



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

---

---

**CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y  
CONSERVACIÓN**

**RELACIONES FILOGENÉTICAS Y DELIMITACIÓN  
DE ESPECIES EN EL COMPLEJO *ASPIDOSCELIS  
GULARIS* (SAURIA: TEIIDAE)**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS:**

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

**GARCÍA CHÁVEZ MARÍA DEL CARMEN**

**DIRECTORA: DRA. NORMA LETICA MANRÍQUEZ MORÁN**

**MINERAL DE LA REFORMA.**

**MARZO, 2012**





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**  
**ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA**

**MAESTRÍA EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN**

**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 **“RELACIONES FILOGENÉTICAS Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES EN EL COMPLEJO *Aspidoscelis Gularis* (SAURIA: TEIIDAE)”** que presenta la alumna de la Maestría en Biodiversidad y Conservación, **Biol. María del Carmen García Chávez**, 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:** Dra. Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea 
- SECRETARIO:** Dr. Alejandro Zaldívar Riverón 
- VOCAL:** Dra. Norma Letica Manríquez Morán 
- PRIMER SUPLENTE:** Dra. Claudia Teresa Leoni Hornung 

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

**ATENTAMENTE**  
**"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"**  
 Mineral de la Reforma, Hgo., a 24 de Febrero del 2012.

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


## *DEDICATORIA*

### *A MIS PADRES*

Hay hombres que luchan un día

Y son buenos.

Hay otros que luchan un año

Y son mejores.

Hay quienes luchan muchos años

Y son muy buenos.

Pero hay quienes luchan toda la vida:

Esos son los imprescindibles.

Bertolt Brecht

*Amy y Cris*

A mi pequeña Luna por iluminar mis días y mis noches, por ser el motivo más importante en mi vida y a Cristian Aguilar Miguel por su apoyo y comprensión en todo momento gracias por estar a nuestro lado.

## ***AGRADECIMIENTOS***

A la Dra. Norma Leticia Manríquez Morán, gracias por haberme aceptado a formar parte de su equipo de trabajo, por el apoyo brindado durante el desarrollo y conclusión de este trabajo, pero principalmente por los consejos y aporte de conocimientos e ideas.

A los revisores que con sus observaciones y sugerencias ayudaron a mejorar este trabajo: Dra. Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea, Dra. Claudia Teresa Hornung Leoni y al Dr. Alejandro Zaldívar Riverón. Gracias por sus aportaciones.

También quisiera agradecer a los muchos investigadores y amigos que directa o indirectamente han ayudado con comentarios, observaciones, discusiones y de muchas otras maneras. Resulta imposible citarlos a todos ellos, pero cabe destacar a los siguientes:

Al Dr. Adrián Nieto Montes de Oca, curador de la Colección Herpetológica del Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, UNAM. Por la donación de tejidos para llevar a cabo el estudio, así como por las fotografías de los distintos taxones del complejo *Aspidoscelis gularis*.

A la M. en C. Laura Márquez Valdelamar, responsable del secuenciador del Instituto de Biología de la UNAM, gracias por el procesamiento de las secuencias.

Al Dr. Gerardo Sánchez Rojas, investigador del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEH, gracias por el apoyo técnico para la realización de este trabajo pero en especial gracias por tu amistad.

Al Biol. Uri Omar García, gracias por la ayuda en campo. Por tu paciencia y por enseñarnos como coleccionar “Aspis” bajo condiciones extremas en Cuatrociénegas.

Al Biol. Alejandro García Becerra, gracias por tu colaboración en la realización de las ilustraciones.

Al M. en C. Felipe Barragán Torres, gracias por las asesorías para la realización de los mapas.

A mis compañeros de laboratorio y campo, en especial a Eduardo González, Anahí Esquivel y Esmeralda Salgado, gracias por su ayuda y amistad.

A Norma Manríquez Morán por enseñarme el gusto por las lagartijas, por enseñarme muchas cosas en campo y laboratorio, pero sobre todo por su confianza y por brindarme su amistad, mil gracias.

A mis hermanos (Brenda Araceli, Jesús, Mary, Diego, Elizabeth y Marielita) y a mis sobrinos (Gerald y Josafath), gracias por estar siempre a mi lado.

A mis tías Ángeles García Ortiz y Yola García Ortiz y a mi nueva familia Aguilar Miguel y Reina Aguilar, gracias por su apoyo y cariño

A mis amigos: Mario, Jaqueline, Yadira, Lupita, Sergio, Alex, Felipe, Naye, Ernesto, Milena, Esme y Anahí, con quienes compartí muchos momentos inolvidables que ya forman parte de mi vida los quiero.

A PROMEP, por el apoyo financiero otorgado a través del proyecto intitulado “Filogenia molecular de los lacertilios del complejo *Aspidoscelis gularis* y su distribución en el estado de Hidalgo” (UAEH-PTC-384).

A CONACYT por la beca otorgada para la realización de los estudios de Maestría en Ciencias en Biodiversidad y Conservación.

# ÍNDICE GENERAL

## DEDICATORIA

## AGRADECIMIENTOS

<b>RESUMEN .....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>14</b>
<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>16</b>
GÉNERO <i>ASPIDOSCELIS</i> .....	16
COMPLEJO <i>ASPIDOSCELIS GULARIS</i> .....	17
CONCEPTO DE ESPECIE.....	23
DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES.....	25
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>30</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
<b>MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	32
1. ALTIPLANO MEXICANO .....	32
2. VALLE DE CUATROCIÉNEGAS, COAHUILA.....	34
2.1. DESCRIPCIÓN GEOGRÁFICA .....	34
2.2. CLIMA .....	34
2.3. FISIOGRAFÍA .....	36
2.4. HIDROLOGÍA .....	36
2.5. SUELOS .....	37
2.6. VEGETACIÓN .....	37
TRABAJO DE CAMPO.....	40
TRABAJO DE LABORATORIO.....	42
1. SELECCIÓN DEL MARCADOR MOLECULAR .....	42
2. EXTRACCIÓN Y AMPLIFICACIÓN DEL DNA.....	42



3. REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN Y OBTENCIÓN DE LAS SECUENCIAS .....	43
4. ANÁLISIS DE DATOS .....	44
4. 1. ANÁLISIS FILOGENÉTICO .....	44
4. 2. DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES .....	45
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA CON BASE EN LAS SECUENCIAS DE LOS GENES ND <sub>2</sub> Y CYT B.....	48
DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES CON BASE EN LAS FILOGENIAS DE HAPLOTIPOS DEL MTDNA.....	53
DELIMITACIÓN DE ESPECIES CON BASE EN REDES DE HAPLOTIPOS .....	60
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>64</b>
RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA CON BASE EN LAS SECUENCIAS DE LOS GENES ND <sub>2</sub> Y CYT B.....	65
DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES CON BASE EN LAS FILOGENIAS DE HAPLOTIPOS DEL MTDNA Y REDES DE HAPLOTIPOS .....	66
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>75</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>86</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>90</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CUADRO 1.</b> Patrones de coloración de las subespecies de <i>A. gularis</i> (Walker, 1981a, Walker, 1981b, Walker <i>et al.</i> , 2001, Dixon <i>et al.</i> , 1971). .....	<b>19</b>
<b>CUADRO 2.</b> Secuencias de los <i>primers</i> utilizados para amplificar los genes mitocondriales ND <sub>2</sub> y Cyt B.....	<b>43</b>
<b>CUADRO 3.</b> Patrones de coloración descritos para los taxones de <i>A. gularis</i> . (Walker, 1981a, Walker, 1981b, Walker <i>et al.</i> , 2001, Dixon <i>et al.</i> , 1971).....	<b>73</b>
<b>CUADRO 4.</b> Ejemplares recolectados para el estudio, se indica el taxón, localidad y coordenadas .....	<b>86</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Dentro del polígono de color morado se localiza la región del Valle de Cuatrociénegas, Coahuila, entre las coordenadas 26° 42' 10" y 27° 00' 03" latitud norte y 101° 52' 00" y 102° 25' 12" longitud oeste.....**35**
- FIGURA 2.** Localidades en las que se recolectaron los taxones que integran al complejo *Aspidoscelis gularis*..... **41**
- FIGURA 3.** Filograma generado a partir de las secuencias de las regiones ND<sub>2</sub> y Cyt B en el que se muestran las relaciones filogenéticas entre los taxones del complejo *A. gularis*. *A. g. pallida* , *A. g. gularis*, *A. g. scalaris*, *A. g. semifasciata*, *A. g. semiannulata*, *A. g. septemvittata*, *A. g. gularis x A. g. pallida* , *A. g. semiannulata x A. g. semifasciata*, *A. g. spp1.*, *A. g. spp2.*, *A. g. spp3.* Los números sobre las ramas indican las probabilidades posteriores..... **52**
- FIGURA 4.** Correlacion filogenética y geográfica. la filogenia corresponde al grupo I del filograma y muestra las relaciones entre diversas poblaciones de *A. g. semiannulata* y la correspondencia geográfica de las mismas, al suroeste del área de distribución del complejo. .... **53**
- FIGURA 5.** Correlacion filogenética y geográfica. la filogenia muestra las relaciones entre, *A. g. gularis x A. g. pallida*, *A. g. pallida*, *A. g. septemvittata*, *A. g. spp2* en el grupo II del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas. .... **54**
- FIGURA 6.** Correlacion filogenética y geográfica. la filogeniamuestra las relaciones entre *A. g. scalaris*, *A. g. septemvittata* en el grupo III del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas..... **55**
- FIGURA 7.** Correlacion filogenética y geográfica. la filogenia muestra las relaciones entre *A. g. semifasciata*, *A. g. semiannulata* *A. g. semiannulata x A. g. semifasciata* y *A. g. spp1.* en el grupo IV del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas. .... **57**
- FIGURA 8.** Correlacion filogenética y geográfica. la filogenia muestra las relaciones entre *A. g. pallida*, *A. g. gularis*, *A. g. septemvittata* y *A. g. spp3.* en el clado v del filograma y la

correspondencia geográfica de las mismas, así también se muestran las relaciones entre *A. g. gularis* x *A. g. pallida*, *A. g. pallida*, *A. g. semifasciata*, *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* y *A. g. septemvittata* en el grupo V del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas..... **58**

**FIGURA 9.** Correlacion filogenética y geográfica. la filogenia muestra las relaciones entre *A. g. pallida*, *A. g. gularis*, *A. g. gularis* x *A. g. pallida*, en el clado V del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas..... **59**

**FIGURA 10.** Red mínima de haplotipos (A) en las que se muestran las conexiones entre haplotipos. los círculos negros muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que han desaparecido. .... **61**

**FIGURA 11.** Red mínima de haplotipos (B) en donde se muestran los distintos taxones que la están integrando, así como su ubicación en el filograma. los círculos negros muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que han desaparecido..... **62**

**FIGURA 12.** Red mínima de haplotipos y filograma (C) en donde se muestran los clados con los distintos taxones que la están integrando. los círculos pequeños muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que han desaparecido..... **64**

**FIGURA 13.** Distribución de las especies propuestas para el complejo *A. gularis*. dentro de los círculos se encuentran los taxones que integran a los distintos taxones incluidos en la nueva propuesta: *A. sp. 1*, *A. septemvittata*, *A. scalaris*, *A. sp. 2*, *A. semifasciata*, *A. sp. 3*, *A. sp. 4*, *A. sp. 5*, *A. sp. 6* y *A. gularis*..... **67**

## RESUMEN

Se llevó a cabo el análisis de 83 secuencias de los genes mitocondriales ND2 y Cyt B (1709 pb en conjunto), de los individuos de seis de las siete subespecies consideradas para el complejo *Aspidoscelis gularis* (*A. g. gularis*, *A. g. pallida*, *A. g. semifasciata*, *A. g. septemvittata*, *A. g. scalaris* y *A. semiannulata*), así como de taxones considerados como híbridos y taxones no descritos dentro del complejo, con la finalidad de generar una propuesta sobre las relaciones filogénicas así como del estado taxonómico de los integrantes del complejo *A. gularis*. El análisis filogenético realizado bajo el método bayesiano mostró que ninguno de los taxones del complejo *A. gularis* es monofilético, sin embargo, se forman grupos altamente congruentes con la geografía. Por otra parte, el análisis para la delimitación de especies mostró que *A. gularis* representa un complejo formado por grupos de haplotipos exclusivos, con elevada congruencia entre los clados observados y su distribución geográfica, por lo que en este estudio se proponen diez taxones distintos.

## INTRODUCCIÓN

El género *Aspidoscelis* (Reeder *et al.*, 2002) es uno de los grupos de lagartijas más ampliamente distribuidos en el continente americano. Sus especies se distribuyen desde el norte de Estados Unidos hasta el noroeste de Costa Rica y son un componente común de la herpetofauna de una gran cantidad de ambientes áridos y semiáridos del norte y centro del continente (Wright, 1993). Debido a su diversidad y abundancia, los lacertilios de *Aspidoscelis* son ecológicamente importantes y por esta razón han sido considerados para la realización de innumerables estudios sobre ecología, biogeografía, historia natural, etc. (Wright, 1993).

Sin embargo, por más de dos siglos la taxonomía de este género ha sido tan complicada, que hasta la fecha es difícil establecer los límites entre sus distintas especies. Esto se debe a que varios de los taxones de *Aspidoscelis* presentan cambios ontogenéticos bruscos en su patrón dorsal de coloración, a la existencia de especies unisexuales y al número limitado de caracteres morfológicos (Reeder *et al.*, 2002; Wright, 1993). Lo anterior ha resultado en la creación de diversos complejos de especies, de los que las relaciones filogenéticas aún se encuentran sin resolver (Reeder *et al.*, 2002). Varios de estos complejos se presentan en el grupo *A. sexlineata*, ya que por ser el grupo más diverso se ha caracterizado por presentar la historia taxonómica más compleja dentro del género *Aspidoscelis* en Norteamérica (Walker, 1981a y b).

Las especies de *Aspidoscelis* se distribuyen en cinco grupos diferentes que han sido definidos con base en morfología, cariólogía y datos moleculares (Lowe *et al.*, 1970; Reeder *et al.*, 2002): dos con especies gonocóricas (*A. deppii* y *A. tigris*), uno con especies gonocóricas y unisexuales (*A. sexlineata*) y dos grupos más conformados por especies

unisexuales (*A. cozumela* y *A. tessellata*). Los complejos *A. burti*, *A. costata* y *A. gularis* son tres de los grupos que más atención han recibido en las últimas décadas; sin embargo, aún quedan muchos aspectos de su taxonomía por evaluar. Por lo expuesto anteriormente, el presente estudio pretende establecer las relaciones filogenéticas entre los taxones que actualmente se describen para el complejo *Aspidoscelis gularis*, así como definir en número de especies que lo están integrando, en la Altiplanicie Mexicana, sin embargo se hace énfasis en la región de Cuatrociénegas Coahuila, ya que en este sitio se distribuyen la mayor parte de los taxones (descritos y no descritos) de este complejo.

## ANTECEDENTES

### EL GÉNERO *ASPIDOSCELIS*

Las lagartijas de este género anteriormente estaban incluidas en el género *Cnemidophorus*. Sin embargo Reeder *et al.* (2002) utilizaron datos morfológicos, aloenzimáticos y moleculares: de DNA mitocondrial (mtDNA) y DNA ribosomal (rDNA), para probar la monofilia y las relaciones al interior del género. Sus resultados mostraron que *Cnemidophorus* era un grupo parafilético; sin embargo, también apoyaron la monofilia de un clado compuesto por especies gonocóricas de *Cnemidophorus* de Norteamérica. Debido a esto Reeder *et al.* (2002) realizaron cambios en la taxonomía del grupo y renombraron a las especies de *Cnemidophorus* que se encontraban formando el clado de Norteamérica como *Aspidoscelis*. Este nombre se deriva de los sustantivos griegos *aspido* = escudo y *scelis* = pata, refiriéndose posiblemente a las escamas de las patas en forma de escudo que presentan las lagartijas de este grupo.

*Aspidoscelis* se encuentra constituido por cinco grupos, los primeros tres corresponden a cada uno de los grupos con especies gonocóricas: *A. deppii*, *A. tigris* y *A. sexlineata*, mientras que los otros dos grupos, se componen de especies híbridas que se originaron a partir del entrecruzamiento entre especies de los grupos gonocóricos: *A. cozumela* (*sexlineata* x *deppii*) y *A. tessellata* (*sexlineata* x *tigris*). El grupo con mayor diversidad de especies es *sexlineata*, que cuenta con más de 20 taxones bien definidos (Lowe *et al.*, 1970; Maslin y Secoy, 1986; Reeder *et al.*, 2002; Wright, 1993). Sin embargo existen muchos otros taxones que están integrando complejos de especies que requieren de un análisis más intenso, pues la morfología externa no ha sido suficiente para diagnosticar a las especies (Reeder *et al.*, 2002).



## COMPLEJO *ASPIDOSCELIS GULARIS*

El complejo *Aspidoscelis gularis* es uno de los grupos taxonómicamente más complicados del género *Aspidoscelis*, debido a que está integrado por taxones que difieren geográficamente en sus patrones de coloración (cuadro 1), pero presentan poca diferenciación en los caracteres de escutelación. Actualmente se considera que este complejo se encuentra integrado por siete taxones: *A. gularis gularis*, *A. g. colossus*, *A. g. pallida*, *A. g. scalaris*, *A. g. septemvittata*, *A. g. semifasciata* y *A. g. semiannulata*, que se distribuyen desde el suroeste de los Estados Unidos de América (en algunas regiones de Oklahoma, Texas y Nuevo México), hasta el centro de nuestro país (en Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Veracruz, San Luis Potosí, Durango, Zacatecas, Jalisco, Aguascalientes, Michoacán, Querétaro, Guanajuato, México e Hidalgo; Walker, 1981a; Walker, 1981b; Walker *et al.*, 2001).

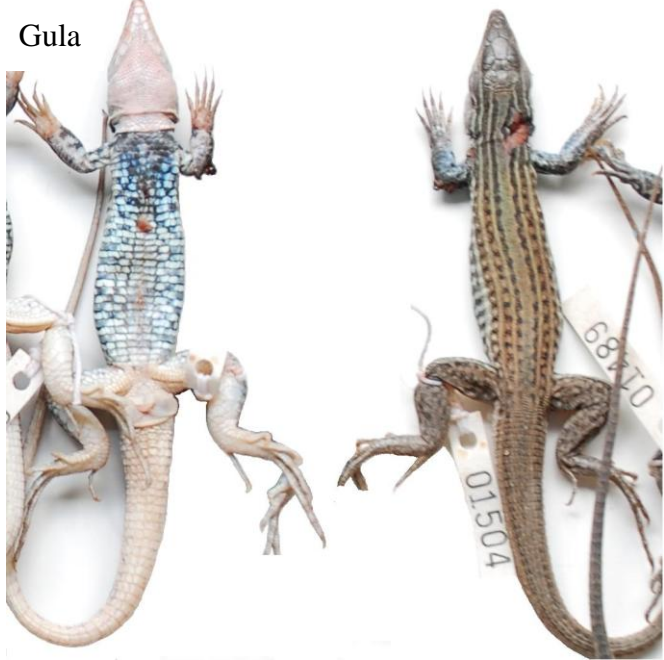

Los integrantes del complejo *A. gularis* han sido objeto de numerosos estudios desde el siglo antepasado (Duellman y Zweifel, 1962) y durante el siglo XX, sufrieron diversos reacomodos a nivel taxonómico. En uno de los trabajos más importantes sobre las especies del grupo *A. sexlineata*, los autores colocaron a cinco de los taxones de este complejo dentro de dos especies: I) *A. gularis* (= *A. g. gularis*), con una distribución desde el norte de Oklahoma y gran parte de Texas, hasta el norte de Veracruz, incluyendo los estados de Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí e Hidalgo. II) *A. septemvittata* (= *A. scalaris*), constituida por cuatro subespecies, *A. s. septemvittata* (= *A. g. septemvittata*), que se encuentra en la región del Big Bend en Texas, en el extremo este de Chihuahua y gran parte de Coahuila; *A. s. pallida* (= *A. g. pallida*), descrita para la región de Cuatrociénegas en Coahuila; *A. s. scalaris* (= *A. g. scalaris*), que habita en los

alrededores de la ciudad de Chihuahua, oeste de Coahuila y norte de Aguascalientes y *A. s. semifasciata* (= *A. g. semifasciata*), ubicada en los alrededores de Saltillo, en Coahuila (Duellman y Zweifel, 1962).

En el mismo trabajo, los autores mencionaron la existencia de ejemplares de los estados de Jalisco (alrededores de Guadalajara), Aguascalientes (Río Peñuelas), San Luis Potosí, Michoacán (Cuitzeo y Pátzcuaro), Distrito Federal (Sierra de Guadalupe y Xochimilco) e Hidalgo, que no fueron asignados a los taxones previamente señalados, pero sugieren que pueden formar parte de *A. septemvittata*. Asimismo, señalaron la posibilidad de que *A. gularis* y *A. septemvittata* (*A. scalaris*) tuvieran una relación de conespecificidad. Una década después del trabajo de Duellman y Zweifel (1962), se describió una subespecie de *A. gularis* (*A. g. colossus*) para el estado de Querétaro (Dixon *et al.*, 1971).

Posteriormente, Walker (1981a) realizó un estudio en el que evaluó la situación taxonómica de los integrantes del complejo *A. gularis* que se distribuyen en el estado de Coahuila y basándose en el concepto biológico de especie, propuso sinonimizar a *A. scalaris* (= *A. septemvittata*) con *A. gularis* y convirtió a esta última en una especie politípica altamente variable (con seis subespecies). Finalmente, el mismo autor (Walker, 1981b) describió a un nuevo taxón: *A. g. semiannulata*, con distribución en los estados de Durango, Zacatecas, Aguascalientes y San Luis Potosí.

