



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

**DIAGNÓSTICO GENÉTICO-ECOLÓGICO DE *Hemidactylus frenatus*, UN GECO INVASIVO
EN MÉXICO**

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Rodrigo Ivan Reyes Pérez

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa
Instituto de Ecología**

**COMITÉ TUTOR: Dra. Ella Vázquez Domínguez
Instituto de Ecología
Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz
Instituto de Biología**

MÉXICO, D.F. SEPTIEMBRE, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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**

**DIAGNÓSTICO GENÉTICO-ECOLÓGICO DE *Hemidactylus frenatus*, UN GECO INVASIVO
EN MÉXICO**

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Rodrigo Ivan Reyes Pérez

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa
Instituto de Ecología**

**COMITÉ TUTOR: Dra. Ella Vázquez Domínguez
Instituto de Ecología
Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz
Instituto de Biología**

MÉXICO, D.F. SEPTIEMBRE, 2016

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina, en su sesión ordinaria del día 20 de junio de 2016, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del Posgrado en Ciencias Biológicas, del alumno: **REYES PÉREZ RODRIGO IVAN** con número de cuenta: **30421911** con la tesis titulada: "**DIAGNÓSTICO GENÉTICO-ECOLÓGICO DE *Hemidactylus frenatus*, UN GECO INVASIVO EN MÉXICO**", bajo la dirección del **DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA**

Presidente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Vocal: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGUENZA
Secretario: DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ
Suplente: DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA
Suplente DR. HIBRAIM ADÁN PÉREZ MENDOZA

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 13 de septiembre de 2016



M. del Coro Arizmendi
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

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

Agradecimientos Institucionales

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser mi casa de estudios durante más de 10 años. Por el desarrollo intelectual y personal, por lo aprendido y lo vivido. Orgullo azul y oro.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad, por aceptarme como estudiante en el Programa de Maestría en Ciencias Biológicas, así como por el apoyo proporcionado durante la realización de mis estudios y esta tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca de Maestría otorgada para realizar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa, por toda la ayuda. Por aceptarme como alumno cuándo no tenía ni una buena razón para hacerlo.

A la Dra. Ella Vázquez Domínguez y al Dr. Fausto Méndez de la Cruz, por aceptar formar parte de mi comité tutorial.

Esta investigación fue financiada en parte por fondos otorgados al Dr. Jaramillo Correa por la Dirección de General de Asuntos del Personal Académico, a través de los proyectos IC200411 e IA201013, y por el Instituto de Ecología, ambos de la UNAM.

Agradecimientos personales

A mi familia, la raíz. A ti papá, por ser ejemplo de esfuerzo, compromiso y paciencia. A ti mamá, por el amor, la dedicación y el carácter. Gracias por mantenerse siempre firmes. A mi hermano, el único, por ayudarme siempre a crecer. Les agradezco todo.

A todos aquellos maestros, profesores y figuras que me ayudaron e inspiraron a desarrollarme en este campo. El primero de ellos, mi abuelo. Al Dr. Daniel Piñero y a Alejandra Ortiz Medrano y a muchos profesores de la Facultad de Ciencias. Una disculpa pública al Dr. Navarro por no hacer un mapa decente.

Para todos esos amigos que, cómo las hojas a los árboles, fueron vitales en mi crecimiento

Al autodenominado Hoyo Funky. Andrés, Hoper, los V, Michell, Guadalupe anexos y miembros históricos. Lalo y Jara, a ustedes un agradecimiento especial por la misión a campo. Bien logrado.

A todas esas personas con las que he compartido la biología y sus consecuencias. Oscar Chu, Peluche, Arisaf, Mauricio, Colunga, Gabriela, Luis, Lidio, Omar Caballero, Pamela, Reneé, Pacheco, Felipe, Jesy, Xhiunel, Aarón, Baby Mariani, Karlita, Robert, Charlie, Cosmo y otras tantas.

A Laura Figueroa por su gradilla morada

Y, por supuesto, a quienes vienen desde antes: Gerardo, Irvin y Alice, Ricci, mi colega Ulises, Tito, Gina, Valentina y tantos otros.

Finalmente, a todas las aves y mariposas que iluminaron mis días. A la flor que los embellece.

