en Dos Ambientes Diferentes del Estado de Hidalgo, México*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, México.
- Leyte-Manrique, A. 2011. *Especiación en el Complejo Sceloporus grammicus: Evidencias, Morfológicas y Ecológicas*. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Leyte-Manrique, A y A. R. Bautista. 2010. Diet of Two Population of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Hidalgo, México. *The Southwestern Naturalist*.- 55: 98-103
- Macedonia, J. M., J. F. Husak, Y. M. Brandt, A. K. Lappin, y T. A. Baird. 2004. Sexual Dichromatism and Color Conspicuousness in Three

Populations of Collared Lizards (*Crotaphytus collaris*) from Oklahoma. *Journal of Herpetology*.- 38(3), 340-354.

- Marshall, J. C., E. Arévalo, E. Benavides, J. L. Sites, y J. W. Sites. 2006. Delimiting Species: Comparing Methods for Mendelian Characters Using Lizards of the *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) Complex. *Evolution*.- 60(5), 1050-1065.
- Michaud E. J., y A. C. Echternacht. 1995. Geographic Variation in the Life History of the Lizard *Anolis carolinensis* and Support for the pelvic constraint model. *Journal of Herpetology*.- 29:86-97.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 70: 3321-3323.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of human genetics*.- 41(2): 225-233.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, Nueva York. 512 pp.
- Nieto-Montes de Oca, A., U. O. García-Vázquez, J. Zúñiga-Vega y W. Schmidt-Ballardo. 2013. A New Species of *Xenosaurus* (Squamata: Xenosauridae) from the Sierra Gorda Biosphere Reserve of Querétaro, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.- 84(2): 485-498.
- Palumbi, S. 1996. Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction. Pp. 205-247 in D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable, eds. *Molecular systematics*, 2° ed. Sinauer, Sunderland, MA.
- Piñero, D., *et al.* 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 415-435.
- Pincheira-Donoso D., D. J. Hodgson y T. Tregenza. 2008. The Evolution of Body Under Environmental Gradients in Ectotherms: why Should Bergmann's Rule Apply to Lizard?. *BMC Evolutionary Biology*.- 8:68.
- Ramírez-Bautista, A., A. Leyte-Manrique, J. C. Marshall y G. R. Smith. 2011. Effects of Elevation on Litter-Size Variation Among Lizard Population in the *Sceloporus grammicus* Complex (Phrynosomatidae) in Mexico. *Western North American Naturalist*.- 71(2): 215-221.
- Ramírez-Bautista, A., B. P. Stephenson, C. S. Muñoz, R. Cruz-Elizalde y U. Hernandez-Salinas. 2013. Reproduction and Sexual Dimorphism in two

Populations of the Polymorphic Spiny Lizard *Sceloporus minor* from Hidalgo, México. *Acta Zoologica (Stockholm)*.- on line.