**Cuadro 1.** Patrones de coloración de las subespecies de *A. gularis* (Walker, 1981a, Walker, 1981b, Walker *et al.*, 2001, Dixon *et al.*, 1971).

Taxones de <i>Aspidoscelis gularis</i>	
<p style="text-align: center;"><b><i>Aspidoscelis gularis gularis</i></b></p> <p><b>Patrón dorsal:</b> Siete u ocho líneas de color amarillo claro, o amarillo-anaranjado, sobre un fondo negro o pardo oscuro.</p> <p><b>Patrón ventral:</b> Vientre de color azul marino con algunos puntos negros en el pecho. Las hembras no presentan coloración.</p> <p><b>Zona gular:</b> De color salmón a rojo en los machos, las hembras no presentan coloración en esta zona.</p>	<p>Gula</p>  <p>Zona ventral                      Zona dorsal</p>
<p style="text-align: center;"><b><i>Aspidoscelis gularis pallida</i></b></p> <p><b>Patrón dorsal:</b> Líneas débiles de color verde grisáceo con puntos oscuros débiles.</p> <p><b>Patrón ventral:</b> El pecho y el vientre presenta una coloración de blanco o ligeramente azul, esta coloración solo se presenta en machos.</p> <p><b>Zona gular:</b> Coloración azul pálido a blanca, a veces pueden presentar manchas de color azul.</p>	<p style="text-align: right;">Gula</p>  <p>Zona dorsal                      Zona ventral</p>

*Aspidoscelis gularis septemvittata*

**Patrón dorsal:**

Líneas claras que desaparecen en la tercera parte posterior del cuerpo; presentan puntos de coloración oscura.

**Patrón ventral:**

Presenta una coloración que va de blanco a gris-azulado pálido sin manchas oscuras.

**Zona gular:**

Coloración blanca, gris o azul pálido, con manchas o puntos de color negro.



Zona dorsal

Zona ventral

*Aspidoscelis gularis semifasciata*

**Patrón dorsal:**

Líneas claras desde la nuca o en la tercera parte anterior y puntos difusos.

**Patrón ventral:**

Presenta una coloración grisácea con tonos ligeros tonos anaranjados.

**Zona gular:**

Con manchas de color anaranjado o un tono oxidado con manchas o puntos negros.



Zona ventral

Zona dorsal

*Aspidoscelis gularis  
semiannulata*

**Patrón dorsal:**

Presentan seis líneas ligeramente claras, sobre un fondo oscuro, la nuca presenta contrastes en el color, en la región lateral manchas de color gris amarillento y en la región media dorsal puntos y barras del mismo color.

**Patrón ventral:**

De color blanco con bordes oscuros o azul muy palido.

**Zona gular:**

Con una coloración de rosa a rojo tenue a intenso y en algunas ocasiones presenta manchas de color negro.

Gula



Zona ventral

Zona dorsal

*Aspidoscelis gularis  
scalaris*

**Patrón dorsal:**

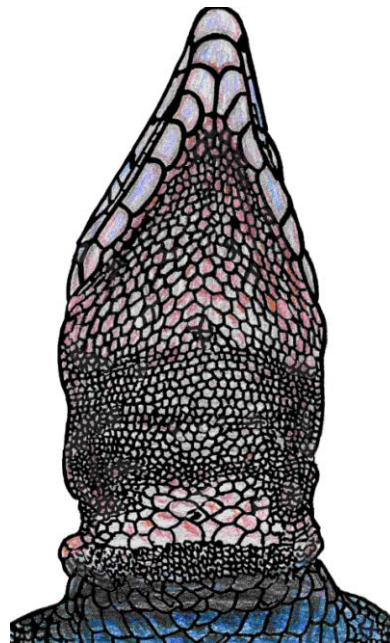
Líneas verticales tenues y barras oscuras en los flancos; dorso con puntos o barridos. No se observa

**Patrón ventral:**

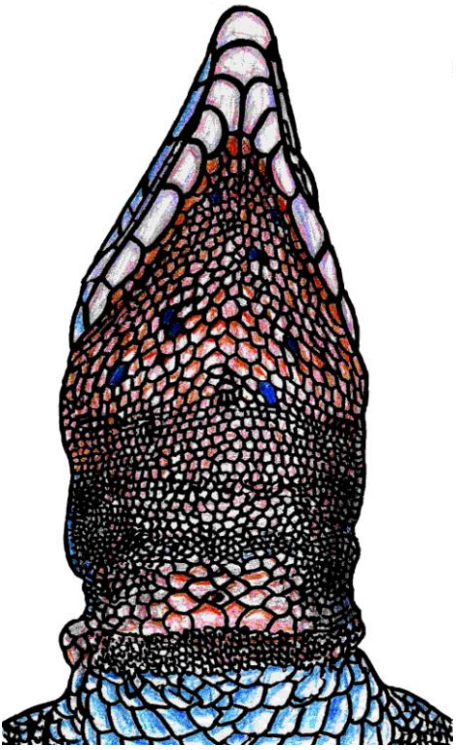
Presenta una coloración que va de azul intenso a negro azulado. No se observa.

**Zona gular:**

Con una fusión de color rosa y rojo.



Zona gular

<p style="text-align: center;"><i>Aspidoscelis gularis</i> <i>colossus</i></p> <p><b>Patrón dorsal:</b> Coloración verde olivo, con zonas oscuras de color marrón y puntos de color amarillo pálido distribuidos a lo largo del cuerpo. No se observa.</p> <p><b>Patrón ventral:</b> Presenta grandes manchas de color azul en las extremidades y la región ventral. No se observa.</p> <p><b>Zona gular:</b> Color anaranjado brillante con pocas manchas o puntos de color azul intenso.</p>	 <p style="text-align: center;">Zona gular</p>
--	---

En años recientes Walker *et al.* (2001), realizaron una evaluación de las poblaciones existentes en el estado de Chihuahua y regiones aledañas de los Estados Unidos y aunque los individuos de varias de ellas son colocados dentro de *A. g. septemvittata* y *A. g. scalaris*, señalan la existencia de organismos con patrones de coloración diferentes a los mostrados por los taxones actualmente descritos y sugieren una colecta más intensa de estas lagartijas para poder definir claramente la situación taxonómica de los integrantes del complejo.

La clasificación de Walker (1981a y b), a pesar de ser la propuesta más utilizada, ha sido criticada ampliamente por considerar la existencia de subespecies. Sin embargo, en el análisis filogenético del género *Aspidoscelis* realizado por Reeder *et al.* (2002), los taxones

*A. g. gularis*, *A. g. scalaris* y *A. g. septemvittata*, aparecen estrechamente relacionados, por lo que Reeder *et al.* (2002) decidieron aceptar la propuesta de Walker hasta que no hubiera más evidencia sobre las relaciones al interior de dicho complejo. De lo expuesto anteriormente, se desprende la necesidad de llevar a cabo una colecta más intensa de los ejemplares del complejo *A. gularis* a lo largo de toda su área de distribución y realizar un análisis filogenético formal, que ayude a resolver los problemas que ha generado el tratamiento taxonómico tradicional de estos organismos. Por lo anterior, en el presente trabajo se pretende delimitar a los taxones que integran al complejo *Aspidoscelis gularis* y establecer las relaciones filogenéticas entre ellos.

## **CONCEPTO DE ESPECIE**

Durante el último siglo la cuestión de la delimitación de las especies ha sido un problema para la biología, esto se debe en gran medida al problema que implica el concepto de especie, pues existen alrededor de 24 conceptos diferentes, de los cuales, la tercera parte han sido propuestos en los últimos quince años (Mayden, 1997; De Quiroz, 1998; Harrison, 1998). Muchos de los conceptos que han sido propuestos, son parcialmente incompatibles y una de las principales razones de la incompatibilidad, tiene que ver con las características en que se basan. Las diferencias existentes en los conceptos se deben principalmente a la diversidad de los grupos biológicos y a los intereses de las personas que los propusieron, sin embargo, todos los conceptos se basan en características biológicas importantes (De Quiroz, 2007).

Desde el siglo antepasado y durante el siglo XX los taxones del complejo *Aspidosecelis gularis* fueron delimitados bajo el concepto biológico de especie, propuesto por Dobzhansky (1937) y Mayr (1942; 2000) el cual define a las especies como grupos de

poblaciones naturales entrecruzables que se encuentran reproductivamente aisladas de otros grupos. Este fue el concepto que se utilizó para establecer a las especies del complejo *Aspidoscelis gularis* y proponer los distintos reacomodos que han sufrido sus taxones, aunque los caracteres de escutelación y de coloración fueron de gran importancia en la delimitación de los mismos.

Recientemente De Queiroz (2007) señaló que los diferentes conceptos de especie exhiben una unidad conceptual subyacente que constituye la base para un “concepto unificado de especie”, que permita abordar los problemas de la delimitación de las especies de una manera más sencilla. Este concepto unificado de especie debe de incluir un elemento común, es decir la clave para la conciliación de los conceptos en la identificación de las especies, lo que implica a su vez un concepto de especie más general; sin embargo los intentos que se han hecho con la finalidad de resolver el problema del concepto de especie han tendido a oscurecer en lugar de solucionar el problema, debido a que se ha hecho mayor hincapié en las diferencias que existen entre los distintos conceptos más que en las similitudes (De Queiroz, 2007).

Prácticamente todos los conceptos de especie contemporáneos equiparan a las especies con poblaciones o linajes, o más exactamente, con segmentos de los linajes a nivel de la población (De Queiroz, 2005b). En este sentido, un linaje se entiende como una línea de ascendencia y descendencia directa y no como un clado o grupo monofilético, es decir que los linajes están formados por entidades biológicas a diferentes niveles de organización (De Queiroz, 2005b), esto se debe a que los linajes y no sólo los linajes a nivel de población, sino los de otros niveles de organización, son las entidades que realmente evolucionan (Hull, 1980).



Por lo tanto, el concepto unificado de especie debe de conservar el elemento común (linajes metapoblacionales evolutivamente separados) y tratar esta propiedad como la única característica necesaria de las especies, eliminando los conflictos, (De Quiroz, 1998, 1999, 2005a, 2005b, 2005c).

Por lo mencionado anteriormente en el presente trabajo se utilizó el concepto unificado de especies propuesto por De Quiroz (2007) el cual define a las especies como un linaje metapoblacional, separado evolutivamente de otros linajes y no necesariamente tienen que ser fenotípicamente distinguibles, diagnosticables, reproductivamente aislados, monofiléticos y divergentes desde un punto de vista ecológico, ya que sólo tienen que estar evolucionando por separado de otros linajes.

## **DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES**

Aunque las especies son vistas como la unidad fundamental en casi todas las áreas de la biología, resulta sorprendente saber, que se ha prestado poca atención a los métodos y datos utilizados para el reconocimiento y delimitación de las mismas (Wiens, 1999). Tradicionalmente, los datos morfológicos eran utilizados para delimitar a las especies y siguen siendo ampliamente utilizados en la actualidad; sin embargo, resultan poco eficientes en grupos en los que la variación morfológica es mínima. En este contexto el desarrollo de nuevos métodos de comprobación de hipótesis para la delimitación de especies, han dejado a un lado los criterios tradicionales basados únicamente en caracteres morfológicos (Wiens y Penkrot, 2002; De Quiroz, 2007).

Algunos métodos para la delimitación de las especies se desarrollan en el contexto de la teoría de la coalescencia (Knowles y Carsten, 2007), basándose en la información de los árboles de genes. Por ejemplo, el método de David y Nixon (1992) consiste en dos

análisis filogenéticos para reconocer y delimitar a las especies. El primero, denominado Análisis de Agregación Poblacional (PAA), intenta separar grupos de acuerdo con atributos que puedan ser únicos en una población determinada (fijación de alelos en las poblaciones). El segundo, es el análisis de Agregación Cladística de Haplotipos (CHA), el cual agrupa las poblaciones que tienen haplotipos idénticos en una sola especie filogenética. En estos análisis se propone el uso de marcadores moleculares y en particular de secuencias de genes para la generación de topologías.

Actualmente, se han propuesto métodos basados en el análisis del DNA para la delimitación de las especies, utilizando particularmente secuencias de DNA mitocondrial (mtDNA; Templeton, 2001; Wiens y Penkrot, 2002). Por su evolución rápida, el mtDNA ha sido utilizado para investigar las relaciones entre poblaciones de la misma especie, así como las relaciones entre especies estrechamente relacionadas (Avice, 2000; Sperling, 2003). El método propuesto por Wiens y Penkrot en el 2002 se basa en las filogenias de los haplotipos de mtDNA no recombinante de localidades conocidas para un conjunto de poblaciones de especies potencialmente separadas (Sites y Crandall, 1997). El método requiere de una filogenia de haplotipos de DNA no recombinantes (de localidad y designación taxonómicas conocidas) para una serie de poblaciones previamente asignadas a una misma especie (la especie focal de un estudio) y de una o más especies estrechamente relacionadas. Se considera que una serie de haplotipos procedentes de una localidad dada no constituyen una especie si en el árbol filogenético no constituyen un grupo exclusivo (se utiliza el término exclusivo en lugar de monofilético debido a que este último término no aplica por abajo del nivel de especie; Wiens y Penkrot, 2002). Esta situación sugiere la existencia de flujo génico con haplotipos de otras localidades. Asimismo, la falta de concordancia entre clados de haplotipos y el área geográfica de los mismos sugiere la

existencia de flujo génico. Por ejemplo, se asume la existencia de flujo génico si algunos haplotipos de Australia se agrupan con haplotipos de Nueva Guinea en lugar de que los haplotipos de cada región formen grupos mutuamente exclusivos. De este modo, el método utiliza la topología del árbol para valorar si un clado está o no integrado por una determinada serie de poblaciones que excluye a poblaciones de clados distintos (criterio de exclusividad).

Recientemente se han desarrollado métodos para examinar el efecto de los patrones históricos de migración y dispersión sobre la distribución de genes, integrando la información genealógica y de distribución para hacer inferencias sobre los patrones históricos de flujo génico entre poblaciones (*e.g.* Hudson, 1990; Templeton *et al.*, 1995; Avise, 2000; Cruzan y Templeton, 2000; Templeton, 2004).

Uno de estos métodos es el de “Redes de Haplotipos” que muestra las relaciones intraespecíficas en una red, lo que permite describir las relaciones reticuladas (y no jerárquicas), entre haplotipos además de incluir la frecuencia gráfica de los haplotipos e inferir haplotipos faltantes (Templeton, *et al.*, 1992; Clement 2000; Posada y Crandall, 2001; Muwakina *et al.*, 2003; Excoffier *et al.*, 2005). A diferencia de los árboles bifurcados tradicionales, este método permite describir las relaciones evolutivas en forma de árboles multiramificados, en los cuales un haplotipo único puede dar origen a varios haplotipos, creando lo que se conoce como “redes”, particularmente como redes mínimas de haplotipos, es decir, conexiones entre haplotipos dadas por el mínimo número posible de mutaciones entre ellos (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009).

Dado que se trabaja con filogenias de haplotipos a nivel intraespecífico (y no a nivel interespecífico), las cuales casi no presentan recombinación, pueden tener muy poca variación e implican un tiempo evolutivo mucho menor, para esto, Templeton *et al.* (1992)

proponen un método conocido como parsimonia estadística, que toma en cuenta estas particularidades. Clement *et al.* (2000) desarrollaron un software conocido como TCS (“*Phylogenetic network estimation using statistical parsimony*”); que permite estimar redes filogenéticas a partir de secuencias de DNA o de matrices nucleotídicas, utilizando el algoritmo de Templeton *et al.* (1992). Este algoritmo estima el número máximo de diferencias de pares de bases entre secuencias que pueden atribuirse a una serie de mutaciones únicas en cada sitio de la secuencia; número al que se conoce como límite de parsimonia (con una confianza mayor o igual al 95 %).

Una vez que se estima el límite de parsimonia, el algoritmo conecta los haplotipos que difieren por una sola mutación, seguido de los que difieren por dos mutaciones, luego tres y así sucesivamente, hasta que se alcance el límite o hasta que se unan todos los haplotipos. Dando como resultado final una red que muestra las relaciones entre todos los haplotipos con base en el número mínimo de mutaciones (Clement *et al.* 2000). Sin embargo, el TCS no conecta a la red los haplotipos que difieren por un número de pares de bases que exceda dicho límite, debido al supuesto de posible homoplasia, sin embargo, el límite puede excederse por otras razones, como un tamaño pequeño de muestra (e. g. número de haplotipos), o un muestreo sesgado geográficamente, ya sea por falta de haplotipos o huecos en la distribución del taxón bajo estudio (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009).

Actualmente se está haciendo uso de criterios de información geográfica para la delimitación de especies, ya que se considera que este tipo de información es crucial debido a que casi todas las especies presentan variación geográfica (De Queiroz y Good, 1997). Este tipo de información puede ser de gran utilidad para la obtención de las primeras aproximaciones de los taxones analizados. Sin embargo con este tipo de información

geográfica resulta necesario poder distinguir discontinuidades verdaderas de la diferenciación que se produce dentro de las especies como resultado de fenómenos como clinas o aislamiento (Gabriel y Sokal, 1969; Sokal y Oden 1978a, 1978b; Sokal, 1979; De Queiroz, 1998).

## JUSTIFICACIÓN

El complejo *Aspidoscelis gularis* está compuesto por diversos taxones, descritos y no descritos, que varían en sus patrones de coloración, pero muy similares en cuanto a escutelación. Lo anterior condujo a la formación de una especie politípica constituida por diversas subespecies. Dado que esta es una propuesta criticada ampliamente, en el presente estudio se propone hacer un análisis filogenético formal que permita conocer el número real de especies que conforman a este complejo, distribuido en la Altiplanicie Mexicana, haciendo énfasis en la región del Valle de Cuatrociénegas, Coahuila, ya que es el sitio donde se distribuyen varias de las subespecies que lo integran.

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Delimitar a los taxones que integran al complejo *Aspidoscelis gularis* (descritos y no descritos) e investigar las relaciones filogenéticas entre ellos, mediante el análisis de las secuencias de los genes mitocondriales ND<sub>2</sub> y Cyt B.

### **PARTICULARES**

1. Investigar las relaciones filogenéticas entre las especies del complejo *A. gularis*, mediante inferencia bayesiana

2. Establecer el número de especies que están constituyendo al complejo *A. gularis* con base en la filogenia.

# MÉTODOS

## DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

### 1. ALTIPLANO MEXICANO

El Altiplano Mexicano o Altiplanicie Mexicana, se extiende desde la actual frontera entre México y Estados Unidos hacia el sur, abarcando parte o la totalidad de los territorios de los estados de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Durango, Zacatecas; San Luis Potosí, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, México, Tlaxcala, Puebla, Jalisco, Michoacán y el Distrito Federal. Gran parte del Altiplano está por encima de los 2000 msnm, la elevación va decreciendo hacia el norte hasta llegar a aproximadamente 1000 msnm en los límites de la frontera entre ambos países. Fisiográficamente el Altiplano Mexicano consta de 2 partes, la superficie de las tierras altas y el sistema montañoso que las bordea, limitado por la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre Occidental y el Eje Volcánico Transversal (West, 1964 a y b).

West (1964 a) señaló que la superficie del Altiplano, estaba compuesta de 2 zonas: La primera, nombrada como Mesa del Norte o Altiplanicie Septentrional, cubre dos tercios áridos y semiáridos del altiplano en el norte y se extiende desde la frontera entre México y Estados Unidos, hasta aproximadamente los estados de Aguascalientes y San Luis Potosí. Es un área extensa de plegamientos y fallas montañosas sumergidas por depósitos aluviales profundos que forman extensas cuencas planas. Usualmente, el norte de esta región es considerada una extensión de la topografía del “*basin and range*” de Estados Unidos. Al menos dos rasgos fisiográficos mayores pueden distinguirse en la Mesa del Norte: a) Un área semiárida de conos volcánicos separados por cuencas aluviales altas adyacentes a la Sierra Madre Occidental y b) la zona central baja, la parte este de la meseta y las áreas



semiáridas con características de tierras desérticas y cuencas interiores. Dichas áreas se extienden del este de la Sierra Madre Occidental y las cercanías del suroeste de Zacatecas y al noroeste del distrito de Casa Grandes en Chihuahua. Como elementos hidrológicos incluye el paleolago de Santiaguillo al suroeste de Zacatecas y norte de San Luis Potosí, los paleolagos de Parras, la Laguna del Mayran recientemente desecada y las planicies del Guadiana.

La segunda, nombrada como Altiplanicie Meridional o Mesa Central, cubre el último tercio hacia el sur y se caracteriza por ser una zona más alta y húmeda. Esta zona es una región con características volcánicas por excelencia. La actividad volcánica se presentó principalmente durante el Pleistoceno y en algunas localidades continúa hasta la actualidad, lo cual ha influenciado en gran medida su configuración actual. Cubriendo el borde sur del Altiplano se encuentra una serie de volcanes altos, cuyo conjunto es conocido como el Eje Volcánico Transversal. Los picos mayores a 3800 msnm muestran evidencia de las glaciaciones del Pleistoceno y recientes. Dentro de la zona se pueden observar numerosas áreas de fracturas, también se encuentra un gran número de cuencas y cuerpos de agua de diversos tamaños (tanto endorreicos como exorreicos), formados en su mayoría por taponamiento de ríos debido a la actividad volcánica. Asimismo, se observa un gran número de sedimentos lacustres que varían en extensión y profundidad, lo que hace suponer la existencia de un gran número de lagos que fueron secados por la acumulación de sedimentos (West, 1964 a y b).

