



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

SISTEMÁTICA MOLECULAR DEL COMPLEJO *Phyllodactylus lanei*
(PHYLLODACTYLIDAE) EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Biól. TONATIUH RAMÍREZ REYES

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. OSCAR ALBERTO FLORES VILLELA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, D.F. ENERO, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

SISTEMÁTICA MOLECULAR DEL COMPLEJO *Phyllodactylus lanei*
(PHYLLODACTYLIDAE) EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Biól. TONATIUH RAMÍREZ REYES

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. OSCAR ALBERTO FLORES VILLELA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, D.F. ENERO, 2016

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática, en su sesión ordinaria del día 19 de octubre de 2015, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **RAMÍREZ REYES TONATIUH** con número de cuenta **514012719** con la tesis titulada "**SISTEMA MOLECULAR DEL COMPLEJO *Phylloclactylus lanei* (PHYLLODACTYLIDAE) EN MÉXICO**", bajo la dirección del DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU:

Presidente:	DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VERELA
Vocal:	DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA
Secretario:	DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
Suplente:	DRA. IRENE GOYENECHEA MAYER-GOYENECHEA
Suplente	DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 25 de noviembre de 2015.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme desarrollar mi proyecto de investigación así como permitirme adquirir conocimientos en las áreas de biología evolutiva y sistemática molecular.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado (CVU 586418).

Al Dr. Daniel Piñero Dalmau por aceptarme como alumno de maestría y darme todas las facilidades para la elaboración de mi trabajo de investigación en el Laboratorio de Genética y Ecología del Instituto de Ecología de la UNAM.

A los miembros del comité tutorial, la Dra. Ella Vázquez Domínguez y al Dr. Oscar Flores Villela por sus valiosas observaciones y comentarios que ayudaron a mejorar sustancialmente mi proyecto de investigación.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A la Universidad Nacional Autónoma de México por aceptarme como un alumno más y permitirme formar parte de la gran comunidad universitaria.

Al Instituto de Ecología de la UNAM por los apoyos recibidos para realizar los distintos muestreos de recolecta de tejidos y en general por permitirme desarrollar a totalidad mi proyecto de investigación.

A la Dirección General de Vida Silvestre de la SEMARNAT por otorgarme el permiso de colecta científica: SGPA/DGVS/10934/13.

Al Biol. Jorge Castrejón director del Parque Nacional Islas Marietas y a Sandra Ruedas de la CONANP delegación Vallarta, Jalisco por su amable atención y por darnos las facilidades para el trabajo en las Islas Marietas.

Al Sr. Juan Rodríguez y a la Sociedad Cooperativa de Producción de Servicios Turísticos Bahía de Banderas R. L. de C. V., Rincón de Guayabitos por las facilidades otorgadas para realizar el trabajo de campo en Isla El Coral, Nayarit.

A toda la comunidad de Guayabitos, La Peñita y Los Ayala en la Riviera Nayarit, por su amable hospitalidad y disposición a colaborar con nosotros durante nuestra estancia en las playas de Nayarit.

A mis compañeros y amigos quienes me brindaron un invaluable apoyo durante el trabajo de campo. Biol. Carlos Melo León por su gran apoyo y su afectuosa compañía durante las recolectas realizadas en las islas del Pacífico Mexicano, Dr. Joel Rosas Ávila por su gran ayuda durante el trabajo en campo en Guerrero, así como al Biol. Alfredo Villarruel por su gran apoyo durante las colectas en Michoacán y Jalisco. ¡Simply sin su ayuda este trabajo no hubiera sido posible, muchas gracias!

Al M. en C. Israel Solano Zabaleta (MZFC-UNAM) por el apoyo en la logística del trabajo de colecta científica en Lombardía, Michoacán.

Al Biol. Mario Quetzal Pureco Rivera y al infalible Josué Pureco Rivera por su amable atención y ayuda en el trabajo de recolecta en Lombardía, Michoacán y en especial a la familia Pureco Rivera por otorgarnos todas las facilidades durante nuestra estancia en esa localidad.

Al Dr. Jorge Vega (EBCh-IBUNAM) por su amable atención y colaboración para realizar la recolecta científica en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco.

Al M. en C. Edmundo Pérez Ramos por su generosa donación de tejidos de *P. lanei* recolectados en Tierra Colorada, Guerrero y por su siempre amable atención en la incorporación de especímenes a la colección herpetológica del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias.

A la Dra. Susette Castañeda Rico por su amable atención y por proporcionarme todas las facilidades para el procesamiento de muestras y desarrollo del trabajo de biología molecular en el Laboratorio de Genética y Ecología.

Al Biol. Iván Reyes por la donación de tejidos de la población de *P. l. rupinus* recolectados en Amatlan de Cañas, Nayarit.

Al Biol. Miguel Amaro Estrada por su disposición a implementar análisis bioinformáticos en su equipo de cómputo.

A Mariana Pineda por el apoyo en el diseño de algunas imágenes de este trabajo.

A los miembros jurado designado: Dr. José Martín García Varela, Dra. Livia Socorro León Paniagua, Dra. Ella Gloria Vázquez Domínguez, Dra. Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea y al Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz, por sus comentarios siempre constructivos, los cuales contribuyeron a enriquecer en gran medida el presente trabajo.

DEDICATORIA

A la memoria de los pensadores libertarios quienes me han influido y han sido determinantes en mi vida:

Piotr Kropotkin, Mijail Bakunin, Errico Malatesta, Émile Armand y Emma Goldman.

A mi pequeña familia:

Mi madre Ana María Reyes, mi padre José Antonio Ramírez Luna y mi hermano Iván Ramírez Reyes.

A mis amig@s:

Francisco Espinosa, Mariana Meneses, Leticia Alvarado, Carlos Melo y Joel Rosas,

A nire lagun Itziar Pita eta nire irakasle maitea Haizea Elizondo, aurrera jo ta ke!

A mis compañeros de cubículo provisional: Raúl, Donají, Oscar, Laura y Ricardo por sus comentarios y compañía durante mi estancia en el Laboratorio de Genética y Ecología en el Instituto de Ecología.

A todas aquellas personas con las que he compartido vivencias, experiencias, conocimiento y que han sido determinantes en mi camino, para tod@s ustedes.

Izarren hautsa (polvo de estrellas) Xabier Lete.

Izarren hautsa egun batean bilakatu zen bizigai, hauts hartatikan uste gabean noizpait giûaden gu ernai. Eta horrela bizitzen gera sortuz ta sortuz gure aukera atsedetik hartu gabe: lana egiûaz goaz aurrera kate horretan denok batera gogorki loturik gaude.

Gizonak ba du inguru latz bat menperatzeko premia, burruka hortan bizi da eta hori du bere egia. Ekin ta ekin bilatzen ditu, saiatze hortan ezin gelditu, jakintza eta argia; bide ilunak nekez aurkitu lege berriak noizpait erditu, hortan jokatzu bizia.

Gizonen lana jakintza dugu: ezagutuz aldatzea, naturarekin bat izan eta harremanentan sartzea. Eta indarrak ongi errotuz, gure sustraiak lurrari lotuz, bertatikan irautea: ezaren gudaz baietza sortuz, ukazioa legetzat hartuz beti aurrera joatea.

Ez dadukanak ongi ahi daki euketzea zein den ona, bere premiak bete nahirik beti bizi da gizona.

Gu ere zerbait ba gera eta gauden tokitik hemendik bertan saia gaitzen ikusten: amets eroak baztertutik, sasi zikiûak behingoz erreta bide on bat aukeratzen.

Gu sortu ginen enbor beretik sortuko dira besteak, burruka hortan iraungo duten zuhaitz-ardaska gazteak. Beren aukeren jabe eraikiz ta erortzean berriro jaikiz ibiltzen joanen direnak : gertakizunen indar ta argiz gure ametsa arrazoi garbiz egiztatuko dutenak.

Eta ametsa bilakaturik egiaren antziduri, herri zahar batek bide berritik ekingo dio urduri; guztian lana guztien esku jasoko dute sendo ta prestu, beren bizitzen edargai; diru zakarrak bihotzik eztu, lotuko dute gogor ta hestu, haz ez dadin gizonen gain.

El polvo de estrellas evolucionó un día en semilla de la vida, de ella surgimos nosotros, así sucedió. Y de esa manera vivimos, creando y recreando nuestros destinos, trabajando continuamos sin hastíos todos juntos, en esa cadena interminable, estrechamente unidos.

Dominar el medio hostil es para el hombre una necesidad vital, subsiste luchando por ella, esa es su verdad. Busca afanosamente, sin saciedad, la sabiduría y la luz, orientándose incluso en la obscuridad, iluminándose con la luz del conocimiento, jugándose en ello su vitalidad.

El trabajo humano es conocimiento: conocer para transformar, hermanarse con la naturaleza y con ella vincularse. Naturalizando nuestra energía, uniendo nuestras raíces a la tierra, en ello perduramos; creando lo afirmativo haciendo frente a la negación, seguimos avanzando, siempre tomando por ley la contradicción.

El que no tiene, bien sabe cuán hermoso es tener, pues el hombre trata afanosamente de satisfacer su menester. De igual forma estamos nosotros, por ello, desde donde nos hallamos estancados, intentemos observar, eliminemos lo absurdo, cerciorémonos de la senda del conocimiento, y dejemos así al fin los espinos aledaños desbrozados.

Del mismo árbol del que nacimos nosotros, nacerán las siguientes generaciones, en esa misma lucha, continuarán esas ramas jóvenes. Ellas se constituirán dueñas conscientes de su futuro; avanzarán, levantándose en cada tropiezo; por la fuerza y la certeza de los sucesos, con íntegra razón. Convertirán en fecunda y racional realidad, lo que para nosotros ahora es solo sueño y deseo.

Y cuando el deseo se haga por fin realidad, los viejos pueblos se encaminarán hacia nuevas sendas; responsables y dispuestas aparecerán las manos, todas juntas en una sola, para embellecer sus vidas. El dinero será apresado y sometido por no tener corazón, y así jamás aparecerá encima de lo verdaderamente primordial...la humanidad.

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	1
Abstract.....	3
Introducción.....	5
Antecedentes.....	12
Hipótesis.....	18
Objetivos.....	19
Materiales y métodos.....	20
Resultados.....	31
Discusión.....	55
Conclusiones.....	70
Literatura citada.....	71
Anexo I.....	85
Anexo II.....	89
Anexo III.....	90
Anexo IV.....	91
Anexo V.....	93
Anexo VI Publicación.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica del complejo <i>P. lanei</i> en México.....	15
Figura 2. Mapa de localidades de recolecta de las poblaciones y subespecies del complejo <i>P. lanei</i>	20
Figura 3. Árbol de genes mitocondriales del complejo <i>P. lanei</i> obtenido por inferencia bayesiana (BI).....	40
Figura 4. Árbol de genes mitocondriales del complejo <i>P. lanei</i> obtenido por máxima verosimilitud (ML).....	41
Figura 5. Árbol de genes nucleares obtenido mediante inferencia bayesiana (BI).....	43
Figura 6. Árbol de especies para el complejo <i>P. lanei</i> obtenido por inferencia bayesiana (BI).....	45
Figura 7. Árbol de especies para el complejo <i>P. lanei</i> obtenido por máxima verosimilitud (ML).....	47
Figura 8. Árbol ultramétrico mitocondrial para el complejo <i>P. lanei</i>	50
Figura 9. Árbol ultramétrico de especies para el complejo <i>P. lanei</i>	51
Figura 10. Biogeografía histórica del complejo <i>P. lanei</i> basado en el árbol de genes mitocondriales.....	53
Figura 11. Mapa de especies y eventos vicariantes obtenidos para el complejo <i>P. lanei</i>	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Especies de la familia Phyllodactylidae distribuidas en México.....	13
Cuadro 2. Marcadores moleculares, secuencia de primers, condiciones de amplificación y fuente original del primer utilizados para los análisis filogenéticos.....	22
Cuadro 3. Modelos de sustitución nucleotídica según el criterio AIC.....	25
Cuadro 4. Estadísticos de secuencias de ADN nuclear y mitocondrial para el conjunto de poblaciones y taxa.....	32
Cuadro 5. Estadísticos de DNA mitocondrial (Cyt b) para cada taxón.....	32
Cuadro 6. Estadísticos de DNA nuclear (BDNF) para cada taxón.....	33
Cuadro 7. Matriz de distancias genéticas Tamura-Nei y distancias pareadas Fst de DNA mitocondrial (Cyt b) entre poblaciones del complejo <i>P. lanei</i>	35
Cuadro 8. Matriz de divergencia (Dxy) de DNAm (Cyt b) entre poblaciones del complejo <i>P. lanei</i>	37
Cuadro 9. Valores de soporte promedio de probabilidad posterior de determinación (ppd) obtenidos para las especies putativas del complejo <i>P. lanei</i> en México.....	48
Cuadro 10. Propuesta de cambios taxonómicos dentro del complejo <i>P. lanei</i>	59

RESUMEN

El complejo *Phyllodactylus lanei* (Phyllodactylidae) se encuentra conformado por cuatro subespecies endémicas de México que se distribuyen a través de dos provincias biogeográficas, la Cuenca del Balsas y la Costa Pacífica Mexicana. Los trabajos sobre sistemática filogenética molecular en especies del género *Phyllodactylus* han sido particularmente escasos a pesar del gran número de especies endémicas que se distribuyen en México (81.25% de las especies pertenecen a la familia Phyllodactylidae). La propuesta más reciente indica la existencia de niveles de diversidad sin precedentes y sugieren la existencia de un gran número de especies crípticas dentro del género *Phyllodactylus*.

En este trabajo se recolectaron 73 muestras de tejido provenientes de 12 poblaciones del complejo *P. lanei*, entre las cuales se obtuvieron muestras de las poblaciones tipo de las subespecies *P. l. lanei*, *P. l. rupinus*, *P. l. lupitae* y *P. l. isabellae*. Con base en cuatro genes, dos mitocondriales (Cyt b, 16S RNAr) y dos nucleares (BDNF, C-mos), se realizaron análisis filogenéticos por medio de dos aproximaciones paramétricas: máxima verosimilitud e inferencia bayesiana. Los resultados mostraron 10 linajes en los árboles mitocondriales y de especies con altos valores de soporte de ramas (bootstrapp >75 y pp >0.95). El árbol de especies obtenido por máxima verosimilitud fue utilizado para inferir los límites de especies putativas de acuerdo al modelo PTP (Poisson Tree Processes) mediante una implementación bayesiana. Los resultados obtenidos del análisis PTP en conjunto con los análisis filogenéticos, desde una perspectiva conservadora, permiten sugerir que el complejo *P. lanei* está compuesto al menos por 10 especies putativas, por lo que se sugiere una revisión taxonómica para este grupo de geckos endémicos de México. Se realizaron análisis de tiempos de divergencia, los

cuales mostraron que el clado que comprende al complejo *P. lanei* se originó hace alrededor de 55 millones de años (mda), a finales del Paleoceno; se observa además una alta diversificación alrededor de 50-30 mda durante el Eoceno. Este resultado confirma que los cambios climáticos ocurridos durante el Pleistoceno no influyeron en la diversificación ni en los procesos de especiación de este grupo de lacertilios, como lo sugiere la revisión más reciente de la evolución de estos geckos. Por otra parte, el análisis biogeográfico demostró que la distribución actual de las poblaciones del complejo *P. lanei* se debe a distintos procesos de dispersión y vicarianza, originados a partir de las áreas ancestrales del clado, ubicadas en las costas del sur de México (Guerrero/Oaxaca). La reconstrucción de áreas ancestrales identificó tres eventos vicariantes durante la evolución de los linajes, dos de ellos se relacionan estrechamente con la formación de dos cadenas montañosas, la Sierra Madre del Sur y la Faja Volcánica Transmexicana, sugiriendo que algunas especies son el resultado de procesos de especiación alopátrica, ya que las cadenas montañosas han aislado y permitido la diferenciación de los linajes de la Cuenca del Balsas y de la Costa Pacífica Mexicana (sur y occidente).

ABSTRACT

The *Phyllodactylus lanei* complex (Phyllodactylidae) is formed by four endemic subspecies of Mexico that are distributed through two biogeographic provinces, Balsas Basin and Mexican Pacific Coast. Studies on molecular phylogenetic species of genus *Phyllodactylus* have been particularly scarce despite the large number of endemic species distributed in Mexico (81.25% of the species belong to the family Phyllodactylidae). The most recent proposal indicates the existence of unprecedented levels of diversity and suggest the existence of a large number of cryptic species within the genus *Phyllodactylus*.

In this work 73 tissue samples from 12 populations of *P. lanei* complex, including samples of populations type subspecies *P. l. lanei*, *P. l. rupinus*, *P. l. lupitae* and *P. l. isabellae* were collected. Based on four genes, two mitochondrial (Cyt b, 16S rRNA) and two nuclear (BDNF, C-mos), phylogenetic analyzes were performed by two parametric approaches: Maximum Likelihood and Bayesian Inference. The results showed 10 lineages in mitochondrial and species trees with high values of branch support (bootstrapp>75 and pp > 0.95). The tree species obtained by maximum likelihood was used to infer putative species limits according to the model PTP (Tree Poisson Processes) using a bayesian implementation. The results of the analysis PTP together with phylogenetic analysis, allow us to suggest that the *P. lanei* complex comprises at least 10 putative species from a conservative perspective, therefore a taxonomic revision is suggested for this group of endemic geckos of Mexico. Analysis of divergence times were performed, which showed that the clade comprising the complex *P. lanei* originated about 55 million years ago (mya), in the late Paleocene; also observed highly diversified during the Eocene around 50-30 mya. This result confirms

that climatic changes during the Pleistocene did not influence the diversification and speciation processes in this group of lizards, as suggested by the most recent revision of the evolution of these geckos. Moreover, the biogeographical analysis showed that the current distribution of populations of *P. lanei* complex due to different processes of dispersion and vicariance, originated from the ancient clade areas, located on the coast of southern Mexico (Guerrero/Oaxaca). The reconstruction of ancestral areas identified three vicariant events during the evolution of the lineages, two of them are closely related to the formation of two mountain ranges, the Sierra Madre del Sur and the Mexican Volcanic Belt, suggesting that some species are the result of processes of allopatric speciation, as the mountain ranges have been isolated and allowed differentiation of lineages in the Balsas Basin and Mexican Pacific Coast (south and west).

INTRODUCCIÓN

El proceso de especiación es un concepto evolutivo fundamental que ha propiciado un extenso debate en el campo de la biología. Asimismo, existe controversia acerca del concepto de especie, es decir, definir linajes que evolucionan independientemente y reconocer las fronteras en las cuales se ha llevado a cabo la especiación (Darwin, 1859; De Queiroz y Donoghue, 1998; Mallet, 2006; De Queiroz, 2007; Mulcahy, 2008; Blair et al., 2015). Las especies constituyen unidades evolutivas fundamentales, ya que existen como entidades naturales originadas por diversos procesos evolutivos y también existen como una categoría taxonómica fundamental, es decir, la especie es una unidad de estudio para diversas disciplinas (evolución, conservación, ecología, etc.). Las especies son comparadas por su importancia con algunas unidades esenciales de la organización biológica como son los genes, células, organismos y poblaciones (Wiens y Penkrot, 2002; De Queiroz, 2007; Leaché y Fujita, 2010; Fujita et al., 2012). Debido a lo anterior, es esencial distinguir entre el proceso de delimitación de especies del concepto de especie en sí mismo (la definición de especie) (De Queiroz, 2007; Yang y Rannala, 2014).

Muchos de los conceptos de especie y sus definiciones son incompatibles, ya que cada una puede llevar a diferentes conclusiones acerca del límite de especies y, por consiguiente, el número de ellas (De Queiroz, 2007; Knowles y Carstens, 2007). Dada esta problemática, De Queiroz (2007) formuló el concepto unificado de especie, en el cual confluyen la mayoría de conceptos (biológico, evolutivo y filogenético) previamente utilizados en la biología y sistemática. Este concepto define a las especies como linajes o segmentos de linajes metapoblacionales que evolucionan de manera independiente. Este concepto proporciona un contexto para comprender la relevancia de diversos

métodos para solucionar el problema de delimitación de especies. Así, el concepto unificado de especie provee un marco para integrar la información proporcionada por diferentes métodos de delimitación de especies en poblaciones naturales sin la necesidad de exclusividad de criterios de definición de especies (De Queiroz, 2007; Knowles y Carstens, 2007). Debido a que la especie es una categoría fundamental, identificar linajes que evolucionan independientemente es el objetivo central de los diferentes métodos de delimitación de especies. La delimitación de especies es el proceso mediante el cual se determinan los límites y el número de especies a partir de un conjunto de datos; este proceso también permite delimitar y proponer la existencia de nuevas especies (Fujita et al., 2012; Zhang et al., 2013). A pesar de avances metodológicos y del conocimiento en sistemática filogenética y evolución, la delimitación de especies en algunos grupos biológicos parece ser particularmente complicado, sobre todo por la presencia de lo que se reconoce como “especies crípticas”, es decir, aquellas que presentan características morfológicas altamente conservadas que no permiten distinción entre ellas, es decir, dos o más especies que se clasifican erróneamente bajo una sola entidad, por lo que su aceptación taxonómica resulta debatible (Bickford, et al., 2007; Gamble et al. 2008a; Leaché y Fujita, 2010; Bauer et al., 2011; Fujita y Leaché, 2011; Blair et al., 2015).

Las especies han sido tradicionalmente, identificadas y descritas utilizando caracteres morfológicos, sin embargo, el uso de datos exclusivamente morfológicos pueden subestimar el número de especies y en particular pueden fallar en la identificación de “especies crípticas” (Yang y Rannala, 2010). Debido a lo anterior, cada vez es más recurrente el uso de secuencias genéticas en sistemática, en donde las secuencias de ADN se emplean para inferir relaciones filogenéticas y para delimitar especies. Se han

propuesto varios métodos para solucionar el problema de delimitación de especies (Fujita et al., 2012; Yang y Rannala, 2014), por ejemplo, métodos específicos para analizar los límites de especies basados en reconstrucciones filogenéticas de datos moleculares (Carstens et al., 2013). El más popular es el método mixto generalizado Yule-coalescencia (GMYC) (Pons et al., 2006; Fujita et al., 2012; Yang y Rannala, 2014; Blair et al., 2015), mientras que el Proceso de Ramificación de Piosson (PTP) ha sido recientemente propuesto por Zhang et al. (2013) como una alternativa al GMYC (Lang et al., 2015). Ambos estiman el punto de transición entre poblaciones y especies, por lo tanto, infieren los límites de las especies con base en las diferencias en las tasas de ramificación (branching) a nivel de población y de especie, asumiendo que el número de sustituciones dentro de una especie es significativamente menor que el que hay entre las especies (Zhang et al., 2013; Lang et al., 2015).

La taxonomía y la sistemática son disciplinas fundamentales en el estudio de la biología evolutiva, la primera se encarga de clasificar y ordenar entidades (individuos, elementos) dentro de clases; dichas clases se agrupan mediante propiedades definidas que son compartidas entre sus miembros (atributos, caracteres). La sistemática ordena las entidades dentro de sistemas, donde un sistema constituye una entidad más inclusiva cuya existencia depende de procesos naturales, mediante los cuales, las partes componentes de dicho sistema se relacionan íntimamente (De Queiroz, 1998). Dado que la sistemática es la ciencia que estudia la diversidad biológica presente y extinta (desde el nivel molecular hasta el ecosistémico), sus objetivos principales son la delimitación de especies y la reconstrucción de sus relaciones filogenéticas. Ya que la diversidad se ha producido mediante diferentes procesos evolutivos parte de la sistemática implica la investigación de la historia evolutiva de cada linaje (filogenia),

para posteriormente auxiliar en la elaboración de clasificaciones naturales. Estas características le confieren a la sistemática una importancia fundamental en el estudio de la biodiversidad, conservación y evolución de linajes naturales (Wiens y Penkrot, 2002; De Luna et al., 2005; Moreno, 2005; Blair et al., 2015). Actualmente, también es una prioridad de la sistemática moderna descubrir y documentar la riqueza de especies crípticas (dos o más especies morfológicamente similares, pero no genéticamente iguales). El conocimiento de las especies crípticas es esencial para identificar y conservar la diversidad biológica (Oliver et al., 2010; Blair et al., 2015).

Las relaciones evolutivas entre genes y taxa de cualquier nivel pueden ser ilustrados mediante el uso de árboles filogenéticos que muestran cuáles genes, organismos o linajes están más estrechamente relacionados (Lemey et al., 2009). Cuando los árboles filogenéticos representan la historia evolutiva de un gen particular o secuencias de ADN se conocen como árboles de genes. Si estos árboles de genes reflejan las relaciones entre las especies, pueden ser considerados árboles de especies si los genes comparados en análisis filogenéticos son ortólogos, ya que estos genes proporcionan información acerca de eventos de especiación (Lemey et al., 2009; Blair y Murphy, 2011). Los genes ortólogos son genes homólogos en diferentes especies que coalescen en un gen ancestral común, los cuales no han sido generados por duplicación genética o mediante transmisión horizontal de genes (Lemey et al., 2009).

En estudios filogenéticos realizados en animales, el DNA mitocondrial (DNAMt) ha sido ampliamente utilizado principalmente por presentar altas tasas de mutación y comúnmente herencia materna sin recombinación (Avice, 1998; 2000; Lanteri y Confalonieri, 2003, Wiens y Penkrot, 2002). Aunque el DNAMt puede ser una poderosa herramienta en la delimitación de especies, especialmente en grupos que son difíciles

de resolver, se recomienda el uso de caracteres nucleares, morfológicos o etológicos para reafirmar las fronteras entre especies (Leaché y McGuire, 2006; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009; Bauer et al., 2011). Esto se debe principalmente a que el DNAm puede estar sujeto a diferentes factores entre los que se encuentran: la presencia de linajes polimórficos ancestrales mantenidos en las poblaciones actuales, procesos de introgresión e historias de vida sexual sesgadas (Avice, 2000; Leaché y McGuire, 2006). Además, los análisis basados en DNAm permiten resolver historias matrilineales únicamente, mientras que el DNA nuclear (DNA_n) proporciona evidencia de flujo génico, incluyendo la contribución paterna a la historia evolutiva de los linajes (Blair, 2012; Blair et al., 2015).