- Ramírez-Bautista A., E. J. Cruz y J. C. Marshall. 2004. Comparative Life History for Populations of the *Sceloporus grammicus* Complex (Squamata: Phrynosomatidae). *Western North American Naturalist*.- 64: 175-183.
- Ramírez-Bautista, A., J. Barba-Torres, y L. J. Vitt. 1998. Reproductive Cycle and Brood Size of *Eumeces lynxe* from Pinal de Amoles, Queretaro, México. *Journal of Herpetology*.- 32: 18-24.
- Ramírez-Bautista, A., L. Jr, Guillette, G. Gutiérrez-Mayén, y Z. Uribe- Peña 1996. Reproductive Biology of the Lizard *Eumeces copei* (Lacertilia: Scincidae) from the Eje Neovolcánico, México. *The Southwestern Naturalist*.- 41: 103-110.
- Ramírez-Bautista, A. y N. Pavón. 2009. Sexual Dimorphism and Reproductive Cycle in the Arboreal Spiny Lizard *Sceloporus formosus* Wiegmann (Squamata: Phrynosomatidae) from Central Oaxaca, Mexico. *Revista Chilena de Historia Natural*.- 82: 553-563.
- Ramírez-Bautista A., O. Ramos-Flores, B. P. Stephenson y G. R. Smith. 2008. Reproduction and Sexual Dimorphism in Two Populations of *Sceloporus minor* of the Guadalcázar Region, San Luis Potosí, México. *Herpetological Journal*.- 18: 121-127.
- Ramírez-Bautista A., O. Ramos-Flores y J. W. Sites Jr. 2002. Reproductive Cycle of the Spiny Lizard *Sceloporus jarrovi* (Sauria;Phrynosomatidae) from North-Central México. *Journal of Herpetology*.- 36 (2):225-233.
- Ramos-Flores, O. 2003. Ecología Reproductiva de Dos Poblaciones de la Lagartija Vivípara *Sceloporus jarrovi* (Squamata: Phrynosomatidae) en el Municipio de Guadalcázar San Luis Potosí, México. Tesis de Licenciatura UNAM. 44p.
- Ruby, D.E. y A. E. Dunham. 1984. A Population Analysis of the Ovoviviparous Lizard *Sceloporus jarrovi* in the Pinaleño Mountains of Southeastern Arizona. *Herpetologica*.- 40, 425-436.
- Ruiz-Gutiérrez, R. 1999. Especiación: Teorías, Modelos y Polémica, en *La Evolución Biológica*. Primera Edición, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ecología. 457 pp.
- Sanger, F. y A. R. Coulson. 1975. A Rapid Method for Determining Sequences in DNA by Primed Synthesis with DNA Polymerase. *Journal of molecular biology*.- 94(3): 441-448.

- Schlichting, C. D. y M. Pigliucci. 1998. Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective. Sinauer Associates, Sunderland.
- Schoener, T. W. 1967. The Ecological Significance of Sexual Size Dimorphism in the Lizard *Anolis conspersus*. *Science*.- 155: 474–477.
- Schoener, T., Slader, J. and Stinson, C. 1982. Diet and Sexual Dimorphism in the Very Catholic Lizard Genus, *Liocephalus* of the Bahamas. *Oecologia*.- 53: 160-169.
- Shine, R. 1978. Sexual Size Dimorphism and Male Combat in Snakes. *Oecologia*.- 33: 269-277.
- Shine, R. 1989. Ecological Causes for the Evolution of Sexual Dimorphism: a Review of the Evidence. *Quarterly Review in Biology*.- 64: 419–461.
- Sites, J. W., JR., J. W. Archie, C. C. Cole y O. Flores-Villela. 1992. A Review of Phylogenetic Hypotheses for the Lizard of the Genus *Sceloporus* (Phrynosomatidae); Implications for Ecological and Evolutionary Studies. *Bulletin American Museum of Natural History*.- 213: 1-100.
- Sinervo, B. y C. M. Lively. 1996. The Rock-Paper-Scissors Game and the Evolution of Alternative Male Strategies. *Nature*.- 380.
- Sinervo, B. y J. Clobert. 2003. Morphs, Dispersal Behavior, Genetic Similarity, and the Evolution of Cooperation. *Science*.- 300:1949-1951.
- Smith, H. M. 1939. The Mexican and Central American Lizard of the Genus *Sceloporus*. Zoological series. Field Museum of Natural History. Tomo 1. Vol. 26. Publication. 273.
- Smith, H. M. y E. H. Taylor. 1996. Herpetology of Mexico. Annotated Checklist and Keys to Amphibians and Reptiles. A Reprint of Bulletins 187, 194 and 199 of the United State National Museum with a List of Subsequent Taxonomic Innovation. Eric Lundberg, Asthon Maryland.
- Soto-Marambio E. 2003. Variación Morfológica, Variación Genética y Estructura Poblacional en Poblaciones Alopátricas de *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae) En Chile. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.
- Stamps, J. A. 1977. The Relationship Between Resource Competition, Risk and Aggression in a Tropical Territorial Lizard. *Ecology*.- 58: 349–358.
- Stamps, J. A. 1983. Sexual Selection, Sexual Dimorphism, and Territoriality. In Huey, R. B. and Pianka, E. R. (Eds.): *Lizard Ecology: Studies of a Model Organism*, pp. 149-160. Harvard University, Cambridge, MA.