## **2. VALLE DE CUATROCIÉNEGAS, COAHUILA**

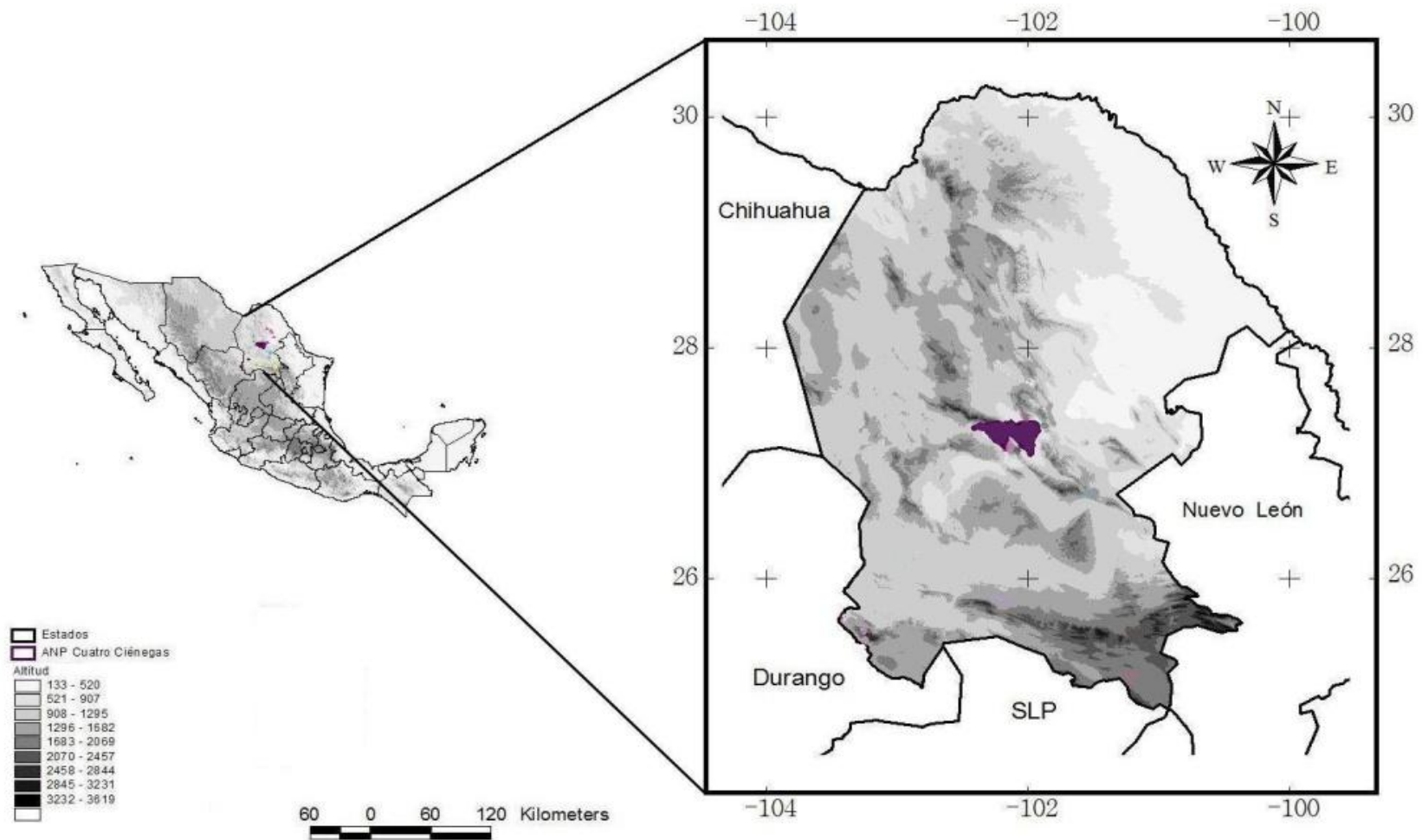
El Valle de Cuatrociénegas se localiza en la Altiplanicie Septentrional de la Altiplanicie Mexicana, en la zona centro de Coahuila, se decretó como Área Natural Protegida en la categoría de Área de Protección de Flora y Fauna, debido a su alto grado de endemismos, derivado de un ambiente relictivo en una cuenca endorreica delimitada por las sierras La Madera, La Manchaca, Agua Chiquita, La Purísima, San Marcos y Pinos y La Fragua (INE-SEMARNAP, 1999; FIR, 2002). También es considerado el humedal más importante dentro del desierto Chihuahuense y uno de los humedales más importantes en México, por lo que se encuentra clasificado como sitio RAMSAR (FIR, 2002).

### **2.1. DESCRIPCIÓN GEOGRÁFICA**

Cuatrociénegas se ubica entre la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental, entre las coordenadas 26° 42' 10" y 27° 00' 03" Norte y 101° 52' 00" y 102° 25' 12" Oeste y una altitud entre los 700 msnm cubriendo una superficie de 843 km<sup>2</sup> (Figura 1).

### **2.2. CLIMA**

El clima es de los tipos (BWhw) muy árido, semicálido, con temperaturas entre 18 °C y 22 °C y (BSohw) árido, semicálido, con temperaturas entre 18 °C y 22 °C, de acuerdo con el sistema de clasificación de Köppen, modificado por García (1988). Las precipitaciones pluviales son escasas y se presentan principalmente en verano, con una variación entre 100 y 440 mm.



**Figura 1.** Dentro del polígono de color morado se localiza la región del Valle de Cuatrociénegas, Coahuila, entre las coordenadas  $26^{\circ} 42' 10''$  y  $27^{\circ} 00' 03''$  latitud Norte y  $101^{\circ} 52' 00''$  y  $102^{\circ} 25' 12''$  longitud Oeste.

### **2.3. FISIOGRAFÍA**

Fisiográficamente, Cuatrociénegas forma parte de la Provincia de la Sierra Madre Oriental y dentro de esta, de la subprovincia denominada Sierras y Llanuras Coahuilenses. En esta subprovincia predominan sierras de roca caliza de origen Mesozoico y de origen sedimentario marino, que dieron origen a levantamientos serranos abruptos compuestos de rocas calizas, alternando con valles intermontanos orientados de noroeste a sureste, en su mayoría escarpadas y pequeñas (INE-SEMARNAP, 1999).

### **2.4. HIDROLOGÍA**

El Valle de Cuatrociénegas es parte de la Región Hidrológica Bravo-Conchos, dentro de la Cuenca Presa Falcón-Río Salado, correspondiendo a la Subcuenca Río Salado-Nadadores. Así mismo, el valle se encuentra dentro de la zona geohidrológica llamada Cuatrociénegas-San Miguel, en la cual se han identificado dos fuentes de agua subterráneas. Originalmente el valle formaba una cuenca cerrada, por lo que es posible que se formaran pantanos y áreas inundadas someras en la parte más baja. Debido a esta característica existen numerosos cuerpos de agua conocidos localmente como pozas, que brotan de manantiales, sus diámetros van desde menos de un metro hasta más de cien, las profundidades de los mismos van desde 50 cm hasta 18 m, algunas de las pozas están comunicadas natural o artificialmente entre sí. La mayor parte de los manantiales se ubican en las faldas de la Sierra de San Marcos y Pinos, formando alrededor de 200 pozas dentro del valle. También se encuentran algunos arroyos, como el Río Mezquites, la mayoría de los cuales son permanentes, sin embargo, la mayor parte del agua es subterránea (Minckley, 1969; INE-SEMARNAP, 1999).

## 2.5. SUELOS

En esta zona dominan los litosoles, de color pardo y textura media, asociados a otros suelos (rendzinas) más profundos y oscuros que subyacen a material calcáreo y se ubican en las regiones más altas. También se encuentran los litosoles asociados con regosoles calcáreos. Por su origen, los suelos presentan grandes cantidades de sales disueltas del tipo carbonatos, sulfatos y yesos (López, 1984; INE-SEMARNAP, 1999).

## 2.6. VEGETACIÓN

La vegetación del Valle de Cuatrociénegas se encuentra repartida entre pastizal halófilo y vegetación acuática en el suelo de la cuenca; mientras que en la zonas de las dunas de yeso se albergan especies endémicas de plantas gypsófilas, además de matorral xerófilo y matorral submontano en las partes más elevadas. Por efecto de su clima y suelos, el valle presenta asociaciones vegetales características del desierto Chihuahuense (Pinkava, 1984), las cuales se describen a continuación:

a) Matorral desértico rosetófilo: Localizado en las partes bajas de las sierras y hasta una altitud de 1,100 msnm Se caracteriza por presentar diferentes especies de agaves, entre los que se encuentran la lechuguilla (*Agave lechuguilla*), yucas (*Yucca spp.*), sotoles (*Dasyilirion spp.*), además del ocotillo (*Fouquieria splendens*), sangre de drago (*Jatropha dioica*) y candelilla (*Euphorbia antisyphilitica*).

b) Matorral desértico micrófilo: Presente principalmente en las bajadas de la sierra. Las especies que lo caracterizan son la gobernadora (*Larrea tridentata*), ocotillo (*Fouquieria splendens*), nopal (*Opuntia bradtiana*), sangre de drago (*Jatropha dioica*), corona de cristo (*Koeberlinia spinosa*), mezquite (*Prosopis glandulosa*) y huizache (*Acacia greggii*).

c) Matorral desértico de transición: Conforman una banda estrecha entre el matorral desértico micrófilo y el pastizal halófilo. Las especies más abundantes son el huizache (*Acacia greggii*), mezquite (*Prosopis glandulosa*), saladillo (*Suaeda mexicana*), hielito yodoso (*Allenrolfea occidentalis*), rodadora (*Salsola iberica*) y algunos zacates como *Atriplex canescens* y *Sporobolus sp.* Es importante mencionar que dentro de éstos tipos de vegetación se encuentra una gran abundancia de cactáceas.

d) Vegetación halófila: Este tipo de vegetación está formada por un conjunto de hierbas de hojas pequeñas y carnosas, con alturas menores a un metro, que muchas veces están asociadas con especies del pastizal halófito; resistentes a suelos con gran concentración de sales y mal drenaje. A este tipo de vegetación se le encuentra predominantemente en el piso del valle. Se presenta de dos formas: Pastizal halófilo, en el que dominan las especies de gramíneas, principalmente *Distichlis spicata*, *Clappia suaedaefolia*, *Suaeda mexicana*, *Sporobolus airoides* y Quenopodial, en el que predominan *Salicornia sp.*, *Atriplex canescens*, *Cynodon dactylon* y *Atriplex acanthocarpa*, el mezquite (*Prosopis glandulosa*) suele estar presente en cualquiera de los dos tipos de vegetación.

e) Vegetación gypsófila: Se localiza al sudoeste del valle, en los alrededores del sistema fluvial Churince. Las especies más comunes son la yuca (*Yucca treculeana*), mezquite (*Prosopis glandulosa*), sotol (*Dasyllirion palmeri*), nopal (*Opuntia spp.*), ocotillo (*Fouquieria splendens*), efedra (*Ephedra trifurca* y *Sedum sp*) y algunas especies de compuestas.

f) Áreas sin vegetación aparente: Las conforman pequeñas áreas que se localizan alrededor de la Laguna Churince y de las salinas situadas al norte y este del valle, donde abunda el zacate pata de gallo (*Cynodon dactylon*) y algunas compuestas que se encuentran dispersas.

g) Vegetación acuática y semiacuática: Distribuida ampliamente en el valle asociada a cuerpos de agua, alrededor de la Sierra de San Marcos y Pinos. Compuesta principalmente por *Nymphaea ampla* y *Chara spp.* En las orillas de los ríos, lagunas, pozas y manantiales son comunes los tules (*Typha dominguensis*), y otras especies como *Eleocharis sp.* y *Juncus torreyi* (Pinkava, 1984).

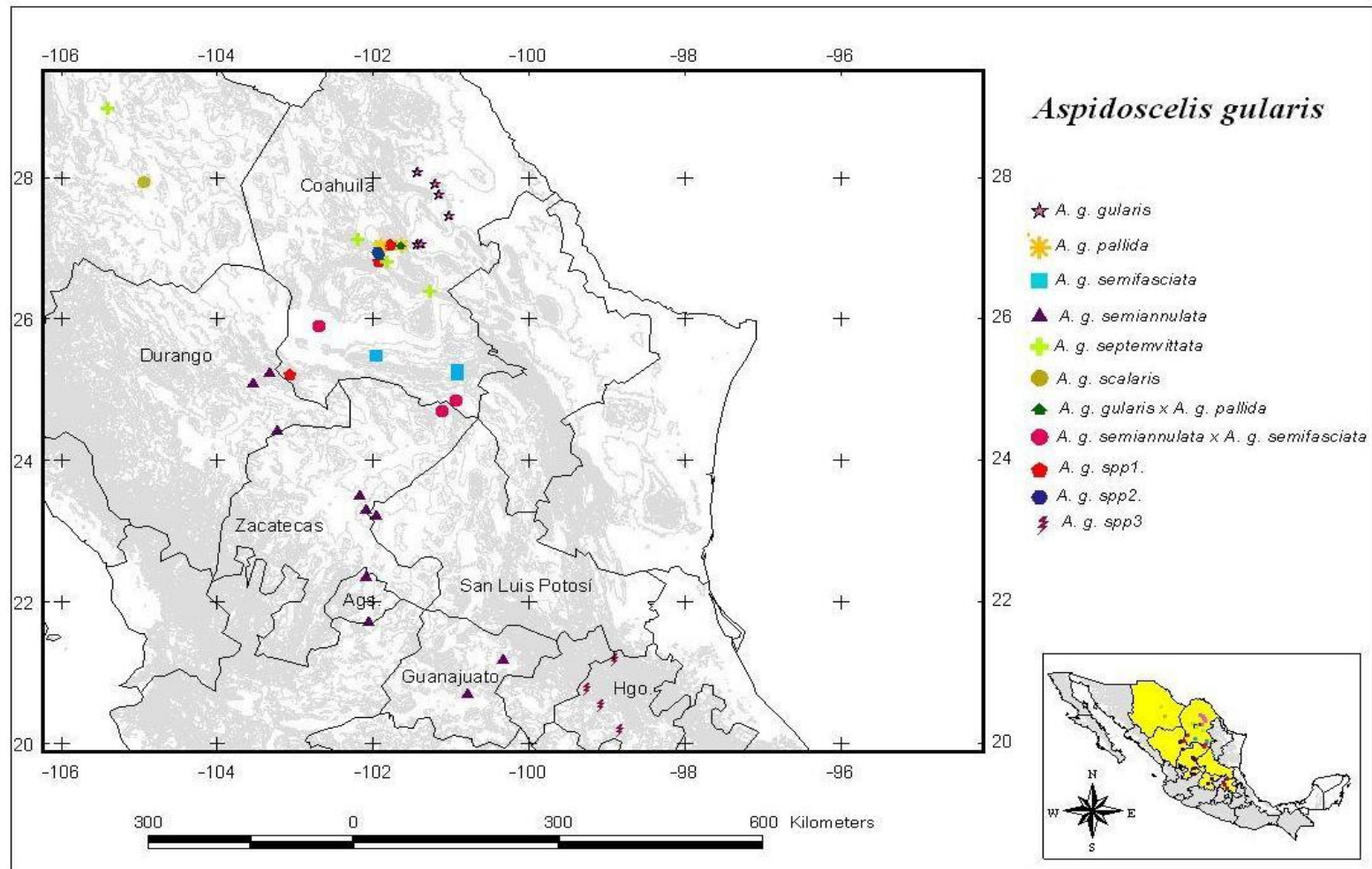
## TRABAJO DE CAMPO

Se llevaron a cabo seis salidas de campo, con el fin de recolectar muestras de *Aspidoscelis gularis* de la región de Cuatrociénegas en el Estado de Coahuila, así como de representantes de todos los taxones del complejo, a lo largo de su área de distribución.

Se obtuvieron un total de 83 individuos de las subespecies del complejo *A. gularis*, que corresponden a los taxones *A. gularis gularis*, *A. g. pallida*, *A. g. semiannulata*, *A. g. septemvittata*, *A. g. semifasciata*, ejemplares que de acuerdo con Walker (1981 a), se tratan de híbridos entre los taxones *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* y *A. g. gularis* x *A. g. pallida* y ejemplares de taxones que no han sido descritos (figura 2). Además, se incluyeron ejemplares de *A. angusticeps* de Quinta Roo y Campeche y *A. motaguae* de Chiapas como grupos externos (anexo A). La captura de los ejemplares se llevó a cabo con la ayuda de bandas elásticas, rifle y una trampa de intercepción.

Los ejemplares recolectados fueron sacrificados mediante una sobredosis de anestésico y posteriormente fijados y preservados con base en las técnicas estándar empleadas para reptiles (Casas *et al.*, 1991). Los tejidos (hepático y muscular) extraídos para llevar a cabo el análisis molecular fueron conservados en alcohol etílico absoluto y almacenado a -70 °C en un ultracongelador, hasta su tratamiento. Los ejemplares recolectados se encuentran depositados en la colección de Anfibios y Reptiles del Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y la Colección Herpetológica del Museo de Zoología, de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.





**Figura 2.** Localidades en las que se recolectaron los taxones que integran al complejo *Aspidoscelis gularis*

## **TRABAJO DE LABORATORIO**

### **1. SELECCIÓN DEL MARCADOR MOLECULAR**

El análisis filogenético se llevó a cabo a partir de las secuencias de los genes codificantes del DNA mitocondrial (mtDNA) que corresponden a la subunidad 2 de la NADH-deshidrogenasa (ND<sub>2</sub>) y al citocromo B (Cyt B), con aproximadamente 1800 pares de bases en conjunto, ya que han resultado ser altamente variables e informativos en estudios filogenéticos a nivel de especie y entre taxones estrechamente relacionados en varias familias de lagartijas, incluyendo Anguidae (Macey *et al.*, 1999), Scincidae (Reeder, 2003), Teiidae (Reeder *et al.*, 2002) y Lacertidae (Fu *et al.*, 2000).

Para la obtención de las secuencias, se llevaron a cabo los siguientes pasos: Extracción del DNA genómico, amplificación de los marcadores Cyt B y ND<sub>2</sub>, purificación del DNA amplificado, reacción de secuenciación, purificación de las reacciones de secuenciación y secuenciación.

### **2. EXTRACCIÓN Y AMPLIFICACIÓN DEL DNA**

La extracción del DNA genómico se llevó a cabo a partir de pequeños fragmentos de tejido muscular o hepático, mediante la técnica de acetato de amonio (Anexo B), que es un procedimiento diseñado para extraer DNA a partir de mudas de reptiles, pero que genera DNA de calidad alta con cualquier otro tipo de tejido (Fetzner, 1999).

Posteriormente se llevó a cabo la amplificación del DNA, mediante el método de la reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction* o PCR) descrito por Palumbi (1996) y los oligonucleótidos (*primers*) publicados por Reeder *et al.* (2002), Fu *et al.* (2000) y algunos diseñados para este estudio (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Secuencias de los *primers* utilizados para amplificar los genes mitocondriales ND<sub>2</sub> y Cyt B

NOMBRE	SECUENCIA	AUTOR
tMetR	5'-AAG CTY TYG GGC CCA TAC CCC GA-3'	Reeder <i>et al.</i> , 2002
tAla	5'-CTT AAT KAA GTG TKT GAG TTG CAT TCA G-3'	Reeder <i>et al.</i> , 2002
ND <sub>2</sub>	5'-CAY CTV TGA YTR CCA GAA GTW ATA CA-3'	Reeder <i>et al.</i> , 2002
ND <sub>2</sub> R	5'-GGR GGW YTR CCY CCA ATA ACA GG-3'	Presente estudio
ND2 GF	5'-TAA TAG CAA CAC TAT CTA TYA TTA T-3'	Presente estudio
ND2 GR	5'-TGT TAA TGT TAT AAA TAT TGT TGT-3'	Presente estudio
B1	5'-CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3'	Fu <i>et al.</i> , 2000
B4	5'-TTG CTG GGC TGA AGT TTT CTG GCT C-3'	Fu <i>et al.</i> , 2000
CytB GF	5'-TAC TAG GAY TAA CAC TAR TCA TYC-3'	Presente estudio
CytB GR	5'-TGG CTC TCM TAR TAT RTT TGG T-3'	Presente estudio
CytB F2	5'-GGC CTA TTC CTA GCA ATA CAC TAY A-3'	Presente estudio
CytB R2	5'-GAG GAC AAT GGT TAT GAA RAT T-3'	Presente estudio

Con la finalidad de visualizar los productos de la PCR, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% y una vez identificadas las bandas deseadas, se realizó la purificación del DNA por medio del método de Polietilen-glicol (PEG; Anexo B), que permite eliminar los productos que no fueron utilizados durante la PCR (*e. g. primers, dNTP's, etc.*).