“A la verdad, yo no podré afirmar positivamente que todo lo demás que he dicho sea verdadero; pero estoy dispuesto a sostener, con palabras y con hechos, si soy capaz de ello, que la persuasión de que es preciso indagar lo que no se sabe nos hará, sin comparación, mejores, más resueltos y menos perezosos, que si pensáramos que era imposible descubrir lo que ignoramos, e inútil buscarlo”

Sócrates – *Diálogos* (Platón)

“Thought its outcome can be anticipated, often in detail so great that what remains to be known is itself uninteresting [...], bringing a normal research problem to a conclusion is achieving the anticipated in a new way, and it requires the solution of all sorts of complex instrumental, conceptual and mathematical puzzles. The man who succeeds proves himself an expert puzzle-solver, and the challenge of the puzzle is an important part of what usually drives him on.”

Thomas S. Kuhn – *The structure of scientific revolutions* (1962)

CONTENIDOS

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
Adaptaciones	
Filogeografía y genómica	
Especies invasoras	
<i>Hemidactylus frenatus</i>	
OBJETIVOS	16
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Muestreo	
Extracción de ADN y obtención AFLP	
Análisis	
RESULTADOS	24
Diversidad génica y estructura poblacional	
Detección de <i>outliers</i>	
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	44
REFERENCIAS	46
ANEXO I (medidas morfológicas y registros fisiológicos)	58
ANEXO II (valores numéricos de F_{ST} pareadas)	60
ANEXO III (gráficas con curva de regresión para grupos geográficos)	61
ANEXO VI (gráficas con curva de regresión para altitud)	63
ANEXO V (gráficas con curva de regresión para temperatura mínima)	66
ANEXO VI (gráficas con curva de regresión para precipitación máxima)	69
ANEXO VII (gráficas con curva de regresión para precipitación mínima)	72

RESUMEN

Las adaptaciones locales le permiten a las poblaciones sobrevivir en ambientes específicos y su estudio requiere de la integración de distintas áreas dentro de la biología con un enfoque evolutivo. Este tipo de caracteres son de suma importancia, al ser resultado de procesos históricos, tanto demográficos como ambientales, que ha experimentado cada población individual. En años recientes se han desarrollado muchos métodos y técnicas para realizar escaneos genómicos que nos permiten estudiar el surgimiento y mantenimiento de adaptaciones en especies que no son consideradas modelo.

En el presente trabajo se utilizó la técnica AFLP (Amplified fragment length polymorphism, por sus siglas en inglés) para obtener información básica sobre la genética de poblaciones de *Hemidactylus frenatus* en dos regiones del Pacífico mexicano. Siendo esta una especie invasora, se realizó una búsqueda de posibles señales selectivas a nivel genético en 287 loci que pudieran responder a un gradiente altitudinal y a otros factores ambientales que ocupa la especie a lo largo de su distribución (0-1500 m s.n.m.) y que pudieran estar generando adaptaciones locales a medida que la especie coloniza nuevos hábitats.

A pesar de ser una especie con alta diversidad genética en el país, y aunque algunos loci mostraron relaciones con condiciones de precipitación, la población no mostró señales claras de adaptaciones genéticas diferenciales que favorezcan su establecimiento en distintos ambientes a lo largo del gradiente altitudinal. A pesar de esto y considerando su distribución mundial, no es posible descartar la presencia de adaptaciones a otras escalas geográficas.

ABSTRACT

Local adaptations are responsible for population survival in specific environments and their study requires the integration of distinct biological disciplines with an evolutionary perspective. This kind of characters are of special importance, as they result from historical demographic and environmental processes that each individual population has experienced in a given place. In recent years, many genome scan methods and techniques have been developed enabling us to study the emergence and maintenance of adaptations in non-model species.

The present study used the AFLP technique (Amplified fragment length polymorphism), to obtain basic information regarding the genetic status of *Hemidactylus frenatus* populations in two regions of the Mexican Pacific coast. Being an invasive species, we search for possible selective signs at the genetic level in 287 loci that might respond to the altitudinal gradient and a series of environmental factors along the species distribution range (0-1600 m. a.s.l.) that could promote the emergence of local adaptations as the species colonize new habitats.

In spite of being a species with high genetic diversity in Mexico, and although some loci seem to have a relation with environmental factors like precipitation, its populations didn't show clear signs of local adaptations favoring its establishment in distinct environments along the altitudinal gradient. Despite of these, and considering its worldwide distribution, it is not possible to rule out the presence of adaptations at different geographical scales or regions.