- Stearns, C. S. 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press. New York, New York.
- Stephenson, B. 2010. A Study of the Biological Significance of a Male Color Polymorphism in the Lizard *Sceloporus minor*. Ph.D. thesis, University of Miami, Coral Gables, FL.
- Stephenson, B. P. y A. Ramírez-Bautista. 2012. Did Sexually Dimorphic Dorsal Coloration Evolve by a Pre-existing Bias in Males in the Lizard *Sceloporus minor*? *Evolutionary Ecology*.- 26(6), 1277-1291.
- Steffen. J. E. y K. J. McGraw. 2007. Contributions of Pterin and Carotenoid Pigments to Dewlap Coloration in Two Anole Species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*.- 146 (1): 42-46.
- Strickberger W. M. 1993. *Evolución*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 573 pp.
- Sultan, S. E. 1987 Evolutionary Implications of Phenotypic Plasticity in Plants. *Evolutionary Biology*.- 21:127-178.
- Sultan E. S. y S. C. Stearns. 2005. Environmentally Contingent Variation: Phenotypic Plasticity and Norm of Reaction, en la Variation a Central Concept in Biology. Elsevier Academic Press. 568 pp.
- Tinkle W. D., H. M. Wilbur y S. G. Tilley. 1970. Evolutionary Strategies in Lizard Reproduction. *Evolution*.- 24:55-74
- Tinkle W. D. y R. E. Ballinger. 1972. *Sceloporus undulatus*: A Study of the Intraespecific Comparative Demography of a lizard. *Ecology*.- 53(4): 570-585
- Trivers, R. L. 1976. Sexual Selection and Resource-Accruing Abilities in *Anolis garmani*. *Evolution*.- 30: 253-269.
- Uribe-Peña Z., Ramírez-Bautista A. y Casas-Andreu G. 1999. Anfibios y Reptiles de las Serranías del Distrito Federal, México. Cuaderno 32. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Valdez-Gonzalez, M. A. and Ramirez-Bautista, A. 2002. Reproductive Characteristics of the Spiny Lizards, *Sceloporus horridus* and *Sceloporus spinosus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Mexico. *Journal of Herpetology*.- 36: 36-43