### 3. REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN Y OBTENCIÓN DE LAS SECUENCIAS

Los fragmentos purificados fueron utilizados para llevar a cabo las reacciones de secuenciación, utilizando el kit BigDye 3.1 (Applied Biosystems; Anexo B). El DNA obtenido de la reacción fue purificado en *sephadex* utilizando columnas *Centri-sep* (Princeton Separations; Anexo B). Finalmente, las secuencias fueron obtenidas mediante un secuenciador automático *Applied Biosystems* de 16 capilares, modelo 3100, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

#### **4. ANÁLISIS DE DATOS**

Las secuencias de cada uno de los ejemplares de los taxones de este complejo y los taxones que fueron utilizados como grupos externos, fueron editadas y ensambladas utilizando el conjunto de programas Staden Package v. 1.5.3 (Staden, 1996). El alineamiento de las secuencias se realizó con el programa Clustal X 2.0.10 (Larkin *et al.*, 2007) y no presentó ambigüedades. Posteriormente, se llevó a cabo la edición de las secuencias con el programa Mega v. 4.0 (Tamura *et al.*, 2007). Finalmente, las secuencias de ambos genes fueron combinadas para producir una matriz de 1711 pares de bases (pb), a partir de la cual fueron realizados todos los análisis,

Para establecer el modelo de evolución de nucleótidos que mejor se ajustaba a los datos se utilizó el programa ModelTest v. 3.06 (Posada y Crandall, 1988). Para la matriz combinada de las regiones ND<sub>2</sub> y Cyt B, bajo el criterio de información de Akaike (AIC), se seleccionó el modelo evolutivo de Tamura-Nei + gamma + sitios invariables (TrN + I + G) debido a que fue el modelo que mejor se ajustó a los datos de ambos genes.

##### **4. 1. ANÁLISIS FILOGENÉTICO**

Las relaciones filogenéticas entre los miembros del complejo *Aspidoscelis gularis* se establecieron con el método de inferencia bayesiana. El análisis se llevó a cabo utilizando una matriz combinada conformada por 83 secuencias que corresponden a la región del gen mitocondrial codificante ND<sub>2</sub> y 83 secuencias parciales del gen mitocondrial codificante Cyt B.

Para llevar a cabo el análisis, se utilizó el programa MrBayes v. 3.0 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Con el fin de verificar que los árboles encontrados generaran una misma topología, el análisis se realizó dos veces de manera independientemente. Para cada análisis se utilizaron un total de cinco millones de

generaciones, con cuatro Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), llevándose a cabo un muestreo de árboles cada 1000 generaciones. Una vez eliminados los árboles iniciales (los encontrados antes de que el logaritmo de la verosimilitud alcanzara un óptimo y se estabilizara), los restantes fueron utilizados para generar un árbol de consenso de mayoría. En este consenso, el porcentaje de topologías que recobra un clado particular representa la probabilidad posterior de ese clado; es decir, la verdadera probabilidad de ese clado bajo el modelo de evolución asumido (Rannala y Yang, 1996). En consecuencia, se consideraron como significativamente apoyados los clados con probabilidades de 95% o mayores (Leaché y Reeder, 2002).

Como grupos externos, se utilizaron ejemplares de otros miembros del grupo *sexlineata*, *Aspidoscelis angusticeps* (Campeche y Quintana Roo) y *Aspidoscelis motaguae* (Chiapas).

## **4. 2. DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES**

Para la delimitación de las especies se utilizó el método basado en filogenias de haplotipos de mtDNA propuesto por Wiens y Penkrot (2002) y el método de redes de haplotipos utilizando el algoritmo de Templeton *et al.* (1992).

### **4. 2. 1. Árboles con mtDNA**

Este método considera filogenias de haplotipos de mtDNA no recombinante de localidades conocidas para un conjunto de poblaciones de especies potencialmente emparentadas (Sites y Crandall, 2003). El método usa la topología del árbol para evaluar si los clados mitocondriales que lo forman están restringidos a un conjunto de poblaciones geográficamente coherentes, que excluyan a los haplotipos de otras áreas (criterio de exclusividad), y en tal caso, se sugiere la presencia de varias especies.

Mientras que el hecho de que los haplotipos de una localidad no se agrupen, se interpreta como evidencia de flujo génico entre poblaciones y en consecuencia, de una sola especie. Además, es de importancia para el método: 1) incluir tantas especies estrechamente relacionadas con la especie focal (especie de estudio), como sea posible, para probar la exclusividad de la especie focal y 2) incluir dos o más individuos de tantas localidades como sea posible, para evaluar el flujo génico entre poblaciones (Wiens y Penkrot, 2002).

#### **4. 2. 2. Red de Haplotipos**

Para la reconstrucción de las redes de haplotipos se utilizó el programa TCS v1.21 (*phylogenetic network estimation using statistical parsimony*; Clement *et al.*, 2000), a partir de una matriz combinada conformada por las secuencias de los genes mitocondriales ND<sub>2</sub> y Cyt B, utilizando el algoritmo de Templeton *et al.* (1992), que estima el número máximo de diferencias de pares de bases entre secuencias que pueden ser atribuidas a una serie de mutaciones únicas en cada sitio de la secuencia, (límite de parsimonia, con un valor de confianza mayor o igual al 90 %).

Una vez que se estima el límite de parsimonia, el algoritmo conecta los haplotipos que difieren por una sola mutación, seguido de los que difieren por dos mutaciones, luego tres y así sucesivamente, hasta que se alcance el límite o hasta que se unan todos los haplotipos; Generando una red donde se muestran las relaciones entre todos los haplotipos con base en el número mínimo de mutaciones. Dichas conexiones entre los haplotipos representan eventos coalescentes por lo que pueden hacerse, las siguientes predicciones (Templeton *et al.*, 1987; Clement *et al.*, 2000; Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009):

- Los haplotipos con mayor frecuencia, tienen alta probabilidad de ser alelos ancestrales
- Los haplotipos que tienen múltiples conexiones, muy probablemente son ancestrales
- Dentro de la red, los haplotipos ancestrales son internos y los haplotipos nuevos tienen mayor probabilidad de encontrarse al final de la rama
- Se espera que los haplotipos ancestrales tengan una distribución geográfica amplia (debido a que han tenido más tiempo para dispersarse)
- Se prevé que los haplotipos con una conexión única estén unidos a haplotipos de la misma población (dado que han evolucionado recientemente y no han tenido tiempo para dispersarse)

## RESULTADOS

### RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA CON BASE EN LAS SECUENCIAS DE LOS GENES ND<sub>2</sub> Y Cyt B

Aunque se realizaron análisis independientes para cada uno de los genes (ND<sub>2</sub> y Cyt B) se optó por el análisis basado en la evidencia total de los dos genes debido a que los datos combinados han mostrado ser superiores al momento de la evaluación de las hipótesis filogenéticas (Kluge, 1989; Kluge, 1998; Nixon y Carpenter, 1996; Nixon y Ochoterena, 2001).

El análisis de Inferencia Bayesiana utilizando el modelo TrN + I + G, dio como resultado un árbol en que los integrantes del complejo *Aspidoscelis gularis* se distribuyen en cinco grupos principales (figura 3).

El grupo **I** es el más basal y se encuentra conformado por un solo clado (**a**) apoyado fuertemente (PP = 1), el cual está constituido por ejemplares de *A. g. semiannulata* de diferentes poblaciones. El clado más basal se compone de ejemplares de los Gallos (km. 6 al este del aeropuerto) en Aguascalientes y tiene como grupo hermano al clado formado por ejemplares de Juventino Rosas (km. 4.5 al noreste de Juventino Rosas) y San José Iturbide-Mineral de Pozos (km. 5.8 al sur de Mineral de Pozos), Guanajuato.

El grupo **II** es un clado bien apoyado (PP = 0.99) que está constituido por dos grupos principales. El clado (**b**) que está conformado por tres grupos. El más basal se encuentra formado por los ejemplares de *A. g. septemvittata* de Antiguos Mineros en Cuatrociénegas y es el grupo hermano del conformado por ejemplares de *A. g. septemvittata* de Cuatrociénegas, *A. g. pallida* de San José del Anteojo (Cuatrociénegas) y ejemplares de dos taxones no descritos (*A. g. spp2.*) de Cuatrociénegas, pertenecientes



a las poblaciones del Ejido de Nuevo Atalaya y Cuatrociénegas-Nuevo Atalaya (km. 18 al sur de Cuatrociénegas, frente a poza la Becerra) y de las montañas al norte del Ejido de Nueva Atalaya y de Ocampo-Cuatrociénegas (km 3), Coahuila. El clado (c) por otra parte, está conformado por individuos de *A. g. septemvittata* de Cuatrociénegas, *A. g. pallida* de San José del Anteojo (Cuatrociénegas), *A. g. pallida* de Cañón de Fernández y *A. g. pallida* y *A. g. gularis* x *A. g. pallida* de Cuatrociénegas-Monclova (km. 11 al oeste de Sacramento), Coahuila.

El grupo **III** está bien apoyado (PP = 1) y se encuentra conformado por un solo clado (d) constituido por ejemplares de *A. g. scalaris* de la Cruz (km. 3.5 al norte de la Cruz) en Chihuahua y *A. g. septemvittata* de Chihuahua-Ojinaga (km. 26 al este de Aldama), Chihuahua.

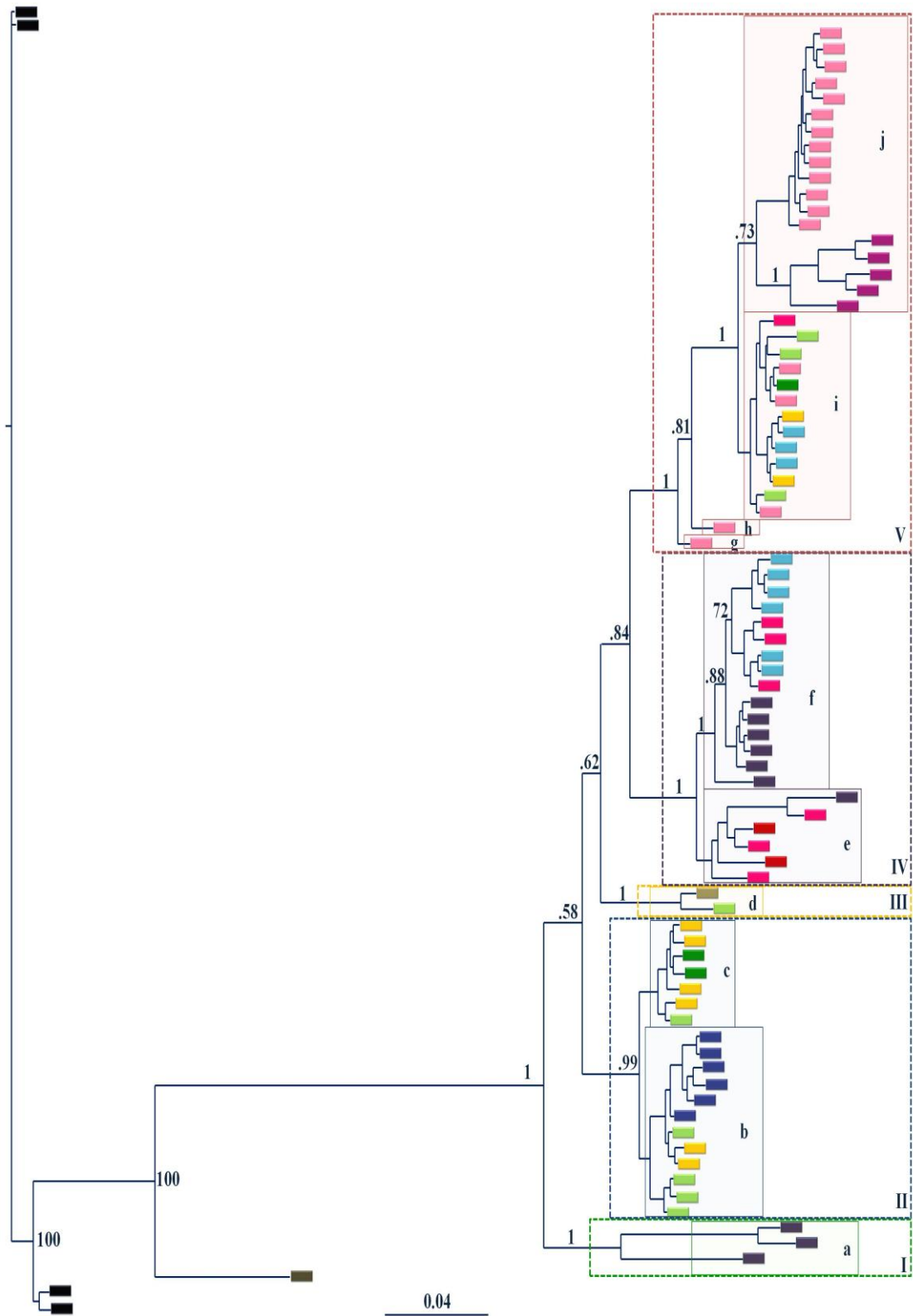
El grupo **IV** es un clado fuertemente apoyado (PP = 1) y está integrado por el clado (e) que se encuentra formado por ejemplares de *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* de San Pedro-Cuatrociénegas (Km. 15 al noreste de San Pedro, Coahuila), ejemplares de un taxón no descrito *A. g. spp1.* de San Pedro (Monclova, Coahuila) y de la Sierra de Jimulco (Torreón, Coahuila) y *A. g. semiannulata* de Cuencamé-Torreón (km. 22.2, al norte de Cuencamé, Durango). Este grupo tiene como hermano al clado (f) que presenta un grupo basal constituido por ejemplares asignados a *A. g. semiannulata* de La Unión-Cuencamé (km. 25.4, al suroeste de Nazareno), Durango y un grupo más inclusivo formado por dos clados pequeños, uno de ellos, está constituido por ejemplares de *A. g. semiannulata* de Zacatecas-Aguascalientes (Km. 11.5 al norte de Rincón de Ramos, Aguascalientes), Villa de Cos-Illesca (km. 5.5 al este de Villa de Cos, Zacatecas), Villa de Cos-Cañitas de Felipe Pescador en Zacatecas, de Illesca-el Barril en San Luis Potosí, y de Aldama-Cuencamé (km. 12.5 al norte de Miguel Auza, Durango) y el otro, está formado por individuos de *A. g. semiannulata* x *A. g.*

*semifasciata* de Saltillo-Concepción de Oro (km. 39 al noreste de Concepción de Oro), *A. g. semifasciata* de Agua Nueva (Saltillo), Coahuila, *A. g. semiannulata x A. g. semifasciata* de Saltillo-Concepción de Oro (km. 13.5 al noreste de Concepción de Oro), Zacatecas y a *A. g. semifasciata* de Parras-Saltillo (alrededores de Parras) Coahuila.

El grupo **V** es un clado bien apoyado (PP = 1), que está constituido por cuatro subclados. Los grupos más basales (**g**) y (**h**) están integrados por distintos ejemplares de *A. g. gularis*, de Sacramento-Monclova (km. 3.5 al este de Nadadores), Coahuila. El clado más inclusivo, es el mayor de todos y está conformado por dos grupos principales. El clado (**i**), está integrado por ejemplares pertenecientes a varios los de taxones descritos tradicionalmente para el complejo *A. gularis*, con poca divergencia entre ellos. El grupo más basal dentro del clado **i** está formado por individuos de *A. g. septemvittata* de Dolores-Estanque de Norias y *A. g. gularis* de Sacramento-Monclova (km. 3.5, al este de Nadadores), en Coahuila. El clado más inclusivo dentro de (**i**), está formado por dos clados, uno de ellos constituido por ejemplares de *A. g. pallida* del Cañón de Fernández (Cuatrociénegas, Coahuila) y *A. g. semifasciata* de Saltillo–Agua Nueva (km. 20.5 del sureste de Saltillo) y el otro, está integrado por ejemplares de *A. g. semiannulata x A. g. semifasciata* de Saltillo-Concepción de Oro (km. 39, al noreste de Concepción de Oro), Coahuila, *A. g. gularis* de Sacramento-Monclova (km. 16, al este de Sacramento, Coahuila) y *A. g. gularis x A. g. pallida* de Cuatrociénegas-Monclova (km. 11, al oeste de Sacramento, Coahuila) y *A. g. septemvittata* de la población de Dolores-Estanque de Norias en Coahuila.

Finalmente, se encuentra el clado (**j**) que está conformado por dos grupos, uno de ellos constituido por ejemplares de *A. g. gularis* de Melchor Múzquiz-Monclova, Melchor Múzquiz-Las Rusias (km. 24.1, al noroeste de Melchor Múzquiz), Palau-Minas

de Barroteran, Mota de Corona y de Sacramento-Monclova (km. 16, al este de Sacramento) en Coahuila, y tiene como grupo hermano al clado formado por individuos de un taxón no descrito *A. g. spp3*, provenientes del sur, oeste y noroeste del estado de Hidalgo.

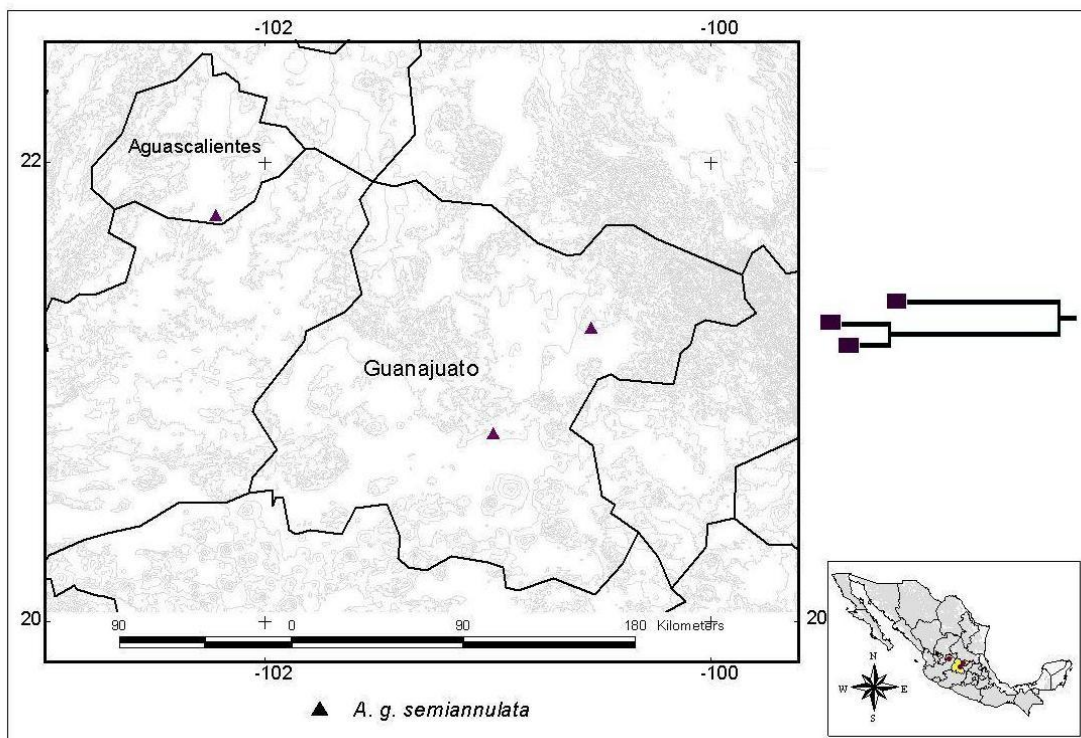


**Figura 3.** Filograma generado a partir de las secuencias de las regiones ND<sub>2</sub> y Cyt B en el que se muestran las relaciones filogenéticas entre los taxones del complejo *A. gularis*. *A. g. pallida* (■), *A. g. gularis* (■), *A. g. scalaris* (■), *A. g. semifasciata* (■), *A. g. semiannulata* (■), *A. g. septemvittata* (■), *A. g. gularis* x *A. g. pallida* (■), *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* (■), *A. g. spp1.* (■), *A. g. spp2.* (■), *A. g. spp3.* (■). Los números sobre las ramas indican las probabilidades posteriores.

## DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES CON BASE EN LAS FILOGENIAS DE HAPLOTIPOS DEL MTDNA

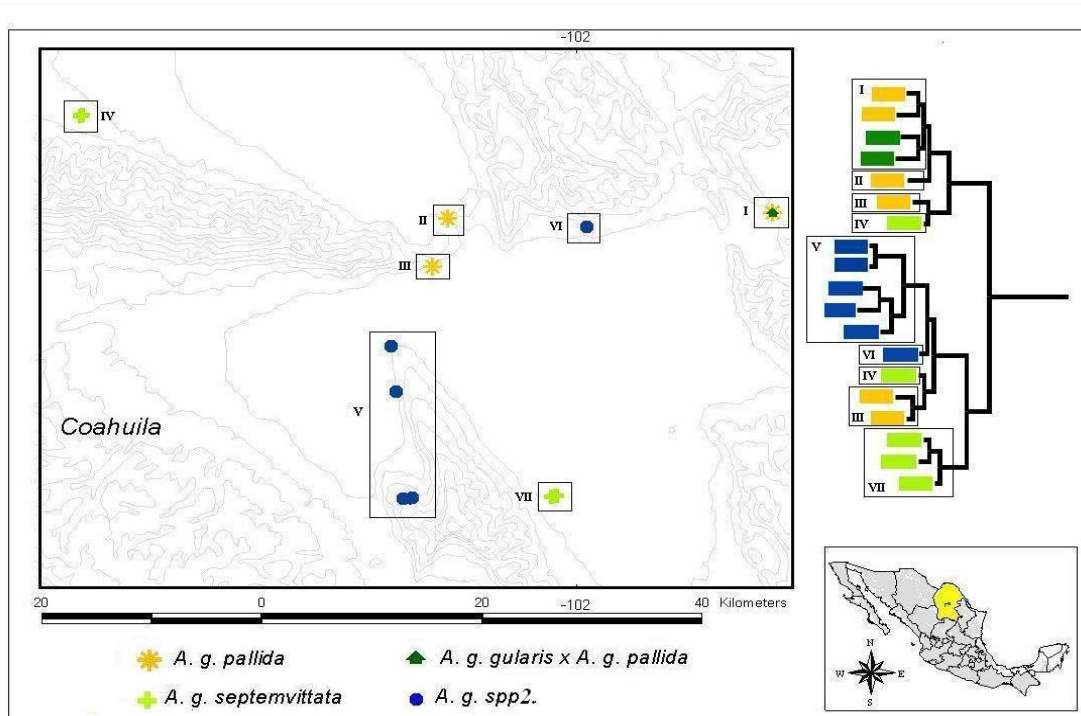
Aunque ninguno de los taxones del complejo *Aspidoscelis gularis* resultó ser exclusivo, se puede observar una congruencia alta entre las relaciones filogenéticas de los integrantes del complejo y su distribución geográfica.