Los avances teóricos y metodológicos en análisis de filogramas han sido los que han tenido más impacto en la sistemática filogenética, los cuales incluyen métodos alternativos para la selección de hipótesis filogenéticas basados en parsimonia y métodos probabilísticos que incluyen máxima verosimilitud (ML) e inferencia bayesiana (BI) (De Luna et al., 2005). Un filograma es un árbol filogenético que representa las relaciones evolutivas entre los taxa donde, a diferencia de un cladograma, las longitudes de las ramas son proporcionales a la distancia genética o evolutiva inferida, por lo tanto, este tipo de diagramas resulta ser más informativo que los cladogramas tradicionales (Lemey et al., 2009). Los análisis filogenéticos basados en ML y BI han sido ampliamente utilizados en estudios de caracteres moleculares, debido a que permiten incorporar modelos de evolución al análisis de secuencias, heterogeneidad de tasas de sustitución y en el caso de análisis bayesianos, conocimiento previo del grupo de interés (priors), lo que da como resultado modelos filogenéticos que explican mejor la evolución de las secuencias de ADN y por consiguiente hipótesis filogenéticas más

robustas, en comparación con los métodos de parsimonia (Felsenstein, 1981; Huelsenbeck et al., 2002; Lemey et al., 2009; Blair y Murphy, 2011).

Los geckos del genero *Phyllodactylus* albergan una alta diversidad críptica molecular, ya que estos lacertilios mantienen morfologías muy conservadas, las cuales contrastan profundamente con la variación genética que presentan algunas especies y poblaciones (Blair et al., 2009; 2013; 2014; 2015). En los últimos años se han encontrado especies crípticas de geckos alrededor del mundo con base en análisis filogenéticos de caracteres moleculares (Leaché y Fujita, 2010), revelando que muchas especies putativas en realidad están conformadas por un complejo de especies morfológicamente conservadas, pero genéticamente distintas y altamente divergentes (Oliver et al., 2010; Blair, 2012; Nguyen et al., 2013; Blair et al., 2015). Asimismo, se ha documentado que el número de especies de geckos en el mundo puede estar actualmente subestimado debido a los métodos de delimitación de especies tradicionales, lo que resulta en un conservadurismo taxonómico (Leaché y Fujita, 2010; Oliver et al., 2010; Fujita y Leaché, 2011; Blair, 2012; Nguyen et al., 2013; Smid et al., 2013a; Blair et al., 2015).

La taxonomía y la delimitación de especies de geckos del género *Phyllodactylus* en América han sido muy discutidas, debido principalmente a la gran variabilidad que presentan en varios caracteres morfológicos, como los patrones de escutelación y número de laminillas digitales, dando como resultado gran confusión taxonómica (Dixon, 1964; Blair et al., 2009; Murphy et al., 2009). Los trabajos realizados en especies de *Phyllodactylus* a nivel genético son muy escasos, particularmente en México donde se ha observado que dentro de algunas poblaciones existen niveles significativos de estructura genética, lo cual sugiere que estas especies raramente se

dispersan y que existe un elevado grado de diferenciación genética entre poblaciones sobre escalas espaciales muy finas (Blair et al., 2013; 2014). Aunque escasos, los trabajos de sistemática molecular que se han hecho acerca de especies del género *Phyllodactylus* en México (Blair et al., 2009; 2015) han demostrado el alto grado de diversidad críptica molecular que existe en estos geckos. Dichos estudios han revelado altos niveles de diversidad genética en algunas poblaciones e historias evolutivas complejas en varios linajes de este grupo de lacertilios, lo que llevó a Blair et al. (2015) a afirmar, en el estudio más reciente sobre sistemática molecular, que “prácticamente cualquier población de *Phyllodactylus* en el occidente de México podría constituir una especie distinta”. Esta afirmación denota la falta de estudios genéticos y evolutivos de este grupo de geckos en México. Así, el presente trabajo de caracterización molecular del complejo *Phyllodactylus lanei* tiene como objetivo contribuir en la integración de técnicas y datos moleculares a la delimitación de especies y al conocimiento de la diversidad filogenética e historia evolutiva de este grupo de geckos endémicos de México.

ANTECEDENTES

Familia Phyllodactylidae

El género *Phyllodactylus* (Gray, 1828) fue inicialmente ubicado dentro de la familia Gekkonidae junto con otros géneros (*Asaccus*, *Haemodracon*, *Paroedura*, *Euleptes*), debido principalmente a la presencia de algunos caracteres morfológicos como los patrones de escutelación y el número de laminillas digitales. Sin embargo, las hipótesis filogenéticas resultantes no conformaban grupos monofiléticos y estos géneros se agruparon junto con otros taxa, a menudo basados en un solo carácter en ocasiones homoplásico, dando como resultado filogenias artificiales (Gamble et al., 2008a). Posteriormente, gracias a los trabajos en sistemática molecular elaborados por Gamble et al. (2008b) sobre los géneros *Thecadactylus*, *Ptyodactylus*, *Haemodracon*, *Asaccus*, *Tarentola*, *Phyllopezus*, *Homonota* y *Phyllodactylus*, se pudieron obtener sus relaciones filogenéticas basadas en una delección de 3 pb en la posición 152 del gen PDC. Esta característica definió una sinapomorfía que formó un clado monofilético que denominaron taxonómicamente como la familia Phyllodactylidae. Por otra parte, Vidal y Hedges (2009), en su revisión de evolución molecular de lacertilios, serpientes y anfisbénidos, también reconocieron el soporte de este nuevo clado y por consiguiente la validez de la familia Phyllodactylidae como grupo natural. Actualmente se reconocen 11 géneros dentro de esta familia (Vitt y Caldwell, 2014), los cuales contienen más de 100 especies que se encuentran distribuidos en las regiones semiáridas y tropicales del norte de África, sur de Europa, Norte, Centro y Sudamérica, así como en islas del Caribe (Dixon, 1964; Murphy et al., 2009; Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayen, 2010; Gamble et al., 2011; Vitt y Caldwell, 2014). El origen de esta familia se remonta hace aproximadamente 100 millones de años durante la separación de África y Sudamérica

en el Cretácico. La diversificación del género *Phyllodactylus* en América ocurrió durante el Paleogeno hace 65 millones de años mediante eventos de dispersión de África hacia América (Gamble et al., 2011).

De las más de 100 especies que componen el género *Phyllodactylus*, aproximadamente 47 se encuentran distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales de América (Murphy et al., 2009). Particularmente en México, se encuentran 15 especies de lacertilios del género *Phyllodactylus* de las cuales 13 son endémicas, lo que representa el 81.25% de endemidad para la familia Phyllodactylidae (Flores-Villela y García-Vázquez, 2014) (Cuadro 1). Son lagartijas nocturnas que carecen de párpados, presentan cuerpos deprimidos con tubérculos quillados separados por escamas granulares y en las puntas de los dedos presentan dos laminillas grandes (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayen, 2010).

Cuadro 1. Especies de la familia Phyllodactylidae distribuidas en México (Uetz, 2014).

ESPECIES	AUTOR	AÑO
<i>Phyllodactylus bordai</i> *	Taylor	1942
<i>Phyllodactylus bugastrolepis</i> *	Dixon	1966
<i>Phyllodactylus davisii</i> *	Dixon	1964
<i>Phyllodactylus delcampoi</i> *	Mosauer	1936
<i>Phyllodactylus duellmani</i> *	Dixon	1960
<i>Phyllodactylus homolepidurus</i> *	Smith	1935
<i>Phyllodactylus lanei</i> *	Smith	1935
<i>Phyllodactylus muralis</i> *	Taylor	1940
<i>Phyllodactylus nocticolus</i>	Dixon	1964
<i>Phyllodactylus papenfussi</i> *	Murphy, Blair y Méndez de la Cruz	2009
<i>Phyllodactylus partidus</i> *	Dixon	1966
<i>Phyllodactylus paucituberculatus</i> *	Dixon	1960
<i>Phyllodactylus tuberculosus</i>	Wiegmann	1834
<i>Phyllodactylus unctus</i> *	Cope	1864
<i>Phyllodactylus xanti</i> *	Cope	1863
<i>Thecadactylus rapicaudus</i>	Houttuyn	1782

*endémicas de México

Complejo *Phyllodactylus lanei*

La salamanesca pata de res, *Phyllodactylus lanei* (Smith, 1935), es una lagartija de talla mediana que llega a medir hasta 95 mm de longitud hocico-cloaca. Está relacionada con *P. tuberculosus*, pero se diferencia de ésta por presentar menor número de escamas interorbitales, tener el vientre blanco y menor número de escamas a través del hocico entre las terceras escamas labiales. Esta especie fue colectada en Tierra Colorada en el estado de Guerrero en junio de 1932 (Smith, 1935; Dixon, 1964). Es endémica de México y se distribuye en dos provincias biogeográficas, a través de la Cuenca del Balsas en los estados de Morelos, Guerrero y Michoacán hasta Nayarit y a través de la provincia Costa Pacífica Mexicana atravesando los estados de Colima y Jalisco (Dixon, 1964; Ponce-Campos y García-Aguayo, 2007, Aréchaga-Ocampo et al., 2008). Casas-Andreu et al. (1996) y Martín-Regalado et al. (2011) confirman la presencia de *Phyllodactylus lanei* en el estado de Oaxaca, sobre la Costa Pacífica Mexicana (Figura 1). Son lagartijas ovíparas de hábitos nocturnos y pueden encontrarse sobre rocas y árboles principalmente, aunque también pueden estar asociadas a hábitats perturbados en las casas y construcciones. Los principales tipos de vegetación donde habitan son selva baja caducifolia, selva mediana subperennifolia y matorral xerófilo (García y Ceballos, 1994). En la revisión del género *Phyllodactylus*, Dixon (1964) describió dos subespecies basado en caracteres morfológicos y en la distribución geográfica, la subespecie nominal *P. l. lanei* para las poblaciones del estado de Guerrero y *P. l. rupinus* para las poblaciones de los estados de Michoacán y Jalisco. El número de escamas ventrales de la región gular hasta el ano es mayor en *P. l. rupinus*; el número de escamas interorbitales, escamas a través del hocico, tubérculos

entre la axila y la ingle y de la cabeza a la cola y las filas longitudinales de tubérculos dorsales son menores para *P. I. rupinus* en comparación con *P. I. lanei* (Dixon, 1964).



Figura 1. Distribución geográfica de *P. lanei*, los símbolos rojos indican los registros obtenidos de la GBIF (2013) y en amarillo los registros del MZFC-UNAM. Los óvalos agrupan las diferentes poblaciones que representan las cuatro subespecies de *P. lanei*: ovalo café (*P. I. lanei*), verde (*P. I. rupinus*), azul (*P. I. isabelae*) y rojo (*P. I. lupitae*) (Dixon, 1964; Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992; Castiglia et al., 2010; Uetz, 2014).

Por otra parte, Castro-Franco y Uribe-Peña (1992) describieron dos nuevas subespecies basadas en caracteres morfológicos de ejemplares colectados en algunas

islas del Pacífico, *P. l. isabellae* colectada en las islas Marietas y *P. l. lupitae* de la isla El Coral (también conocida como La Peña), en el estado de Nayarit. La primera se caracteriza por medir menos de 60 mm de longitud hocico-cloaca, presentar de 16 a 21 hileras de tubérculos que cruzan el dorso y un número de escamas interorbitales de 12 a 16. Comparativamente, *P. l. lupitae* mide más de 60 mm de longitud hocico-cloaca y presenta de 12 a 20 hileras de tubérculos que cruzan el dorso y de 13 a 28 escamas interorbitales (Uribe-Peña y Gaviño, 1981; Castro-Franco y Gaviño, 1990; Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992). Por lo tanto, el complejo *P. lanei* (*sensu stricto*) queda conformado por cuatro subespecies reconocidas actualmente: *P. l. lanei*, *P. l. rupinus*, *P. l. isabellae* y *P. l. lupitae* (Dixon, 1964; Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992; Castiglia et al., 2010; Uetz, 2014).

Sistemática y taxonomía del género *Phyllodactylus* en México

Los primeros trabajos sistemáticos y taxonómicos de geckos en el mundo fueron elaborados con base en el estudio de caracteres morfológicos de anatomía ocular (Underwood, 1954), osteología y morfología corporal (Kluge, 1967). Estos trabajos constituyen el primer esfuerzo en realizar hipótesis evolutivas y biogeográficas de distintos géneros de geckos en el mundo, estableciendo así los primeros estudios de sistemática sobre este grupo de lacertilios a niveles supraespecíficos (Russell y Bauer, 2002; Gamble et al., 2008a).

Se han realizado pocos trabajos de sistemática de las especies del género *Phyllodactylus* en México. Los estudios de Dixon (1964) y Dixon y Huey (1970) comprenden los primeros esfuerzos en el estudio de las especies de este género en el continente Americano. Estos autores reconocieron la problemática taxonómica de este

grupo de geckos. El primer estudio que incorporó datos moleculares fue el de Blair et al. (2009), quienes infieren relaciones filogenéticas entre especies insulares y continentales del género *Phyllodactylus* en México, y resolvieron las relaciones filogenéticas de siete especies para la península de Baja California basados en el análisis de cuatro genes mitocondriales (12S rRNA, 16S rRNA, COI, ND4) y dos nucleares (BDNF, C-mos). Sus resultados mostraron evidencia genética sobre la validez de *P. nocticolus* como especie distinta y hermana de *P. xanti* y *P. unctus*.

El estudio molecular más reciente sobre filogenia, delimitación de especies y evolución de geckos del género *Phyllodactylus* en México fue el elaborado por Blair et al. (2015), quienes sugieren que existe una diversidad críptica significativa y que por consiguiente es necesaria una revisión profunda en la taxonomía del grupo. Mediante un análisis que incorpora secuencias multilocus (2 genes mitocondriales ND4, Cyt b y 2 genes nucleares alfa-enolasa, lamin A) y métodos de coalescencia filogenética, encontraron niveles sin precedentes de diversidad *Phyllodactylus* endémicos de México, así como historias evolutivas complejas, por lo que sugieren que la diversificación de estos geckos está estrechamente relacionada con la formación del Bosque Tropical Caducifolio (Tropical Dry Forest) durante el Mioceno. Ellos reconocen desde una perspectiva conservadora la existencia de 17 especies para el grupo *P. tuberculatus* y cinco especies para el complejo *P. lanei*.

HIPÓTESIS

H0: La variación morfológica de las poblaciones del complejo *Phyllodactylus lanei* no refleja procesos de divergencia, por lo que las subespecies propuestas no conforman un complejo de especies diferenciadas genéticamente.

HA: La variación morfológica de las poblaciones del complejo *Phyllodactylus lanei* refleja procesos de divergencia, por lo que las subespecies propuestas conforman un complejo de especies diferenciadas genéticamente.

OBJETIVOS

Objetivo general

- ❖ Establecer las relaciones filogenéticas entre las poblaciones y subespecies del complejo *Phyllodactylus lanei* mediante el uso de marcadores moleculares mitocondriales y nucleares.

Objetivos particulares

- ❖ Verificar la monofilia de los linajes del complejo *P. lanei*.
- ❖ Estimar los tiempos de divergencia para las subespecies del complejo *P. lanei*.
- ❖ Determinar el número de especies putativas incluidas en el complejo *P. lanei*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se recolectaron muestras de tejido de 73 individuos y 31 especímenes de referencia del complejo *P. lanei* (*P. l. lanei*, *P. l. rupinus*, *P. l. lupitae*, *P. l. isabelae*), a lo largo de su área de distribución, incluyendo las localidades tipo de cada taxón (Dixon, 1964; Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992) (Figura 2).

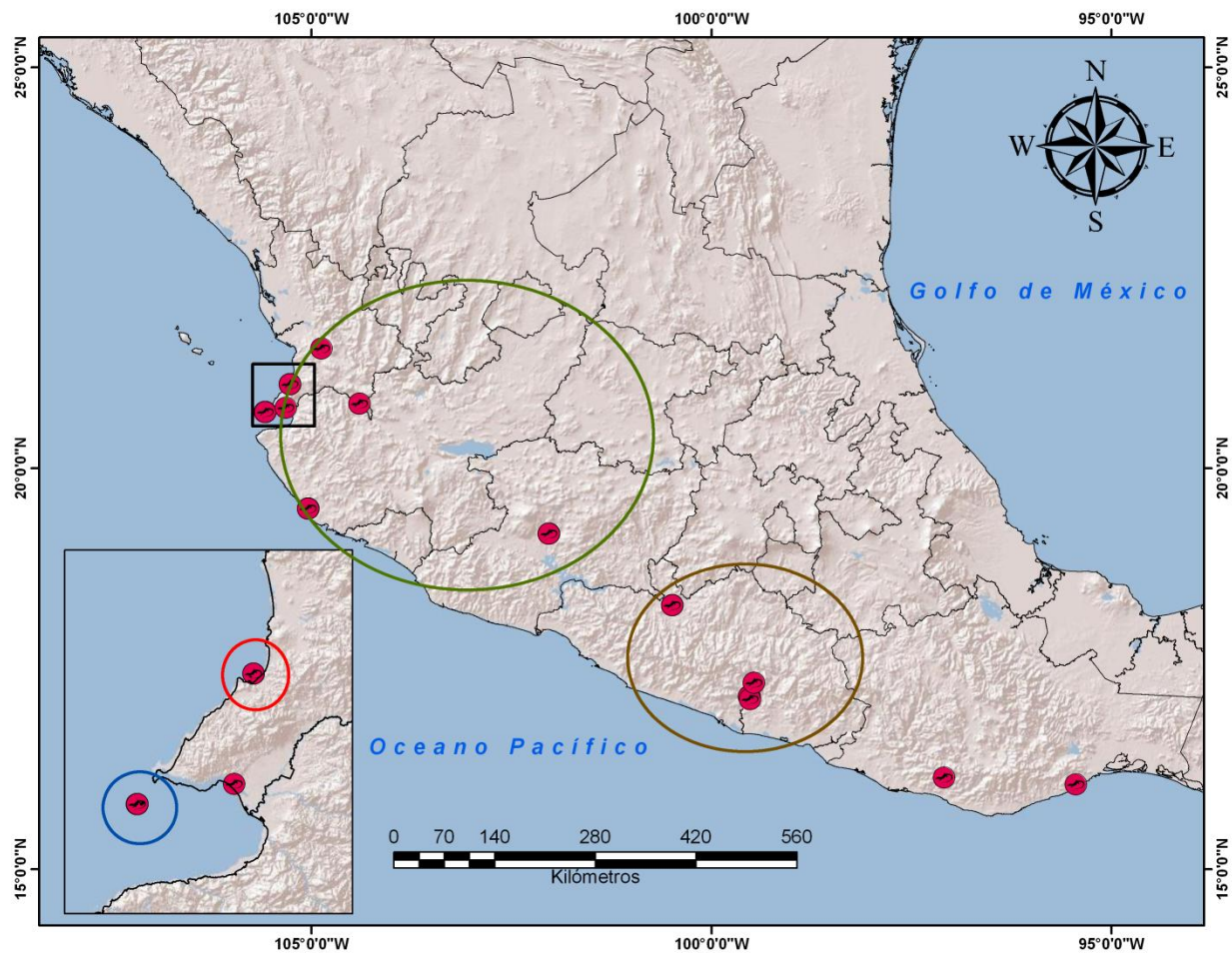


Figura 2. Mapa de localidades de recolecta de las subespecies del complejo *P. lanei*. Los óvalos agrupan las diferentes poblaciones que representan las cuatro subespecies de *P. lanei*: ovalo café (*P. l. lanei*), verde (*P. l. rupinus*), azul (*P. l. isabelae*) y rojo (*P. l. lupitae*) (Dixon, 1964; Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992; Castiglia et al., 2010; Uetz, 2014).

Métodos de colecta

Se obtuvieron fragmentos de cola menores a 3 cm de longitud de cada individuo capturado, que se mantuvieron en etanol al 96%. Cuando se presentó autotomía caudal se recolectó la cola completa. Una vez obtenidas las muestras de tejido se registró la longitud hocico-cloaca (LHC) y posteriormente se liberó la mayor parte de los individuos en el mismo sitio de colecta. Se sacrificó un máximo de ocho individuos por localidad aplicándoles inyección intravenosa de pentobarbital sódico. Estos especímenes se sacrificaron con la finalidad de contar con ejemplares voucher de referencia en una colección científica registrada, ya que no existen ejemplares de *P. l. isabelae* ni de *P. l. lupitae* representados en alguna colección científica reconocida en México, además de que en trabajos sobre revisión sistemática y taxonómica, los especímenes voucher constituyen una referencia invaluable de información. Los especímenes voucher se encuentran debidamente curados y fueron depositados en la colección herpetológica del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias UNAM (MZFC-UNAM) (Anexo I).

Métodos de laboratorio

Extracción de ADN

El ADN genómico total fue extraído utilizando los protocolos de DNeasy Blood and Tissue Kit de QIAGEN (Anexo II). Adicionalmente se solicitaron muestras de tejido de *Phyllodactylus sp.* (Oaxaca), *P. bordai* y *P. tuberculosus* a la colección herpetológica del MZFC, la información generada fue incorporada al análisis.

Amplificación por PCR

Se amplificaron secuencias de DNA mitocondrial (DNAMt) de los genes Citocromo b y 16S rRNA, y de DNA nuclear (DNA nu) de los genes C-mos (proto-oncogene) y BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) (Cuadro 2) (Carranza, 2002; Carranza et al., 2006; Blair et al., 2009, Smid et al., 2013a).

Cuadro 2. Marcadores moleculares, secuencia de primers, condiciones de amplificación y fuente original del primer utilizados para los análisis filogenéticos.

Gene	Nombre del primer	Secuencia del primer (5'-3')	Longitud del fragmento a analizar (pb)	Temperatura de alineamiento	Fuente del primer
16S rRNA	16sAL	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	535	50°	Palumbi et al. 1991
	16sBH	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT			
Cyt b	Cytb 1	CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA	331	50°	Kocher et al. 1989
	Cytb 2	CCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA			
C-mos	FUF	TTTGGTTCKGTCTACAAGGCTAC	438	50°	Gamble et al. 2008b
	FUR	AGGGAACATCCAAAGTCTCCAAT			
BDNF	BDNFf	GACCATCCTTTTCTKACTATGGTTATTTTCATACTT	680	50°	Leaché y McGuire, 2006
	BDNFr	CTATCTTCCCCTTTTAATGGTCAGTGACAAAC			

Las condiciones de PCR se estandarizaron a partir de las publicadas por Blair et al. (2009) en 25 µl Mix de reacción (2.5 mM) que contienen: 16.05 µl ddH₂O, 2.5 mM MgCl₂, 2.5 µl de buffer, 0.8 µl 10mM dNTPs, 1 µl 10 mM de cada primer, 0.15 µl 5 U Taq DNA polimerasa y 1 µl DNA molde.

Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial 94 °C (2 min) seguidos por 39 ciclos de 94 °C (30 segundos), 50 °C (45 segundos), 72 °C (45 segundos), con una temperatura de extensión final de 72 °C por 6 minutos. La amplificación se realizó en un termociclador ABI (Applied Biosystems). Para visualizar los productos amplificados se utilizaron geles de agarosa con bromuro de etidio (1%).

Los productos de PCR se purificaron y secuenciaron (forward y reverse) a través del proveedor de servicios de secuenciación High Throughput Sequencing (HTSeq), Washington, Estados Unidos de América (<http://www.htseq.org>).

Ensamblado y edición de secuencias

Los cromatogramas fueron visualizados en el programa ChromasPro 1.7.6 y se realizaron secuencias consenso (ensamble) para cada par de secuencias (forward y reverse) y posteriormente fueron exportadas y editadas en BioEdit 7.2.5 (Hall, 1999). Finalmente se realizó una búsqueda de las secuencias obtenidas utilizando BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) en la página web de la NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para confirmar la correcta identificación de los fragmentos amplificados.

Alineamiento de secuencias y estimación de haplotipos

Las secuencias obtenidas se alinearon con ayuda del programa MAFFT en la versión online (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mafft/>). Las secuencias fueron editadas y visualizadas en Mesquite 3.04 (Madisson y Madisson, 2015). Además de los productos amplificados por PCR se obtuvieron dos secuencias homólogas (Citocromo b) de *Homonota fasciata* (FJ985031, FJ985029) a través de la base de datos de Genbank

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), éstas secuencias fueron incorporadas a los análisis filogenéticos como grupo externo y también para la calibración de nodos en los árboles ultramétricos.

Los genes codificantes fueron traducidos a aminoácidos para verificar que no existieran codones de terminación prematuros, descartando la existencia de pseudogenes. Los alelos de individuos heterocigotos fueron identificados utilizando la herramienta Phase (Stephens et al., 2001) implementada en DnaSP v.5 (Librado y Rozas, 2009; Unmack et al., 2012). Todas las secuencias fueron depositadas en la base de datos del GenBank con los números de acceso KT008673-KT008912 y KT156562-KT156609.

Modelos evolutivos

Para evaluar el mejor modelo de sustitución nucleotídica que ajustara a cada gen por separado, además de genes concatenados nucleares y mitocondriales respectivamente, se utilizó el programa jModelTest 2.1.6. (Darriba et al., 2012). Con ayuda del programa se seleccionó un modelo de sustitución bajo el Criterio de Información de Akaike (Akaike, 1973) (Cuadro 3). El Criterio de Información de Akaike (AIC) es un estimador asintótico que mide la distancia entre el modelo verdadero y el modelo estimado, en otras palabras, es una estimación del conjunto de información que se pierde cuando se utiliza un modelo para representar un proceso estocástico. El AIC para cualquier modelo es $-2 \ln \text{likelihood} + 2k$, donde k es el número de parámetros estimados. Los modelos que presentan valores menores de AIC proporcionan un mejor ajuste al conjunto de datos (Lemey et al., 2009). El AIC tiene implícitamente constantes aditivas desconocidas que no dependen del modelo ajustado, estas diferencias de AIC son conocidas como valores delta (Δ), estos valores son fundamentales para la

clasificación de los modelos de acuerdo a la pérdida de información. Estos valores delta se encuentran en una escala continua de información y son interpretables, como regla general, los valores delta menor a 2 sugieren una evidencia sustancial del modelo seleccionado (Burnham et al., 2011; Lang et al., 2015), por lo tanto, todos los valores delta obtenidos de los modelos seleccionados son altamente soportados ($\Delta=0.0$) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Modelos de sustitución nucleotídica que mejor se ajustan a los datos según el criterio AIC.