- Valencia-Avalos, S. 1999. El Problema del Concepto de Especie, en *La Evolución Biológica*. Primera Edición, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ecología. 457 pp.
- Vitt, J. L. y J. P. Caldwell. 2009. *Herpetology an Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. 3° edición. Elsevier Inc. 697 pp.
- Vitt, L. J., J. P. Caldwell, P. A. Zaini y T. A. Titus. 1997. The Role of Habitat Shift in the Evolution of Lizard Morphology: Evidence from Tropical *Tropidurus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.- 94: 3828-3883
- Vitt, L. J. y M. C. Carbalho. 1995. Niche Partitioning in a Tropical West Season: Lizard in the Lavrado Area of Northern Brazil. *Copeia*.- 1995 (2): 305-329.
- Wiens J. J. 2004. What is Speciation and How Should We Study It? *The American Naturalist*.- 163: 914-923.
- Wiens, J. J., C. A. Kuczynski, S. Arif, and T. W. Reeder. 2010. Phylogenetic Relationships of Phrynosomatid Lizards Based on Nuclear and Mitochondrial Data, and a Revised Phylogeny for *Sceloporus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*.- 54:150–161.
- Wiens J. J. y T. A. Penkrot. 2002. Delimiting Species Using DNA and Morphological Variation and Discordant Species Limits in Spiny Lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology*.- 51 (1): 69-91.
- Wiens, J. J., T. N. Engstrom, y P. T. Chippindale. 2006. Rapid Diversification, Incomplete Isolation, and the “Speciation Clock” in North American Salamanders (Genus *Plethodon*): Testing the Hybrid Swarm Hypothesis of Rapid Radiation. *Evolution*.- 60(12); 2585-2603.
- Wiens J. J., T. W. Reeder y A. N. Montes De Oca. 1999. Molecular Phylogenetics and Evolution of Sexual Dichromatism Among Populations of the Yarrow’s Spiny Lizard (*Sceloporus jarrovi*). *Evolution*.- 53(6): 1884-1897
- Wilson L. D., V. Mata-Silva y J. D. Johnson. 2013. A Conservation Reassessment of the Reptiles of Mexico Based on the EVS Measure. *Amphibians y Reptiles Conservation*.- 7(1):-47.
- Woolrich-Piña, G. A., y G. R. Smith. 2012. A New Species of *Xenosaurus* from the Sierra Madre Oriental, Mexico. *Herpetologica*.- 68(4), 551-559.
- Zamudio, K. R., y B. Sinervo. 2003. Ecological and Social Contexts for the Evolution of Alternative Mating Strategies. In S. F. Fox, J. K. McCoy, and T. A. Baird (eds.), *Lizard Social Behavior*, pp. 83–106. Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, MD.
- Zamudio, K. R., y B. Sinervo. 2000. Polygyny, Mate-guarding, and Posthumous Fertilization as Alternative Male Mating Strategies. *PNAS*.- 97(26): 14427-14432.

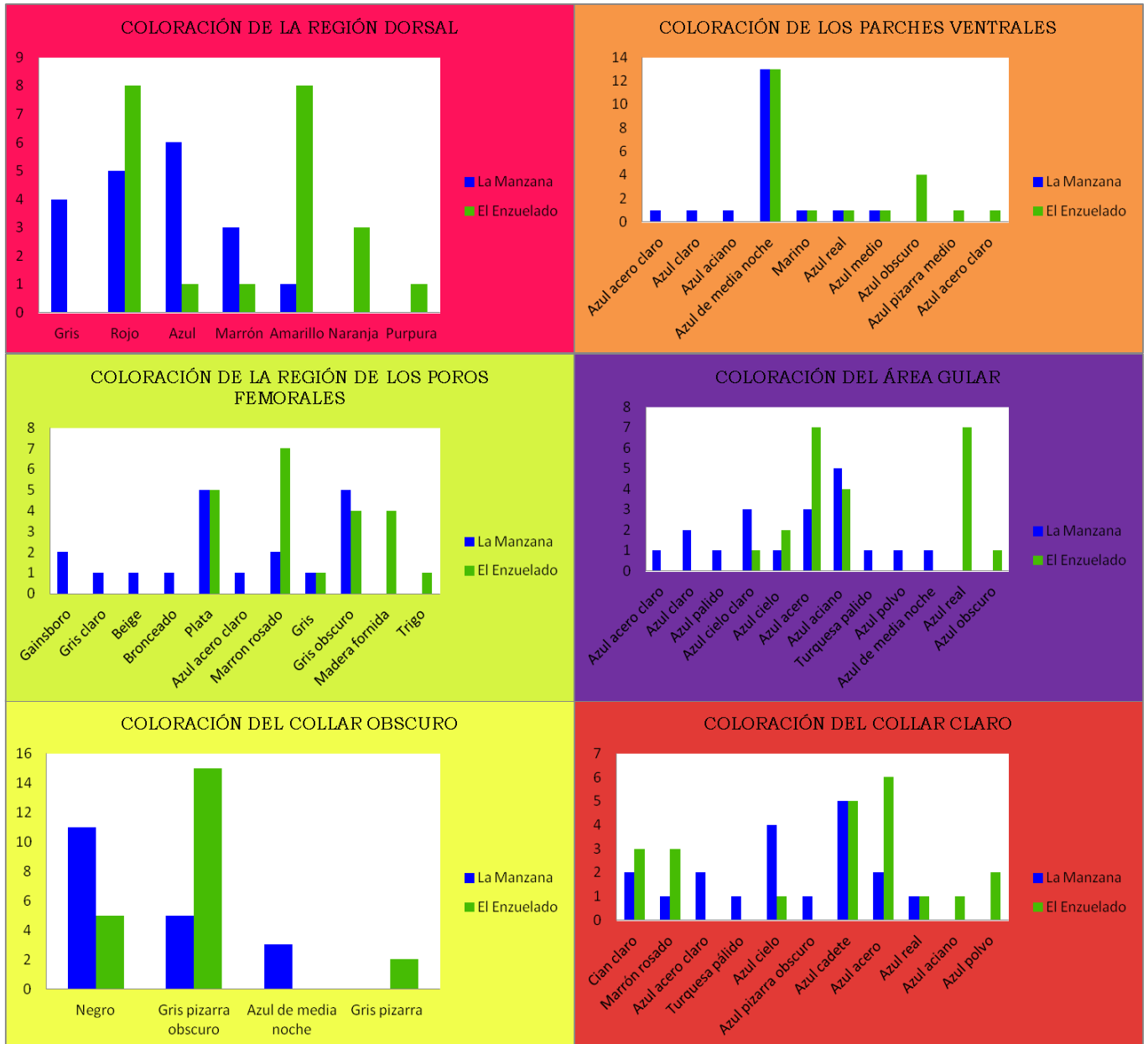
- Zar, J. 1997. Biostatistical Analysis. Prentice Hall, Englewood Cliffs

REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

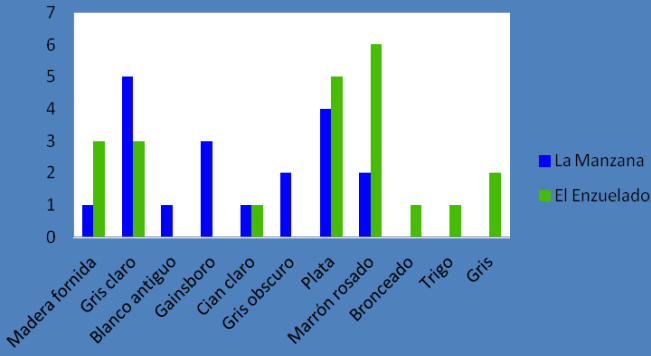
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). <http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/estaciones.aspx>

APÉNDICES

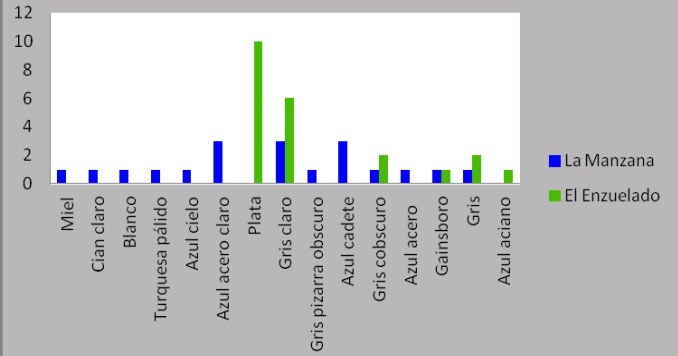
Apéndice I. Frecuencia de los distintos estados de color que presento cada región del cuerpo de los machos de ambas localidades.