En la figura 4, se observan los haplotipos de los ejemplares pertenecientes a *A. g. semiannulata*, que habitan al suroeste del Altiplano. El clado muestra las relaciones de los individuos de las poblaciones de los Gallos (km. 6 al norte del aeropuerto) en Aguascalientes y de Juventino Rosas (km. 4.5 al noreste de Juventino Rosas) y San José Iturbide-Mineral de Pozos (km. 5.8 al sur de Mineral de Pozos) en Guanajuato. Las relaciones filogenéticas son congruentes con la geografía, pues las dos poblaciones de Guanajuato son las que se encuentran relacionadas más cercanamente.



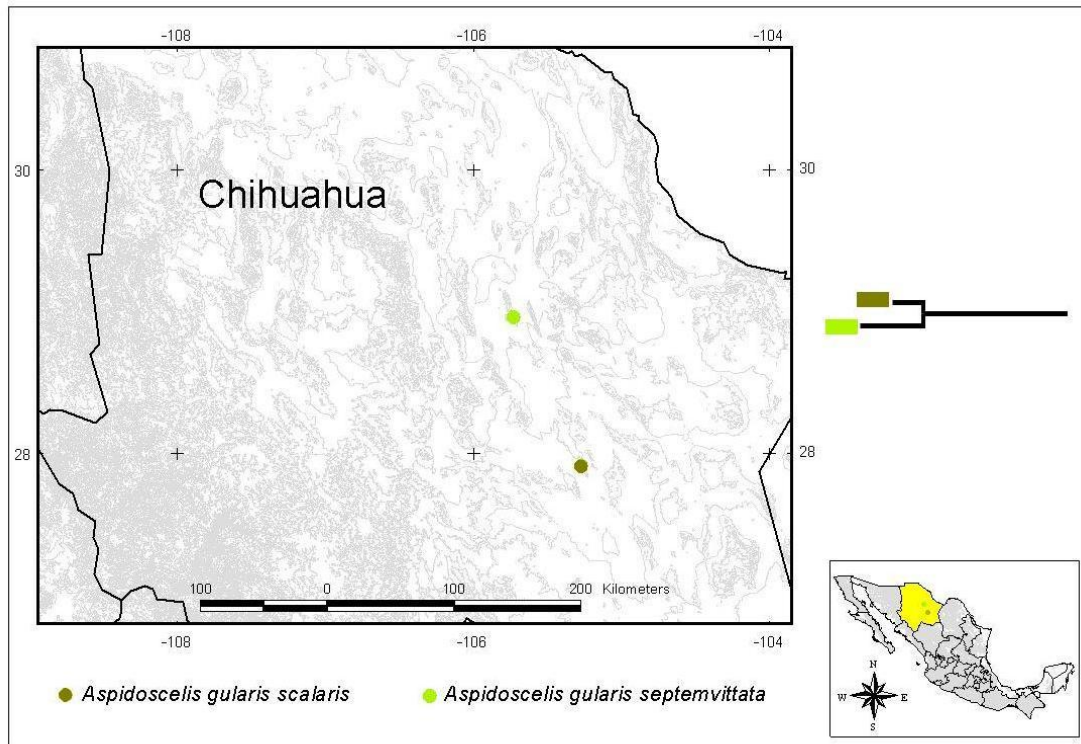
**Figura 4.** Correlación filogenética y geográfica. La filogenia corresponde al grupo I del filograma y muestra las relaciones entre diversas poblaciones de *A. g. semiannulata* (■) y la correspondencia geográfica de las mismas, al suroeste del área de distribución del complejo.

En la figura 5, se observan las relaciones del grupo formado por ejemplares provenientes de diversas poblaciones del Valle de Cuatrociénegas. En el clado se pueden observar dos grupos que están integrados por poblaciones de *A. g. pallida* y a los supuestos híbridos entre *A. g. gularis* x *A. g. pallida* de Cuatrociénegas-Monclova (km. 11 al oeste de Sacramento), *A. g. pallida* de Cañón de Fernández, *A. g. pallida* de San José del Anteojo, *A. g. septemvittata* de Cuatrociénegas, *A. g. spp2.* de las poblaciones pertenecientes al Ejido de Nueva Atalaya, Cuatrociénegas-Nueva Atalaya (km. 18, al sur de Cuatrociénegas, frente a poza la Becerra), ejemplares de las montañas al norte del Ejido de Nueva Atalaya y de Ocampo-Cuatrociénegas (km. 3), Coahuila y los taxones de *A. g. septemvittata* de Antiguos Mineros. Ninguno de los dos clados presenta taxones exclusivos, contrariamente, ejemplares de las poblaciones III de *A. g. pallida* de San José del Anteojo y IV de *A. g. septemvittata* de Cuatrociénegas (Coahuila) se encuentran distribuidas en ambos clados.



**Figura 5.** Correlación filogenética y geográfica. La filogenia muestra las relaciones entre, *A. g. gularis* x *A. g. pallida* (■) *A. g. pallida* (★) *A. g. septemvittata* (★), *A. g. spp2.* (■) en el grupo II del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas.

En la figura 6, se muestran las relaciones entre *A. g. scalaris* de la Cruz (km. 3.5 al norte de la Cruz) y *A. g. septemvittata* del noreste de Chihuahua-Ojinaga (km. 26 al este de Aldama) en Chihuahua y su correspondencia geográfica, al noroeste del Altiplano.

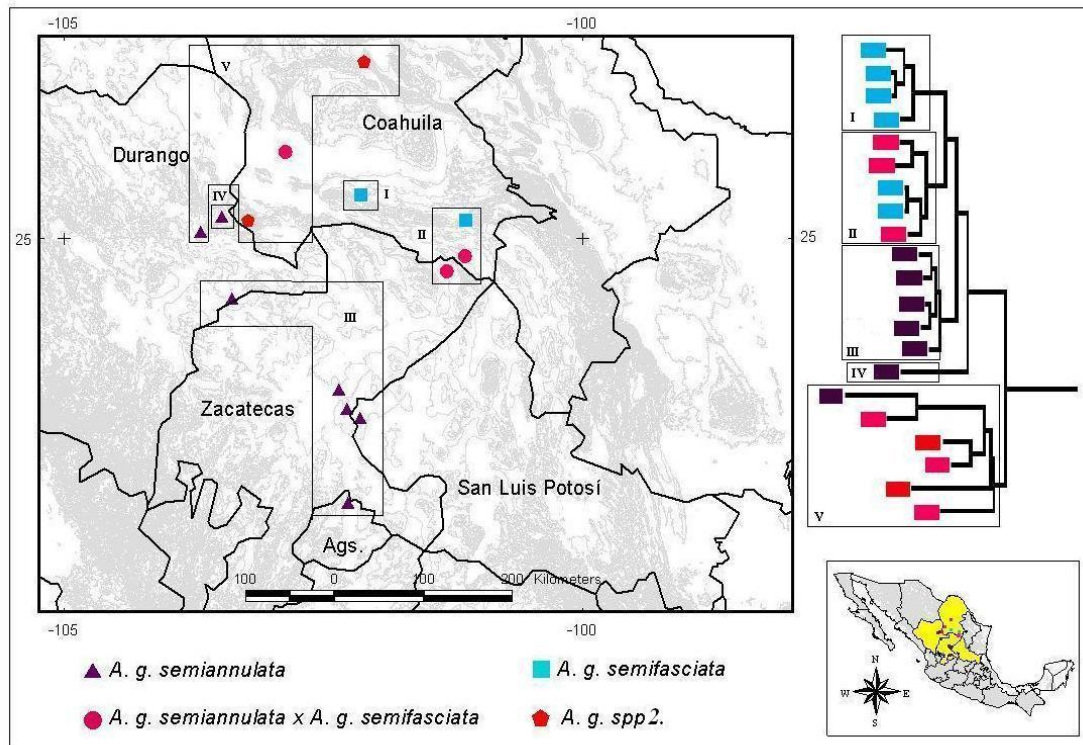


**Figura 6.** Correlación filogenética y geográfica. La filogenia muestra las relaciones entre *A. g. scalaris* (■), *A. g. septemvittata* (■) en el grupo III del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas.

La figura 7, muestra el clado formado por ejemplares de diversas poblaciones de *A. g. semifasciata*, *A. g. semiannulata*, los supuestos híbridos entre estos dos taxones y un taxón no descrito. Este grupo se compone de dos clados que son congruentes con la geografía, uno de ellos se distribuye al noreste de Durango, el centro y suroeste de Coahuila y está integrado por *A. g. semiannulata* de la población de Cuencamé-Torreón (km. 22.2 al norte de Cuencamé, Durango), *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* (de San Pedro-Cuatrociénegas, Coahuila) y el taxón no descrito de las poblaciones de San

Pedro-Monclova (San Isidro) y de la Sierra de Jimulco en el ejido La Flor de Jimulco (Torreón), Coahuila. El otro, distribuido al sur-sureste de Coahuila, norte y centro de Zacatecas, noroeste de San Luis Potosí y norte de Aguascalientes, se compone de *A. g. semiannulata* (de las poblaciones de Aldama-Cuencamé (km. 12.5 al norte de Miguel Auza, Durango), Illesca-el Barril en San Luis Potosí, Villa de Cos-Cañitas de Felipe Pescador en Zacatecas, Villa de Cos-Illesca (km. 5.5 al este de Villa de Cos, Zacatecas), Zacatecas-Aguascalientes (Km. 11.5 al norte de Rincón de Ramos, Aguascalientes) y de La Unión-Cuencamé (km. 25.4, al suroeste de Nazareno), Durango, *A. g. semifasciata* (de las poblaciones de Parras-Saltillo (alrededores de Parras) y Agua Nueva, Coahuila) y ejemplares de las poblaciones señaladas como híbridas de estos dos taxones (de las poblaciones de Saltillo-Concepción de Oro (km. 39 al noreste de Concepción de Oro), Coahuila y de Saltillo-Concepción de Oro (km. 13.5 al noreste de Concepción de Oro), Zacatecas). Cada uno de estos clados, está integrado por haplotipos exclusivos, que como se señaló antes son congruentes con la geografía.

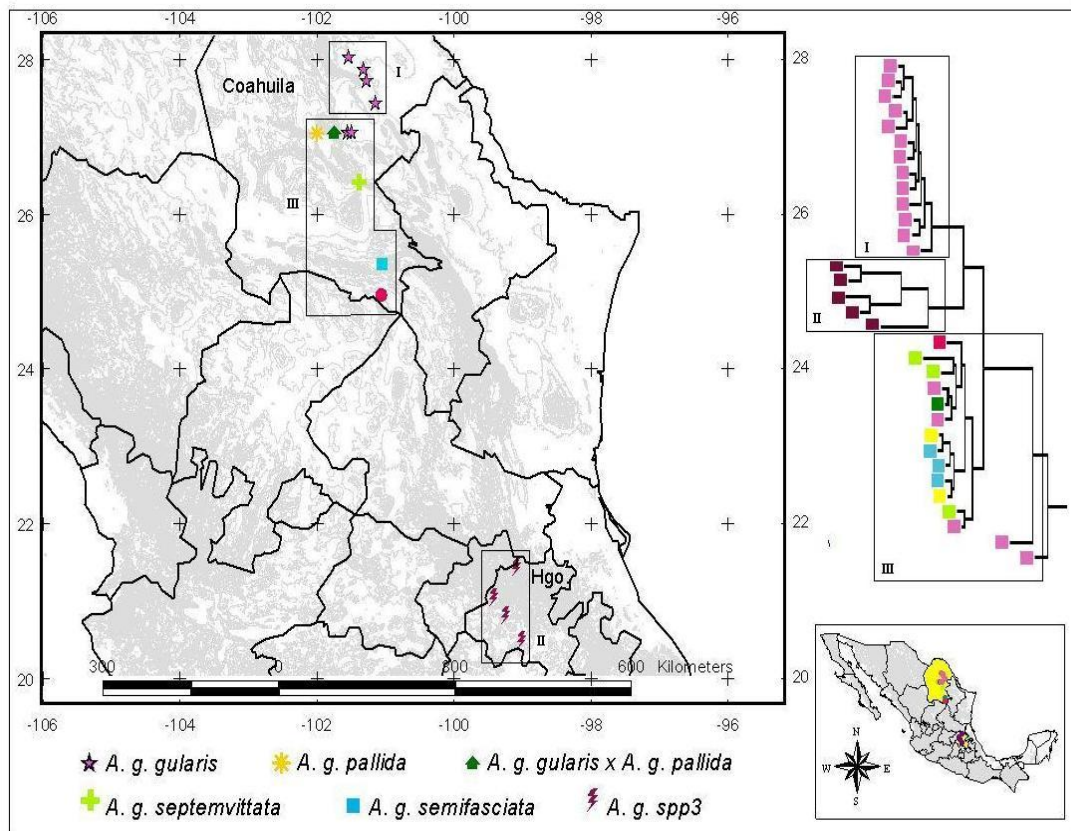




**Figura 7.** Correlación filogenética y geográfica. La filogenia muestra las relaciones entre *A. g. semifasciata* (■), *A. g. semiannulata* (▲), *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* (■) y *A. g. spp1*. (■) en el grupo IV del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas.

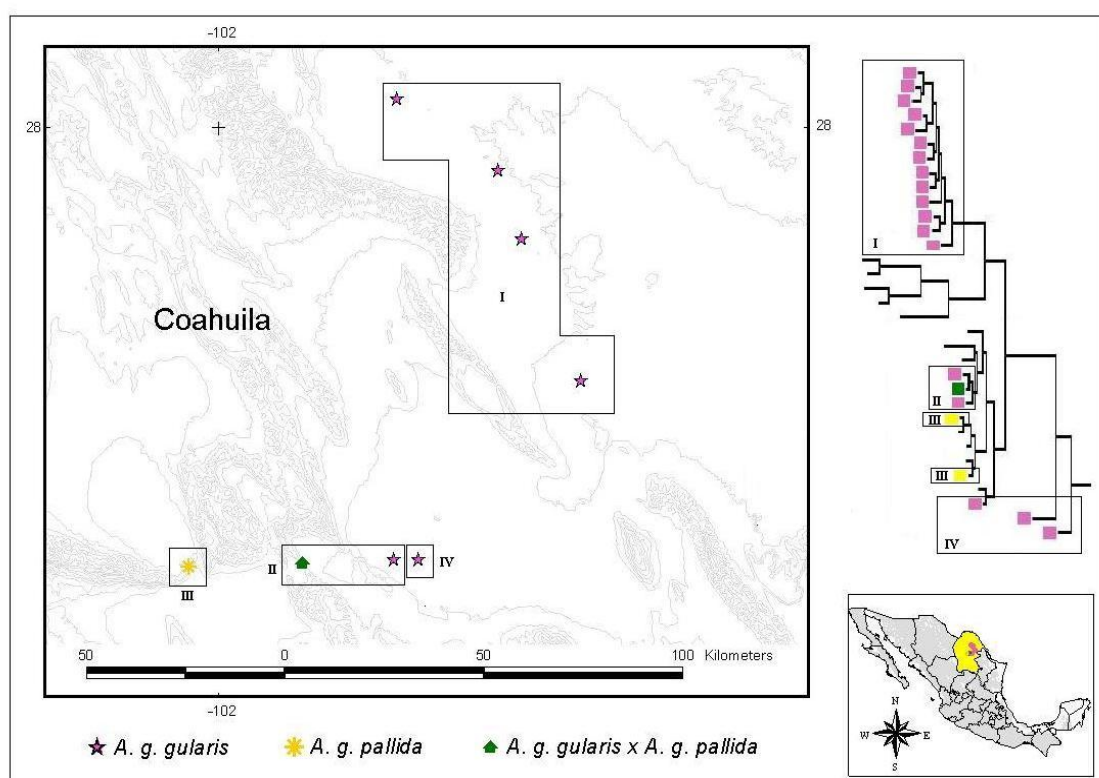
En la figura 8, se muestra el clado formado por prácticamente todos los taxones del complejo *A. gularis* descritos al norte de su distribución. Dentro del clado existe un grupo formado por miembros de *A. g. gularis* (de las poblaciones de Sacramento-Monclova km. 16, al este de Sacramento y Sacramento-Monclova km. 3.5 al este de Nadadores), *A. g. pallida* (del Cañón de Fernández en Cuatrociénegas), los híbridos entre estos taxones (de la población de Cuatrociénegas-Monclova, km. 11, al oeste de Sacramento), *A. g. septemvittata* (de la población de Dolores-Estanque de Norias), *A. g. semifasciata* de Saltillo–Agua Nueva (km. 20.5 del sureste de Saltillo) y los híbridos entre *A. g. semiannulata* y *A. g. semifasciata* (de Saltillo-Concepción de Oro, km. 39, al noreste de Concepción de Oro), que se distribuye al sudeste de Coahuila. Además, se presenta un grupo constituido por ejemplares de *A. g. gularis* del noreste de Coahuila (de las poblaciones de Melchor Múzquiz-Monclova, Melchor Múzquiz-Las Rusias (km.

24.1, al noroeste de Melchor Múzquiz), Palau-Minas de Barroterán, Mota de Corona y de Sacramento-Monclova km. 16, al este de Sacramento) y miembros de un taxón no descrito distribuido en el estado de Hidalgo (de las poblaciones de la Tauna, Zimapán, el Carrizal en Ixmiquilpan, Santa María en San Agustín Tlaxiaca, Huasca y Miraflores en el municipio de Pisaflores). Ambos clados son congruentes con la geografía y están integrados por haplotipos exclusivos.



**Figura 8.** Correlación filogenética y geográfica. La filogenia muestra las relaciones entre *A. g. pallida* (■), *A. g. gularis* (★), *A. g. septemvittata* (◆) y *A. g. spp3* (⚡) en el clado V del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas, así también se muestran las relaciones entre *A. g. gularis* x *A. g. pallida* (◆), *A. g. pallida* (★), *A. g. semifasciata* (■), *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* (■) y *A. g. septemvittata* (◆) en el grupo V del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas.

En la figura 9 se observa a detalle la distribución geográfica de los taxones de *A. gularis* en el Valle de Cuatrociénegas, mostrándose dos clados, el primero se ubica al noreste del Valle de Cuatrociénegas, formado por taxones de *A. g. gularis*, de las poblaciones de Melchor Múzquiz-Monclova, Melchor Múzquiz-las Rusias (km. 24.1, al noroeste de Melchor Múzquiz), Palau-Minas de Barroterán, Mota de Corona y de Sacramento-Monclova km. 16, al este de Sacramento), mientras que el segundo está ubicado al centro del Valle de Cuatrociénegas, y se encuentra formado por *A. g. gularis* de las poblaciones de Sacramento-Monclova (km 16 al este de Sacramento) y Sacramento-Monclova (km 3.5 al este de Nadadores), *A. g. pallida* de la población del Cañón de Fernández y el supuesto híbrido formado por estas dos de la población de Cuatrociénegas-Monclova (km. 11 al oeste de Sacramento), Coahuila.



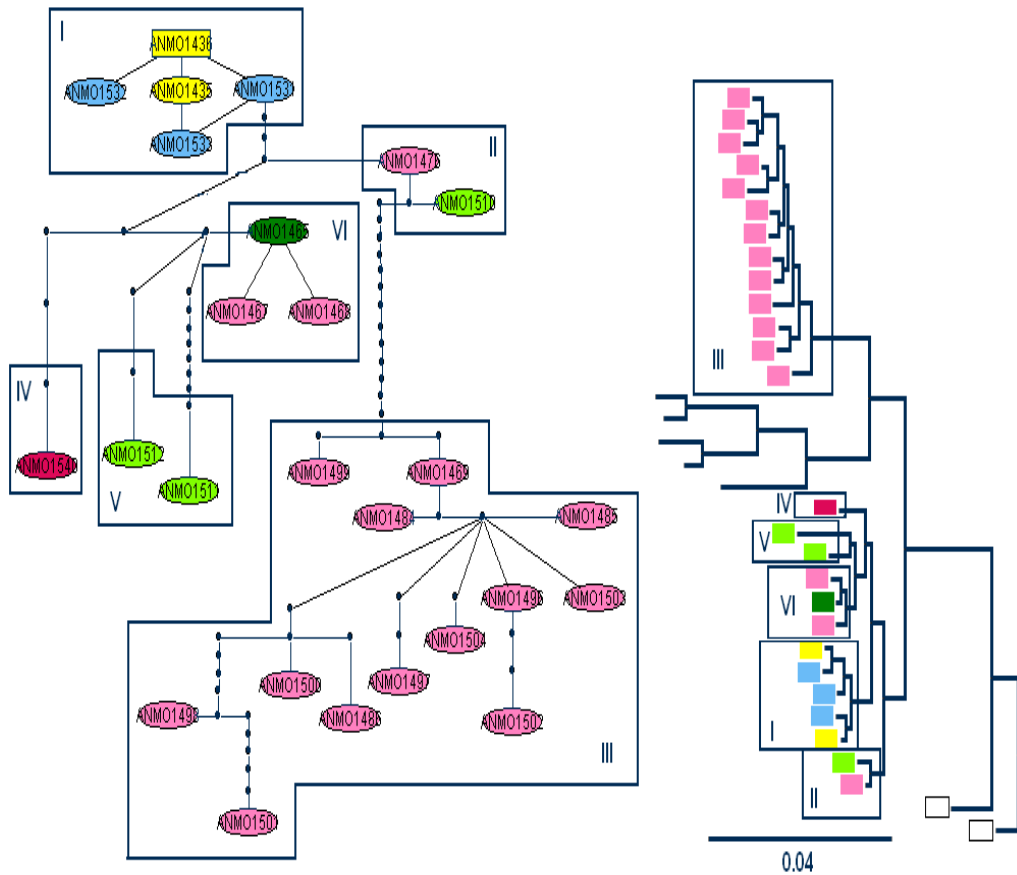
**Figura 9.** Correlación filogenética y geográfica. La filogenia muestra las relaciones entre *A. g. pallida* (■), *A. g. gularis* (■), *A. g. gularis* x *A. g. pallida* (■), en el clado V del filograma y la correspondencia geográfica de las mismas.