INTRODUCCIÓN

ADAPTACIONES

Una de las observaciones más importantes que hiciera Charles Darwin durante su viaje en el *H.M.S. Beagle* fue aquella sobre la diversidad de picos que presentaban los pinzones de las islas Galápagos. Ésta y otras observaciones realizadas durante aquel viaje permitieron al naturalista formular su teoría de la evolución por selección natural (Darwin 1859). Al darse cuenta de que ésta diversidad respondía tanto a condiciones ambientales (p. ej. la alimentación de los pinzones en cada isla) como a procesos históricos (separación y aislamiento), Darwin entendió que la diversidad biológica en las islas Galápagos, y en el resto del mundo, era el resultado de procesos adaptativos históricos, aunque poco pudo explicar sobre los mecanismos involucrados.

El subsecuente descubrimiento del ADN como la molécula de herencia, la conceptualización del resto de las fuerzas evolutivas y la formulación de la teoría de la genética de poblaciones, permitieron detallar mejor el proceso descrito por Darwin (Huxley 1942). La relación existente entre genes y caracteres se volvió evidente y el estudio de la diversidad genética permitió abordar la evolución desde una nueva perspectiva molecular. En años más recientes, la integración de áreas como la biología del desarrollo y la ecología en la teoría evolutiva han permitido profundizar aún más nuestro entendimiento sobre el proceso evolutivo (Pigliucci & Müller 2010).

En biología evolutiva, una adaptación puede ser tanto un proceso como un carácter. Como proceso, la adaptación hace referencia a los mecanismos mediante los cuales una población adquiere un carácter adaptativo. Como carácter, una adaptación es cualquier rasgo morfológico, fisiológico, de conducta o desarrollo que incrementa la supervivencia y/o el éxito reproductivo de un organismo en un ambiente dado (Futuyma 2013). Aunque el mecanismo primario en el proceso adaptativo es la selección natural (Fleagle 2013), el resto de las fuerzas evolutivas también juegan papeles importantes

en el surgimiento y mantenimiento de dichas adaptaciones.

El surgimiento de adaptaciones puede explicarse fácilmente partiendo de la idea de que la selección natural es la fuerza evolutiva predominante en un ambiente dado (Endler 1986). Si existen dos poblaciones de la misma especie habitando ambientes distintos, la selección natural podría favorecer características distintas en cada población. La acumulación de estos caracteres o adaptaciones diferenciales podría ocasionar una diferenciación importante entre poblaciones, lo que podría llegar a generar especiación (Coyne & Orr 2005). Uno de los ejemplos más notables de especiación se presenta en los anoles, un grupo de reptiles que sobresale por su enorme radiación adaptativa en las islas del Caribe. Este grupo exhibe una enorme diversidad a lo largo de muchos caracteres morfológicos, anatómicos, fisiológicos y ecológicos asociados a los diferentes microhábitats que habitan (Glor *et al.* 2003; Losos 2009; Muñoz *et al.* 2013; Velasco *et al.* 2016). Este es el escenario más simple; sin embargo, la selección natural nunca actúa de forma aislada y el resto de las fuerzas evolutivas pueden complicar este escenario.

La segunda fuerza importante en el surgimiento y mantenimiento de las adaptaciones es el flujo génico. En los casos donde las poblaciones no se separan por completo y existe un intercambio de individuos reproductivos entre ambas, el flujo génico se refiere a la cantidad de variación genética en cada población que proviene del intercambio de individuos (Hedrick 2011). Bajo ciertos escenarios, los procesos de intercambio son decisivos, al ser capaces de evitar que las adaptaciones se fijen, homogenizando el contenido genético entre las poblaciones mediante el movimiento de individuos.

Si la selección natural es fuerte, niveles bajos o medios de flujo génico no afectarán de forma alguna la fijación de adaptaciones. En el caso de que la intensidad de la selección natural disminuya y el flujo génico aumente, se dificulta el aumento de la frecuencia de los genes, alelos o caracteres seleccionados por encima del resto. El aislamiento geográfico o regímenes de selección demasiado estrictos son las formas más efectivas de evitar el flujo génico. De cualquier manera, el intercambio de individuos suele ser una constante entre poblaciones relacionadas (Tigano & Friesen 2016)

La tercera fuerza evolutiva que interviene en el surgimiento de adaptaciones es la deriva génica. En el escenario más simple, un mayor tamaño poblacional implica un mejor muestreo de genes entre una generación y otra. Al disminuir el tamaño poblacional comienzan a restringirse los genes que se heredan a la siguiente generación. La estocasticidad del muestreo genético entre generaciones es lo que se conoce como deriva genética (Hedrick 2011). De esta manera, se pueden eliminar o fijar más rápidamente alelos adaptativos por estocasticidad, una probabilidad que aumenta mientras disminuye el tamaño poblacional.