Gen	Modelo seleccionado	Delta (Δ)
Citocromo b	TIM2+G	0.000000
16 sRNA	TIM2+I+G	0.000000
BDNF	TrN+I	0.000000
C-mos	TPM3uf+I+G	0.000000
Cytb + 16S	GTR+I+G	0.000000
BDNF + Cmos	GTR+I+G	0.000000

Análisis de secuencias y distancias genéticas

La distancia evolutiva entre un par de secuencias es medida generalmente por el número de sustituciones de nucleótidos (o aminoácidos) que existen entre ellas. Las distancias evolutivas son fundamentales para el estudio de la evolución molecular y son ampliamente utilizadas en reconstrucción filogenética y estimación de tiempos de divergencia (Tamura et al., 2013). Por lo tanto, en el presente trabajo se realizó un análisis de distancias nucleotídicas de DNA mitocondrial (Cyt b) implementado en MEGA 6 (Tamura et al., 2013), mediante el modelo de Tamura-Nei, implementando la variación de tasas y heterogeneidad de patrón.

Por otra parte se utilizó el programa DnaSP para calcular estadísticos de diversidad nucleotídica (mitocondrial y nuclear) y para realizar un análisis de divergencia entre poblaciones y taxa (Dxy). Se obtuvieron: número de haplotipos (h), diversidad haplotípica (H), número de sitios segregantes (S), el promedio de diferencias nucleotídicas (k) y la diversidad nucleotídica (π). Finalmente se implementó un análisis de diferenciación genética de ADN mitocondrial (Fst), distancias pareadas entre las distintas poblaciones del complejo *P. lanei*.

Análisis filogenéticos

Los análisis filogenéticos se realizaron utilizando dos métodos probabilísticos, Máxima Verosimilitud (ML) e Inferencia Bayesiana (IB). Con el fin de detectar el efecto potencial de los genes nucleares en las topologías de los árboles y en el soporte de ramas, se realizaron análisis independientes en tres conjuntos de datos, uno que contiene genes mitocondriales únicamente (Cytb, 16S), otro de genes nucleares (BDNF y C-mos) y finalmente uno que incluye los datos concatenados de todos los genes mitocondriales y nucleares (Smid et al., 2013b; Blair, 2012; Blair et al., 2015). Un individuo de *H. fasciata* representante del clado hermano del género *Phyllodactylus* (Pyron et al., 2013) fue utilizado para enraizar los árboles.

El análisis de Máxima Verosimilitud fue implementado en el programa raxmlGUI (Silvestro y Michalak, 2012) con parámetros estimados independientemente para cada partición. Se utilizó un modelo de evolución nucleotídica GTR+I+G. El soporte de las ramas fue asignado por un análisis de bootstrap con 1000 pseudoréplicas. El análisis de Inferencia Bayesiana se hizo con MrBayes 3.2.5 (Ronquist et al., 2012), utilizando un modelo de evolución GTR+I+G para cada partición. Los análisis fueron realizados con

dos corridas de cuatro cadenas markovianas para cada una de ellas por 20 millones de generaciones (30 millones para genes nucleares), con intervalos de muestreo cada 5000 generaciones, el 25% de los árboles muestreados fue descartado como burn-in y fue generado un árbol de consenso de mayoría a partir de los árboles restantes, mismo que presenta las probabilidades posteriores (pp) para cada rama. En ambos casos las ramas que presentan valores de bootstrap (ML) $\geq 70\%$ y pp (BI) $\geq .95$ fueron considerados como altamente soportadas (Smid et al., 2013b).

Delimitación de especies

Para determinar el número de especies putativas dentro del complejo *P. lanei* se utilizó el método conocido como proceso de ramificación de Poisson (Poisson tree processes, PTP por sus siglas en inglés) desarrollado por Zhang et al. (2013). Este método no requiere un árbol ultramétrico de entrada, debido a que la tasa de especiación es modelada directamente utilizando el número de sustituciones, es decir, el supuesto fundamental de este método es que el número de sustituciones entre especies es significativamente mayor que el número de sustituciones dentro de la especie. De esta manera, permite definir el número de especies putativas de acuerdo con los datos de entrada (Zhang et al., 2013).

Este análisis se realizó en el servidor online para análisis PTP (<http://species.h-its.org/>), con base en el mejor árbol de especies resuelto por máxima verosimilitud (ML) resultante del análisis en RaxmlGUI (Zhang et al., 2013; Le Ru et al., 2014; Lang et al., 2015). Se realizaron 10 análisis por separado, modificando en cada análisis el valor de semilla indicando los siguientes parámetros: el árbol enraizado, el número máximo de generaciones permitido en análisis online MCMC (500000 generaciones) y el 20% de

árboles como burn-in (Lang et al., 2015). Todos los archivos de salida TRACER fueron visualizados para corroborar la convergencia de cadenas. Se obtuvieron los valores de probabilidad posterior de determinación para cada nodo que sustenta una especie putativa). Los valores de soporte sobre los nodos (en los árboles de salida de bPTP), se conocen como probabilidades posteriores de determinación (ppd) y demuestra la relación entre el número de ocurrencias de todos los descendientes bajo un mismo nodo y el número de ocurrencias del muestreo MCMC. La interpretación correcta de los valores de soporte sobre los nodos es “la probabilidad posterior de que todos los taxa descendientes de un nodo formen una especie, dado el modelo PTP, una distribución uniforme y un árbol de especies putativo de entrada” (Zhang et al., 2013).

Tiempos de divergencia

Este análisis fue desarrollado desde una perspectiva bayesiana con el programa MrBayes 3. 2. 5. La estimación de tiempos de divergencia en geckos puede ser difícil debido principalmente a la carencia de registros fósiles y a la incertidumbre taxonómica existente cuando hay fósiles, sin embargo, hay información disponible para calibrar árboles filogenéticos y también para utilizarla como priors en un marco bayesiano (Blair, 2012; Blair et al., 2015). Debido a lo anterior y a que investigaciones recientes han sugerido la utilidad de calibrar árboles de genes versus árboles de especies en análisis de datación molecular, se realizaron dos análisis para calcular tiempos de divergencia, uno con los datos mitocondriales (árbol de genes) y otro con el conjunto total de datos (árbol de especies) (Blair, 2012). Para ambos casos se especificó un reloj molecular relajado bajo un modelo de sustitución GTR+I+G. Se calibraron dos nodos en el árbol indicado con un forzado de ramas (constraint), ambos con una distribución normal. Un

punto de calibración se ubicó en la raíz del árbol, indicando el tiempo de divergencia de *Phyllodactylus* y *Homonota* de acuerdo con Gamble et al. (2011) quienes especifican que ocurrió hace 60-65 millones de años. El otro punto de calibración se ubicó en el clado insular (*P. l. isabellae* + *P. l. lupitae*), al cual se le asignó una edad de 5 a 10 millones de años, ya que durante este periodo de tiempo ocurrió el cese de actividad volcánica en las Islas Marietas y estas ya presentaban la configuración actual (Jensky, 1974; Ramírez y Cupul, 1999). Asimismo, se seleccionó un modelo para la variación de tasas a través de los distintos linajes, para este análisis se especificó el independent gamma rates (IGR), el cual es un modelo continuo no correlacionado de variación de tasas. Posteriormente se indicó un último prior con tasas de sustitución para el árbol de genes mitocondriales de 0.0057 sustituciones por sitio por millón de años con una desviación estándar de 0.001 y una distribución normal de acuerdo con Blair (2012). Finalmente se indicaron dos corridas de cuatro cadenas markovianas para cada una de ellas por 100 millones de generaciones, con intervalos de muestreo cada 5000 generaciones, el 25% de los árboles muestreados fue descartado como burn-in y fue generado un árbol ultramétrico a partir de los árboles restantes, mismo que presenta los valores de probabilidad posterior.

Análisis biogeográfico

El análisis biogeográfico se implementó en RASP 2.1. Beta (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies) (Yu et al., 2010; 2012) para estimar distribuciones ancestrales y generar hipótesis acerca de la historia biogeográfica del complejo *P. lanei*. RASP implementa el método Bayesian Binary MCMC (BBM) el cual es modificado del código fuente de MrBayes y es la versión más reciente de S-DIVA (Statistical Dispersal-

Vicariance Analysis). Con el método BMM las frecuencias de un rango de distribución ancestral son promediadas sobre el conjunto total de árboles (Yu et al., 2010). El método seleccionado para inferir la biogeografía histórica del complejo *P. lanei* fue el método BMM (Bayesian binary MCMC) para reconstruir las áreas ancestrales con base en el árbol ultramétrico mitocondrial obtenido del análisis en MrBayes; éste se seleccionó debido a que presenta valores altos de soporte de ramas. Para el análisis se emplearon 40002 árboles de la salida del análisis de MCMC y el árbol consenso de genes mitocondriales. Se implementó un análisis binario bayesiano (BMM) utilizando los siguientes parámetros: modelo F81+G, frecuencia de muestreo 500 por 1 millón de generaciones, 10 cadenas de Markov y una temperatura de 0.5. La distribución de cada taxón fue clasificada con base en las provincias biogeográficas de México (Morrone, 2005).

RESULTADOS

Análisis de secuencias y diversidad genética

Las características generales de las secuencias se encuentran resumidas en los siguientes cuadros. Primero se realizó un análisis conjunto de todas las poblaciones y subespecies propuestas como integrantes de una sola especie (Cuadro 4) y posteriormente se analizó cada taxón individualmente (Cuadros 5 y 6). El alineamiento de los genes concatenados (DNAnu+DNAmt) presentó una longitud final de 2064 pb. La matriz final de DNAmt concatenada presentó 894 caracteres, mientras que la matriz de genes nucleares presentó 1170 caracteres. El gen mitocondrial Cyt b presentó 345 caracteres, de los cuales 127 fueron variables (polimórficos) y 90 fueron parsimoniosamente informativos, mientras que el gen 16s presentó una longitud de 544 pb con 111 caracteres polimórficos y 62 sitios parsimoniosamente informativos. Por otra parte, el gen nuclear BDNF presentó 676 caracteres, de los cuales 25 fueron variables y 9 parsimoniosamente informativos. Considerando a todas las poblaciones como una unidad taxonómica (Cuadro 4) se obtuvieron altos valores de diversidad haplotípica (>0.5) para los genes mitocondriales y el nuclear BDNF, mientras que el gen C-mos presentó los valores más bajos ($H=0.694$). Los valores más altos de sitios segregantes y de diversidad nucleotídica se obtuvieron para los genes mitocondriales Cyt b (10.627%) y 16s (4.058%) en comparación con los nucleares BDNF (0.409%) y C-mos (0.38%).

Por otra parte los estadísticos obtenidos por subespecie de citocromo b (Cuadro 5) se observan valores de diversidad haplotípica por encima de 0.5 para todos los taxa. Destacan los valores observados en las subespecies insulares, ya que son muy contrastantes *P. l. lupitae* presentó los valores más bajos ($H=0.667$), mientras que la

subespecie *P. I. isabelae* presentó los valores más altos de diversidad haplotípica ($H=0.889$). Los valores más altos de sitios segregantes se obtuvieron para los taxa continentales *P. I. rupinus* ($S=46$) y *P. I. lanei* ($S=73$); asimismo la diversidad nucleotídica también se observó mayor en los taxa continentales *P. I. rupinus* (5.986%) y *P. I. lanei* (7.296%).

Para el caso de los estadísticos de DNA nuclear, el gen BDNF (Cuadro 6) la diversidad haplotípica mayor se observó en los taxa continentales ($H>0.8$) así como también la diversidad nucleotídica observada para *P. I. rupinus* fue de 0.325% y para *P. I. lanei* fue de 0.24%. Mientras que los valores más bajos de diversidad se obtuvo para los taxa insulares *P. I. isabelae* ($H=0.556$ y $\pi=0.0009$) y *P. I. lupitae* ($H=0.5$ y $\pi=0.00074$).

Cuadro 4. Estadísticos de secuencias de ADN nuclear y mitocondrial para el conjunto de poblaciones y taxa.

Gen	n	h	H	S	k	π
Cyt b	66	24	0.929	127	32.732	0.10627
16 s	40	13	0.846	68	21.386	0.04058
BDNF	40	18	0.894	25	2.763	0.00409
C-mos	47	7	0.694	7	1.608	0.0038

n = número de secuencias, h = número de haplotipos, H = diversidad haplotípica, S = sitios segregantes, k = número promedio de diferencias pareadas, π = diversidad nucleotídica.

Cuadro 5. Estadísticos de DNA mitocondrial (Cyt b) para cada taxón.

ESPECIE	n	h	H	S	k	π
<i>P. I. isabelae</i>	9	6	0.889	10	2.889	0.00886
<i>P. I. lupitae</i>	7	3	0.667	3	1.048	0.00333
<i>P. I. rupinus</i>	28	4	0.728	46	18.796	0.05986
<i>P. I. lanei</i>	21	11	0.819	73	22.471	0.07296

n = número de secuencias, h = número de haplotipos, H = diversidad haplotípica, S = sitios segregantes, k = número promedio de diferencias pareadas, π = diversidad nucleotídica.

Cuadro 6. Estadísticos de DNA nuclear (BDNF) para cada taxón.

ESPECIE	n	h	H	S	k	π
<i>P. I. isabelae</i>	9	3	0.556	2	0.611	0.0009
<i>P. I. lupitae</i>	4	2	0.5	1	0.5	0.00074
<i>P. I. rupinus</i>	16	8	0.867	8	2.2	0.00325
<i>P. I. lanei</i>	10	6	0.844	6	1.622	0.0024

n = número de secuencias, h = número de haplotipos, H = diversidad haplotípica, S = sitios segregantes, k = número promedio de diferencias pareadas, π = diversidad nucleotídica.

El porcentaje de divergencia de secuencias basado en las distancias genéticas de Tamura-Nei mostró una diferencia significativa entre algunas poblaciones (>10%), en promedio se obtuvo una divergencia de DNA mitocondrial del 25%. Las distancias mayores se obtuvieron entre la población más sureña de *P. I. lanei* (Tierra Colorada), donde se observan valores mayores al 21% con respecto a las demás poblaciones de *P. I. rupinus*, *P. I. isabelae* y *P. I. lupitae*, y con respecto a su población más cercana (Nueva Filadelfia) se obtuvo una distancia del 14%. Es notoria la distancia de las poblaciones que se encuentran en la costa del sur de México (Guerrero, Oaxaca), con respecto a las de la costa occidental (>20%). Las distancias con valores por debajo del 10% se encuentran entre las poblaciones de la costa pacífica mexicana (Nayarit, Amatlan de Cañas y Chamela) de *P. I. rupinus* con relación a la población de Islas Marietas (*P. I. isabelae*) y la de la Isla El Coral (*P. I. lupitae*). La población de Lombardía (*P. I. rupinus*) mantiene valores por encima del 13% con respecto a todas las poblaciones y subespecies (Cuadro 7). Por otra parte se obtuvieron valores muy altos de F_{st} (cercanos a 1) para la mayoría de las poblaciones, ya que gran parte de las poblaciones mostraron valores de diferenciación genética por encima del 0.9 en las comparaciones pareadas. Los valores más bajos de F_{st} se encontraron en la población de Nayarit (*P. I. rupinus*) con respecto a la población de las Islas Marietas (*P. I.*

isabellae) $F_{st}=0.27$, también con la endémica de la Isla El Coral (*P. l. lupitae*) $F_{st}=0.58$ y con la población de Chamela (*P. l. rupinus*) pues mostró una $F_{st}=0.43$. Los valores obtenidos tanto con la distancia de Tamura-Nei como con la F_{st} mostraron una diferenciación genética pronunciada entre las poblaciones que se encuentran más distanciadas geográficamente en el sur de México (*Phyllodactylus* sp. y *P. l. lanei*) con respecto a aquellas que habitan la cuenca del Balsas (Lombardía y Nueva Filadelfia) y más notoriamente con aquellas de la Costa Pacífica Mexicana (*P. l. rupinus*) e insulares (*P. l. isabellae* y *P. l. lupitae*) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Matriz de distancias genéticas de DNA mitocondrial (Cyt b) entre poblaciones del complejo *P. lanei*. Los valores bajo la diagonal muestran las distancias pareadas Fst, mientras que los valores sobre la diagonal muestran la distancia Tamura-Nei.

	isabelae (IM)	lupitae (IEC)	rupinus (Nay)	rupinus (Cha)	rupinus (AC)	rupinus (Lom)	lanei (TC)	lanei (NF)	Phyllodactylus sp (Oax)
isabelae (IM)	-	0.06	0.03	0.06	0.08	0.15	0.25	0.24	0.25
lupitae (IEC)	0.89	-	0.06	0.09	0.12	0.15	0.25	0.22	0.25
rupinus (Nay)	0.27	0.58	-	0.04	0.07	0.13	0.22	0.19	0.22
rupinus (Cha)	0.84	0.94	0.43	-	0.08	0.14	0.25	0.21	0.25
rupinus (AC)	0.94	0.98	0.65	0.96	-	0.14	0.25	0.21	0.25
rupinus (Lom)	0.97	0.99	0.80	0.98	1.00	-	0.22	0.19	0.22
lanei (TC)	0.97	0.99	0.85	0.98	0.99	0.99	-	0.14	0.05
lanei (NF)	0.92	0.94	0.78	0.92	0.94	0.95	0.92	-	
Phyllodactylus sp (Oax)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-

IM=Islas Marietas, IEC=Isla El Coral, Nay=Costa de Nayarit, Cha=Chamela, AC=Amatlan de Cañas, Lom=Lombardia, TC=Tierra Colorada, NF=Nueva Filadelfia, Oax=Costa de Oaxaca. NA=No Aplica.

El análisis de divergencia (Dxy) entre poblaciones y taxa concordó con los resultados obtenidos con la matriz de distancias genéticas y análisis Fst. Es clara la tendencia de incremento en el promedio de diferencias nucleotídicas conforme se incrementa la distancia geográfica de las poblaciones (Cuadro 8). La población de *Phyllodactylus* sp. de la costa de Oaxaca presentó valores promedio de divergencia nucleotídica mayores al 60% con respecto a todas las poblaciones del Occidente de México, mientras que la población de Tierra Colorada de *P. I. lanei* presentó valores promedio de diferencias nucleotídicas mayores al 45% o más del 15% de sustituciones en promedio por sitio con respecto a las poblaciones de la Cuenca del Balsas, Occidente de México e insulares (*P. I. rupinus*, *P. I. isabellae* y *P. I. lupitae*). La población de Nueva Filadelfia (*P. I. lanei*) también presentó diferencias marcadas con respecto al resto de poblaciones, por encima del 40% diferencias nucleotídicas en promedio (mayor a 13% sustituciones promedio por sitio) con las poblaciones del occidente y con la más cercana (Tierra Colorada) muestra 32% de diferencias nucleotídicas en promedio. La población de Lombardía (*P. I. rupinus*) presentó valores promedio mayores al 30% con respecto a las poblaciones de Chamela y Nayarit (mayores al 10% de sustituciones promedio por sitio). Finalmente las diferencias nucleotídicas en promedio entre *P. I. lupitae* y *P. I. isabellae* fueron del 13.36% o del 4.2% sustituciones en promedio por sitio.

Cuadro 8. Matriz de divergencia de DNAm (Cyt b) entre poblaciones del complejo *P. lanei*. Los valores sobre la diagonal indican el promedio de diferencias nucleotídicas y los valores bajo la diagonal corresponden al número promedio de sustituciones por sitio (Dxy).

	isabelae	lupitae	rupinus	rupinus	rupinus	lanei	lanei	Phyllodactylus
	(IM)	(IEC)	(Nay)	(Cha)	(Lom)	(TC)	(NF)	sp. (Oax)
isabelae (IM)	-	13.036	10.563	10.813	32.75	50.5	43.208	65.667
lupitae (IEC)	0.04205	-	18	21.848	38.286	53.161	45.619	62.786
rupinus (Nay)	0.03407	0.05806	-	13.563	35	49.875	41.833	66.5
rupinus (Cha)	0.03488	0.07048	0.04375	-	34.688	50.438	42.021	64.844
rupinus (Lom)	0.10565	0.1235	0.1129	0.1119	-	48.375	46.667	64
lanei (TC)	0.1629	0.17149	0.16089	0.1627	0.15605	-	32.542	42.2
lanei (NF)	0.13938	0.14716	0.13495	0.13555	0.15054	0.10497	-	52.143
Phyllodactylus sp. (Oax)	0.2	0.199	0.2	0.205	0.203	0.12	0.169	-

IM=Islas Marietas, IEC=Isla El Coral, Nay=Costa de Nayarit, Cha=Chamela, AC=Amatlan de Cañas, Lom=Lombardia, TC=Tierra Colorada, NF=Nueva Filadelfia, Oax=Costa de Oaxaca. NA=No Aplica.

Árboles de genes mitocondriales

Los árboles de genes mitocondriales elaborados por inferencia bayesiana (Figura 3) y máxima verosimilitud (Figura 4) presentaron la misma topología, con valores de alto soporte en las ramas. Las topologías obtenidas demuestran que los linajes recuperados dentro del complejo *P. lanei* forman un grupo monofilético bien soportado (BI pp 0.97) y dentro de este gran clado se observa la existencia de 10 clados monofiléticos (Figuras 3 y 4). Los valores de soporte (bootstrap y pp) para cada clado son altos en su mayoría. Los resultados del análisis bayesiano fueron visualizados en Tracer 1. 6. (Rambaut, 2014), los cuales indicaron valores de ESS muy por encima de 200 y garantizaron la convergencia de cadenas MCMC.

Los clados formados por poblaciones de la región costera en el occidente de México (clados A-F) (las subespecies *P. I. isabelae*, *P. I. lupitae* y *P. I. rupinus*) mostraron una relación estrecha, a diferencia de los clados bien diferenciados de la Cuenca del Balsas (clados G y H) y de la costa del sur de México (clados I y J) (*P. I. lanei*).

En la parte basal del clado del complejo *P. lanei* se encuentra un clado conformado por dos haplotipos mitocondriales de *Phyllodactylus* sp. de una población costera de Oaxaca (clado J), el cual está relacionado con el clado I conformado por poblaciones de *P. I. lanei* de zonas bajas costeras del estado de Guerrero (Tierra Colorada y Chilpancingo). Se aprecia una clara divergencia con el clado H de la misma subespecie, conformado por la población que habita la Cuenca del Balsas en el estado de Guerrero (Nueva Filadelfia), y se observa que estos linajes no forman un grupo monofilético.

En el caso de *P. I. rupinus* el clado más divergente es el formado por la población de Lombardía, Michoacán (clado G), relacionado con la población de Amatlan de Cañas, Nayarit (clado F). Por otra parte, la población de *P. I. rupinus* de Chamela presenta

mayor variabilidad intrapoblacional (clado E) y está mayormente relacionado con linajes de la región costera de Nayarit, los cuales a pesar de estar relacionados no se recuperan en un solo clado, por lo que se consideran ramas terminales independientes (C y D). Finalmente se recupera el único clado monofilético insular conformado por dos clados hermanos *P. l. isabellae* (clado A) y *P. l. lupitae* (clado B), poblaciones endémicas de islas Marietas e isla El Coral, respectivamente.

Si se considera la taxonomía actual reconocida, *Phyllodactylus* sp. (clado J), *P. l. lanei* (clados I, H), *P. l. rupinus* (clados G, F, E, D, C), *P. l. lupitae* (clado B) y *P. l. isabeale* (clado A), se observa que los taxa reconocidos (subespecies) forman grupos parafiléticos (Figuras 3 y 4).

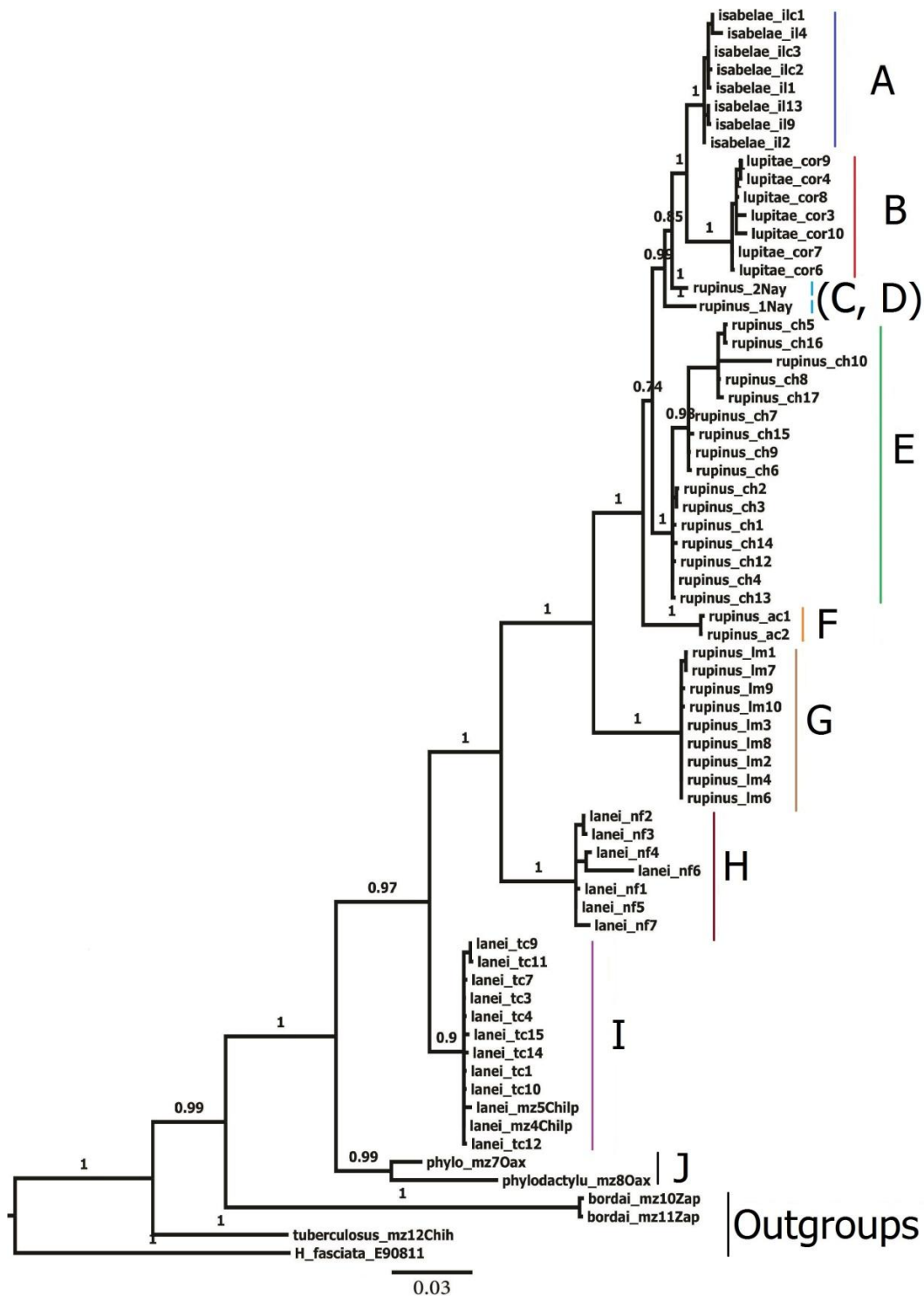


Figura 3. Árbol de genes mitocondriales del complejo *P. lanei* obtenido por inferencia bayesiana (BI). Los valores de probabilidad posterior se encuentran indicados sobre las ramas. *Homonota fasciata*, *P. tuberculosis*, *P. bordai* fueron utilizados como grupo externo.