## DELIMITACIÓN DE ESPECIES CON BASE EN REDES DE HAPLOTIPOS

Se obtuvieron tres redes de haplotipos a partir de la matriz combinada de las secuencias de los genes mitocondiales ND2 y CytB. En la genealogía generada por medio de las redes de haplotipos se observa cierta correlación con los clados observados en el filograma, así como con la distribución geográfica de los distintos taxones de *A. gularis* con lo que se puede inferir los posibles procesos evolutivos que dieron origen a dicha distribución.

A partir de la red mínima de haplotipos A (figura 10) se puede establecer que existen algunos haplotipos ancestrales (marcados como círculos negros), que son los que se encuentran al interior de la red, mientras que los haplotipos nuevos, son los periféricos ('de punta'). En este último caso se encuentran la mayor parte de los haplotipos de los taxones de *A. gularis* de Cuatrociénegas y sus alrededores. Al igual que en el filograma, las redes de haplotipos muestran clados conformados por diferentes subespecies de *A. gularis*, tal es el caso del grupo I (dentro de la red A), que está formado por los taxones *A. g. pallida* del Cañón de Fernández (Cuatrociénegas, Coahuila) y *A. g. semifasciata* de Saltillo-Agua Nueva (km. 20.5, al sureste de Saltillo) en Coahuila. Otro clado que se observa en ambas topologías es el grupo II que se encuentra constituido por los taxones de *A. g. gularis* de Sacramento-Monclova (km. 16, al este de Sacramento) y *A. g. septemvittata* de Dolores-Estanque de Norias (Coahuila). La red también muestra que los haplotipos de una misma población suelen ser haplotipos de conexión única, como en el caso de los haplotipos de *A. g. gularis* (grupo III) de distintas poblaciones del Valle de Cuatrociénegas, Coahuila. También se observa dentro de la red mínima de haplotipos A, el grupo IV conformado por el taxón *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* de Saltillo-Concepción de Oro (km. 39 al noreste de Concepción de Oro), Coahuila, el grupo V conformado por taxones de *A. g.*

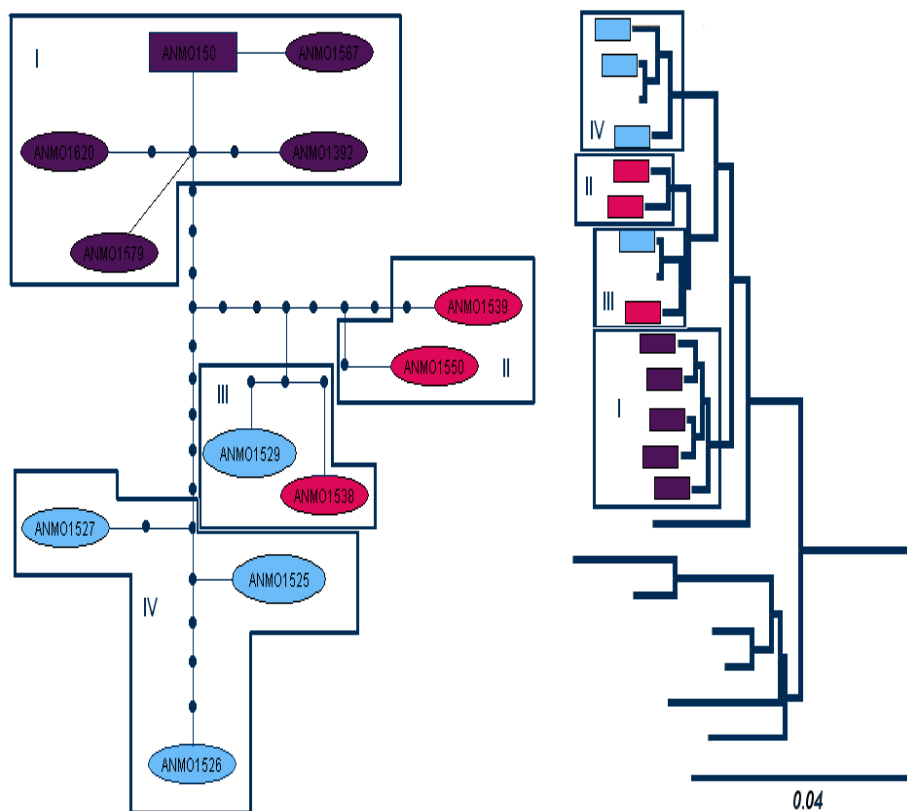
*septemvittata* de Dolores-Estanque de Norias, Coahuila y finalmente el grupo VI conformado por los taxones de *A. g. gularis* x *A. g. pallida* de Cuatrociénegas-Monclova (km. 11 al oeste de Sacramento) y *A. g. gularis* de Sacramento-Monclova (km. 16, al este de Sacramento), Coahuila.



**Figura 10.** Red mínima de haplotipos (A) en las que se muestran las conexiones entre haplotipos. Los círculos negros muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que han desaparecido.

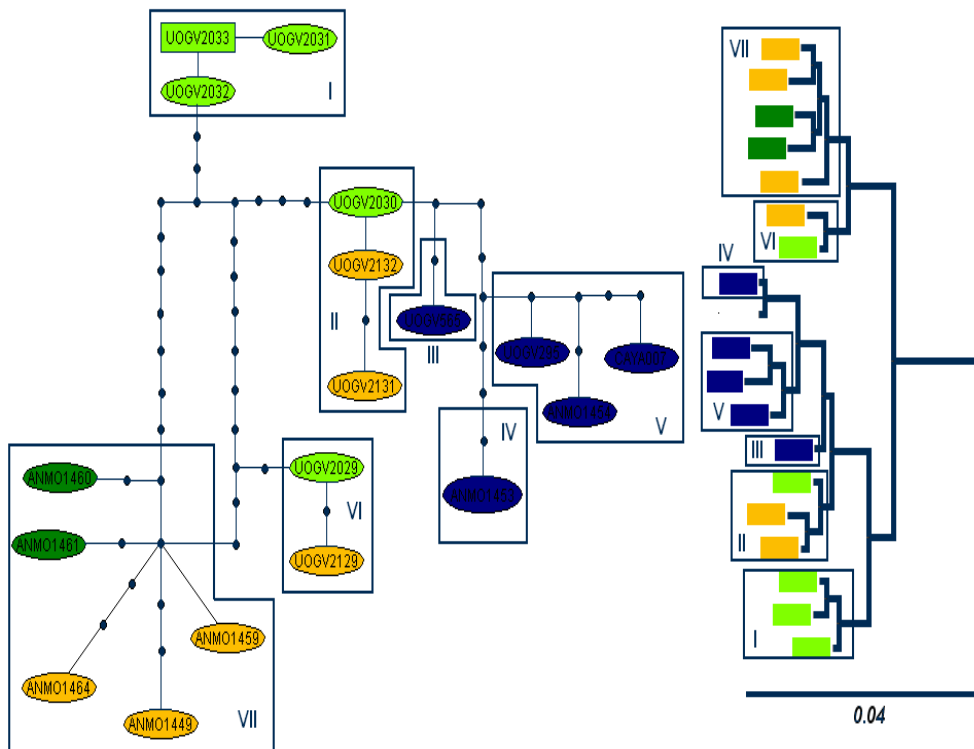
Con base en la topología de la red B (figura 10) se puede observar el grupo I, conformado por los taxones *A. g. semiannulata* de las poblaciones de Aldama-Cuencamé (km. 12.5 al norte de Miguel Auza, Durango), Illesca-el Barril en San Luis Potosí, Villa de Cos-Cañitas de Felipe Pescador en Zacatecas, Villa de Cos-Illesca (km. 5.5 al este de Villa de Cos, Zacatecas) y de Zacatecas-Aguascalientes (Km. 11.5 al norte

de Rincón de Ramos, Aguascalientes). También se puede establecer que los haplotipos encontrados tienen mayor probabilidad de ser haplotipos nuevos ya que se encuentran en las puntas, tal es el caso de las muestras de los taxones, del grupo II, *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* de las poblaciones de Saltillo-Concepción de Oro (km. 39 al noreste de Concepción de Oro), Coahuila y de Saltillo-Concepción de Oro (km. 13.5, al noreste de Concepción de Oro), Zacatecas, el grupo III conformado por los taxones de *A. g. semifasciata* de Agua Nueva (Coahuila) y *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* de Saltillo-Concepción de Oro (km. 39 al noreste de Concepción de Oro), Coahuila. Finalmente se observa el grupo IV conformado por los taxones de *A. g. semifasciata* de la población de Alrededores de Parras en Coahuila.



**Figura 11.** Red mínima de haplotipos (B) en donde se muestran los distintos taxones que la están integrando, así como su ubicación en el filograma. Los círculos negros muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que han desaparecido.

La red de haplotipos C (figura 11) muestra las conexiones entre los haplotipos de uno de los clados basales de la filogenia del complejo *A. gularis* y con base en ella, se puede establecer que los haplotipos del taxones *A. g. pallida* pudieran ser los más ancestrales, dado que presentan conexiones múltiples. También se observan los diferentes haplotipos de *A. gularis*, en el grupo I conformado por los taxones de *A. g. septemvittata* de Antiguos Mineros (Valle de Cuatrociénegas, Coahuila), el grupo II conformado por los taxones de *A. g. septemvittata* de Cuatrociénegas, Coahuila y *A. g. pallida* de San José del Anteojo (Valle de Cuatrociénegas, Coahuila), también se observa el grupo III conformado únicamente por el taxón de *A. g. spp1.* de Ocampo-Cuatrociénegas, Coahuila, mientras que el grupo IV se encuentra conformado por el taxón *A. g. spp2.* de Cuatrociénegas-Nuevo Atalaya (km. 18, al sur de Cuatrocientas), Coahuila, también se observa tanto en la red como en filograma, el grupo V conformado por los taxones de *A. g. spp1.* del Ejido de Nuevo Atalaya (Valle de Cuatrociénegas, Coahuila) y *A. g. spp2.* de Cuatrociénegas-Nuevo Atalaya (km. 18, al sur de Cuatrociénegas), el grupo VI conformado por los taxones de *A. g. septemvittata* de Cuatrociénegas, Coahuila y *A. g. pallida* de San José del Anteojo (Valle de Cuatrociénegas, Coahuila). Finalmente, se muestra tanto en el filograma como en la red, el grupo VII conformado por los taxones de *A. g. gularis* x *A. g. pallida* de Cuatrociénegas-Monclova (km. 11 al oeste de Sacramento) y *A. g. pallida* de Cuatrociénegas-Monclova (km. 11 al oeste de Sacramento) y del Cañón de Fernández (Valle de Cuatrociénegas) en Coahuila, que también se recupera dentro de la red de haplotipos.



**Figura 12.** Red mínima de haplotipos y filograma (C) en donde se muestran los clados con los distintos taxones que la están integrando. Los círculos pequeños muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que han desaparecido.



## DISCUSIÓN

### RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA CON BASE EN LAS SECUENCIAS DE LOS GENES ND<sub>2</sub> Y Cyt B

El estado taxonómico de los integrantes del complejo *Aspidoscelis gularis* ha sido fuertemente cuestionado desde el siglo antepasado (Duellman y Zweifel, 1962), debido a que los distintos taxones que están integrando al complejo presentan poca diferencias en escutelación y a que han sido tratadas bajo el concepto biológico de especie. Durante el siglo XX sufrieron diversos reacomodos y actualmente, el complejo se encuentra integrado por siete taxones descritos formalmente (*A. g. gularis*, *A. g. pallida*, *A. g. semifasciata*, *A. g. semiannulata*, *A. g. septemvittata*, *A. g. scalaris* y *A. g. colossus*) y dos taxones de supuesto origen híbrido, *A. g. gularis* x *A. g. pallida* y *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata*, que se distribuyen desde el suroeste de los Estados Unidos de América, hasta el centro de nuestro país (Walker, 1981a, Walker, 1981b, Walker *et al.*, 2001).

La orografía de México juega un papel importante en la diversificación de los seres vivos, por lo que la historia de la Altiplanicie Mexicana puede ser importante para explicar la historia evolutiva de los integrantes del complejo *A. gularis*, pues prácticamente todos sus taxones se distribuyen en ella. Esta región se extiende desde la actual frontera entre México y Estados Unidos hacia el sur, abarcando parte o la totalidad de los territorios de los estados de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Durango, Zacatecas; San Luis Potosí, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, México, Tlaxcala, Puebla, Jalisco, Michoacán y Distrito Federal (West, 1964 a y b).

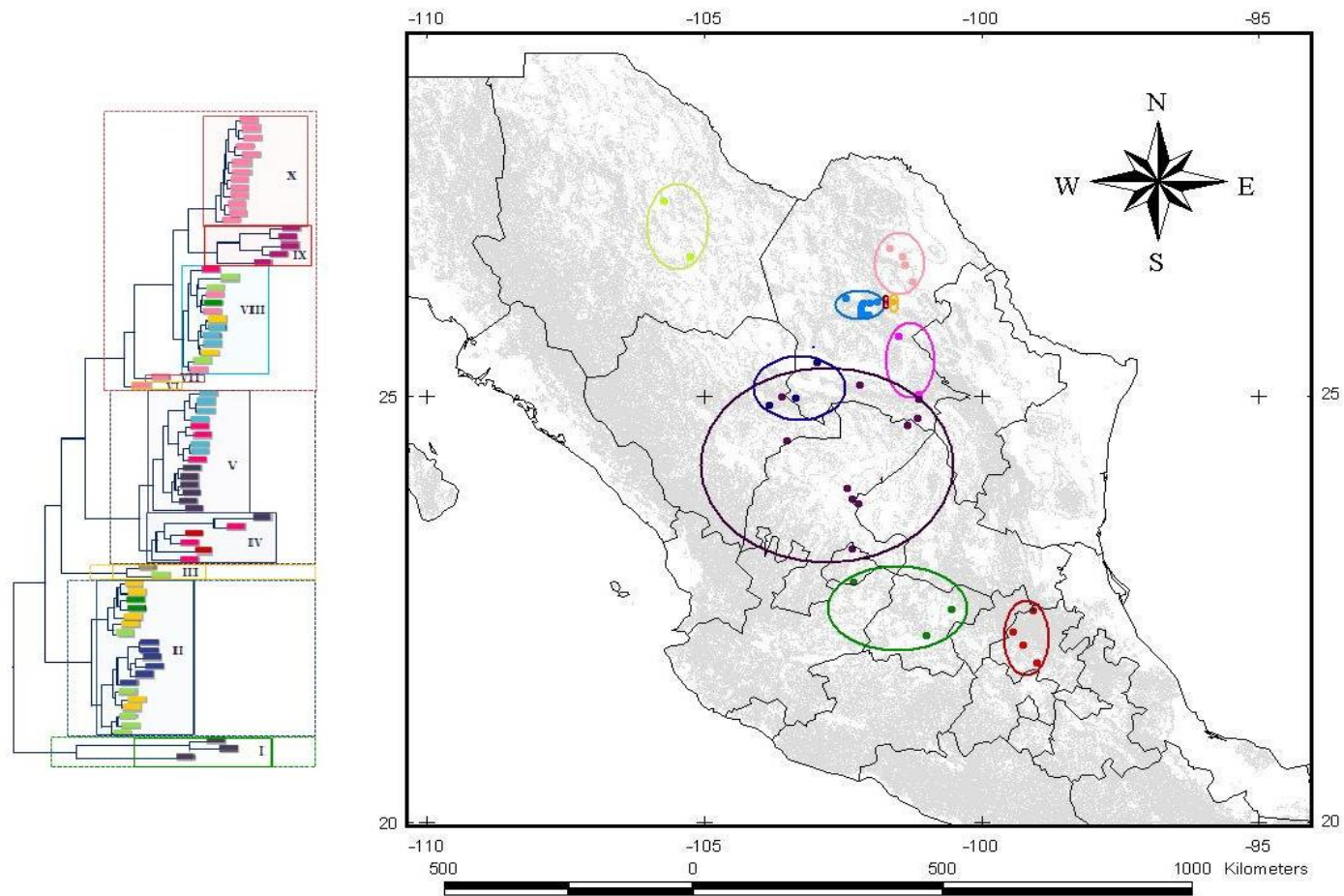
Otra característica que resulta importante es la relacionada a los tipos de vegetación en los que habitan los distintos taxones de *A. gularis*. Por efecto de su clima y suelos, la vegetación encontrada en las distintas zonas donde fueron recolectados los

ejemplares de *A. gularis* es la característica del desierto Chihuahuense (Pinkava, 1984) compuesta principalmente por matorral xerófilo. Sin embargo en la región del Valle de Cuatrociénegas además de matorral xerófilo también fueron recolectados en zonas conocidas como dunas de yeso donde se albergan especies endémicas de plantas gypsófilas y en zonas bajas cubiertas por matorral submontano. Lo cual genera una gran diversidad de microhábitats diferentes para los distintos taxones. Pudiendo crear variaciones en la forma, tamaño y patrones de coloración encontrados dentro del complejo.

La filogenia obtenida con base en los datos combinados de las secuencias de los genes mitocondriales ND<sub>2</sub> y CytB mediante análisis bayesiano, mostró un arreglo que es incongruente con la taxonomía actual del grupo, el árbol muestra que ninguno de los taxones de *Aspidoscelis gularis* reconocidos formalmente son monofiléticos, ya que los ejemplares de un mismo taxón, se encuentran distribuidos en varias zonas de la genealogía y mezclados con los ejemplares de los otros taxones. Sin embargo, son reconocidos varios clados formados por haplotipos exclusivos que son altamente congruentes con la geografía (fig. 13). Por lo que se vuelve necesario, hacer una propuesta taxonómica distinta a la existente.

#### DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES CON BASE EN LAS FILOGENIAS DE HAPLOTIPOS DEL MTDNA Y REDES DE HAPLOTIPOS

Con base en los métodos de delimitación de especies utilizados en el presente estudio (Wiens y Penkrot, 2002; Templeton, 1992) y bajo el enfoque del concepto unificado de especie propuesto por De Queiroz (2002) se sugiere que *Aspidoscelis gularis* consiste de al menos diez linajes sin flujo génico aparente entre ellos y preliminarmente apoya la división de este taxón en diez especies con una distribución específica (fig 13).



**Figura 13.** Distribución de las especies propuestas para el complejo *A. gularis*. Dentro de los círculos se encuentran los taxones que integran a los distintos taxones incluidos en la nueva propuesta: *A. sp. 1* (■), *A. septemvittata* (■), *A. scalaris* (■), *A. sp. 2* (■), *A. semifasciata* (■), *A. sp. 3* (■), *A. sp. 4* (■), *A. sp. 5* (■), *A. sp. 6* (■), *A. gularis* (■)

1. El grupo más basal de la filogenia obtenida, es el conformado por tres haplotipos de individuos asignados a *A. g. semiannulata*, que se distribuyen en la parte sur de Aguascalientes y este de Guanajuato (fig. 4), al suroeste del área total de distribución de los integrantes del complejo. Estos ejemplares quedan aislados del resto de los integrantes tradicionalmente asignados a *A. g. semiannulata*, por lo que tendrían que recibir un nombre distinto (*A. sp. 1*; fig 13).

2. Un segundo grupo, está conformado por distintos haplotipos de individuos provenientes de los alrededores del Valle de Cuatrociénegas, Coahuila: *A. g. septemvittata* del noroeste y sur, *A. g. pallida* del norte y noreste, *A. g. gularis* x *A. g. pallida* del noreste y ejemplares de los taxones no descritos del norte y sur del valle (fig. 5). Que aunque se divide en dos grupos más pequeños, es considerado como una sola especie porque algunos de los haplotipos de (b) y (c) son compartidos (fig. 3). Para este clado, se sugiere de manera preliminar, conservar el nombre de *A. septemvittata*, pues se incluyen individuos que presentan las características de escutelación y coloración con las que fue definido el taxón y se encuentran dentro de su área de distribución (fig. 13). Aunque, es necesario incluir información de individuos de la localidad tipo.