Un ejemplo de esto se presenta en el trabajo realizado por Jordan & Snell (2008) en un *Microlophus albemarlensis* a lo largo de las islas Galápagos. En este estudio se encontró una alta diferenciación poblacional ($F_{ST}=0.44$) y una correlación positiva entre la riqueza alélica y el tamaño de cada isla, lo que sugiere un efecto determinante de la deriva genética. Runemark *et al.* (2010) registraron la diferenciación en patrones de coloración en la garganta de *Podarcis gaigeae* a lo largo de un complejo de islas donde los tamaños poblacionales son reducidos. Al comparar la frecuencia de las coloraciones en las distintas islas con la frecuencia neutral de las mismas coloraciones en tierra firme fue imposible descartar la acción de la deriva genética

Por último se encuentra la mutación, tradicionalmente considerada la única fuente de cambio capaz de generar variación, ha perdido un poco de importancia en el proceso. El cambio genético no es más un proceso elemental, pero sí uno definitivo ya que son los cambios genéticos los que hacen permanentes a las innovaciones, adaptaciones y, por lo tanto, las diferencias en adecuación (Pigliucci & Müller 2010). Si bien existen estudios realizados en organismos como *Drosophila* y *Arabidopsis* que muestran cómo las mutaciones puntuales son capaces de generar adaptaciones, su aparición en genes adaptativos es, por probabilidad, muy escasa y por lo general nociva para los individuos. Actualmente se reconoce que mecanismos como la plasticidad fenotípica o la recombinación pueden generar variación adaptativa de manera mucho más eficaz (West-Eberhard 2003).

La plasticidad fenotípica se refiere a la capacidad de un mismo genotipo para producir fenotipos

distintos en respuesta a condiciones ambientales contrastantes (Wilson 1894, Baldwin 1902, Wheeler 1910). De esta manera, la variación generada por plasticidad, que podría estar controlada por mecanismos a nivel epigenético (Jablonka & Lamb 2005, Francis 2012), no involucra cambios genéticos, suele responder a condiciones temporales y podría ser pasajera en la mayoría de los casos.

Cuando alguna de las variantes generadas por plasticidad es favorecida, aumenta su frecuencia, modificando así el fenotipo óptimo de la población bajo ciertas condiciones. Inicialmente, se cree que esta modificación se lleva a cabo a través de modificaciones como la metilación de genes o el uso de mRNA de interferencia que funcionan como silenciadores o alterar la expresión de genes y fenotipos. Estos son reconocidos como mecanismos de marcaje epigenético y no modifican los genes originales (Jablonka & Lamb 2005, Pigliucci & Müller 2010). En caso de que la nueva presión selectiva se vuelva constante, se dará paso a un proceso denominado acomodación genética, donde el sistema de desarrollo cambia de configuración para facilitar la producción de algún carácter en los individuos de la población. Finalmente, y de ser necesario, el sistema genético sufrirá un proceso de modificación denominada asimilación genética, donde los caracteres favorables podrían ser producidos directamente por el sistema de desarrollo sin necesidad de que el estímulo selectivo esté presente. Este fenómeno se conoce como canalización (Waddington 1942) y fue inicialmente descrito en experimentos realizados en *Drosophila* (Waddington 1953).

Por esta razón se dice que la evolución adaptativa ocurre únicamente cuándo la constitución genética de una población cambia como consecuencia de la selección natural. Entonces, para demostrar que una adaptación ha ocurrido, se necesita evidencia de que está dada por caracteres heredables y que sus frecuencias han sido afectadas a lo largo del tiempo por la selección natural (Merilä & Hendry 2013). El campo de la filogeografía nos ofrece distintas herramientas para estudiar la evolución adaptativa así como su relación con los procesos históricos que han vivido las especies y sus poblaciones en cierto lugar.

FILOGEOGRAFÍA Y GENÓMICA

Originalmente descrita como el análisis filogenético de datos genéticos en un contexto geográfico que buscaba probar hipótesis sobre la relación causal entre los accidentes geográficos, la distribución de especies y los mecanismos de especiación (Avice 2000), la filogeografía se ha convertido rápidamente en uno de los campos más integrativos de la biología evolutiva. Mientras distintas herramientas analíticas son desarrolladas para distinguir entre diferentes modelos demográficos e históricos complejos, se han revelado interesantes patrones espaciales de selección, identidad de comunidades y adaptación (Hickerson *et al.* 2010).