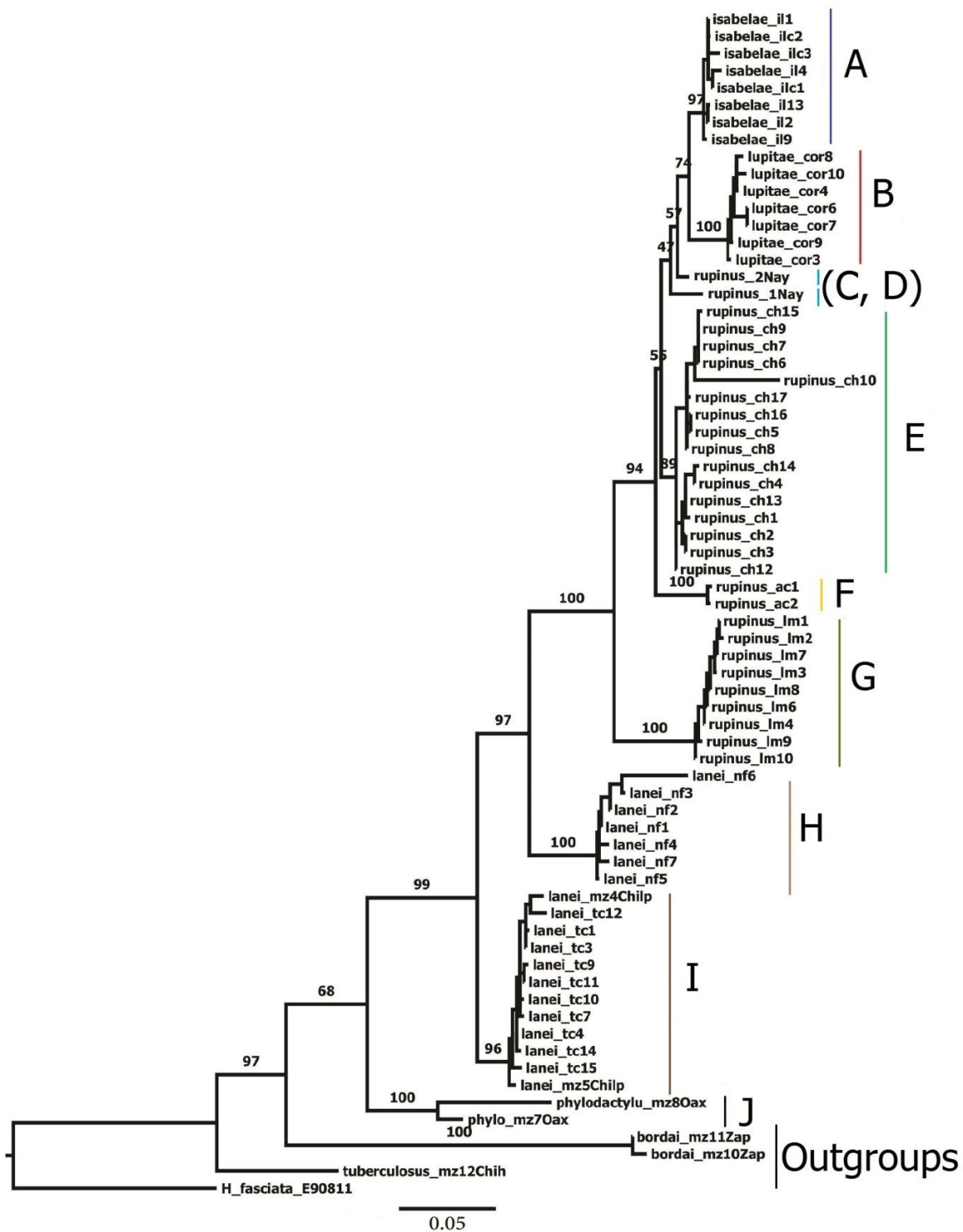


Figura 4. Árbol de genes mitocondriales del complejo *P. lanei* obtenido por máxima verosimilitud (ML). Los valores de bootstrap se encuentran indicados sobre las ramas. *Homonota fasciata*, *P. tuberculosis*, *P. bordai* fueron utilizados como grupo externo.

Árbol de genes nucleares

El árbol de genes nucleares mostró seis clados (A-F) mayormente diferenciados, con valores de soporte (pp) de intermedios a altos (Figura 5). El clado A se encuentra representado por las subespecies y poblaciones que habitan la costa pacífica mexicana e insulares (*P. l. isabelae* + *P. l. lupitae* + *P. l. rupinus*). En este análisis, todos los haplotipos de la región occidental se agrupan en un solo clado, a diferencia del árbol de genes mitocondriales, que recuperan cuatro clados estrechamente relacionados (A-E) (Figuras 3 y 4). Los haplotipos de la población de Amatlan de Cañas (*P. l. rupinus*) conforman el clado B, relacionado con el clado C formado por la población de Lombardía, (*P. l. rupinus*) este se diferencia claramente y se soporta bien (pp 0.98). El clado D se encuentra formado por las poblaciones de Tierra Colorada y Chilpancingo (*P. l. lanei*), por otra parte se encuentra el clado E formado por los haplotipos de la población de Nueva Filadelfia en la cuenca del Balsas y finalmente se obtiene el clado F, formado por los haplotipos de los individuos de la costa de Oaxaca, este es el clado mayormente soportado y divergente (pp 1) obtenido tanto en los análisis de genes nucleares, como en los árboles mitocondriales.

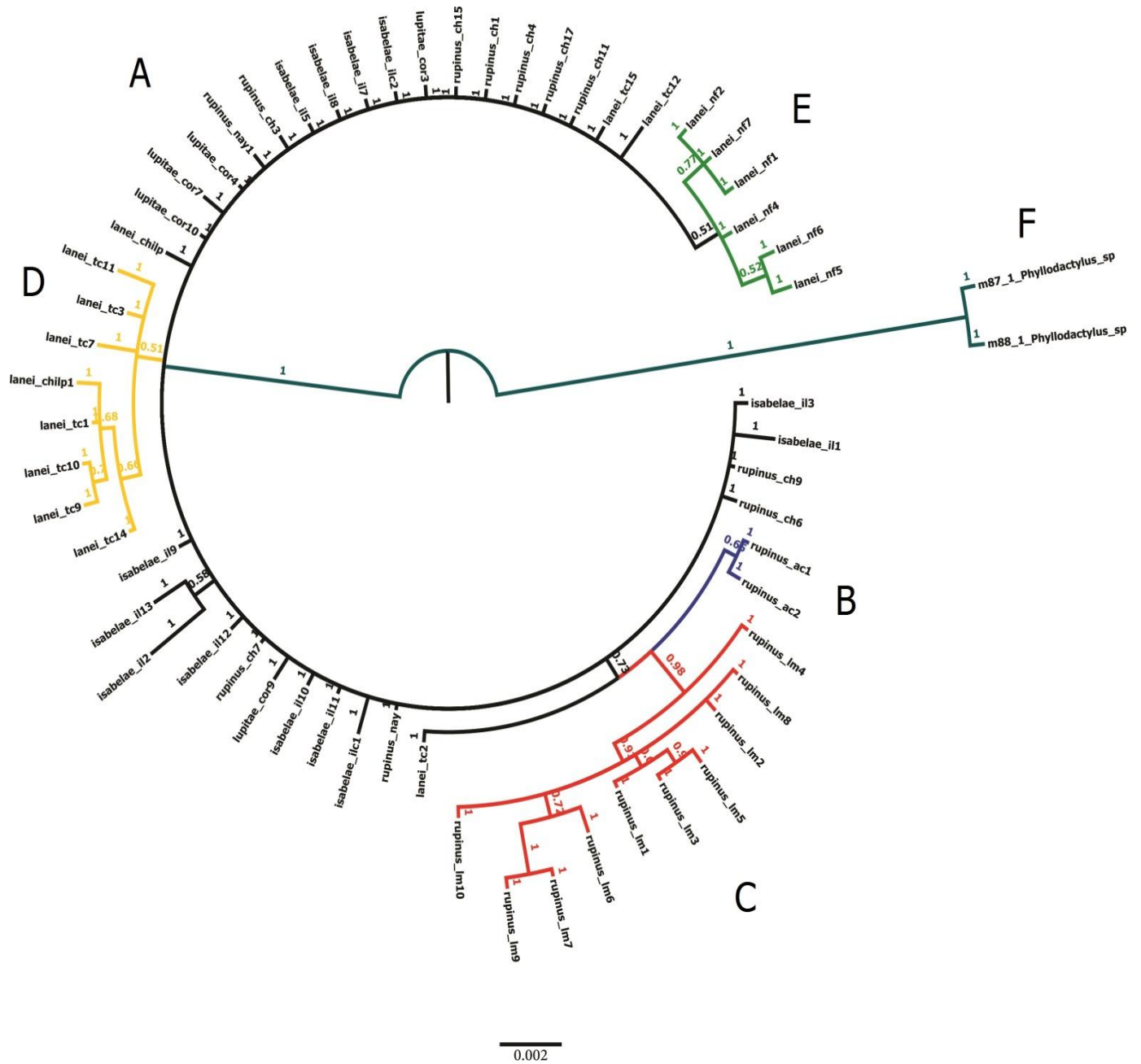


Figura 5. Árbol de genes nucleares (BDNF+C-mos) obtenido mediante inferencia bayesiana (BI). Los valores de probabilidad posterior son indicados sobre las ramas.

Árboles de especies

Los árboles de especies (conjunto de genes concatenados DNAnu+DNAmt) obtenidos a través de análisis de inferencia bayesiana (Figura 6) y de máxima verosimilitud (Figura 7) soportan la monofilia del complejo *P. lanei* (ML bootstrap 99/ BI pp 1). Es decir, se observa la existencia de un ancestro común para todos los linajes y todos los descendientes de las poblaciones del complejo *P. lanei*, y soportan la existencia de 10 clados (A-J). *Phyllodactylus bordai* se recuperó como la especie hermana del grupo *P. lanei*.

Se observa una congruencia geográfica importante entre las relaciones filogenéticas de los clados recuperados, es decir, *P. l. lupitae* y *P. l. isabellae* conforman un clado insular filogenéticamente relacionado con los clados C, D, E y F conformado por poblaciones de *P. l. rupinus* de la costa de Nayarit, Amatlan de Cañas y de la región costera de Jalisco (Chamela). Los linajes de la costa de Nayarit (C, D) no se recuperan en un solo clado monofilético en ninguna de las topologías, sino como ramas terminales, lo cual sugiere linajes que evolucionan independientemente, a pesar de que ambos individuos provienen de la misma localidad (costa de Nayarit).

Por otra parte el clado G formado por la población de Lombardía, Michoacán es el mayormente diferenciado de todas las poblaciones de la subespecie *P. l. rupinus*. En el caso de *P. l. lanei* es clara la divergencia que existe entre el clado H formado por las poblaciones de la Cuenca del Balsas (Nueva Filadelfia) con respecto al clado I conformado por las poblaciones de las zonas costeras bajas de Guerrero (Chilpancingo y Tierra Colorada). Finalmente, en la base del árbol se obtiene el clado J, formado por una población de la costa de Oaxaca de *Phyllodactylus* sp.

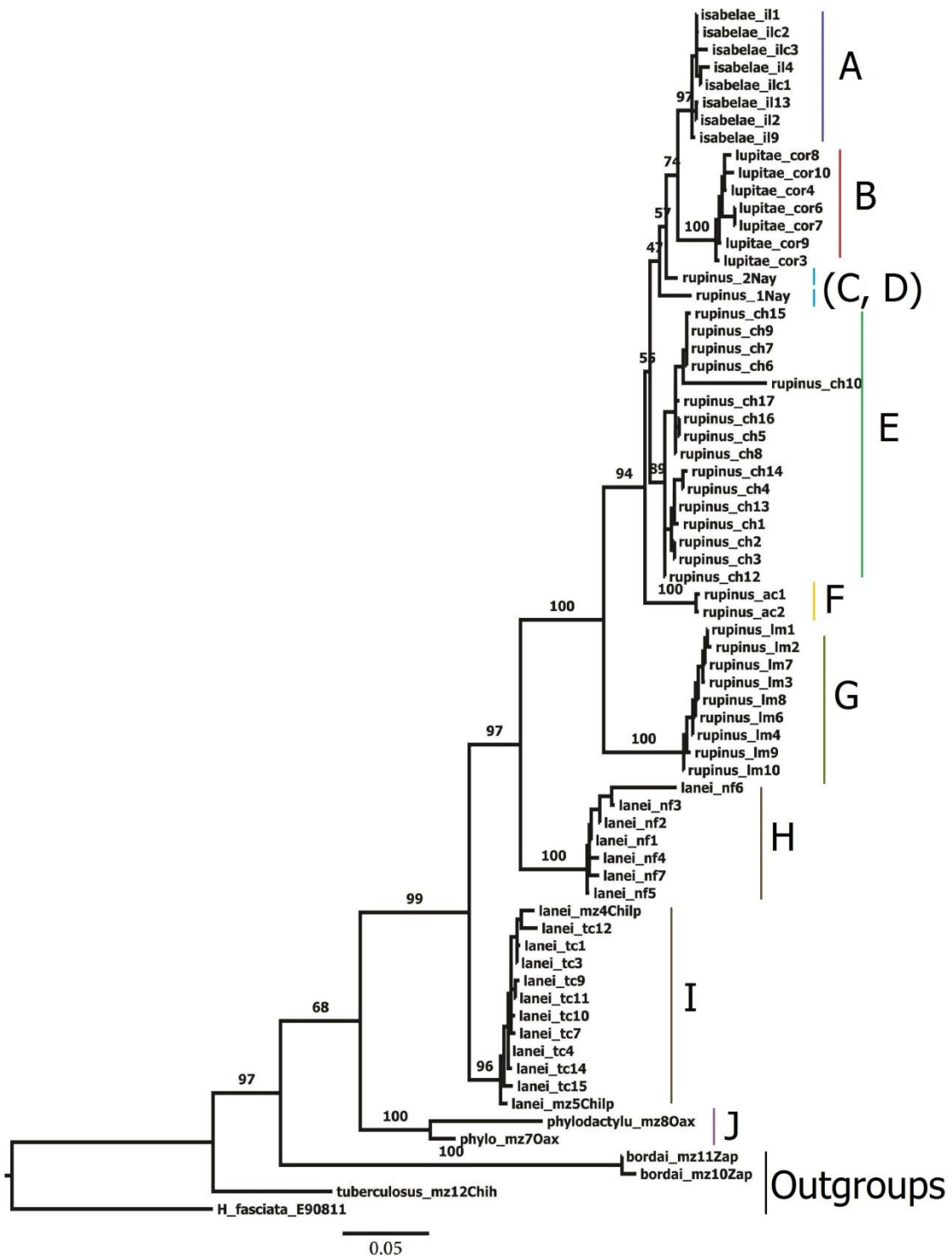


Figura 7. Árbol de especies del conjunto de datos (DNAm + DNAnu) para el complejo *P. lanei* obtenido por máxima verosimilitud (ML). Los valores de bootstrap se encuentran indicados sobre las ramas. *Homonota fasciata*, *P. tuberculosis*, *P. bordai* fueron utilizados como grupo externo.

Delimitación de especies

El análisis PTP mostró la existencia de un intervalo de 9 a 20 especies putativas en promedio, dentro del complejo *P. lanei* (Anexo III). Los archivos TRACER fueron visualizados en cada corrida para determinar la correcta convergencia de cadenas MCMC, de acuerdo con Zhang et al. (2013) (Anexo IV). Aunque los resultados del análisis bPTP sugieren la existencia de hasta 20 especies en promedio, algunas de estas se encuentran representadas por pocos individuos (*Phyllocladus* sp.) y particularmente dentro del clado E (compuesto por la población de Chamela) se consideran siete especies putativas, según los resultados del análisis bPTP. Debido a lo anterior, se utilizó una aproximación conservadora y se aceptó un valor mínimo de especies determinadas por medio del análisis bPTP, es decir, se consideró que el complejo *P. lanei* se encuentra formado por al menos diez especies putativas, que coinciden con los 10 clados recuperados por métodos filogenéticos paramétricos (ML, IB). Se obtuvieron los valores de probabilidad posterior de determinación (ppd) en promedio de las 10 corridas independientes, para cada nodo de los clados antes mencionados (Cuadro 9).

Por convención se ha determinado que valores mayores o iguales a 0.95 de ppd sobre un nodo, indican un soporte estadístico amplio que permite aceptar la hipótesis de que todos los taxa bajo ese nodo forman una especie (Huelsenbeck et al., 2002; Holder y Lewis, 2003; Alfaro y Holder, 2006; O' Meara, 2012; Zhang et al., 2013). Bajo este supuesto valor de corte, los valores obtenidos en promedio de ppd permiten aceptar solo tres especies: el clado F, formado por la población de Amatlan de Cañas (ppd=0.96), el clado I formado por las poblaciones de Tierra Colorada y Chilpancingo (ppd=0.95) y el clado J representado por la población de la costa de Oaxaca (ppd=1).

Cuadro 9. Valores de soporte promedio de probabilidad posterior de determinación (ppd) de los diez clados (entidades) recuperados para el complejo *P. lanei* en México.

Clado (Entidad)	Taxon actual	Soporte bPTP (ppd) promedio (Desv est)
A	<i>P. l. isabelae</i>	0.59 (0.07)
B	<i>P. l. lupitae</i>	0.65 (0.05)
C	<i>P. l. rupinus</i>	0.71 (0.06)
D	<i>P. l. rupinus</i>	0.84 (0.06)
E	<i>P. l. rupinus</i>	0.71 (0.04)
F	<i>P. l. rupinus</i>	0.96 (0.01)
G	<i>P. l. rupinus</i>	0.86 (0.0)
H	<i>P. l. lanei</i>	0.77 (0.10)
I	<i>P. l. lanei</i>	0.95 (0.0)
J	<i>Phyllodactylus</i> sp.	1 (0.0)

Tiempos de divergencia

Se implementó un reloj molecular relajado para calcular los tiempos de divergencia a través de un árbol mitocondrial y de especies (Figuras 8 y 9), se observa que el ancestro común más reciente del complejo *Phyllodactylus lanei* se ubica en el Paleógeno, hace aproximadamente 60 mda. Los valores de soporte (pp) obtenidos fueron altos en su mayoría. El clado que comprende al complejo *P. lanei* se originó a finales del Paleoceno (alrededor de los 55 mda; Figura 9). Ambos análisis muestran que ocurrió una amplia diversificación alrededor de 30-50 mda durante el Eoceno; la divergencia inició en los linajes del sur de México (Guerrero), siguiendo con los linajes de la Cuenca del Balsas (Nueva Filadelfia y Lombardía) hasta llegar al clado formado por la población de Amatlan de Cañas en Nayarit (F) y al clado E formado por la población de Chamela, Jalisco, clados que fueron los últimos en diversificar durante

este periodo. Posteriormente, a partir del Oligoceno (30 mda) se originan los linajes más recientes dentro del complejo *P. lanei*, primero ocurre la divergencia de los linajes de la población de la costa de Nayarit (C, D) y por último se obtiene el clado más reciente, el clado insular, conformado por los linajes A y B (alrededor de 20 mda durante el Mioceno). Estos resultados concuerdan con la propuesta más reciente con respecto a los periodos de mayor diversificación dentro del género *Phyllodactylus* (Blair et al., 2015). Los árboles ultramétricos obtenidos muestran la misma información, sin embargo, el árbol ultramétrico de especies demuestra tiempos de divergencia un poco más antiguos, esto es debido principalmente a la influencia de los genes nucleares, los cuales presentan tiempos de coalescencia anteriores a los tiempos de coalescencia de los genes mitocondriales (Leaché y McGuire, 2006; Hamilton, 2009).

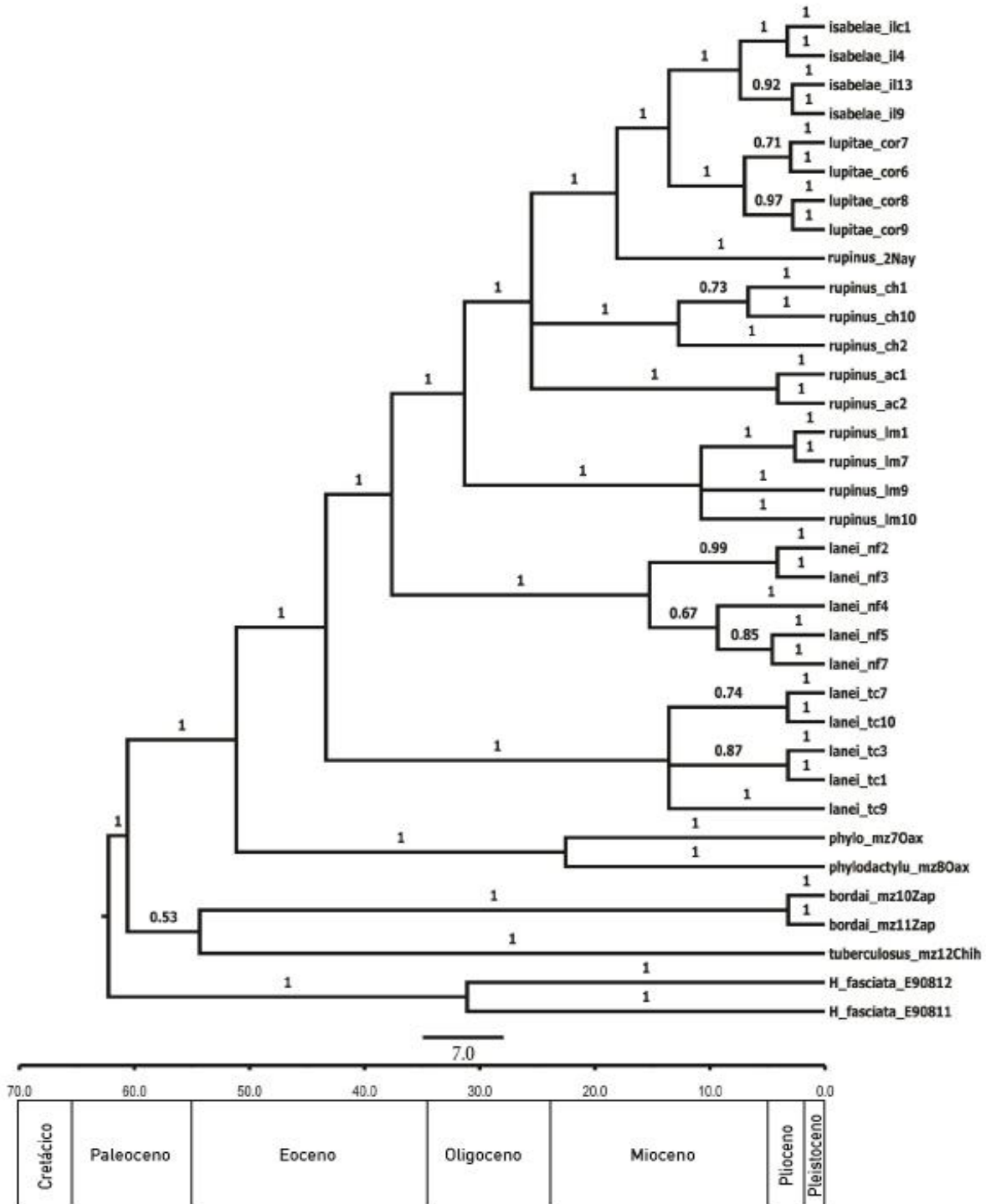


Figura 8. Árbol ultramétrico mitocondrial para el complejo *P. lanei*. Los valores sobre las ramas indican la probabilidad posterior. La escala horizontal representa la línea de tiempo y se encuentra en millones de años. Secuencias de *P. bordai*, *P. tuberculosis* y *H. fasciata* fueron incorporadas al análisis.