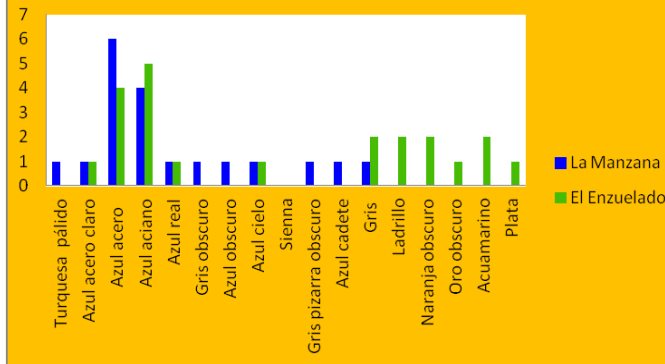
COLORACIÓN DE LA REGIÓN CLOACAL



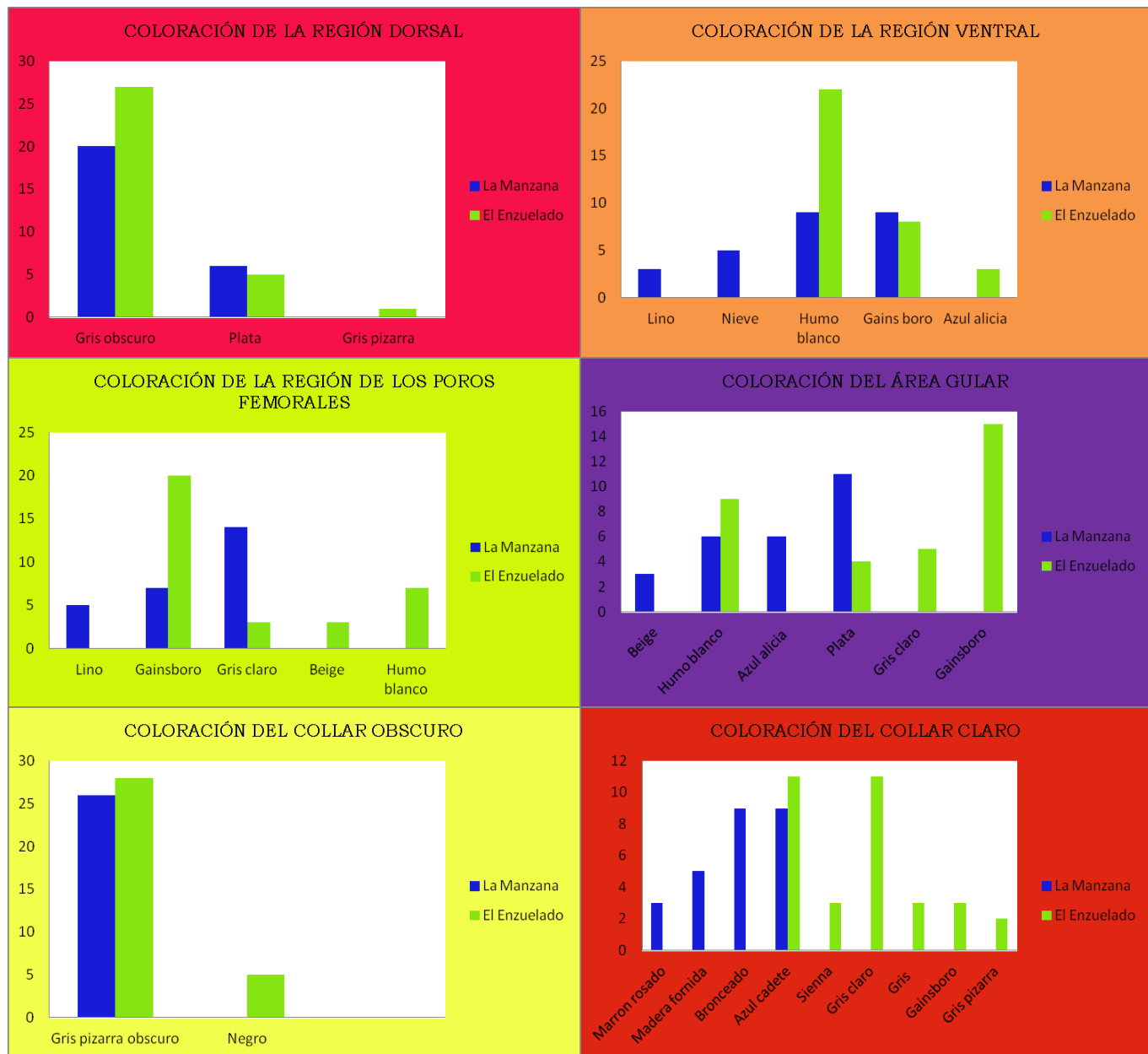
COLORACIÓN DE LA REGIÓN PECTORAL

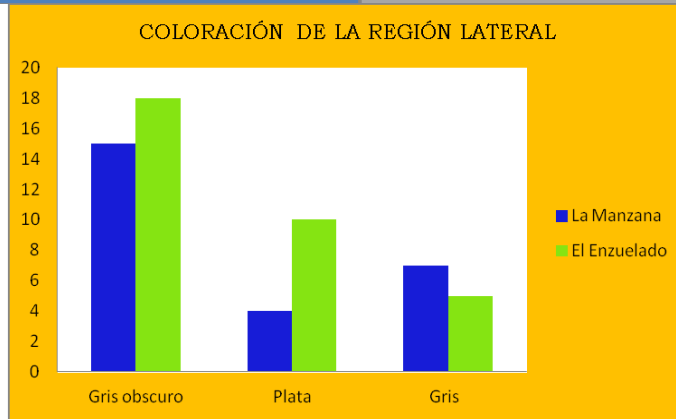
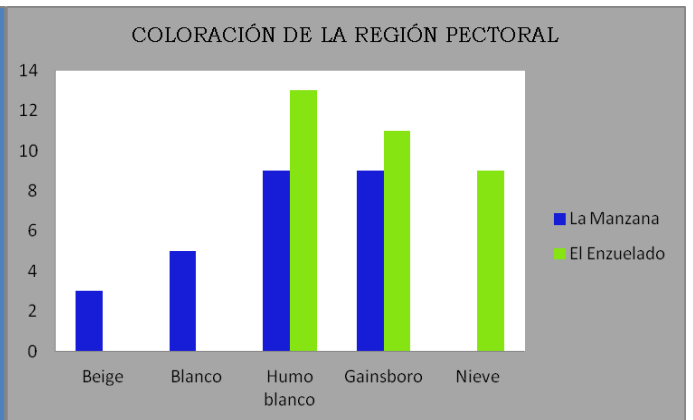
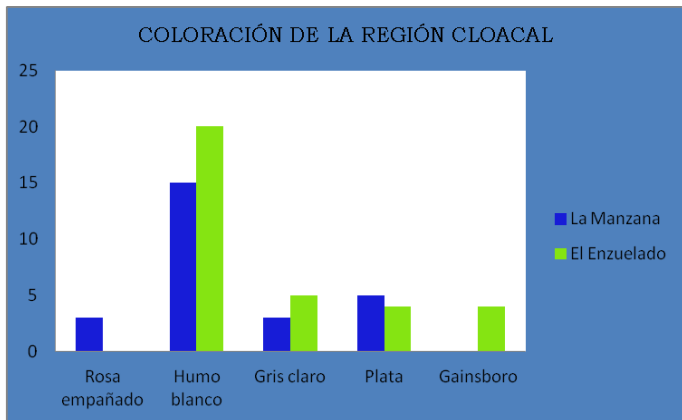


COLORACIÓN DE LA REGIÓN LATERAL



Apéndice II. Frecuencia de los distintos estados de color que presento cada región del cuerpo de las hembras de ambas localidades.





Apéndice III. Relación entre el tamaño de la hembra y el número de embriones; A) hembras de La Manzana y B) hembras de El Enzuelado. Los datos fueron tomados de los mismos organismos analizados en este trabajo.