Es importante señalar, que dentro de esta especie se encuentran varias de las poblaciones del taxón que hasta ahora se ha considerado como *A. g. pallida*, descrito como endémico para el Valle de Cuatrociénegas en Coahuila. Por lo que se propone la eliminación este taxón, pues está constituido por lagartijas de coloración clara, que se han originado en varias ocasiones dentro del clado y que no son más que formas claras de *A. septemvittata* (Hernández Zenil, en proceso). En años recientes se han estudiado las bases genéticas de la coloración en escamados y aunque se han detectado más de 150 genes responsables de la misma, mutaciones puntuales en sólo dos de ellos, parecen

generar formas claras y oscuras dentro de una misma especie. Además se ha comprobado que existe una asociación entre el genotipo, el fenotipo y el sustrato que ocupan los individuos. El estudio llevado a cabo con *Sceloporus undulatus*, *Aspidoscelis inornata* y otras lagartijas (Roseblum, 2004; Robertson *et. al.*, 2009), mostró que las formas claras se encuentran habitando las zonas caracterizadas por sustratos claros. En la región de Cuatrociénegas, las zonas de sustratos claros y oscuros se encuentran en un especie de mosaico y han permitido el establecimiento de las formas pálidas en diversas regiones del valle.

3. Un clado más, está integrado por haplotipos de *A. g. scalaris* y *A. g. septemvittata* en la zona noroeste de la Altiplanicie Mexicana (fig. 6), aunque para poder inferir sobre la situación taxonómica de este grupo se requiere de un mayor número de ejemplares que se distribuyan en esta zona que comunmente ha ocupado *A. g. scalaris* (fig. 13). Ya que de acuerdo con varios autores, esta lagartija se distribuye en los alrededores de la ciudad de Chihuahua, oeste de Coahuila y norte de Aguascalientes (Duellman y Zweifel, 1962).

4. Otro de los grupos, se encuentra integrado por los haplotipos de *A. g. semiannulata* del este de Durango, *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* del suroeste de Coahuila y *A. g. spp1.* de la zona centro y suroeste de Coahuila, al sur de las provincias Sierra y llanuras del norte y la Sierra Madre Oriental en la zona del Altiplanicie Mexicana (fig.7). La distribución observada para este clado va del noreste de Durango en las zonas bajas de la sub-provincia del Bolsón de Mapimí y la Laguna de Mayran hacia la sub-provincia Sierra de la Paila al norte de Coahuila. Los ejemplares considerados como híbridos entre *A. g. semiannulata* y *A. g. semifasciata*, se encuentran aislados por las sub-provincias señaladas, sin embargo no existe evidencia de una diferenciación

significativa entre ellos y el resto de los ejemplares del clado, por ello se sugiere que este sea denominado provisionalmente como *A. sp. 2* (fig. 13).

5. Otro de los grupos se encuentra conformado por los haplotipos de *A. g. semifasciata* procedentes de la parte sureste de Coahuila, *A. g. semiannulata* del este y sureste de Durango, este de Zacatecas, oeste de San Luis Potosí y norte de Aguascalientes, así como del supuesto híbrido entre los dos linajes (*A. g. semiannulata x A. g. semifasciata*) del sureste de Coahuila y norte de Zacatecas, al sur y sureste de la Altiplanicie Mexicana (fig 7). Estos taxones se encuentran relativamente aislados de los taxones que se distribuyen al norte del Altiplanicie Mexicana por la sub-provincia de Parras y la Sierra de Torreón-Monterrey en la zona conocida como Altiplanicie Septentrional. Para este clado se sugiere conservar el nombre de *A. semifasciata* ya que en este, quedaron incluidos ejemplares de la localidad tipo de este taxón (fig. 13).

6. En la figura 3 (grupo V) se pueden observar como grupos basales dos haplotipos de individuos de *A. g. gularis* que se distribuyen en la zona suroeste del Valle de Cuatrociengas, en la zona norte del Altiplanicie Mexicano (fig. 8 y 9), debido a que estos haplotipos quedan aislados de los haplotipos de *A.g. gularis* que se distribuyen al noreste de valle (grupo j, fig. 3) por medio de la Sierra de San Marcos y Pinos, puedan ser considerados como especies diferentes. Estudios realizados con otros organismos han mostrado diferenciación genética entre individuos de poblaciones del este y el oeste del Valle de Cuatrociénegas (Howeth *et al.*, 2008). Por lo que se sugiere que estos ejemplares sean nombrados de manera provicional con el nombre de *A. sp. 3* y *A. sp. 4*, respectivamente (fig 13).

7. En la genealogía generada por medio de las redes de haplotipos (fig. 10) se observa que existe correlación con el clado observado en el filograma (grupo V de la fig. 3) y la distribución geográfica de los distintos taxones que se encuentran integrando este grupo, que esta conformado por haplotipos pertenecientes a varios de los taxones descritos tradicionalmente para el complejo de *Aspidoscelis gularis* (*A. g. septemvittata*, *A. g. gularis*, *A. g. pallida*, *A. g. gularis*, *A. g. semifasciata* y los taxones considerados como híbridos: *A. g. semiannulata* x *A. g. semifasciata* y *A. g. gularis* x *A. g. pallida*) presentando poca divergencia entre ellos, estos haplotipos se distribuyen en el este y sureste del Valle de Cuatrociénegas, dentro de la zona del Altiplanicie Septentrional (figs. 8 y 9). Debido a la fisiografía que presenta el valle y la zona sureste de Coahuila así como la presencia de varios de los taxones de *A. gularis*, se podría pensar que esta zona esta actuando como una zona de diversificación, debido principalmente a la presencia de las barreras naturales que comprenden cuatro de las sub-provincias (Sierra de la Pila, Sierras y Llanuras Coahuilenses, Pliegues Saltillo-Parras y Sierra Transversal) de la Sierra Madre Oriental. Sin embargo la poca divergencia que existente entre los distintos haplotipos incluidos en este clado sugiere que puede tratarse de un solo taxón, haciendo evidente que los caracteres morfológicos empleados en la distinción de las subespecies para este complejo, resultan ser insuficientes al momento inferir sobre la taxonomía del grupo. Por lo que se sugiere considerar al grupo como un solo taxón (*A. sp. 5*; fig. 13).

8. Otro grupo se encuentra conformado por los haplotipos que se distribuyen en el estado de Hidalgo, en la parte sur del Altiplanicie Mexicana en la zona conocida como Altiplanicie Meridional (fig. 8) y se sugiere que puede tratarse de un taxón nuevo para *Aspidoscelis*, esto se apoya en las diferencias encontradas en los caracteres de

escutelacion y coloración observadas en las distintas poblaciones distribuidas en el estado de Hidalgo y que no corresponden a los descritos para los taxones reconocidos (Orozco-Rodríguez, 2011), por lo que es necesario realizar un mayor número de muestreos de la zona noreste y sureste del Altiplanicie Mexicana tanto en la zona oeste y este de la Sierra Madre Oriental con la finalidad de observar si existe un continuo en la distribución, así como el analizar un número mayor de caracteres tanto morfológicos como moleculares para poder inferir sobre la situación taxonómica de este taxón, por ahora se sugiere denominarlo como *A. sp. 6* (fig. 13).

9. El grupo más derivado de la filogenia obtenida se encuentra conformado por los haplotipos de diversos ejemplares identificados como *A. g. gularis* distribuidos en el noroeste del Valle de Cuatrociénegas, en la zona norte de la Altiplanicie Mexicana (fig. 8 y 9). Se sugiere conservar el nombre de *A. gularis* para este taxón, debido a que parece ser el clado que coincide con la descripción original del mismo, aunque sería importante considerar a ejemplares de la localidad tipo (fig. 13). La genealogía generada por medio del método de las redes de haplotipos sugieren que se trata de haplotipos de punta, de origen reciente que no han tenido tiempo para dispersarse.

Es posible que exista un continuo en la distribución de los integrantes de este clado hasta la zona sureste del Altiplanicie Mexicana y hacia el sur, a lo largo de la Sierra Madre Oriental cubriendo los estados de Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Veracruz, Querétaro e Hidalgo.

Uno de los aspectos más relevantes para la delimitación de los taxones reconocidos actualmente fue la existencia de diversos patrones de coloración en los integrantes del complejo (Walker 1981a; Cuadro 3). Los cuales, sin embargo, parecen haber surgido en múltiples ocasiones dentro del grupo.



**Cuadro 3.** Patrones de coloración descritos para los taxones de *A. gularis*. (Walker, 1981a, Walker, 1981b, Walker *et al.*, 2001, Dixon *et al.*, 1971)

<b>Patrones de coloración en los integrantes de <i>Aspidoscelis gularis</i></b>	
<i>Aspidoscelis gularis gularis</i>	Patrón dorsal: Siete u ocho líneas de color amarillo claro, o amarillo-anaranjado, sobre un fondo negro o pardo oscuro. Patrón ventral y Zona gular de color salmón a rojo en los machos, vientre de color azul marino con algunos puntos negros en el pecho. Las hembras no presentan coloración.
<i>Aspidoscelis gularis pallida</i>	Patrón dorsal: Líneas débiles de color verde grisáceo y puntos oscuros débiles. Patrón ventral y Zona gular con una coloración blanca a azul pálida, a veces pueden presentar manchas de color azul, mientras que el pecho y el vientre presenta una coloración de blanco a ligeramente azulado, esta coloración solo se presenta en machos.
<i>Aspidoscelis gularis septemvittata</i>	Patrón dorsal: Líneas claras que desaparecen en la tercera parte posterior del cuerpo; presentan puntos de coloración oscura. Patrón ventral y Zona gular con una coloración blanca, gris o azul pálido, pueden también presentar manchas o puntos de color negro, mientras que en el vientre presenta una coloración que va de blanco a gris-azulado pálido sin manchas oscuras.
<i>Aspidoscelis gularis semifasciata</i>	Patrón dorsal: Líneas claras desde la nuca o en la tercera parte anterior y puntos difusos. Patrón ventral y Zona gular: con manchas de color anaranjado o un tono oxido con manchas o puntos negros. Mientras que en el vientre presenta una coloración grisácea con tonos anaranjados.
<i>Aspidoscelis gularis semiannulata</i>	Patrón dorsal: Las hembras presentan seis líneas ligeramente claras, sobre un fondo oscuro y la nuca presenta contrastes en el color, manchas de color gris amarillento en la región lateral y en la región media dorsal presenta puntos y barras del mismo color. Patrón ventral y Zona gular: con una coloración de rosa a rojo intenso y en la región ventral presenta una coloración similar con bordes oscuros.
<i>Aspidoscelis gularis scalaris</i>	Patrón dorsal: Líneas verticales tenues y barras oscuras en los flancos; dorso con puntos o barridos. Patrón ventral y Zona gular: con una fusión de color rosa y rojo, mientras que en el pecho presenta una coloración que va de azul intenso a negro azulado.
<i>Aspidoscelis gularis colossus</i>	Patrón dorsal: Coloración verde olivo, con zonas oscuras de color marrón y puntos de color amarillo pálido distribuidos a lo largo del cuerpo. Patrón ventral y Zona gular: de color anaranjado brillante con pocas manchas o puntos de color azul intenso, mientras que en la zona ventral presenta grandes manchas de color azul (no tan intenso) en las extremidades y la región ventral.

Diversos estudios han mostrado que las variaciones en los patrones de coloración pueden estar influenciados por diferencias genéticas, pero también por selección sexual y la condición fisiológica-hormonal de los organismos (Corl *et. al.*, 2009). Si bien, esta característica es de gran importancia al momento de interactuar con organismos de su misma especie, sexo, elección de pareja, evasión de depredadores o captura de presas, debe ser tomada en cuenta bajo cierta reserva al momento de utilizarse como carácter para la delimitación de las especies, pues en años recientes se ha documentado una gran variación en los patrones de coloración de individuos pertenecientes a una misma población e incluso en un mismo individuo a lo largo de su vida.

## CONCLUSIONES

- A excepción de algunas poblaciones de *A. g. gularis*, la filogenia obtenida con base en análisis bayesianos sugiere que ningún otro taxón corresponde a los grupos monofiléticos encontrados en la topología del árbol. La diversidad encontrada en los patrones de coloración en los distintos taxones puede tratarse sólo de distintos morfotipos ya que pudieron surgir en múltiples ocasiones en el grupo; Por lo que los caracteres como los patrones de coloración resultaron ser poco eficientes en la delimitación de especies ya que pueden variar entre individuos de una misma población
- Con base en el método de árboles de haplotipos basados en mtDNA y las redes de haplotipos se distinguen diez taxones que se encuentran integrando al complejo *A. gularis*: *A. sp. 1* distribuida al suroeste del área total de distribución de los integrantes del complejo, en los estados de Aguascalientes y Guanajuato; *A. septemvittata* se distribuida en los alrededores del Valle de Cuatrociénegas; *A. scalaris* para la zona noroeste de la Altiplanicie Mexicana, cabe señalar que algunos autores la reportan en los alrededores de la ciudad de Chihuahua, oeste de Coahuila y norte de Aguascalientes; *A. sp. 2* la distribución observada para este clado va del noreste de Durango en las zonas bajas de la sub-provincia del Bolsón de Mapimí y la Laguna de Mayran hacia la sub-provincia de la Sierra de la Paila al norte de Coahuila; *A. semifasciata* que se distribuye en la Altiplanicie Septentrional en los de estados Coahuila, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes en zonas donde la vegetación predominante es matorral xerófilo; *A. sp. 3* y *A. sp. 4* distribuidos en la zona suroeste del Valle de Cuatrociénegas

en la zona norte de la Altiplanicie Mexicana; *A. sp. 5* que se distribuye en el este y sureste de Cuatrociénegas; *A. sp. 6* que se distribuyen en zonas con vegetación características de matorral xerófilo en el estado de Hidalgo; y *A. gularis* distribuido para el noroeste del Valle de Cuatrociénegas, en la zona norte de la Altiplanicie Mexicana.

## LITERATURA CITADA

- Applied Biosystems. 2002. BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing: Protocol. 72 pp.
- Avise, J. C. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman y Hall, New York, USA. 511 pp.
- Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press. USA. 447 pp.
- Avise, J. C. y R. M., Jr. Ball. 1990. Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy. *Oxford Surv. Evolutionary Biology* 7:45-67.
- Baum, D. A. y M. J. Donoghue. 1995. Choosing among alternative "phylogenetic" species concepts. *Systematic Botany* 20: 560-573.
- Brower, A. V. 1999. Delimitation of phylogenetic species with DNA sequences: a critique of David and Nixon's population aggregation analysis. *Systematics Biology* 48: 199-213.
- Casas, G., G. Valenzuela y A. Ramírez. 1991. Como hacer una colección de anfibios y reptiles. Cuadernos del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. 68 pp.
- Cerritos-Flores, R. 2007. La especie como unidad evolutiva: uso de marcadores moleculares para su reconocimiento y delimitación, con especial énfasis en microorganismos. Pp. 325-350. En: *Ecología Molecular*. Eguiarte, L. E., V. Souza y X. Aguirre (eds.). Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad.
- Clement, M., D. Posada y K. A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1660.
- Corl A., A. R. Davis, S. R. Kuchta y B. Sinervo. 2009. Selective loss of polymorphic mating types is associated with rapid phenotypic evolution during morphic speciation. *Proceedings of National Academic Society* 107: 4254-4259
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. *Current Ornithology* 1: 159-187.
- Cracraft, J. 1992. *Evolution*. by M. W. Strickberger. *Bioscience* 42: 67-68.

- Cruzan, M. B. y A. R. Templeton. 2000. Paleogeology and coalescence: phylogeographic analysis of hypotheses from the fossil record. *Trends in Ecology y Evolution* 15: 491-496.
- Davis, J. I. y K. C. Nixon. 1992. Populations, genetic variation, and the delimitation of phylogenetic species. *Systematic Biology* 41:421-435.
- De Queiroz, K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: A conceptual unification and terminological recommendations. Pp. 57–75. En: *Endless forms: Species and speciation*. Howard, D. J. y S. H. Berlocher (eds.). Oxford University Press, New York.
- De Queiroz, K. 1999. The general lineage concept of species and the defining properties of the species category. Pp. 49–89. En: *Species: New interdisciplinary essays*. Wilson, R. A. (ed.). MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- De Queiroz, K. 2005 (a). Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 102: 6600-6607.
- De Queiroz, K. 2005 (b). A unified concept of species and its consequences for the future of taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 56: 196-215.
- De Queiroz, K. 2005 (c). Different species problems and their resolution. *BioEssays* 27: 1263-1269
- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biologists* 56: 879-886.
- De Queiroz, K. y D. A. Good. 1997. Phenetic clustering in biology: A critique. *The Quarterly Review of Biology* 72: 3-30.
- Dixon, J. R., C. S. Lieby y C. A. Ketschersid. 1971. A new lizard of the genus *Cnemidophorus* from Querétaro, México. *Herpetologica* 27: 344-354.
- Dobzhansky, T. 1937. *Genetics and the Origin of Species*. New York: Columbia University Press.
- Dobzhansky, T. 1996. Organismic and molecular aspects of species formation. Pp. 95-105. En: *Molecular Evolution*. Ayala, F. J. (ed.). Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Duellman W. E. y R. G. Zweifel. 1962. A sinopsis of the lizards of the *sexlineatus* group (genus *Cnemidophorus*). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 123: 155-210.

- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Fetzner, J. W. 1999. Extracting high quality DNA from shed reptile skins: A simplified method. *Biotechniques* 26: 1052-1054.
- Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR). 2002. Área de protección de flora y fauna de Cuatrociénegas. Consejo Estatal de Ecología (COEDE). 1-11 pp.
- Frost, D. R. y D. M. Hillis. 1990. Species in concept and practice: Herpetological applications. *Herpetologica* 46: 87-104.
- Fu, J., R. W. Murphy y I. S. Darevsky. 2000. Divergence of cytochrome b gene in the *Lacerta raddei* complex and its parthenogenetic daughter species: evidence for recent multiple origins. *Copeia* 432-440.
- Gabriel, K. R. y R. R. Sokal. 1969. A new statistical approach to geographic variation analysis. *Systematic Zoology* 18: 259-278.
- García E., 1988, Modificación al Sistema de Clasificación de Koppen, para adaptarlo a las condiciones de la República mexicana, 3a edición, Ofset Larios, México. 252 pp.
- Harrison, R. G. 1998. Linking evolutionary pattern and process. Pp. 19-31. En: *Endless forms: Species and speciation*. Howard, D. J. y S. H. Berlocher (eds.). Oxford University Press, New York.
- Hernández Zenil, J. C. En proceso. Evolución de los patrones de coloración en el complejo *Aspidoscelis gularis* en la región de Cuatrociénegas, Coahuila.
- Howeth, J. C., S. E. McGaugh y D. A. Hendrickson. 2008. Contrasting demographic and genetic estimates of dispersal in the endangered Coahuilan box turtle: a contemporary approach to conservation. *Molecular ecology*. 17: 4209-4221.
- Hudson, R. R. 1990. Gene genealogies and the coalescent process. En: *Evolutionary Biology* 7: 185-194. Oxford surveys.
- Huelsenbeck, J. P. y F. Ronquist. 2001. Mr. Bayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Hull, D. L. 1980. Individuality and selection. *Annual Review of Ecology and Systematic* 11: 311-332.
- INE-SEMARNAP. 1999. Programa de Manejo del Área de Protección de Flora y Fauna Cuatrociénegas. México.

- Kluge, A. G. 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis for relationships among Epicrates (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*. 38:1-25.
- Kluge, A. G. 1998. Total evidence or taxonomic congruence: Cladistics or consensus classification. *Cladistics* 14: 151-158.
- Knowles, L. L. y B. C. Carstens. 2007. Delimiting species without monophyletic gene trees. *Systematic Biology* 56: 887-895.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J. D. Thompson, T. J. Gibson y D.G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*.23: 2947-2948.
- Leaché, A. D. y T. W. Reeder. 2002. Molecular systematics of the Eastern fence lizard (*Sceloporus undulatus*): a comparison of parsimony, likelihood, and bayesian approaches. *Systematic Biology* 51: 44–68.
- López, H. E. 1984. Aportación florística, ecológica y cartográfica al estudio del área de Cuatrociénegas, Coahuila. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (Tesis). 154 pp.
- Lowe, C. H., J. W. Wright, C. J. Cole y R. L. Bezy. 1970. Chromosomes and evolution of the species groups of *Cnemidophorus* (Reptilia: Teiidae). *Systematic Zoology* 19: 128-141.
- Macey, J. R., J. A., Schulte II, A. Larson, B. S. Tuniyev, N. Orlov y T. J. Papenfuss. 1999. Molecular phylogenetics, tRNA evolution, and historical biogeography in anguid lizards and related taxonomic families. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12: 250-272.
- Mallet, J. 1995. Aspecies definition for the Modern Synthesis. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 294-299.
- Maslin, T. P. y D. M. Secoy. 1986. A checklist of the lizard genus *Cnemidophorus* (Teiidae). *Contributions in Zoology*. University of Colorado Museum. 60 pp.
- Mayden, R. L. 1997. A hierarchy of species concepts: The denouement in the saga of the species problem. Pp. 381-424. En: *Species: The units of biodiversity*. Claringe, M. F., H. A. Dawah y M. R. Wilson (eds.). Chapman and Hall, London.
- Mayden, R. L. 1999. Consilience and a hierarchy of species concepts: advances toward closure on the species puzzle. *Journal of Nematology* 31: 95-116.