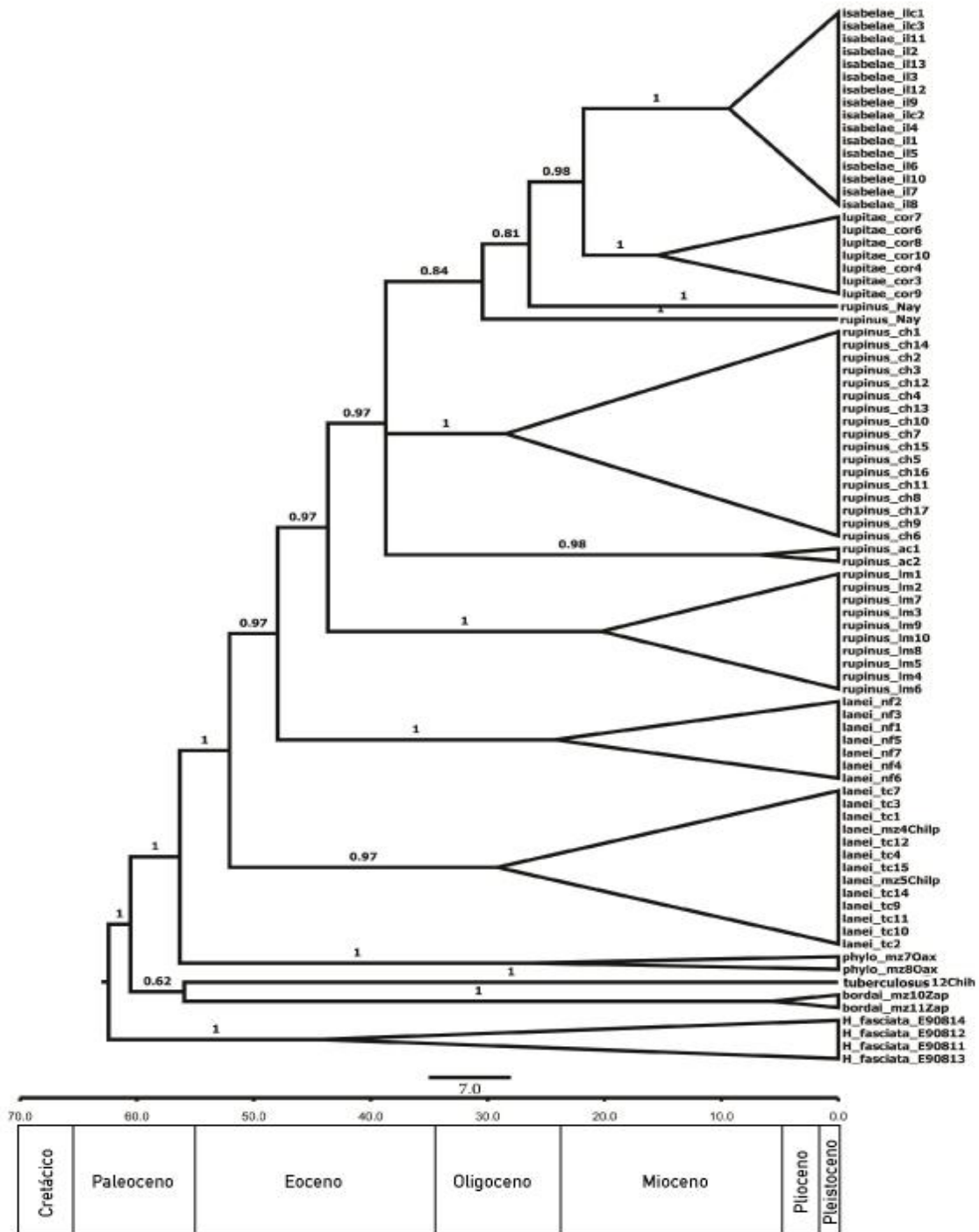


Figura 9. Árbol ultramétrico de especies para el complejo *P. lanei*. Los valores sobre las ramas indican la probabilidad posterior. La escala horizontal representa la línea de tiempo y se encuentra en millones de años. Secuencias de *P. bordai*, *P. tuberculosis* y *H. fasciata* fueron incorporadas al análisis.

Biogeografía histórica

Las distancias obtenidas entre las diferentes corridas del análisis bayesiano fueron valores menores de 0.01 indicando que los resultados obtenidos son robustos en la estimación de las áreas ancestrales. El árbol obtenido por el método BMM, así como los árboles filogenéticos, indican el origen del clado *P. lanei* en la costa de los actuales estados de Guerrero y Oaxaca, en esta región se reconoce el ancestro común más reciente para todo el clado, por consiguiente indica el área de distribución ancestral (Figura 10). El resultado del análisis sugiere el origen del complejo *P. lanei* en las costa del sur del Pacífico y que ocurrieron subsecuentes procesos de dispersión hacia el occidente de México y eventos de vicarianza que terminan en el Mioceno con la ocupación de las islas del Pacífico Mexicano en Nayarit. El análisis biogeográfico (Figura 10) mostró que ocurrieron tres eventos vicariantes importantes durante la evolución del complejo *P. lanei*, el primero lo ubica cerca de los 45 mda en el Eoceno que separó las poblaciones de *P. l. lanei* de tierras bajas costeras de Guerrero de aquellas que habitan la Cuenca del Balsas. El segundo evento ocurrió cerca de los 34 mda durante el Oligoceno separando la población de *P. l. rupinus* de Lombardía del resto de linajes con poblaciones en la región costera del Occidente del Pacífico Mexicano. Finalmente, el último evento vicariante ocurrió alrededor de los 15 mda durante el Mioceno, relacionado con la formación de los linajes que habitan las islas costeras de Nayarit *P. l. isabellae* y *P. l. lupitae* (Figuras 10 y 11).

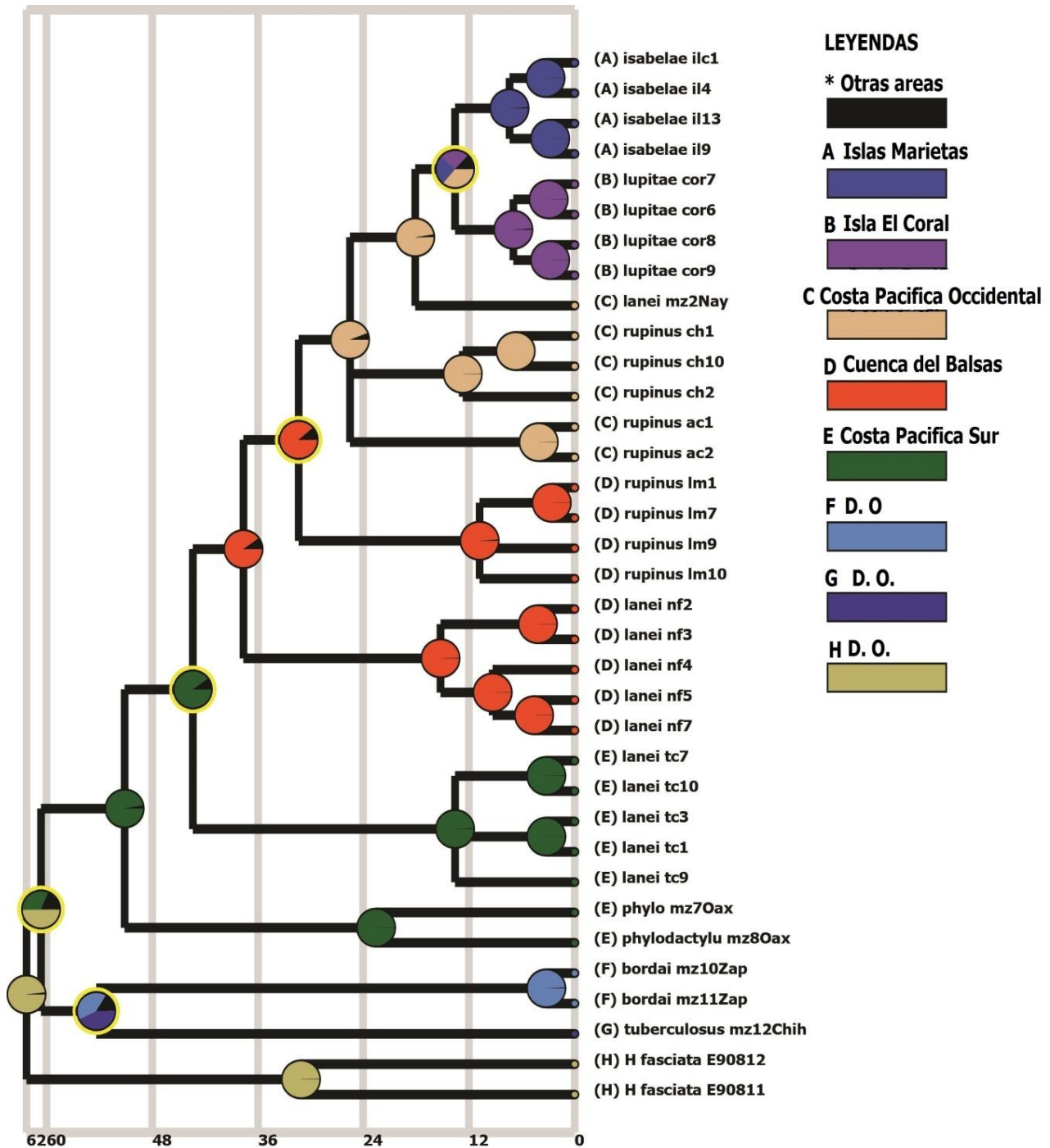


Figura 10. Biogeografía histórica del complejo *P. lanei* basado en el árbol de genes mitocondriales. Los colores de los círculos indican las áreas ancestrales más probables de cada taxón. Los círculos amarillos alrededor de los nodos indican los eventos vicariantes ocurridos durante la evolución de los linajes. La escala de tiempo se encuentra en millones de años. D. O.=Distribución de grupo externo.

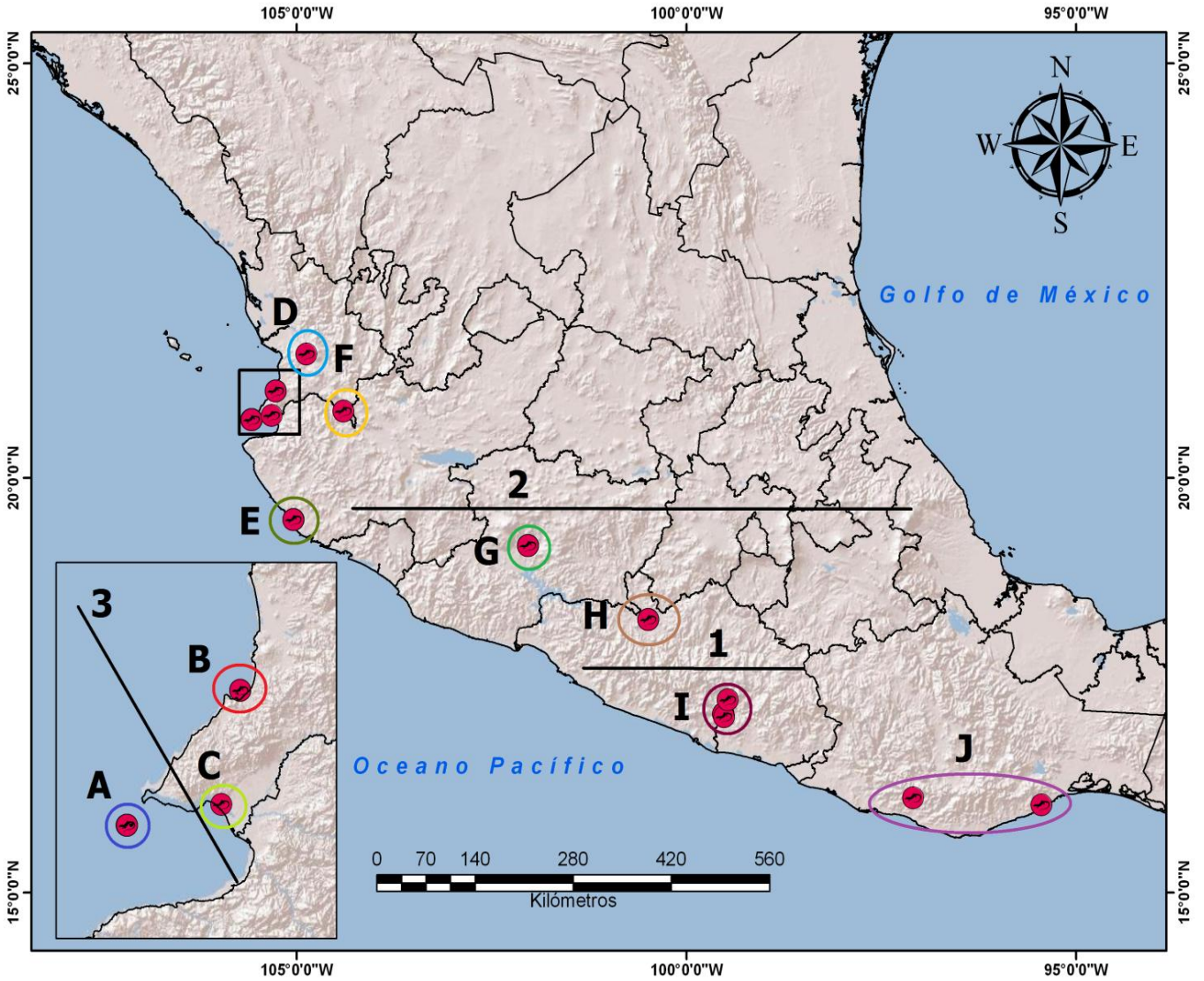


Figura 11. Mapa de especies y eventos vicariantes obtenidos para el complejo *P. lanei*. Las líneas solidas demuestran los tres eventos vicariantes (1-2-3) ocurridos durante la evolución del complejo de acuerdo al análisis BMM obtenido con RASP. Los óvalos agrupan las diferentes poblaciones que representan las 10 especies putativas que conforman el complejo *P. lanei* (A-J).

DISCUSIÓN

Los análisis filogenéticos probabilísticos revelaron la existencia de diversidad genética críptica alta dentro del complejo de gekos *P. lanei* y mostraron que el complejo es un grupo monofilético conformado por 10 linajes (dos insulares y ocho continentales). Estos resultados contrastan con la actual hipótesis taxonómica que solo reconoce cuatro subespecies dentro del complejo *P. lanei* (Dixon, 1964; Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992; Uetz, 2014). Ello muestra que el uso exclusivo de caracteres morfológicos no permiten la identificación de especies crípticas, por lo tanto, el número de especies dentro del género *Phyllodactylus* en México podría estar subestimado (Yang y Rannala, 2014; Blair et al., 2015). Los datos obtenidos a partir de los análisis de secuencias genéticas realizados en este estudio no apoyan la propuesta taxonómica actualmente reconocida, pues los grupos parafiléticos obtenidos a partir de la clasificación taxonómica actual muestran un sistema de clasificación artificial que no refleja la evolución de linajes dentro del complejo *P. lanei*.

La distancia genética promedio estimada con los genes mitocondriales observada fue del 25% entre las poblaciones y subespecies del complejo *P. lanei*, un porcentaje considerable con respecto al amplio intervalo de distancias que se presentan en diversas especies de reptiles, éstas oscilan desde el 2% al 32% (Anexo V). Así, el 25% promedio obtenido se considera alto ya que este valor solo se encuentra por debajo de los registrados por Blair et al. (2015) en la última revisión taxonómica de especies del género *Phyllodactylus* en México; estos autores encontraron una distancia Tamura Nei del 32% en promedio, asociando una alta diversidad críptica en este grupo de gekos. Los valores intermedios reportados son del 15% y se encuentran en las serpientes del

genero *Agkistrodon*, los escíncidos australianos *Emoia* y en los lacertilios endémicos de las islas Canarias del género *Gallotia* (Jhons y Avise, 1998).

Particularmente dentro de las poblaciones del complejo *P. lanei*, las distancias genéticas mayores se observaron entre las poblaciones del sur de Guerrero (*P. l. lanei*) con respecto a aquellas que habitan la región costera del occidente de México y las islas de Nayarit (*P. l. rupinus*, *P. l. isabellae*, *P. l. lupitae*) (Cuadro 7). Estos resultados coinciden con los análisis de divergencia mitocondrial (Dxy), pues indican valores de 14% y 15% promedio de sustituciones por sitio entre los linajes del sur de México con respecto a los de la costa pacífica occidental, indicando una clara divergencia genética entre las poblaciones estudiadas.

Análisis filogenéticos y delimitación de especies

Como se mencionó anteriormente todos los análisis filogenéticos revelaron la existencia de una alta diversidad críptica en los gekos del complejo *P. lanei*. Los conflictos encontrados entre árboles de genes independientes (mitocondriales y nucleares) a nivel de especie comúnmente pueden ser debidos a la separación incompleta de linajes (*incomplete lineage sorting* o ILS), ya que son los árboles de especies en los que la topología y las longitudes de las ramas reflejan la historia evolutiva de los organismos y definen la separación de los distintos linajes, poblaciones y especies. Aunque existe una relación estrecha entre un árbol filogenético calculado a partir de un gen (*gene tree*) mitocondrial o nuclear y el árbol de las especies que portan esos genes, no deben considerarse como equivalentes, ya que se trata de entidades distintas influenciadas por procesos evolutivos diferentes (Igea, 2012). En particular, la genealogía de un gen (mitocondrial, nuclear, cloroplasto) puede ser diferente (topología, clados y linajes) de

una filogenia resuelta de especies, pues las genealogías de los genes pueden variar a lo largo de un genoma. Este fenómeno es reconocido como separación incompleta de linajes (ILS) y ocurre cuando el tamaño efectivo de la población sugiere tiempos de coalescencia los cuales son del orden del intervalo de tiempo entre los eventos de especiación o menores (Hobolt et al., 2011). Debería considerarse que a partir del genoma se obtiene una colección de árboles de genes, cada uno con su historia evolutiva independiente y cuya forma puede coincidir o no con la del árbol de especies “real” (Igea, 2012). En este sentido, Blair et al. (2015) en la revisión filogenética mas reciente del género *Phyllodactylus* obtienen una elevada incongruencia entre los árboles mitocondriales y nucleares (17 vs 7), mismas que resuelven en su árbol de especies mediante análisis de coalescencia filogenética. Ellos proponen dos posibles explicaciones a la discordancia entre árboles de genes, una de ellas es por la separación incompleta de linajes (ILS) y la otra es la existencia de introgresión, sugiriendo la existencia de hibridización en algunas poblaciones simpátricas particularmente con *P. tuberculatus*, especie de amplia distribución. Ambas hipótesis son posibles fenómenos que puedan explicar la incongruencia en los árboles obtenidos (10 linajes mitocondriales vs 6 nucleares), aunque el ILS podría explicar mejor estas diferencias, varios elementos permiten inferir que la separación incompleta de linajes es la responsable de la incongruencia entre los árboles de genes nucleares y mitocondriales. Blair (2012) calculó el numero de migrantes por generación ($4Nm$) entre poblaciones de *Phyllodactylus lanei* y determinó que es de un individuo o menos por generación, lo cual indica una baja tasa de migración (por lo tanto de migrantes efectivos). También calculó los tamaños efectivos poblacionales, que en su mayoría fueron determinados como bajos. Esto aunado a que los intervalos geográficos de

distribución de estos gekos son pequeños (< 40 km) y la elevada filopatría que presentan las hembras (Blair et al., 2013; 2014; 2015) permiten suponer que los procesos de introgresión no son tan recurrentes. Por otra parte, la separación incompleta de linajes ocurre cuando las copias de un gen dentro de una misma especie no encuentran su ancestro común (no coalescen) hasta un tiempo anterior al evento de especiación. De esta forma los polimorfismos existentes en una población ancestral pueden mantenerse después de sucesivos eventos cladogenéticos. La última causa de la separación incompleta de linajes es la acción deriva genética y cuya intensidad está determinada por el tamaño efectivo de la población. De esta manera, cuanto menor sea el tamaño efectivo de la población, mas importante es el efecto de la deriva genética y menos posibilidad existe de que se den fenómenos de coalescencia profundas (Igea, 2012).

El árbol de especies filogenético define 10 clados monofiléticos con valores de soporte altos, el cual fue utilizado como hipótesis para determinar el número de especies que componen al complejo *P. lanei*, mediante el modelo PTP (Poisson Tree Processes) el cual permitió definir el número putativo de especies que conforman al complejo. Este modelo fue seleccionado debido a que para delimitar especies *de novo* el PTP presenta una mayor precisión en la determinación de especies en comparación al GMYC (General Mixed Yule Coalescent) cuando las distancias evolutivas entre las especies son pequeñas (Zhang et al., 2013; Leavitt et al., 2015). Desde una perspectiva conservadora y con base en los resultados obtenidos en este trabajo, se propone la existencia de 10 especies putativas que conforman el complejo *P. lanei*, de las cuales cuatro corresponden a cambios taxonómicos y seis son nuevas que requieren de una descripción formal (Cuadro 10).

Cuadro 10. Propuesta de cambios taxonómicos dentro del complejo *P. lanei*.

Clado (Entidad)	Taxon actual	Propuesta taxonómica	Referencia
A	<i>P. l. isabelae</i>	<i>Phyllodactylus isabelae</i>	Este trabajo
B	<i>P. l. lupitae</i>	<i>Phyllodactylus lupitae</i>	Este trabajo
C	<i>P. l. rupinus</i>	Nueva especie	Este trabajo
D	<i>P. l. rupinus</i>	Nueva especie	Este trabajo
E	<i>P. l. rupinus</i>	Nueva especie	Castiglia et al. (2010)
F	<i>P. l. rupinus</i>	Nueva especie	Este trabajo
G	<i>P. l. rupinus</i>	<i>Phyllodactylus rupinus</i>	Este trabajo
H	<i>P. l. lanei</i>	Nueva especie	Blair et al. (2015)
I	<i>P. l. lanei</i>	<i>Phyllodactylus lanei</i>	Castiglia et al. (2010)
J	<i>Phyllodactylus</i> sp.	Nueva especie	Este trabajo

Siete clados o entidades recuperadas de las 10 especies putativas, presentaron valores de probabilidad posterior de delimitación menores a 0.95, mientras que los clados F, I, J, presentaron valores mayores a 0.95 de ppd, de acuerdo al análisis bPTP (Cuadro 9). Por su parte Lang et al. (2015) también implementaron el análisis bPTP en el sitio web y obtuvieron valores bajos de ppd (<0.5) en la mayoría de los nodos que soportan las especies putativas propuestas. Estos resultados pueden ser debidos a un efecto de muestreo del análisis bPTP implementado en el servidor web, ya que se encuentra limitado el número de generaciones de cadenas de Markov (500 mil generaciones máximo de MCMC). Aunque las gráficas Tracer demostraron un comportamiento típico de convergencia de cadenas (Anexo 4) de acuerdo con Zhang et al. (2013), el número de generaciones máximo permitido es muy bajo. Se requiere de un gran número de generaciones que permitan a las cadenas llegar a una estacionalidad, después de recorrer un gran conjunto de probabilidades del espacio de parámetros, para después permanecer en ese periodo estacional durante el tiempo suficiente que permita tomar

una gran cantidad de muestras (Lemey et al., 2009; Ronquist et al., 2012). La principal razón para generar una cadena con un gran número de ciclos (generaciones), es que la probabilidad posterior que más se ajusta a los datos (valores de pp altos) se encuentra concentrada en una pequeña parte dentro de un gran espacio de parámetros, es decir, mientras más generaciones implementadas, mayor será la probabilidad de obtener el mejor modelo que se ajuste a los datos desde una perspectiva bayesiana (Huelsenbeck et al., 2002; Holder y Lewis, 2003; Lemey et al., 2009; Ronquist et al., 2012).

Las propuestas de revisión y cambios taxonómicos dentro de *P. lanei* no son nuevas, por ejemplo, los análisis genéticos y citogenéticos de Castiglia et al. (2009; 2010) indican que existe una clara diferencia cromosómica y genética (DNAmt) entre *P. l. rupinus* (una población que habita en Chamela, Jalisco) con respecto a *P. l. lanei* (la población que habita la localidad tipo, en Tierra Colorada, Guerrero) y sugieren modificar el estatus de subespecie para estas poblaciones, además de enfatizar la necesidad de analizar la población tipo de *P. l. rupinus* (Lombardía, Michoacán) ya que esta no fue incorporada en sus análisis. Por otra parte, en el estudio más reciente sobre sistemática molecular en especies de *Phyllodactylus*, Blair et al. (2015) reconocieron la existencia de cinco especies dentro del complejo *P. lanei*, sin embargo, ellos no integraron a sus análisis a las subespecies insulares por lo que el clado está incompleto (*sensu stricto* Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992; Castiglia et al., 2010; Uetz, 2014). El método que emplearon para determinar las especies fue el GMYC, este método es sensible a diferentes factores como los priors θ y τ_0 , así como a las tasas de migración y al árbol ultramétrico de entrada (Leaché y Fujita, 2010; Yang y Rannala, 2010; Zhang et al., 2011; 2013; Blair et al., 2015). A pesar de lo anterior, existen coincidencias entre las propuestas de especies de Blair et al. (2015) y la de este trabajo, particularmente para

las poblaciones de Guerrero. Ellos consideran que la población de Tierra Colorada es una especie diferenciada de la población costera de Acapulco y de otra que se encuentra en las Grutas de Cacahuamilpa, en la Cuenca del Balsas. Esta propuesta coincide con los hallazgos del presente estudio, pues el clado I formado por poblaciones de la costa de Guerrero (Tierra Colorada y Chilpancingo) forma una especie diferenciada del clado J formado por una población de la costa de Oaxaca y por el clado H constituido por la población que habita en la Cuenca del Balsas (Nueva Filadelfia) en Guerrero. Por otra parte Blair et al. (2015) encontraron una diversidad críptica alta en la región de la Costa Pacífica Mexicana occidental, pues a diferencia de los cuatro taxa propuestos (Dixon, 1964), ellos determinan en su aproximación más conservadora que existen 12 especies crípticas tan solo en esa región. Estos hallazgos fueron los que les permitieron sugerir que “cada población de gekos (*Phyllodactylus*) a través del Occidente de México podría constituir una especie distinta”. En este sentido, la propuesta de este trabajo considera la existencia de tres especies en la región continental del Occidente de México, los linajes recuperados como terminales de las poblaciones de Nayarit (C-D), el clado E que representa la población de Chamela, Jalisco y el clado F formado por la población de Amatlan de Cañas, en la frontera de Nayarit y Jalisco. Cabe señalar que es necesario incorporar más individuos a los análisis filogenéticos y de delimitación de especies, principalmente de la región costera de Nayarit (linajes C y D) y en la región costera de Oaxaca (clado I), pues en este trabajo solo se incorporaron dos individuos que representan las poblaciones mencionadas. Incorporar más datos permitirá resultados más precisos, sobre todo en la determinación de linajes existentes en la costa de Nayarit, pues podría existir más de una especie en simpatría con otras en esa región.

Diversificación y biogeografía histórica

El árbol ultramétrico de especies (Figura 9) indica el origen del clado *P. lanei* a finales del Paleoceno, alrededor de los 55 mda y ubica al ancestro común más reciente de *Homonota* y *Phyllodactylus* hace aproximadamente 65 mda, este resultado confirma la propuesta elaborada por Gamble et al. (2011) acerca del origen y biogeografía histórica de estos linajes en América. Los linajes más ancestrales se ubican en la base de los árboles y están compuestos por las poblaciones de las costas del sur de México. El árbol demuestra que la mayor diversificación del complejo *P. lanei* ocurrió durante el Eoceno (30-50 mda), este hallazgo concuerda ampliamente con lo reportado por Blair et al. (2015) y confirma dos aspectos fundamentales, el primero es que los cambios climáticos, geológicos y ecológicos ocurridos durante esta época propiciaron la especiación de geckos del género *Phyllodactylus* en México y el segundo se refiere a que los cambios climáticos ocurridos durante el Pleistoceno no influyeron en la diversificación ni en los procesos de especiación en este grupo de lacertilios (*P. lanei*) ya que la última especiación en este grupo ocurrió durante el Mioceno (23-5mda). En este sentido Blair et al. (2015) también enfatizaron la escasa influencia de cambios del Pleistoceno en la diversificación de linajes del grupo *Phyllodactylus tuberculatus* y que la mayor parte de divergencia entre especies se originó antes del Cuaternario, resultados que apoyan la presente contribución.

El análisis biogeográfico demuestra que los linajes ancestrales se encontraron en la costa del sur de México (Guerrero-Oaxaca) y que posteriormente ocurrieron eventos de dispersión hacia el nor-occidente de México (Cuenca del Balsas y Costa Pacífica Mexicana Occidental) y sugiere que ocurrieron tres eventos de vicarianza importantes dentro de la diversificación del complejo *P. lanei*. En este sentido, se sabe que el origen

y evolución de la herpetofauna mexicana ha sido influenciada por diversos procesos históricos de dispersión y vicarianza (Flores-Villela y Martínez-Salazar, 2009). El primer evento vicariante ocurrió cerca de los 50 mda durante el Eoceno y fue ubicado en el estado de Guerrero, este evento se relaciona íntimamente con la formación de la Sierra Madre del Sur (SMS) ya que se sabe gracias al estudio de las rocas volcánicas y plutónicas terciarias que la SMS constituye una amplia provincia magmática cuya actividad precedió en tiempo a la Faja Volcánica Transmexicana (FVT) y abarcó desde el Paleoceno (55 mda) hasta el Mioceno (Morán-Zenteno, 1985; Morán-Zenteno et al., 2000). Tres elementos soportan esta hipótesis: la presencia de rocas volcánicas e intrusivas del Eoceno-Oligoceno en la región de Tierra Colorada y Chilpancingo, la presencia de secuencias sedimentarias del Paleogeno y desplazamientos relativos durante el Eoceno tardío en la región de Chilpancingo, Guerrero (Morán-Zenteno et al., 2005). Este evento vicariante separó a los linajes que conforman los clados H e I y propició la diferenciación de las poblaciones de Nueva Filadelfia y Tierra Colorada-Chilpancingo, de esta manera, la Sierra Madre del Sur constituye la principal barrera geográfica que divide estos linajes.

El segundo evento ocurrió cerca de los 34 mda durante el Oligoceno y podría vincularse con la formación de la Faja Volcánica Transmexicana (FVT) ya que las primeras manifestaciones volcánicas en la región central de este sistema montañoso se ubican en el Oligoceno Superior hace 38 mda, con subsecuentes fases de vulcanismo ocurridas todas ellas a partir del Oligoceno de las cuales la más importante sucedió a finales del Mioceno (Morán-Zenteno, 1985). Este evento separó las poblaciones de la Cuenca del Balsas (clados G y H) de aquellas de las regiones bajas de Guerrero (clado I) y Oaxaca (clado J) y de las costas del Pacífico Mexicano (linajes C, D y clados F y E).

Estos resultados indican que probablemente durante la formación de la Sierra Madre del Sur (SMS) y la Faja Volcánica Transmexicana (FVT) ocurrieron eventos de especiación alopátrica, ya que la formación de estas cadenas montañosas implicaron una barrera geográfica que aisló a las poblaciones del sur de Guerrero, Cuenca del Balsas y Costa Pacífica Occidental, esto promovió la divergencia de estas poblaciones y originó un evento de especiación mediante “hard allopatry”, es decir, la presencia de barreras físicas infranqueables que limitan la movilidad e intercambio genético entre las poblaciones, lo cual lleva por consiguiente a la divergencia y a procesos de especiación alopátrica (Pyron y Burbrink, 2010).

El último evento vicariante ocurrió cerca de los 15 mda en el Mioceno y concuerda estrechamente con la formación del único clado insular obtenido en la filogenia (*P. l. isabellae* + *P. l. lupitae*). Las islas Marietas son de origen reciente, los escasos estudios elaborados en Bahía de Banderas y particularmente sobre las islas Marietas indican que estas se originaron durante un periodo de actividad volcánica ubicada en el Mioceno (23-5 mda) aunque no se precisa una fecha aproximada (Jensky, 1974; Ramírez y Cupul, 1999; Álvarez et al., 2010). Estas islas junto con la isla El Coral, donde habita *P. l. lupitae* y de la cual se desconoce su origen, probablemente pudieron ser colonizadas debido al cese de actividad volcánica durante el Mioceno (o posteriormente) y probablemente debido a cambios ocurridos en el nivel del mar, estas características probablemente permitieron la colonización de las islas del estado de Nayarit. En el estudio de Casas-Andreu (1992) sobre la herpetofauna de las islas adyacentes a la costa de Nayarit (Marías, Marietas) se señala que las islas debieron formarse antes del Plioceno y se mencionan dos posibles formas de arribo y colonización de las islas: una de ellas implica el establecimiento de poblaciones en un

territorio que posteriormente formará una isla (desprendimiento continental), esta hipótesis podría explicar el origen de la isla El Coral, pues no se tienen datos acerca del origen de la isla ni de la evolución de su biota. La otra forma de arribo se refiere a la dispersión activa de las especies, mediante dos mecanismos: la formación de puentes terrestres ocurridos gracias a los cambios en el nivel del mar (100-200 m) durante el Pleistoceno y mediante la dispersión por balsas naturales a través de la superficie marina (Casas-Andreu, 1992). Cualquiera de las formas de arribo y establecimiento de *P. l. lupitae* en la isla El Coral es igualmente probable, pues no hay datos sobre el origen de la isla como ya se mencionó anteriormente. Por otra parte en el caso de *P. l. isabellae* si se conoce el origen volcánico de las islas Marietas por lo que en este caso solo existe la posibilidad de colonización mediante puentes terrestres y dispersión activa mediante balsas naturales. Ambos métodos de colonización se han propuesto para explicar la existencia de poblaciones insulares en lacertilios, así como procesos de especiación y de extinción a través de grandes áreas geográficas. Un ejemplo es la colonización transatlántica de los ancestros de la familia Phyllodactylidae en América, de acuerdo con Gamble et al. (2011) esta colonización involucró múltiples eventos de dispersión transatlántica mediante dos vías, una por dispersión activa a través del Atlántico por medio de balsas naturales (o a nado libre), o bien, mediante dispersión a través de puentes terrestres intermitentes que conectaron a Europa y Norte América los cuales se desarrollaron durante el Cretácico tardío hasta finales del Eoceno. Otro ejemplo de colonización y especiación a través de largas distancias geográficas se observa en la colonización y radiación en geckos del género *Tarentola* ya que de acuerdo con Carranza et al. (2000), ocurrieron cuatro invasiones principales en archipiélagos en el Norte de África y América de las cuales destaca la invasión de

Neotarentola a Cuba mediante un viaje de más de 6000 km por la vía de la corriente Nor-Ecuatorial por medio de balsas naturales. Carranza et al. (2000) afirman también que estas especies de geckos presentan diversas características que les permiten la dispersión activa a través de grandes áreas geográficas, como son: escasos requerimientos alimenticios, soportan largos periodos sin beber agua, además de que presentan la capacidad de trepar y sujetarse a distintas superficies gracias a que poseen almohadillas adheribles en las patas (adhesive toepads). Esta última característica ha permitido a los geckos explotar diversos hábitats y por consiguiente dividir y ocupar diversos espacios de su nicho ecológico (Gamble et al., 2012).

Implicaciones taxonómicas

Los resultados obtenidos en el presente trabajo mediante análisis filogenéticos probabilísticos en conjunto con el método PTP de delimitación de especies son congruentes con la más reciente revisión sistemática de especies del genero *Phyllodactylus* en México, pues sustentan la existencia de especies crípticas dentro de este grupo de geckos. De forma similar al trabajo de Blair et al. (2015), también se considera que la taxonomía y sistemática de los geckos en México requieren de una revisión considerable y que los análisis de DNA combinados con métodos de delimitación de especies, ya sea por medio de análisis filogenéticos probabilísticos o bien por métodos de coalescencia, son herramientas fundamentales que pueden ser incorporados dentro de un marco de taxonomía integrativa, ya que ambos estudios han demostrado que la diversidad de los geckos en México podría estar subestimada (Fujita y Leaché, 2011; Fujita et al., 2012; Blair et al., 2015). La taxonomía integrativa es una aproximación en investigación taxonómica cuyo objetivo es incorporar diversos tipos de

datos y metodologías empleadas en el campo de la sistemática para documentar la biodiversidad y los procesos evolutivos que han promovido la divergencia de distintos taxa (Fujita et al., 2012). La taxonomía integrativa no reemplaza a la taxonomía tradicional, sino que la fortalece, pues al tener métodos de delimitación de especies más rigurosos ha permitido una mayor calidad de inventarios de la biodiversidad al incrementar y disminuir el número de especies. El incremento se debe principalmente al descubrimiento de especies crípticas en varios ecosistemas y por el contrario, la disminución de especies se debe a la conespecificidad de especies nominales, a menudo estos descubrimientos han terminado largas disputas taxonómicas (Padial et al., 2010; Schlick-Steiner et al., 2010).

Blair et al. (2015) proponen el estudio detallado de caracteres anatómicos internos que auxilien en la descripción de nuevas entidades taxonómicas, sin embargo, también es importante realizar análisis morfométricos que puedan auxiliar en la sistemática y taxonomía de este grupo de lacertilios. Los métodos morfométricos ofrecen una herramienta para obtener mayor evidencia que permite apoyar o rechazar hipótesis filogenéticas o bien, permiten complementar evidencia generada a través de estudios moleculares (Lue y Lin, 2008; Kaliontzopoulou, 2011). Un ejemplo de la incorporación de morfometría dentro de un marco de taxonomía integrativa, es el trabajo de Leaché et al. (2009), quienes infirieron el proceso histórico de formación de linajes en el complejo de lagartijas *Phrynosoma coronatum* en México, mediante la evaluación de una amplia diversidad de criterios que incluyeron análisis filogenéticos mitocondriales y nucleares, análisis de nichos ecológicos y morfometría de cráneos. Mediante el análisis morfométrico de la osteología craneal de las poblaciones de lacertilios del género *Phrynosoma*, particularmente las formas de los cuernos, permitió la separación de

linajes y sustentó la hipótesis de la existencia de dos grupos filogeográficos bien establecidos en Baja California. Por otra parte, Lue y Lin (2008) mediante al análisis de 40 caracteres morfológicos permitieron diferenciar dos especies crípticas consideradas anteriormente conespecíficas de una lagartija de Taiwán, *Takydromus formosanus*. Sus resultados permitieron la identificación y posterior descripción de dos nuevas especies, lo cual permitió incrementar así el conocimiento de la biodiversidad de la herpetofauna endémica de Taiwán. Esta herramienta ha sido poco utilizada en este grupo de geckos, ya que solo existe el estudio univariado realizado por Castro-Franco y Uribe-Peña (1992), quienes registraron la medida de 11 estructuras morfológicas como longitud hocico-cloaca, longitud de la cola, longitud de la cabeza, longitud de la pata derecha, diámetro del oído entre otras y como resultado de este estudio proponen la descripción de las subespecies *P. l. isabelae* y *P. l. lupitae*.

Aunque en este trabajo solo se estudió un pequeño grupo de geckos endémicos de México, los resultados confirman la gran diversidad que presentan (Blair et al., 2015), y muestran la consecuente responsabilidad de identificar y describir la diversidad biológica dentro de un marco de taxonomía integrativa, reconociendo formalmente los nuevos taxa descubiertos. Lo anterior parece particularmente importante ante la crisis de biodiversidad actual (Leaché y Fujita, 2010; Padial et al., 2010; Fujita y Leaché, 2011; Fujita et al., 2012; Thaseen, 2014). Los avances en inventarios de biodiversidad son de gran relevancia particularmente en países considerados como “megadiversos”, en este sentido, México alberga el 8.7% de especies de reptiles de todo el mundo y se considera que este tipo de fauna es una de las mas diversas y con un alto grado de endemismo, particularmente la familia Phyllodactylidae presenta actualmente el 81.25% de especies endémicas del genero *Phyllodactylus* en México (Flores-Villela y García-

Vázquez, 2014). Los resultados aquí presentados junto con la revisión filogenética más reciente del género *Phyllodactylus* en México, sugieren la necesidad de revisar la taxonomía y sistemática de este grupo de reptiles incorporando nuevos análisis acerca de la evolución de estos geckos (Blair et al., 2015). Los análisis de datos dentro de un marco de taxonomía integrativa permitirán actualizar el inventario de especies, de este modo, el conocimiento generado a partir de los análisis de datos, enfatizará la necesidad de conservación de la biodiversidad, pues es un hecho que nuestro desconocimiento actual sobre la diversidad biológica en sus tres niveles (genes, especies y ecosistemas), puede ser perjudicial para la supervivencia humana (Thaseen, 2014).

CONCLUSIONES

- ❖ El complejo *P. lanei* es un grupo monofilético conformado por 10 linajes de los cuales dos linajes hermanos conforman un clado insular y ocho se encuentran en la región continental.
- ❖ Desde una perspectiva conservadora el complejo *P. lanei* está conformado por 10 especies putativas.
- ❖ La especie hermana del clado *P. lanei* es *Phyllodactylus bordai*.
- ❖ El origen del clado que comprende al complejo *P. lanei* ocurrió alrededor de los 55 mda a finales del Paleoceno y la diversificación más importante de este grupo fue durante el Eoceno alrededor de los 35-55 mda y solo el clado conformado por los linajes insulares demuestra una divergencia más temprana la cual ocurrió cerca de los 20 mda durante el Mioceno.
- ❖ Tres eventos vicariantes fueron identificados como parte de la evolución de los linajes del clado *P. lanei*, dos de ellos concuerdan ampliamente con el origen y evolución de cadenas montañosas en México, la Sierra Madre del Sur y la Faja Volcánica Transmexicana.

LITERATURA CITADA

- Alfaro, M. E. y Holder, M. T. 2006. The posterior and the prior in Bayesian phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematic*, 37: 19-42.
- Álvarez, R., López-Loera, H. y Arzate, J. 2010. Modeling the marine magnetic field of Bahía de Banderas, Mexico, confirms the half-graben structure of the bay: *Tectonophysics*, 489: 14-28.
- Akaike, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. *En: Petrov, B. N, Csaki, F. (Eds), Second International Symposium on Information Theory. Akademiai Kiado, Budapest, Hungary, 267-281.*
- Aréchaga-Ocampo, S., Montalbán-Huidobro, C. A. y Castro-Franco, R. 2008. Nuevos registros y ampliación de la distribución de anfibios y reptiles en el Estado de Morelos, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 24: 231-233.
- Avise, J. C. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology*, 7: 371-379.
- Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge. 447 pp.
- Bauer, A. M., Parham, J. F., Brown, R. M., Stuart, B. L., Grismer, L., Papenfuss, T. J., Bohme, W., Savage, J. M., Carranza, S. y Grismer, J. L. 2011. Availability of new Bayesian-delimited gecko names and the importance of character-based species descriptions. *Proceedings of the Royal Society Biological Science*, 278: 490-492.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Navjot, S. S., Ng, P. K. L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K. y Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 22:148-155.

- Blair, C., Méndez-de la Cruz, F. R., Ngo, A., Lindell, J., Lathrop, A. y Murphy, R. W. 2009. Molecular phylogenetics and taxonomy of leaf-toed geckos (Phyllodactylidae: *Phyllodactylus*) inhabiting the península of Baja California. *Zootaxa*, 2027: 28-42.
- Blair, C. y Murphy, R. W. 2011. Recent trends in molecular phylogenetic analysis: where to next? *Journal of Heredity*, 1: 130-138.
- Blair, C. 2012. Spatial and Temporal Patterns of Diversification in Leaf-toed Geckos (Phyllodactylidae: *Phyllodactylus*) throughout the Mexican Dry Forest. Tesis Doctoral. Universidad de Toronto. Canadá. 291 p.
- Blair, C., Jiménez-Arcos, V. H., Méndez-de la Cruz, F. R. y Murphy, R. W. 2013. Landscape genetics of leaf-toed geckos in the tropical dry forest of Northern Mexico. *PLoS ONE*, 8: 1-15.
- Blair, C., Jiménez-Arcos, V. H., Méndez-de la Cruz, F. R. y Murphy, R. W. 2014. Historical and contemporary demography of leaf-toed geckos (Phyllodactylidae: *Phyllodactylus*) in the Mexican dry forest. *Conservation Genetic*, 1-11.
- Blair, C., Méndez- de la Cruz, F. R., Law, C. y Murphy, R. 2015. Molecular phylogenetics and species delimitation of leaf-toed geckos (Phyllodactylidae: *Phyllodactylus*) throughout the Mexican tropical dry forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 84: 254-265.
- Burnham, K. P., Anderson, D. R. y Huyvaert, K. P. 2011. AICc model selection in the ecological and behavioral sciences: some background, observations and comparisons. *Behavioral Ecology Sociobiology*, 65: 23-35.
- Canseco-Márquez, L. y Gutiérrez-Mayén, M. G. 2010. Anfibios y reptiles del Valle de Tehuacán- Cuicatlán. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la

- Biodiversidad, Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán A. C., Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México, D. F. 302 pp.
- Carranza, S., Arnold, E. N., Mateo, J. A. y López-Jurado, L. F. 2000. Long-distance colonization and radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 267: 637-649.
- Carranza, S. 2002. Los métodos moleculares en el estudio de la sistemática y filogenia de los Anfibios y Reptiles Ibéricos. *En: Pleguezuelos, J. M., Márquez, R. y Lizana, M. (Eds), Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España.* Dirección General de la Conservación de la Naturaleza-Asociación Herpetológica Española, Madrid, pp. 551-579.
- Carranza, S., Harris, D. J., Arnold, E. N., Batista, V. y González, J. P. 2006. Phylogeography of the lacertid lizard, *Psammodromus algirus*, in Iberia and across the Strait of Gibraltar. *Journal of Biogeography*, 33: 1279-1288.
- Carstens, B. C., Pelletier, T. A., Reid, N. M. y Satler, J. D. 2013. How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology*, 22: 4369-4383.
- Casas-Andreu, G. 1992. Anfibios y reptiles de las islas Marías y otras islas adyacentes a la costa de Nayarit, México. Aspectos sobre su biología y conservación. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*, 63:95-112.
- Casas-Andreu, G., Méndez-de la Cruz, F. R. y Camarillo, J. L. 1996. Anfibios y reptiles de Oaxaca. Lista, distribución y conservación. *Acta Zoológica Mexicana*, 69:1-35.
- Castiglia, R., Aguayo, A. G., Bezerra, A. M. R., Flores-Villela, O. y Gournung, E. 2009. Karyotypic diversification due to Robertsonian rearrangements in *Phyllodactylus*

- lanei* Smith, 1935 (Squamata, Gekkonidae) from Mexico. *Atti della Accademia Nazionale dei Lincei, Rendiconti Lincei, Scienze Fisiche e Naturali*, 20: 77-82.
- Castiglia R., Annesi, F., Bezerra, A. M. R., García, A. y Flores-Villela O. 2010. Cytotaxonomy and DNA taxonomy of lizards (Squamata, Sauria) from a tropical dry forest in the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve on the coast of Jalisco, Mexico. *Zootaxa*, 2508:1-29.
- Castro-Franco, R. y Gaviño, G. 1990. Reptiles de la isla La Peña, Nayarit, México. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*, 61:175-187.
- Castro-Franco, R. y Uribe-Peña, Z. 1992. Dos subespecies nuevas de *Phyllodactylus lanei* (Sauria: Gekkonidae). *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*, 63: 113-123.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. y Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 772.
- Darwin, C. 1859. *El origen de las especies*. Editorial Porrúa, México, D. F. 455 pp.
- De Luna E., Guerrero, J. A. y Taracena, T. C. 2005. Sistemática biológica: avances y direcciones en la teoría y los métodos de la reconstrucción filogenética. *Hidrobiológica*, 15: 351-370.
- De Queiroz, K. y Donoghue, M. J. 1988. Phylogenetic systematics and the species problem. *Cladistics* 4: 317-338.
- De Queiroz, K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation. *En: Howard D. J. y Berlocher S. H. (Eds). Endless Forms: Species and Speciation*. Oxford University Press. New York, USA, pp. 57-75.

- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*, 56: 879-886.
- Dixon, J. R. 1964. The systematics and distribution of lizards of the genus *Phyllodactylus* in North and Central America. New Mexico State University Research Center, Scientific Bulletin, 64: 1-139.
- Dixon, J. R. y Huey, R. B. 1970. Systematics of the lizards of the gekkonid genus *Phyllodactylus* of mainland South America. Los Angeles County Museum, Contributions in Science, 192: 1-80.
- Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32: 59-70.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17: 368-376.
- Flores-Villela, O. y Martínez-Salazar, E. 2009. Historical explanation of the origin of the herpetofauna of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80: 817- 833.
- Flores-Villela, O. y García-Vázquez, U. O. 2014. Biodiversidad de reptiles en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad, Suplemento 85*: 467-475.
- Fujita, M. K. y Leaché, A. D. 2011. A coalescent perspective on delimiting and naming species: a reply to Bauer. *Proceedings of the Royal Society Biological Science*, 278: 493-495.
- Fujita, M. K., Leaché, A. D., Burbrink, F. T., McGuire, J. A. y Moritz, C. 2012. Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution*, 27: 480-488.

- Gamble, T., Bauer, A. M., Greenbaum, E. y Jackman, T. R. 2008a. Out of the blue: A novel, trans-Atlantic clade of geckos (Gekkota, Squamata). *Zoologica Scripta*, 37: 355-366.
- Gamble, T., A. M. Bauer, E. Greenbaum y T. R. Jackman. 2008b. Evidence for Gondwanan vicariance in an ancient clade of gecko lizards. *Journal of Biogeography*, 35: 88-104.
- Gamble, T., Bauer, A. M., Colli, G. R., Greenbaum, E., Jackman, T. R., Vitt, L. J. y Simons, A. M. 2011. Coming to America: Multiple Origins of New World Geckos. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 231-244.
- Gamble, T., E. Greenbaum, T. R. Jackman, A. P. Russell y A. M. Bauer. 2012. Repeated Origin and Loss of Adhesive Toepads in Geckos. *PLoS ONE*, 7:1-10.
- García, A. y Ceballos, G. 1994. Guía de campo de los reptiles y anfibios de la costa de Jalisco, México. Fundación Ecológica de Cuixmala, A.C. Instituto de Biología, UNAM. 176 pp.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Hamilton, M. B. 2009. Population genetics. Chichester: John Wiley and Sons. 424 pp.
- Hobolth, A., Dutheil, J. Y., Hawks, J., Schierup, M. H., Mailund, T. 2011. Incomplete lineage sorting patterns among human, chimpanzee, and orangutan suggest recent orangután speciation and widespread selection. *Genome Research*, 21:349-356.
- Holder, M. y Lewis, P. O. 2003. Phylogeny estimation: Traditional and Bayesian approaches. *Nature Reviews Genetic*, 4: 275-284.