- Mayr, E. 1942. Systematics and the Origin of Species. New York: Columbia University Press.
- Mayr, E. 2000. The biological species concept. Pp. 17-29. En: Species concepts and phylogenetic theory. Wheeler, Q. D. y R. Meier (eds.). Columbia University Press. New York, USA.
- Minckley, W. L. 1969. Environments of the Bolson of Cuatrociénegas, Coahuila, México, with special reference to the aquatic biota. University of Texas. El Paso. Science Series 2: 1-165.
- Moore, W. S. 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation: Mitochondrial gene trees versus nuclear gene trees. *Evolution* 49: 718-726.
- Muwanika, V. B., S. Nyakaana, H. R. Siegismund y P. Arctander. 2003. Pylogeography and population structure of the common warthog (*Phacochoerus africanus*) inferred from variation in mitochondrial DNA sequences and microsatellite loci. *Heredity* 91: 361-372.
- Nixon C. K. y Q. D. Wheeler. 1990. An amplification of the phylogenetic species concept. *Cladistics* 6: 211-223.
- Nixon, K. C. y J. M. Carpenter. 1996. On consensus, collapsibility and clade concordance. *Cladistics* 12: 305-321
- Nixon, K. C. y H. Ochoterena. 2001. Taxonomía tradicional, cladística y construcción de hipótesis filogenéticas. Pp. 15-38. En: Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad. Hernández, H. M., A. N. García Aldrete, F. Álvarez y M. Ulloa (Comps.). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
- Orozco Rodriguez, L. D. 2011. Patrones de coloración y escutelación en poblaciones del complejo *Aspidoscelis gularis* en el Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Tesis de Licenciatura. 57 pp.
- Palumbi, S. R. 1996. Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. Pp. 205-247. En: Molecular Systematics. Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable (eds.). Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Pinkava, D. J. 1984. "Vegetation and flora of the Bolson of Cuatro Cienegas region, Coahuila, Mexico: IV, Summary, endemism and corrected catalogue". Pp. 23-48. En: Biota of Cuatro Cienegas, Coahuila, Mexico: Proceedings of a Special Symposium. Marsh, P. C. (ed). Fourteenth Annual Meeting, Desert Fish

- Council, Tempe, Arizona USA, 18-20 November 1983. Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science.
- Posada, D. y K. A. Crandall. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Posada, D. y K. A. Crandall. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 37-45.
- Puerto, G., M. Da Graca-Salomao, R. D. G. Theakston, R. S. Thorpe, D. A. Warrell y W. Wuster. 2001. Combining mitochondrial DNA sequences and morphological data to infer species boundaries: Phylogeography of lanceheaded pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Journal Evolutionary Biology* 14: 527-538.
- Rannala, B. y Z. Yang. 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. *Journal of Molecular Evolution* 43: 304-311.
- Ravin, A. W. 1963. Experimental approaches to the study of bacterial phylogeny. *American Naturalist* 97: 307-318.
- Reeder, T. W., C. J. Cole y H. C. Dessauer. 2002. Phylogenetic relationships of whiptail lizards of the genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae): A test of monophyly, reevaluation of karyotypic evolution, and review of hybrid origins. *American Museum Novitates* 3365: 1-61.
- Reeder, T. W. 2003. A phylogeny of the Australian *Sphenomorphus* group (Scincidae: Squamata) and the phylogenetic placement of the crocodile skinks (*Tribolonotus*): A Bayesian approaches to assessing congruence and obtaining confidence in maximum likelihood inferred relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 384-397.
- Robertson J. M. y Rosenblum E. B. 2009. Rapid divergence of social signal coloration across the White Sands ecotone for three lizard species under strong natural selection. *Biological Journal of the Linnean Society* 98: 243-255.
- Rosenblum E. B., H. E. Hoekstra y M. W. Nachman. 2004. Adaptive reptile color variation and the evolution of the Mc1R gene. *Evolution* 58:1794-1808.
- Simpson, G. G. 1951. The species concept. *Evolution*. 5: 285-298
- Simpson, G. G. 1961. *Principles of Animal Taxonomy*. Columbia University Press, New York, New York, USA. 247 pp.

- Sites, J. W., Jr. y K. A. Crandall. 1997. Testing species boundaries in biodiversity studies. *Conservation Biology*.11: 1289-1297.
- Sites, J. W. Jr. y J. C. Marshall. 2003. Delimiting species: a renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 462-470.
- Sokal, R. R. y N. L. Oden. 1978 (a). Spatial autocorrelation in biology 1. Methodology. *Biological Journal of the Linnean Society* 10: 199-228.
- Sokal, R. R. y R. L. Oden. 1978 (b). Spatial autocorrelation in biology 2. Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. *Biological Journal of the Linnean Society* 10: 229- 249.
- Sperling, F. 2003. Butterfly species and molecular phylogenies. Pp. 431-458. En: *Butterflies: evolution and ecology taking flight*. Boggs, C., W. Watt y P. Ehrlich (eds). University of Chicago Press, Chicago.
- Staden, R. 1996. The Staden Sequence Analysis Package. *Molecular Biotechnology* 5: 233-241.
- Tamura K, J. Dudley, M. Nei y S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Taylor, T. A., J. A. Jacobson, S. Kroten, T. Kasuga, D. M. Geiser, D. S. Hibbett y M. C. Fisher. 2000. Phylogenetics species recognition and species concept in fungi. *Fungal Genetics and Biology* 31: 21-32.
- Templeton, A. R. 1989. The meaning of species and speciation: A genetic perspective. P. 3-27. En: *Speciation and Its Consequences*. Otte, D. y J. A. Endler (eds.). Sunderland, Mass.
- Templeton, A. R. 1993. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analysis with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics* 34: 659-669.
- Templeton, A. R. 1998. Species and speciation: Geography, population structure, ecology, and gene trees. Pp. 32–43. En: Howard D. J. y S. H. Berlocher. (eds.). *Endless Forms. Species and Speciation*. Oxford University Press, Oxford, England, UK. 470 pp.
- Templeton, A. R. 1999. Using genes tree to infer species for testable null hypothesis: cohesion species in the *Spalax ehrenbergi* complex. En: *Evolutionary theory and processes: modern perspectives*. Kluwer Academic, Dordrecht.

- Templeton, A. R. 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology* 10: 779-791.
- Templeton, A. R. 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology* 13: 789-809.
- Templeton, A. R., E. Boerwinkle y C. F. Sing. 1987. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. I. Basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in *Drosophila*. *Genetics* 117: 343–351.
- Templeton, A. R., K. A. Crandall y C. F. Sing. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619-633.
- Templeton, A. R., E. Routman y C. A. Phillips. 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140: 767-782.
- Van Valen, L. 1976. Ecological species, multispecies, and oaks. *Taxon* 25:233-239.
- Vázquez-Domínguez, E., S. Castañeda-Rico, T. Garrido-Garduño y T. A. Gutiérrez-García. 2009. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Revista Chilena de Historia Natural* 82: 277-297
- Walker, J. M. 1981 (a). Systematics of *Cnemidophorus gularis*. I. Reallocation of populations currently allocated to *Cnemidophorus gularis* and *Cnemidophorus scalaris* in Coahuila, México. *Copeia* 1981: 826-849.
- Walker, J. M. 1981 (b). Systematics of *Cnemidophorus gularis*. II. Specific and subspecific identity of the Zacatecas whiptail (*Cnemidophorus gularis semiannulatus*). *Copeia* 1981: 850-868.
- Walker, J. M., J. A. Lemos-Espinal, J. E. Cordes, H. L. Taylor y H. M. Smith. 2001. Allocation of populations of whiptail lizards to *septemvittatus* Cope 1892 (genus *Cnemidophorus*) in Chihuahua, México and the *scalaris* problem. *Copeia* 2001: 747-765.
- Wayne, L. G., D. J. Brenner, R. R. Colwell, P. D. Grimont, O. Kandler, M. I. Krichevsky, L. H. Moore, W. E. Moore, R. G. Murray y E. Stackebrandt. 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacteria systematics. *International Journal of Systematics Bacteriology* 37: 463-464.

- West, R. C. 1964 (a). Surface configuration and associated geology of Middle America. P. 33-82. En: Handbook of Middle American. Wanchope, R. y R. C. West (eds.). Indians, University of Texas Press, Austin.
- West, R. C. 1964 (b). The natural regions of Middle America. Pp. 363-383. En: Handbook of Middle American Indians. Wanchope, R. y R. C. West (eds.). Handbook of Middle American Indians, University of Texas Press, Austin.
- Wiens, J. J. 1999. Polymorphism in systematics and comparative biology. Annual Review of Ecology and Systematics 30: 327–362.
- Wiens, J. J. y M. R. Servedio. 2000. Species delimitation in systematics: Inferring diagnostic differences between species. Proceedings of the Royal Society London Serie B.267: 631–636.
- 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: 69-91.
- Wiley, E. O. 1978. The evolutionary species concept reconsidered. Systematic Zoology 27: 17-26.
- Wright, J. W. 1993. Evolution of the lizards of the genus *Cnemidophorus*. Pp. 27-81. En: Biology of whiptail lizards (genus *Cnemidophorus*). Wright, J. W. y L. J. Vitt (eds.). Oklahoma Museum of Natural History. Norman, Oklahoma, USA.
- Zink, R.M. 1996. Bird species diversity. Nature 381:566.

## ANEXO A

Cuadro 4. Ejemplares recolectados para el estudio, se indica el taxón, localidad y coordenadas

No	Colector	Genero	Determinación		Localidad		Coordenadas					
			Especie	Subespecie	Estado	País	Latitud			Longitud		
							Grados	Minutos	Segundos	Grados	Minutos	Segundos
1	NLMM 449	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp3.</i>	Hidalgo	México	20	9	27.1	98	57	36.1
2	ANMO1357	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Guanajuato	México	21	9	48.2	100	29	49.8
3	ANMO1392	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Durango	México	24	23	40.9	103	27	32.9
4	ANMO1414	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Durango	México	25	3	57.8	103	46	32.2
5	ANMO1423	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Durango	México	25	13	3.4	103	33	38.5
6	ANMO1426	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata x semifasciata</i>	Coahuila	México	25	52	13.1	102	55	11.9
7	ANMO1427	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata x semifasciata</i>	Coahuila	México	25	52	13.1	102	55	11.9
8	ANMO1428	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata x semifasciata</i>	Coahuila	México	25	52	13.1	102	55	11.9
9	ANMO1435	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	27	1	8.9	102	5	11.4
10	ANMO1436	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	27	1	8.9	102	5	11.4
11	ANMO1449	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	27	1	24.4	102	5	39.6
12	ANMO1452	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp2.</i>	Coahuila	México	26	54	43.2	102	8	27.5
13	ANMO1453	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp2.</i>	Coahuila	México	26	52	21.6	102	8	10.9
14	ANMO1454	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp2.</i>	Coahuila	México	26	52	21.6	102	8	10.9
15	ANMO1459	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	27	1	41.2	101	49	46.6
16	ANMO1460	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis x pallida</i>	Coahuila	México	27	1	41.2	101	49	46.6
17	ANMO1461	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis x pallida</i>	Coahuila	México	27	1	41.2	101	49	46.6
18	ANMO1464	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	27	1	41.2	101	49	46.6
19	ANMO1465	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis x pallida</i>	Coahuila	México	27	1	41.2	101	49	46.6

No	Colector	Genero	Determinación		Localidad		Coordenadas					
			Especie	Subespecie	Estado	País	Latitud			Longitud		
							Grados	Minutos	Segundos	Grados	Minutos	Segundos
21	ANMO1467	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	2	10.2	101	37	32.7
22	ANMO1468	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	2	10.2	101	37	32.7
23	ANMO1469	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	2	10.2	101	37	32.7
24	ANMO1474	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	2	4.7	101	34	8.1
25	ANMO1475	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	2	4.7	101	34	8.1
26	ANMO1476	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	2	4.7	101	34	8.1
27	ANMO1484	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	28	2	52.4	101	37	7
28	ANMO1485	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	28	2	52.4	101	37	7
29	ANMO1486	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	28	2	52.4	101	37	7
30	ANMO1496	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	53	24	101	23	21.4
31	ANMO1497	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	53	24	101	23	21.4
32	ANMO1498	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	53	24	101	23	21.4
33	ANMO1499	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	44	26.7	101	20	8.5
34	ANMO1500	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	44	26.7	101	20	8.5
35	ANMO1501	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	44	26.7	101	20	8.5
36	ANMO1502	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	25	43.7	101	12	8.7
37	ANMO1503	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	25	43.7	101	12	8.7
38	ANMO1504	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>gularis</i>	Coahuila	México	27	25	43.7	101	12	8.7
39	ANMO1510	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	26	22	17.2	101	26	31
40	ANMO1511	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	26	22	17.2	101	26	31
41	ANMO1512	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	26	22	17.2	101	26	31
42	ANMO1525	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	26	37.2	102	9	25.5
43	ANMO1526	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	26	37.2	102	9	25.5

No	Colector	Genero	Determinación		Localidad		Coordenadas					
			Especie	Subespecie	Estado	País	Latitud			Longitud		
							Grados	Minutos	Segundos	Grados	Minutos	Segundos
44	ANMO1527	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	26	37.2	102	9	25.5
45	ANMO1528	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	26	37.2	102	9	25.5
46	ANMO1529	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	10	55.6	101	5	48.8
47	ANMO1530	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	10	55.6	101	5	48.8
48	ANMO1531	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	15	27.9	101	5	28.6
49	ANMO1532	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	15	27.9	101	5	28.6
50	ANMO1533	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semifasciata</i>	Coahuila	México	25	15	27.9	101	5	28.6
51	ANMO1538	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata x semifasciata</i>	Coahuila	México	24	49	8.5	101	6	36.4
52	ANMO1539	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata x semifasciata</i>	Coahuila	México	24	49	8.5	101	6	36.4
53	ANMO1540	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata x semifasciata</i>	Coahuila	México	24	49	8.5	101	6	36.4
54	ANMO1550	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata x semifasciata</i>	Zacatecas	México	24	40	9	101	17	35.5
55	ANMO1567	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Zacatecas	México	23	16	58.7	102	17	57
56	ANMO1579	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	San Luis Potosí	México	23	11	17	102	10	4.9
57	ANMO1584	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Zacatecas	México	23	28	33.9	102	22	49.8
58	ANMO1620	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Aguascalientes	México	22	20	5.8	102	17	34
59	ANMO1630	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Aguascalientes	México	21	41	55.1	102	15	48.5
60	ANMO1637	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>semiannulata</i>	Guanajuato	México	20	40	0.5	100	57	24.2
61	APG266	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Chihuahua	México	28	57	26.75	105	41	32.064
62	APG296	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>scalaris</i>	Chihuahua	México	27	54	11.02	105	12	58.54
63	CAYA005N	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp5.</i>	Coahuila	México	26	46	49.54	102	7	45.84
64	CAYA007N	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp1.</i>	Coahuila	México	26	46	49.54	102	7	45.84
65	CGCH9	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp3.</i>	Hidalgo	México	20	9	27.1	98	57	36.1
66	JCHZ11	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp3.</i>	Hidalgo	México	20	44	24.07	99	22	57.38



No	Colector	Genero	Determinación		Localidad		Coordenadas					
			Especie	Subespecie	Estado	País	Latitud			Longitud		
							Grados	Minutos	Segundos	Grados	Minutos	Segundos
67	JHM572	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp3.</i>	Hidalgo	México	20	29	57.3	99	12	16.5
68	MOTA119	<i>Aspidoscelis</i>	<i>motaguae</i>	<i>motaguae</i>	Chiapas	México	16	48	10.29	93	4	11.55
69	NLMM381	<i>Aspidoscelis</i>	<i>angusticeps</i>	<i>angusticeps</i>	Campeche	México	19	55	20.78	90	23	19.99
70	NLMM382	<i>Aspidoscelis</i>	<i>angusticeps</i>	<i>angusticeps</i>	Campeche	México	19	55	20.78	90	23	19.99
71	NLMM384	<i>Aspidoscelis</i>	<i>angusticeps</i>	<i>angusticeps</i>	Quintana Roo	México	18	29	42.06	88	19	14.85
72	NLMM387	<i>Aspidoscelis</i>	<i>angusticeps</i>	<i>angusticeps</i>	Quintana Roo	México	18	29	42.06	88	19	14.85
73	UOGV565	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp4.</i>	Coahuila	México	27	0	57.1	101	58	56.8
74	UOGV295	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp1.</i>	Coahuila	México	26	46	50.5	102	7	29
75	UOGV1398	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp6.</i>	Coahuila	México	25	11	23.4	103	18	3.6
76	UOGV2029	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	27	6	45.4	102	23	39.7
77	UOGV2030	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	27	6	47.8	102	23	34.1
78	UOGV2031	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	26	46	57.7	102	0	20.2
79	UOGV2032	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	26	46	55.7	102	0	22.9
80	UOGV2033	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>septemvittata</i>	Coahuila	México	26	46	53.2	102	0	36
81	UOGV2129	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	26	58	52.55	102	6	26.46
82	UOGV2131	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	26	58	52.55	102	6	26.46
83	UOGV2132	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>pallida</i>	Coahuila	México	26	58	52.55	102	6	26.46
84	VDVS116	<i>Aspidoscelis</i>	<i>gularis</i>	<i>spp3.</i>	Hidalgo	México	21	9	28.4	99	1	44.7

## ANEXO B

### TÉCNICAS UTILIZADAS PARA LA OBTENCIÓN DE SECUENCIAS DE DNA

#### I. Extracción de DNA con acetato de amonio (Fetzner, 1999)

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

10. Resuspender el botón de DNA en 30–250  $\mu\text{l}$  de  $\text{dH}_2\text{O}$ , dependiendo de su tamaño.

## II. Amplificación del DNA

A continuación se muestran las cantidades ( $\mu\text{l}$ ) y concentraciones recomendadas para llevar a cabo reacciones de 25  $\mu\text{l}$ :

REACCIÓN	EJEMPLAR	DNA	PRIMER <sub>1</sub> [10 nM]	PRIMER <sub>2</sub> [10 nM]	DNTP's [2mM]	BUFFER [10X]	MgCl <sub>2</sub> [20X]	Taq	H <sub>2</sub> O
1	<i>Ejemplar 1</i>	1	0.2	0.2	1	2.5	1.2	0.15	18.8
2	<i>Ejemplar 2</i>	1	0.2	0.2	1	2.5	1.2	0.15	18.8
3	<i>Ejemplar 3</i>	1	0.2	0.2	1	2.5	1.2	0.15	18.8
4	<i>Ejemplar 4</i>	1	0.2	0.2	1	2.5	1.2	0.15	19.8

- Hacer la mezcla madre con la cantidad total de cada uno de los *primers*, los *dNTP's*, el buffer, el  $\text{MgCl}_2$  y la *Taq* polimerasa y colocar 5.3  $\mu\text{l}$  en cada tubo de reacción.
- Agregar el DNA genómico
- Mezclar con el agua.
- Colocar los tubos en el termociclador, utilizando los siguientes parámetros:

PROCESO	TEMPERATURA [° C]	TIEMPO
Desnaturalización inicial	96	3 min
38 CICLOS		
Desnaturalización	96	30 s
Alineamiento	48	30 s
Elongación o extensión	72	60 s
Elongación final	72	5 min

### **III. Purificación de los productos de PCR (Precipitación con polietilen-glicol)**

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

### **IV. Reacción de secuenciación**

La reacción de secuenciación se llevó a cabo utilizando el *kit* comercial *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing*, que contiene una mezcla de los reactivos necesarios para la reacción.

A continuación se muestran las cantidades recomendadas para llevar a cabo una reacción de 10 µl:

REACCIÓN	EJEMPLAR	DNA	PRIMER [3 mM]	BIGDYE	BUFFER	H <sub>2</sub> O
1	<i>Ejemplar 1</i>	2	2	1.8	1.1	3.1
2	<i>Ejemplar 2</i>	2	2	1.8	1.1	3.1
3	<i>Ejemplar 3</i>	2	2	1.8	1.1	3.1
4	<i>Ejemplar. 4</i>	2	2	1.8	1.1	3.1

1. Hacer la mezcla madre con las cantidades totales del *primer*, el *BigDye*, el buffer y el agua. Colocar 8µl en cada tubo de reacción
2. Agregar el DNA
3. Colocar los tubos en el termociclador, utilizando los siguientes parámetros:

PROCESO	TEMPERATURA [° C]	TIEMPO
35 CICLOS		
Desnaturalización	96	30 s
Alineamiento	50	30 s
Extensión o elongación	60	4 min

#### V. Purificación de la reacciones de secuenciación [en *sephadex* en columnas Centri-Sep]

1. Colocar la tapa inferior a cada una de las columnas de plástico
2. Agregar 750 µl de la solución de *sephadex* a cada columna
3. Eliminar las burbujas de aire de la columna de gel (*sephadex*), dando pequeños golpes a la columna de plástico
4. Retirar las tapas y cuando las columnas comiencen a gotear, colocarlas en el tubo colector. Eliminar el líquido
5. Centrifugar por 2 minutos a 3000 rpm para eliminar el fluido sobrante del gel
6. Rotular tubos de 1.5 ml con los datos de las muestras
7. Colocar las columnas en los tubos rotulados y vaciar los productos de la reacción de secuenciación [a los que previamente se les agregó 10 µl de H<sub>2</sub>O] justo en el centro de la columna de *sephadex*

8. Centrifugar por 4 minutos a 3000 rpm para recuperar el DNA
9. Retirar las columnas de plástico de los tubos de 1.5 ml y eliminar las columnas de *sephadex*
10. Secar en un concentrador de DNA a temperatura media por 20 minutos o hasta que el agua sea totalmente evaporada
11. Agregar formamida para ingresar las muestras al secuenciador automát



Zona gular de *Aspidozelis septemvittata*