- Huelsenbeck, J. P., Larget, B., Miller, R. E. y Ronquist, F. 2002. Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. *Systematic Biology*, 51: 673-688
- Igea, J. 2012. Desarrollo de nuevos marcadores genómicos y su aplicación a la filogenia y variabilidad genética de mamíferos. Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona, Barcelona, España, 178 pp.
- Jandzik, D., Avci, A. y Gvozdik, V. 2013. Incongruence between taxonomy and genetics: three divergent lineages within two subspecies of the rare Transcaucasian rat snake (*Zamenis hohenackeri*). *Amphibia-Reptilia* 34: 579-584.
- Jensky, W. A. 1974. Reconnaissance geology and geochronology of the Bahía de Banderas area, Nayarit and Jalisco, Mexico. *En: Cupul-Magaña (Compilador), Programa de Conservación y Manejo Parque Nacional Islas Marietas. SEMARNAT-CONANP, México, D. F. pp. 22-30.*
- Johns, G. y Avise, J. 1998. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. *Molecular Biology and Evolution*, 15: 1481–1490.
- Kaliontzopoulou, A. 2011. Geometric morphometrics in herpetology: modern tools for enhancing the study of morphological variation in amphibians and reptiles. *Basic and Applied Herpetology* 25: 5-32.
- Kluge, A. G. 1967. Higher taxonomic categories of gekkonid lizards and their evolution. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 135: 1-72.
- Knowles, L. y Carstens, B. C. 2007. Delimiting species without monophyletic gene trees. *Systematic Biology*, 56: 887-895.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Pääbo, S., Villablanca, F. X. y Wilson, A. C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals:

- amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences, 86: 6196-6200.
- Lang, A. S., Bocksberger, G. y Stech, M. 2015. Phylogeny and species delimitations in European *Dicranum* (Dicranaceae, Bryophyta) inferred from nuclear and plastid DNA. Molecular Phylogenetics and Evolution, 92: 217-225.
- Lanteri, A. A. y Confalonieri, V. A. 2003. Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. *En: Llorente-Bousquets, J. y J. J. Morrone (Eds.), Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía.* Facultad de Ciencias, UNAM, México, pp. 185-193.
- Le Ru, B. P., Capdevielle-Dulac, C., Toussaint, E. F. A., Conlong, D., Van den Berg, J., Pallangyo, B., Ong'amo, G., Chipabika, G., Molo, R., Overholt, W. A., Cuda, J. P. y Kergoat, G. J. 2014. Integrative taxonomy of *Acrapex* stem borers (Lepidoptera: Noctuidae: Apameini). Invertebrate Systematics, 28: 451-475
- Leaché, A. D. y McGuire, J. A. 2006. Phylogenetic relationships of horned lizards (*Phrynosoma*) based on nuclear and mitochondrial data: Evidence for a misleading mitochondrial gene tree. Molecular Phylogenetics and Evolution, 39: 628-644.
- Leaché, A. D., Koo, M. S., Spencer, C. L., Papenfuss, T. J., Fisher, R. N. y McGuire, J. A. 2009. Quantifying ecological, morphological, and genetic variation to delimit species in the coast horned lizard species complex (*Phrynosoma*). Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 106: 12418-12423.
- Leaché, A. D. y Fujita, M. K. 2010. Bayesian species delimitation in West African forest geckos (*Hemidactylus fasciatus*). Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 277: 3071-3077.

- Leaché, A. D., Fujita, M. K., Minin, V. N. y Bouckaert, R. R. 2014. Species delimitation using genome-wide SNP data. *Systematic Biology*, 63: 534-542.
- Leavitt, S. D., Moreau, C. S., y Lumbsch, H. T. 2015. The dynamic discipline of species delimitation: progress toward effectively recognizing species boundaries in natural populations. *Recent Advances in Lichenology*, 1-36.
- Lemey, P., Salemi M. y Vandamme, A. M. 2009. *The Phylogenetic Handbook. A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. Cambridge University Press. New York. 751 pp.
- Librado, P. y Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.
- Lue, K. Y. y Lin, S. M. 2008. Two new cryptic species of *Takydromus* (Squamata: Lacertidae) from Taiwan. *Herpetologica* 64: 379-395.
- Maddison, W. P. y Maddison, D.R. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.04. Disponible en <http://mesquiteproject.org>
- Mallet, J. 2006. Species concepts. *En*: Fox, C. y J. Wolf (Eds.), *Evolutionary Genetics: Concepts and Case Studies*. OUP, Oxford, pp. 367-373.
- Martín-Regalado, C. N., Gómez-Ugalde, R. M. y Cisneros-Palacios, M. E. 2011. Herpetofauna del cerro Guiengola, Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. *Acta Zoológica Mexicana*, 27: 359-376.
- Morán-Zenteno, D. 1985. *Geología de la República Mexicana*: México, D. F., Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería, Secretaría de Programación y Presupuesto, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 88 p.

- Morán-Zenteno, D., Martini, B., Tolson, G., Solís-Pichardo, G., Alba-Aldave, L., Hernández-Bernal, M., Macías-Romo, C., Martínez-Serrano, R., Schaff, P. y Silva-Romo, G. 2000. Geocronología y características geoquímicas de las rocas magmáticas terciarias de la Sierra Madre del Sur. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, 53: 27-58.
- Morán-Zenteno, D. J., Cerca, M., y Keppie, J. D. 2005. La evolución tectónica y magmática cenozoica del suroeste de México: avances y problemas de interpretación. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, 57: 319-314.
- Moreno, M. 2005. De la taxonomía tradicional a las filogenias moleculares. Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural (Sección Biológica), 100: 45-65.
- Morrone, J. J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. Revista Mexicana de Biodiversidad, 76: 207-252.
- Mulcahy, D. G. 2008. Phylogeography and species boundaries of the western North American nightsnake (*Hypsiglena torquata*): revisiting the subspecies concept. Molecular Phylogenetics and Evolution, 46: 1095-1115.
- Murphy, R. W. y T. J. Papenfuss. 1980. Biochemical variation of *Phyllodactylus unctus* and *P. paucituberculatus*. Biochemical Systematics and Ecology, 8: 97-100.
- Murphy, R. W., Blair, C. y Méndez-de la Cruz, F. R. 2009. A new species of leaf-toed gecko, genus *Phyllodactylus* (Squamata: Gekkota: Phyllodactylidae) from Guerrero, Mexico. South American Journal of Herpetology, 4: 17-24.
- Nguyen, S. N., Le, T.-N. T., Tran, T. A. D., Orlov, N. L., Lathrop, A., MacCulloch, R. D., Le, T.-D. T., Jin, J.-Q., Nguyen, L. T., Nguyen, T. T., Hoang, D. D., Che, J., Murphy, R. W. y Zhang, Y. 2013. Phylogeny of the *Cyrtodactylus irregularis*

- species complex (Squamata: Gekkonidae) from Vietnam with the description of two new species. *Zootaxa*, 3737: 399-414.
- O'Meara, B.C. 2012. Evolutionary inferences from phylogenies: a review of methods. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematic*, 43: 267-285.
- Oliver, P. M., Adams, M. y Doughty, P. 2010. Molecular evidence for ten species and Oligo-Miocene vicariance within a nominal Australian gecko species (*Crenadactylus ocellatus*, Diplodactylidae). *BMC Evolutionary Biology*, 10: 1-11.
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I. y Vences, M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7: 1-14.
- Palumbi, S. R., Martin, A., Romano, S., McMillan, W. O., Stice, L. y Grabowski, G. 1991. *The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2.0*. Privately published, University of Hawaii.
- Ponce-Campos, P. y García-Aguayo, A. 2007. *Phyllodactylus lanei*. En: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1.
- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D. y Vogler, A.P. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55: 595-609.
- Pyron, R. A. y Burbrink, F. T. 2010. Hard and soft allopatry: physically and ecologically mediated modes of geographic speciation. *Journal of Biogeography*, 37:2005-2015.
- Pyron, R. A., Burbrink, F. T. y Wiens, J. J. 2013. A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC Evolutionary Biology*, 13: 1-54.

- Rambaut, A., Suchard, M. A., Xie, D. y Drummond, A. J. 2014. Tracer v1.6. Disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Ramírez, R. y Cupul, F. G. 1999. Contribución al conocimiento de la flora de la Bahía de Banderas, Nayarit-Jalisco, México. *Ciencia Ergo Sum*; 6: 135-146.
- Reiserer, R. S., Schuett, G. W. y Beck, D. D. 2013. Taxonomic reassessment and conservation status of the beaded lizard, *Heloderma horridum* (Squamata: Helodermatidae). *Amphibian & Reptile Conservation* 7(1): 74-96.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A. y Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539-42.
- Russell, A. P. y Bauer, A. M. 2002. Underwood's classification of the geckos: a 21st century appreciation. *Bulletin of the Natural History Museum (Zoology)*, 68: 113-121.
- Schlick-Steiner, B. C., Steiner, F. M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E. y Crozier, R. H. 2010. Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring Biodiversity. *Annual Review of Entomology*, 55: 421-438.
- Silvestro, D. y Michalak, I. 2012. RaxmlGUI: A graphical front-end for RaxML. *Organisms Diversity and Evolution*. 12: 335-337.
- Smid, J., Carranza, S., Kratochvil, L., Gvozdik, V., Karim-Nasher, A. y Moravec, J. 2013a. Out of Arabia: A complex biogeographic history of multiple vicariance and dispersal events in the gecko genus *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae). *PLoS ONE*, 8: 1-14.

- Smid, J., Moravec, J., Kratochvil, L., Gvoždik, V., Nasher, A. K., Busais, S. M., Wilms, T., Shobrak, M. Y. y Carranza, S. 2013b. Two newly recognized species of *Hemidactylus* (Squamata, Gekkonidae) from the Arabian Peninsula and Sinai, Egypt. *ZooKeys*, 355: 79-107.
- Smith, H. M. 1935. Miscellaneous notes on mexican lizards. *The University Kansas Science Bulletin*, 22: 119-155.
- Stephens, M., Smith, N. y Donnelly, P. 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, 68: 978-989.
- Tahseen, Q. 2014. Taxonomy-The Crucial yet Misunderstood and Disregarded Tool for Studying Biodiversity. *Biodiversity and Endangered Species*, 2: 1-9.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. y Kumar, S. 2013. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- Uetz, P. 2014. The reptile database. Disponible en: <http://www.reptile-database.org/> (Accesado 22 de enero 2014).
- Underwood, G. 1954. On the classification and evolution of geckos. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 124: 469-492.
- Unmack, P. J., Bagley, J. C., Adams, M., Hammer, M. P. y Johnson, J. B. 2012. Molecular Phylogeny and Phylogeography of the Australian Freshwater Fish Genus *Galaxiella*, with an Emphasis on Dwarf Galaxias (*G. pusilla*). *PLoS ONE*, 7: 1-15.

- Uribe-Peña, Z. y Gaviño, G. 1981. Reptiles de las islas Tres Marietas Jalisco, México. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*, 52: 427-438.
- Vidal, N. y Hedges, S. B. 2009. The molecular evolutionary tree of lizards, snakes and amphisbaenias. *Comptes Rendus Biology*, 332:129-139.
- Vitt, L. J. y Caldwell, J. P. 2014. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. Elsevier, University of Oklahoma, 749 pp.
- Wiens, J. J. y Penkrot, T. A. 2002. Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology*, 51: 69-91.
- Yang, Z. y Rannala, B. 2010. Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107: 9264-9269.
- Yang, Z., y Rannala, B. 2014. Unguided species delimitation using DNA sequence data from multiple loci. *Molecular Biology and Evolution*, 31: 3125-3135.
- Yu, Y., Harris, A. J. y He, X. J. 2010. S-DIVA (statistical dispersal-vicariance analysis): a tool for inferring biogeographic histories. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(2):848-850.
- Yu, Y., Harris, A. J. y He, X. J. 2012. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies) 2.1b. Disponible en <http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/RASP>
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P. y Stamatakis, A. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29: 2869-2876.

ANEXO I. Lista de tejidos y números voucher para los especímenes de referencia depositados en la colección herpetológica del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC).

ESPECIE	CÓDIGO	LOCALIDAD	LATITUD	LONGITUD	ALTITUD (msnm)	LHC (cm)	CATALOGO MZFC
<i>P. lanei isabelae</i>	IL1	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	5.75	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL2	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	3.96	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL3	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	4.9	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL4	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	4	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL5	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	3.69	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL6	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	4.4	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL7	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	4.53	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL8	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	5.15	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL9	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	7	3.76	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL10	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	7	4.7	
<i>P. lanei isabelae</i>	ILC1	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	3.73	
<i>P. lanei isabelae</i>	ILC2	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	5.05	
<i>P. lanei isabelae</i>	ILC3	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	7	-	
<i>P. lanei isabelae</i>	IL11	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	7	4.27	28712
<i>P. lanei isabelae</i>	IL12	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	4.73	28711
<i>P. lanei isabelae</i>	IL13	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	3.54	28713
<i>P. lanei isabelae</i>	-	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	5.31	28709
<i>P. lanei isabelae</i>	-	Isla Larga, Islas Marietas, Bahía de Banderas, Nayarit	20.70	-105.58	17	4.9	28710
<i>P. lanei lupitae</i>	COR3	Isla El Coral (Isla La Peña), Rincón de Guayabitos, Nayarit	21.05	-105.27	46	-	
<i>P. lanei lupitae</i>	COR4	Isla El Coral (Isla La Peña), Rincón de Guayabitos,	21.05	-105.27	46	6.45	28717

Nayarit							
<i>P. lanei lupitae</i>	COR6	Isla El Coral (Isla La Peña), Rincón de Guayabitos, Nayarit	21.05	-105.27	46	6.46	28718
<i>P. lanei lupitae</i>	COR7	Isla El Coral (Isla La Peña), Rincón de Guayabitos, Nayarit	21.05	-105.27	46	6.11	28714
<i>P. lanei lupitae</i>	COR8	Isla El Coral (Isla La Peña), Rincón de Guayabitos, Nayarit	21.05	-105.27	46	5.16	28719
<i>P. lanei lupitae</i>	COR9	Isla El Coral (Isla La Peña), Rincón de Guayabitos, Nayarit	21.05	-105.27	46	7.23	28716
<i>P. lanei lupitae</i>	COR10	Isla El Coral (Isla La Peña), Rincón de Guayabitos, Nayarit	21.05	-105.27	46	7.25	28715
<i>P. lanei lanei</i>	TC1	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	2.14	28725
<i>P. lanei lanei</i>	TC2	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	3.03	28729
<i>P. lanei lanei</i>	TC3	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	5.24	28730
<i>P. lanei lanei</i>	TC4	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	2.46	28727
<i>P. lanei lanei</i>	TC7	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	-	
<i>P. lanei lanei</i>	TC9	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	2.66	28726
<i>P. lanei lanei</i>	TC10	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	3.07	28728
<i>P. lanei lanei</i>	TC11	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	5.27	28732
<i>P. lanei lanei</i>	TC12	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.16	-99.53	237	3.5	28731
<i>P. lanei lanei</i>	NF1	Nueva Filadelfia, Tlapehuala, Guerrero	18.29	-100.49	531	5.39	
<i>P. lanei lanei</i>	NF2	Nueva Filadelfia, Tlapehuala, Guerrero	18.29	-100.49	531	5.6	28738
<i>P. lanei lanei</i>	NF3	Nueva Filadelfia, Tlapehuala, Guerrero	18.29	-100.49	531	5.3	
<i>P. lanei lanei</i>	NF4	Nueva Filadelfia, Tlapehuala, Guerrero	18.29	-100.49	531	6.24	28736
<i>P. lanei lanei</i>	NF5	Nueva Filadelfia, Tlapehuala, Guerrero	18.29	-100.49	531	5.96	28735
<i>P. lanei lanei</i>	NF6	Nueva Filadelfia, Tlapehuala, Guerrero	18.29	-100.49	531	5.1	28739
<i>P. lanei lanei</i>	NF7	Nueva Filadelfia, Tlapehuala, Guerrero	18.29	-100.49	531	5.53	28737

<i>P. lanei lanei</i>	TC13	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.12	-99.52	230	7.1	
<i>P. lanei lanei</i>	TC14	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.15	-99.53	310	7.05	
<i>P. lanei lanei</i>	TC15	Tierra Colorada, Juan R. Escudero, Guerrero	17.12	-99.52	230	4.69	
<i>P. lanei rupinus</i>	LM1	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	6.1	28767
<i>P. lanei rupinus</i>	LM2	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	7.09	28768
<i>P. lanei rupinus</i>	LM3	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	6.1	28769
<i>P. lanei rupinus</i>	LM4	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	6.44	28770
<i>P. lanei rupinus</i>	LM5	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	6.3	28771
<i>P. lanei rupinus</i>	LM6	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	4.3	
<i>P. lanei rupinus</i>	LM7	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	5.9	
<i>P. lanei rupinus</i>	LM8	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	4.39	
<i>P. lanei rupinus</i>	LM9	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	6.94	
<i>P. lanei rupinus</i>	LM10	Lombardía, Michoacán	19.18	-102.04	635	5.66	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH1	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	-	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH2	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	6.32	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH3	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	7.14	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH4	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	5.88	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH5	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	3.76	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH6	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	6.23	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH7	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	5.56	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH8	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	6.78	28773
<i>P. lanei rupinus</i>	CH9	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	7.04	28774
<i>P. lanei rupinus</i>	CH10	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	5.24	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH11	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	6.46	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH12	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	6.4	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH13	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	-	
<i>P. lanei rupinus</i>	CH14	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	6.85	

<i>P. lanei rupinus</i>	CH15	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	7.32
<i>P. lanei rupinus</i>	CH16	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	5.23
<i>P. lanei rupinus</i>	CH17	Estación de Biología Chamela UNAM, La Huerta, Jalisco	19.50	-105.04	90	6.58
<i>P. lanei rupinus</i>	AC1	Amatlan de Cañas, Nayarit	20.81	-104.40	700	
<i>P. lanei rupinus</i>	AC2	Amatlan de Cañas, Nayarit	20.81	-104.40	700	

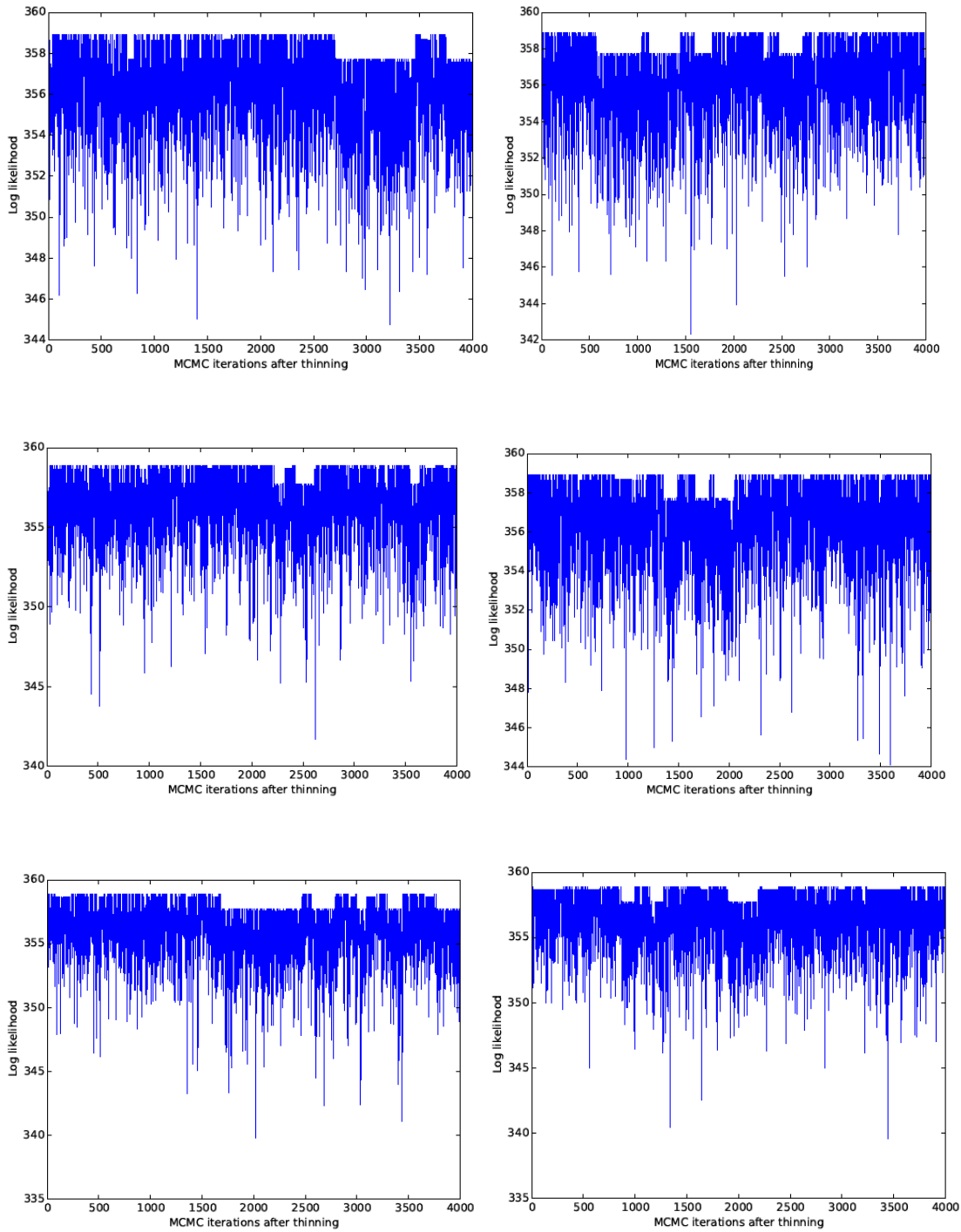
ANEXO II. Protocolo de extracción Dneasy Blood & Tissue Kit, QIAGEN (Enero, 2011).

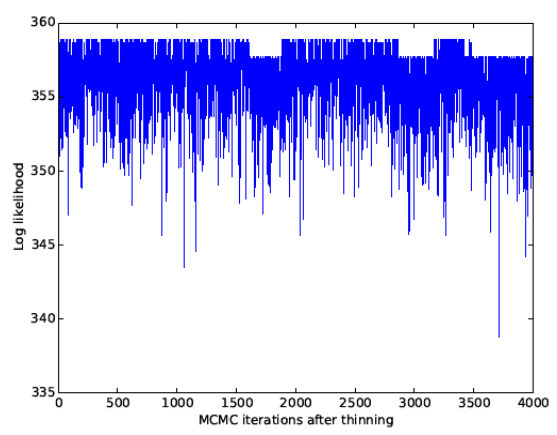
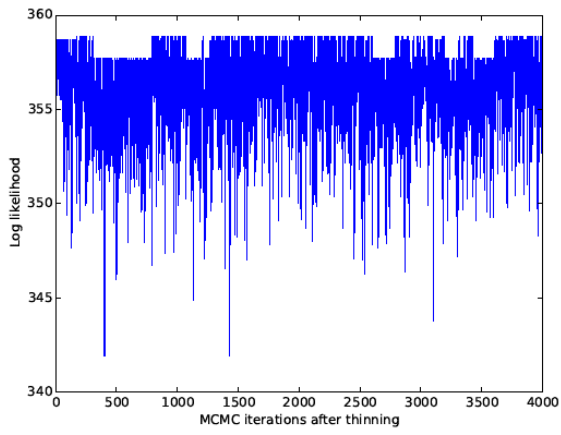
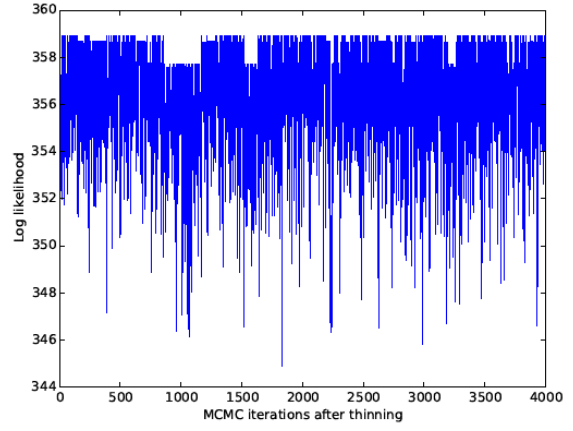
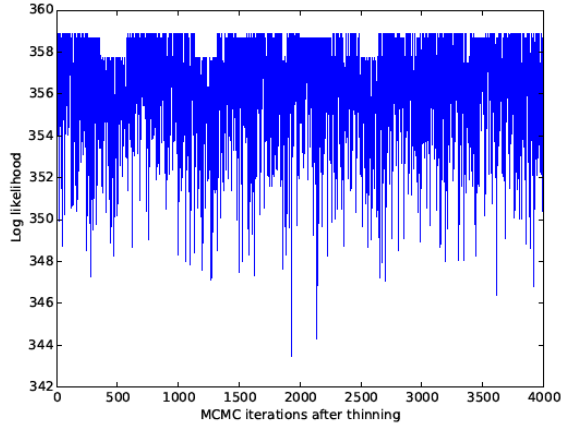
1. Cortar el tejido en pequeñas piezas (0.4-0.6 cm) y colocarlo dentro de un tubo de 1.5 ml. Adicionar 180 µl de Buffer ATL. Agregar 20 µl de proteinasa K, mezclar por vortex e incubar a 56 °C hasta la completa lisis del tejido.
2. Adicionar 200 µl de Buffer AL. Mezclar vigorosamente por vortex. Adicionar 200 µl de etanol 100%. Mezclar vigorosamente por vortex.
3. Pipetear la mezcla del paso 3 (incluyendo cualquier precipitado) dentro de una columna sobre un tubo de 2 ml. Centrifugar a 8000 rpm por 2 minutos.
4. Ubica la columna en un nuevo tubo colector de 2 ml. Agregar 500 µl de Buffer AW1 y centrifuga a 8000 rpm por 2 minutos.
5. Ubica la columna en un nuevo tubo colector de 2 ml. Agregar 500 µl de Buffer AW2 y centrifuga a 14000 rpm por 3 minutos.
6. Ubica la columna en un tubo limpio de 1.5 ml y pipetear 80 µl de Buffer AE directamente a la membrana. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto y después centrifugar por 2 min a 8000 rpm para la elución.

Anexo III. Valores de soporte (ppd) de los 10 clados recuperados (A-J) en el árbol de especies para cada corrida independiente y el promedio de las 10 corridas (500 mil generaciones de MCMC) obtenidos del análisis bPTP.

ANALISIS	A (isabetae)	B (lupitae)	C (rupinus Nay)	D (rupinus Nay)	E (rupinus Ch)	F (rupinus AC)	G (rupinus Lm)	H (lanei NF)	I (lanei TC)	J (Phylodactylus sp)
1	0.63	0.71	0.89	0.76	0.75	0.97	0.86	0.71	0.95	1.00
2	0.63	0.72	0.90	0.78	0.76	0.97	0.86	0.68	0.94	1.00
3	0.57	0.65	0.84	0.71	0.72	0.96	0.86	0.90	0.95	1.00
4	0.56	0.64	0.84	0.69	0.73	0.96	0.86	0.87	0.95	1.00
5	0.59	0.69	0.84	0.73	0.70	0.95	0.85	0.62	0.95	1.00
6	0.47	0.54	0.71	0.58	0.62	0.93	0.86	0.85	0.95	1.00
7	0.54	0.62	0.80	0.67	0.69	0.95	0.85	0.84	0.95	1.00
8	0.57	0.64	0.82	0.69	0.71	0.96	0.85	0.85	0.95	1.00
9	0.61	0.70	0.86	0.74	0.73	0.96	0.87	0.69	0.94	1.00
10	0.72	0.62	0.89	0.77	0.75	0.97	0.86	0.71	0.94	1.00
Promedio	0.59	0.65	0.84	0.71	0.71	0.96	0.86	0.77	0.95	1.00
Desviacion estandar	0.07	0.05	0.06	0.06	0.04	0.01	0.00	0.10	0.00	0.00

Anexo IV. Graficas de archivos TRACER del análisis bayesiano de delimitación de especies (bPTP).





Anexo V. Distancias genéticas promedio de citocromo b reportadas en especies de reptiles.

Géneros	No. de especies comparadas	Distancia genética promedio (%)	Referencia
<i>Brachylopus</i>	2	2	Jhons y Avise, 1998
<i>Lepidochelys</i>	2	2	Jhons y Avise, 1998
<i>Calliophis</i>	2	3	Jhons y Avise, 1998
<i>Sauromalus</i>	5	5	Jhons y Avise, 1998
<i>Nerodia</i>	3	6	Jhons y Avise, 1998
<i>Thamnophis</i>	18	8	Jhons y Avise, 1998
<i>Heloderma</i>	2	9.8	Reiserer et al., 2013
<i>Crotalus</i>	2	10	Jhons y Avise, 1998
<i>Zamenis</i>	2	14	Jandzik et al., 2013
<i>Ctenosaura</i>	2	14	Jhons y Avise, 1998
<i>Trimeresurus</i>	4	14	Jhons y Avise, 1998
<i>Agkistrodon</i>	2	15	Jhons y Avise, 1998
<i>Emoia</i>	7	15	Jhons y Avise, 1998
<i>Gallotia</i>	4	15	Jhons y Avise, 1998
<i>Lacerta</i>	17	16	Jhons y Avise, 1998
<i>Lerista</i>	3	20	Jhons y Avise, 1998
<i>Xantusia</i>	4	20	Jhons y Avise, 1998
<i>Laticauda</i>	3	22	Jhons y Avise, 1998
<i>Phyllodactylus</i>	16	32	Blair et al., 2015

Anexo VI. Publicación

Ramírez-Reyes, T., Melo- León, C. y Pérez-Ramos, E. (2015). Nuevos registros de herpetofauna para la isla El Coral, Nayarit, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86: 541-545. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2015.04.017>



Revista Mexicana de Biodiversidad

ISSN: 1870-3453

falvarez@ib.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de

México

México

Ramírez-Reyes, Tonatiuh; Melo-León, Carlos; Pérez-Ramos, Edmundo
Nuevos registros de herpetofauna para la isla El Coral, Nayarit, México
Revista Mexicana de Biodiversidad, vol. 86, núm. 2, 2015, pp. 541-545
Universidad Nacional Autónoma de México
Distrito Federal, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42539890021>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



Nota científica

Nuevos registros de herpetofauna para la isla El Coral, Nayarit, México

New records of herpetofauna from Coral Island, Nayarit, Mexico

Tonatiuh Ramírez-Reyes^{a,b,*}, Carlos Melo-León^c y Edmundo Pérez-Ramos^d

^a Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado postal 70-275, 04510, México D.F., México

^b Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado postal 70-233, 04510, México D.F., México

^c Xcaret, Carretera Chetumal-Puerto Juárez, Km. 282. Solidaridad, 77710, Playa del Carmen, Quintana Roo, México

^d Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado postal 70-399, 04510, México D.F., México

Recibido el 20 de junio de 2014; aceptado el 9 de enero de 2015

Disponible en Internet el 19 de mayo de 2015

Resumen

Durante visitas recientes a la isla El Coral, Nayarit, México, se recolectaron 3 especies no registradas previamente para la herpetofauna de esta isla: *Rhinella marina*, *Anolis nebulosus* y *Hemidactylus frenatus*. De estos nuevos registros destaca el de *R. marina* para una isla del Pacífico mexicano. Se presentan las localidades continentales más próximas a los nuevos registros y se discute brevemente la probable confusión taxonómica en la determinación de *Anolis nebulosus*.

Derechos Reservados © 2015 Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0.

Palabras clave: Isla La Peña; Reptiles; Anfibios; Pacífico mexicano; Conservación

Abstract

During recent visits to Coral Island, Nayarit, Mexico, 3 species not previously reported as part of the herpetofauna of this island were collected: *Rhinella marina*, *Anolis nebulosus* and *Hemidactylus frenatus*. From these new records the first report of *R. marina* for an island in the Mexican Pacific is remarkable. The nearest localities to new records are presented and the likely taxonomic confusion in determining *Anolis nebulosus* is briefly discussed.

All Rights Reserved © 2015 Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. This is an open access item distributed under the Creative Commons CC License BY-NC-ND 4.0.

Keywords: La Peña Island; Reptiles; Amphibians; Mexican Pacific; Conservation

La isla El Coral, también conocida como isla La Peña, se ubica en la porción sur del estado de Nayarit, México, en las coordenadas 21°02'52"N, 105°16'21"O (fig. 1). La isla presenta una superficie de 12 ha, gran parte de ellas cubiertas de vegetación densa con elementos de selva mediana subperenifolia y arbustos espinosos (fig. 2 A y B) (Castro-Franco y Gaviño, 1990; Gaviño, 1986). A pesar de su cercanía, a la zona costera han sido pocos los estudios faunísticos realizados en esta isla (Castro-Franco y Gaviño, 1990). Particularmente, los trabajos

herpetofaunísticos se han concentrado en la región continental del estado de Nayarit (Lewis y Johnson, 1955; Zweifel, 1959), isla Isabel y las islas Marías (Casas-Andreu, 1992; Stejneger, 1899; Zweifel, 1960). Los únicos trabajos faunísticos realizados en la isla El Coral son los elaborados para aves por Gaviño (1986) y para reptiles por Castro-Franco y Gaviño (1990); estos últimos autores mencionan que la composición herpetofaunística de esta isla incluye 7 especies de reptiles: *Phyllodactylus lanei lupitae*, *Ctenosaura pectinata*, *Anolis microlepidotus*, *Urosaurus bicarinatus tuberculatus*, *Cnemidophorus lineattissimus duodecemlineatus* (*Aspidoscelis lineattissima duodecemlineata*), *Eridiphas slevini* (*Hypsiglena slevini*) y *Masticophis striolatus striolatus* (*Coluber mentovarius striolatus*).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: trecologia@gmail.com (T. Ramírez-Reyes).

La revisión por pares es responsabilidad de la Universidad Nacional Autónoma de México.

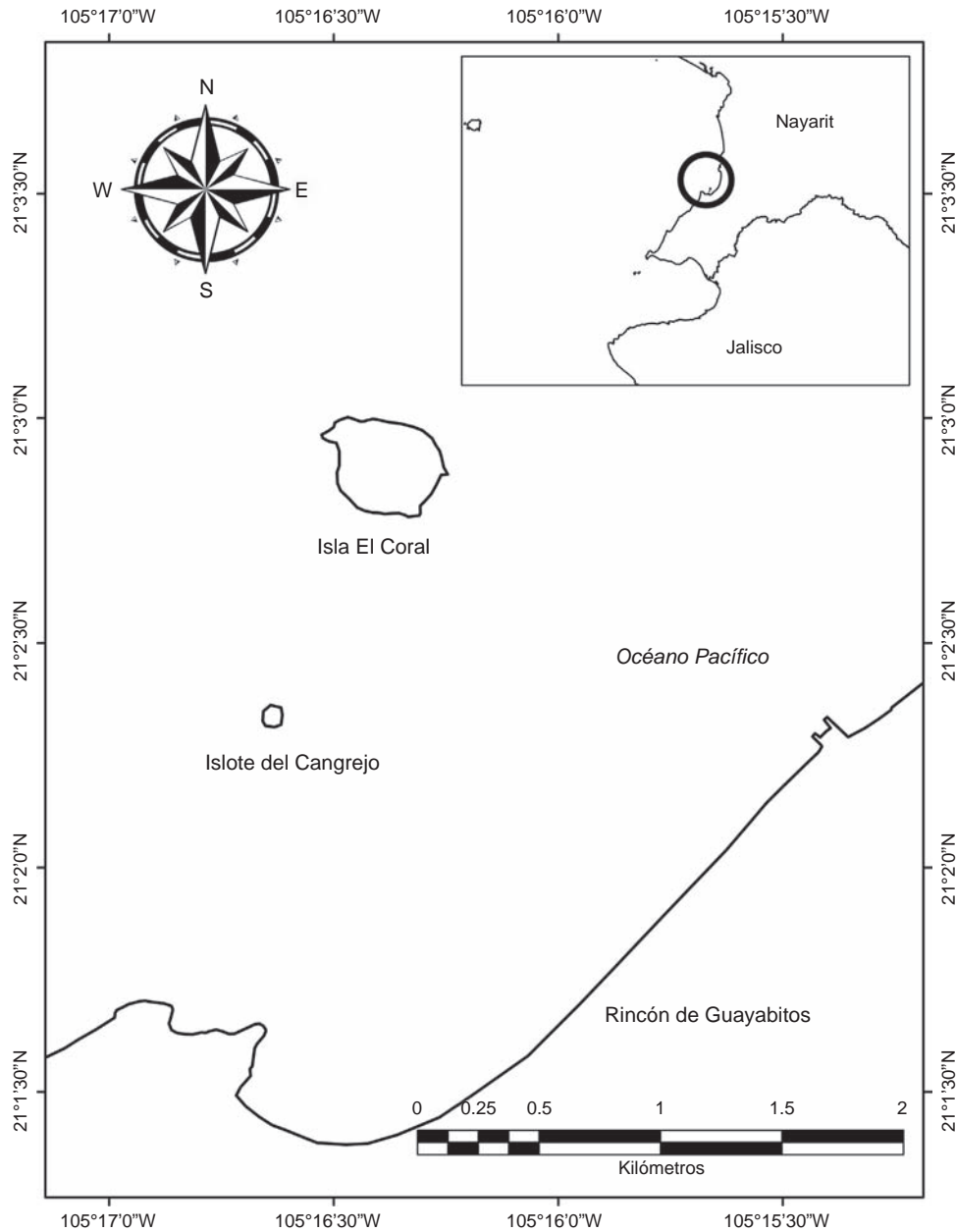


Figura 1. Ubicación geográfica de la isla El Coral en el estado de Nayarit.

Durante la búsqueda del gecko endémico de la isla—*P. l. lupitatae* (Castro-Franco y Uribe-Peña, 1992)—, y como parte de un estudio de sistemática molecular, en diciembre del 2013, enero y febrero del 2014 (6 días de búsqueda) se recolectaron 3 especies no registradas previamente en la isla. Todos los ejemplares fueron recolectados por los 2 primeros autores de la presente nota y fueron depositados en el Museo de Zoología «Alfonso L. Herrera» de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para contar con un marco de referencia y generar hipótesis acerca de las posibles formas de arribo de estas especies a la isla El Coral, se realizó una consulta de registros de presencia a través de bases de datos de 3 colecciones científicas: Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias (MZFC), Colección Nacional de Anfibios y Reptiles (CNAR) y la Global Biodiversity Information Facility, donde se encuentran depositados los especímenes

de acuerdo con Sabaj-Pérez (2010). A continuación, se presenta una relación comentada de los nuevos registros.

Rhinella marina (sapo común, sapo gigante)

Un ejemplar macho adulto (MZFC-28705) del municipio de Compostela: isla El Coral, 2.35 km NO Rincón de Guayabitos, 5 m snm (21.047° N, -105.273° O), 6 de diciembre del 2013. El ejemplar se recolectó aproximadamente a la 1:00 am, mientras se encontraba activo en una zona arbustiva en las inmediaciones de una construcción adaptada como comedor (fig. 2 A). Representa el primer registro de un anfibio para la isla El Coral (Castro-Franco y Gaviño, 1990) y el primero de esta especie en una isla del Pacífico mexicano (Solís et al., 2009). Los registros más cercanos se ubican a más de 20 km al SO de la isla El Coral,

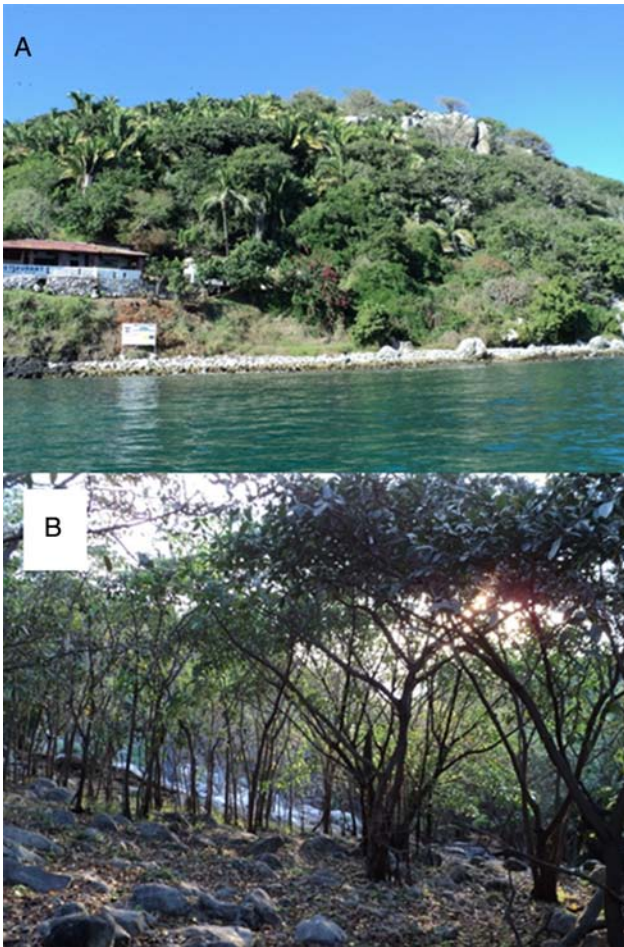


Figura 2. Isla El Coral, Nayarit, México. A) Vista panorámica mostrando en la parte inferior izquierda el comedor donde fueron capturados 3 geckos comunes *Hemidactylus frenatus* y el sapo *Rhinella marina*. B) Vegetación donde se observaron individuos de *Hemidactylus frenatus*, *Anolis nebulosus* y *Urosaurus bicarinatus*.

en la localidad de La Vuelta, municipio de Bahía de Banderas, Nayarit (LACM 1777-78, 1797).

Anolis nebulosus (abaniquillo pañuelo del Pacífico)

Tres ejemplares del municipio de Compostela: isla El Coral, 2.35 km NO Rincón de Guayabitos. Un macho adulto (MZFC-28706) recolectado el 31 de enero de 2014 a las 3:30 pm (21.04° N, -105.27° O; 5 m snm), mientras forrajeaba insectos. Dos machos adultos (MZFC-28707-08) recolectados el 1 de febrero del 2014 en las inmediaciones del comedor antes mencionado, sobre el tronco de un árbol (21.04° N, -105.27° O; 6 m snm). Castro-Franco y Gaviño (1990) indican la presencia de *A. microlepidotus* en la isla, sin embargo, la distribución geográfica conocida para *A. microlepidotus* se encuentra a más de 700 km de la isla, en el estado de Guerrero (Canseco-Márquez, Campbell, Ponce-Campos, Muñoz-Alonso y García-Aguayo, 2007; Flores-Villela y Rubio-Pérez, 2008). Para confirmar la identificación de los especímenes registrados por Castro-Franco y Gaviño (1990), 2 ejemplares fueron revisados, un macho adulto (IBH-5471) y un macho juvenil (IBH-5471-2), los mismos que fueron



Figura 3. *Anolis nebulosus* en la isla El Coral, Nayarit, México.

determinados como *A. nebulosus*. De igual forma, contrario al abanico de *A. microlepidotus* de color rojo rubí, todos los *Anolis* observados en la isla presentan el abanico gular color naranja con bordes amarillos que rodean las escamas blancas del pliegue gular y presentan un margen blanco en el borde del pliegue gular y presentan un margen blanco en el borde del pliegue gular (fig. 3), este patrón de coloración es típico de ejemplares de *A. nebulosus* que habitan la costa pacífica mexicana (García y Ceballos, 1994; Nieto-Montes de Oca, Poe, Scarpetta, Gray y Lieb, 2013). La presencia de *A. nebulosus* ha sido ampliamente documentada para la región continental e islas adyacentes a la costa de Nayarit (Casas-Andreu, 1992; Lewis y Johnson, 1955; Slevin, 1926; Stejneger, 1899; Zweifel, 1960). El registro más cercano se ubica a más de 13 km al NE de la isla El Coral, en la localidad 5 millas al sur de Las Varas, municipio de Compostela, Nayarit (KU-29535).

Hemidactylus frenatus (cuija, besucona)

Cinco ejemplares del municipio de Compostela: isla El Coral, 2.35 km NO Rincón de Guayabitos. Un macho adulto (MZFC-28700) recolectado el 5 de diciembre del 2013 a las 6:50 pm a 64 m snm (21.048° N, -105.274° O), mientras se encontraba forrajeando insectos sobre un tronco derribado. Hembra adulta (MZFC-28701) recolectada a las 7:30 pm a 59 m snm (21.048° N, -105.273° O) sobre un tronco derribado; 3 ejemplares, 2 de ellos machos adultos (MZFC-28702, MZFC-28703) y un juvenil de sexo indeterminado (MZFC-28704) a 5 m snm (21.047° N, -105.273° O) recolectados en las inmediaciones del comedor de la isla. La presencia de *H. frenatus* ya ha sido registrada previamente en la zona continental del estado de Nayarit (San Blas), la isla Socorro, isla Isabel y las islas Marías (Farr, 2011; Valdez-Villavicencio y Peralta-García, 2008). El registro más cercano se ubica a más de 52 km al SE de la isla El Coral en la localidad 6 km al sur de Puerto Vallarta, municipio de Puerto Vallarta, Jalisco (UCM-58417).

Los registros aquí mencionados incrementan el conocimiento herpetofaunístico de la isla El Coral. Aunque no se siguió una metodología específica para estimar densidades poblacionales, las observaciones realizadas por los 2 primeros autores durante

la búsqueda de *P. l. lupitae*, permiten indicar que *H. frenatus* mantiene poblaciones estables en toda la isla, ya que varios individuos de esta especie fueron observados en las construcciones y sobre los troncos de los árboles al interior de toda la isla. Valdez-Villavicencio y Peralta-García (2008) mencionan que la expansión del área de distribución de esta especie introducida se encuentra asociada a las actividades humanas (transporte en embarcaciones) e indican que *H. frenatus* es el causante de la disminución en poblaciones de *Phyllodactylus tuberculatus* en isla Isabel, ya que durante 6 noches de búsqueda no logró observar ningún ejemplar de esta especie nativa. Con relación a esta hipótesis, nosotros encontramos una población de *P. l. lupitae*; sin embargo, esta única población se localizó en una pequeña porción de la isla, sobre un cuadrante de aproximadamente 120 m². Este panorama parece ser significativamente distinto del encontrado por Castro-Franco y Gaviño (1990), ya que de acuerdo con Castro-Franco (com. pers. 2013) durante una recolecta en la isla El Coral realizada en 1986, los geckos (*P. l. lupitae*) abundaban por toda la isla y durante una sola noche capturaron 30 especímenes, a diferencia de los 7 ejemplares recolectados por nosotros durante 6 noches de búsqueda. Aunado a lo anterior, Castro-Franco y Gaviño (1990) no registraron al gecko introducido *H. frenatus*, lo cual permite plantear la hipótesis de que esta especie arribó recientemente a la isla (Farr, 2011) y que la disminución en las poblaciones del gecko endémico *P. l. lupitae* podría estar asociada a la presencia de *H. frenatus*. Este hallazgo abre un campo de investigación para determinar si el aparente impacto en las poblaciones de *P. l. lupitae* es debido a la competencia por el gecko introducido *H. frenatus*, como lo indican Valdez-Villavicencio y Peralta-García (2008) en la isla Isabel con las poblaciones de *P. tuberculatus*.

Por otra parte, un registro notable es el de *R. marina*, ya que esta especie no había sido registrada en alguna isla del Pacífico mexicano hasta la presente contribución. La isla El Coral no presenta cuerpos de agua dulce al interior, lo cual explica la carencia de anfibios en este lugar (Castro-Franco y Gaviño, 1990). Debido a esta característica, es probable que la presencia del ejemplar registrado se encuentre asociada a las actividades humanas, ya que constantemente se realizan visitas de pequeñas embarcaciones que parten, principalmente de Los Ayala y Rincón de Guayabitos hacia la isla El Coral. A diferencia de *H. frenatus*, que mantiene una población establecida en la isla, *R. marina* no podría mantener una población, debido, principalmente, a la carencia de cuerpos de agua dulce al interior de la misma.

Es evidente la carencia de estudios realizados en la isla El Coral, a pesar de su cercanía a la costa, pues esta contribución constituye la segunda aportación al conocimiento herpetofaunístico en esta región. La amenaza principal para la fauna de la isla está relacionada con las actividades humanas como el turismo no regulado y la presencia de especies domésticas introducidas—cabras, perros, gatos—, pues los efectos negativos sobre la biota local son bien conocidos (Aguilar, 2005). A diferencia de las islas Marías y de las islas Marietas, la isla El Coral no presenta programas de conservación ni de manejo responsable de los recursos naturales, por lo cual el deterioro que ya presenta podría ser irreversible, incluso acelerar el proceso de pérdida de

biodiversidad en este lugar. Es urgente elaborar un proyecto de conservación y manejo sustentable de los recursos de la isla El Coral, pues, además de ser un sitio importante de anidación de aves (Gaviño, 1986), en ella habita una diversidad importante de reptiles que podrían estar en riesgo si no se realiza un manejo responsable de los recursos en esta isla del Pacífico mexicano.

Agradecemos a Daniel Piñero (IE-UNAM) por su apoyo en la logística del trabajo de campo. Al Sr. Juan Rodríguez y a la Sociedad Cooperativa de Producción de Servicios Turísticos Rincón de Guayabitos por las facilidades otorgadas para realizar el trabajo de campo. A O. Flores-Villela, U. O. García-Vázquez (MZFC-UNAM) y a 2 revisores anónimos por las valiosas observaciones y comentarios al manuscrito. A V. H. Reynoso-Rosales y A. González-Hernández (CNAR-IBUNAM) por permitir la revisión de especímenes de *A. nebulosus*. Los ejemplares fueron recolectados bajo el permiso de colecta científica SGPA/DGVS/10934/13 otorgado por la Semarnat al primer autor.

Referencias

- Aguilar, V. (2005). Especies invasoras: una amenaza para la biodiversidad y el hombre. *Biodiversitas*, 60, 7–10.
- Canseco-Márquez, L., Campbell, J.A., Ponce-Campos, P., Muñoz-Alonso, A. y García-Aguayo, A. (2007). *Anolis microlepidotus*. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2014.3 [consultado 2 Dic 2014]. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>
- Casas-Andreu, G. (1992). Anfibios y reptiles de las islas Marías y otras islas adyacentes a la costa de Nayarit, México. Aspectos sobre su biogeografía y conservación. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoología*, 63, 95–112.
- Castro-Franco, R. y Gaviño, G. (1990). Reptiles de la isla La Peña, Nayarit, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoología*, 61, 175–187.
- Castro-Franco, R. y Uribe-Peña, Z. (1992). Dos subespecies nuevas de *Phyllodactylus lanei* (Sauria: Gekkonidae). *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoología*, 63, 113–123.
- Farr, W. L. (2011). Distribution of *Hemidactylus frenatus* in Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 56, 265–273.
- Flores-Villela, O. y Rubio-Pérez, I.V. (2008). Ficha técnica de *Anolis microlepidotus*. En: O. Flores-Villela (comp.), *Evaluación del riesgo de extinción de setenta y tres especies de lagartijas (Sauria) incluidas en la Norma Oficial Mexicana-059-Semarnat-2001* (p. 28). México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. Museo de Zoología «Alfonso L. Herrera». Bases de datos SNIB-Conabio. Proyecto Núm. CK008.
- García, A. y Ceballos, G. (1994). *Guía de campo de los reptiles y anfibios de la costa de Jalisco, México*. México, D.F.: Fundación Ecológica de Cuixmala, A.C., Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gaviño, G. (1986). Sitio de reproducción del pelicano pardo *Pelecanus occidentalis* y otras aves de la isla La Peña, Nayarit, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoología*, 57, 385–396.
- Lewis, T. N. y Johnson, M. L. (1955). Observations on the herpetofauna of the Mexican state of Nayarit. *Herpetologica*, 11, 177–181.
- Nieto-Montes de Oca, A., Poe, S., Scarpetta, S., Gray, L. y Lieb, C. S. (2013). Synonyms for some species of Mexican anoles (Squamata: Dactyloidae). *Zootaxa*, 3637, 484–492.
- Sabaj-Pérez, M.H. (2010). *Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology: An online reference*. Washington, D.C.: American Society of Ichthyologists and Herpetologists. [Consultado 1 Nov 2014]. Disponible en: <http://www.asih.org>
- Slevin, J. R. (1926). Expedition to the Revillagigedo Islands, Mexico, in 1925, III Notes on a collection of reptiles and amphibians from the Tres Marías and Revillagigedo Islands, and the West coast of Mexico, with description of a

- new species of *Tantilla*. *Proceedings of the California Academy of Science. Fourth series*, 15, 195–207.
- Solís, F., Ibáñez, R., Hammerson, G., Hedges, B., Diesmos, A., Matsui, M. et al. (2009). *Rhinella marina*. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2014.2 [consultado 27 Oct 2014]. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>
- Stejneger, L. H. (1899). Reptiles of the Tres Mariás and Isabel islands. *North American Fauna*, 14, 63–71.
- Valdez-Villavicencio, J. H. y Peralta-García, A. (2008). *Hemidactylus frenatus* (Sauria: Gekkonidae) en el noroeste de México. *Acta Zoologica Mexicana*, 24, 229–230.
- Zweifel, R. (1959). Additions to the herpetofauna of Nayarit Mexico. *American Museum Novitates*, 1953, 1–13.
- Zweifel, R. (1960). Results of the Puritan-American Museum of Natural History expedition to Western Mexico IX. Herpetology of the Tres Mariás Islands. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 119, 77–128.