Aunque tradicionalmente, los estudios sobre adaptación habían sido omitidos en filogeografía, posiblemente por su énfasis inicial en la variación genética neutra y los procesos estocásticos-históricos, es un hecho que la selección natural juega un papel central en la generación de biodiversidad (Funk *et al.* 2006). Por esta razón, su estudio se ha convertido poco a poco en una parte integral de la filogeografía. A medida que se genera más información genómica sobre organismos no modelo (Vera *et al.* 2008), los estudios comparativos con un enfoque filogeográfico han permitido identificar diferentes patrones de selección específica para ciertos locus, resultado directo de los procesos evolutivos y las condiciones históricas que ha experimentado cada población.

De esta forma, el uso de herramientas como la genómica de poblaciones o la genética cuantitativa, nos permite realizar comparaciones sobre la variación genética espacial o la diferencia en caracteres cuantitativos entre poblaciones. Esto nos ofrece distintos métodos para detectar selección natural en un marco biogeográfico-histórico al incluir la comparación de esta variación con la de la variación neutra y la diferenciación de caracteres en distintos contextos geográficos. Esto es de suma importancia pues la adaptación local contribuye al mantenimiento de la diversidad genética, constituye un primer paso para la especiación y facilita el aumento en los rangos de distribución de las especies (Savolainen *et al.* 2013)

El escenario más común para el surgimiento de adaptaciones son los ambientes contrastantes,

dónde las poblaciones se enfrentan a presiones selectivas distintas (p. ej. frío o calor, sitios ácidos, salinos o neutros, aguas dulce o salada, etc.). Por otro lado, las adaptaciones locales también pueden surgir a lo largo de gradientes ambientales (Endler 1977). En los gradientes, muchas condiciones bióticas y abióticas varían en pequeñas escalas geográficas, creando un fenotipo adaptativo continuo en lugar de fenotipos óptimos discretos (Keller *et al.* 2010) lo que puede llegar a generar especiación parapática a lo largo de estas zonas (Coyne & Orr 2005). Uno de los tipos de gradiente más estudiados son los altitudinales. Existe un gran número de trabajos que documentan los efectos de la altitud sobre distintas características en diversos grupos. Unos grupos muy estudiados en este aspecto han sido los anfibios y reptiles (Hertz 1992; Gvoždík & Castilla 2001, Bonin *et al.* 2006, Huang *et al.* 2006, Liao & Lu 2011, Luquet *et al.* 2015). Se observa que una gran cantidad de caracteres morfológicos, fisiológicos, etológicos y fenológicos llegan a mostrar variación de tipo adaptativo a lo largo de clinas altitudinales.

En un estudio realizado por Reguera *e al.* (2014) se mostró que la coloración dorsal de una especie de lagartija (*Psammodromus algirus*) se torna más oscura conforme aumenta la altitud en su distribución. Esto responde directa y simultáneamente a la reducción de la temperatura y el aumento en la radiación UV, favoreciendo su termorregulación en climas más fríos y protegiéndola del daño que puede generar la radiación a mayores altitudes. Igualmente, existen muchos ejemplos sobre el cambio de rasgos relacionados a la termorregulación (temperatura óptima, temperatura mínima crítica, temperatura máxima crítica, temperatura preferida o conductas y patrones de exposición) en distintas especies de reptiles (anoles, agámidos y lacértidos) a lo largo de gradientes altitudinales (Clusella-Trullas & Chown 2014).

Sin embargo, debido a la falta de información sobre los fenotipos adaptativos en la mayoría de las especies, y dado que las bases genéticas son desconocidas para la mayoría de los caracteres (Mackay *et al.* 2009; Anderson *et al.* 2013), los escaneos genómicos se han convertido en una herramienta confiable para identificar rápidamente genes candidatos que pudieran ser objetos directos

de la selección natural (Lotterhos and Whitlock 2015). El objetivo de los escaneos genómicos es obtener un gran número de marcadores distribuidos a lo largo de un genoma y que nos permitan identificar y separar los efectos específicos a un sólo locus (como la selección o la mutación) de los efectos genómicos generales (como la deriva y el flujo genético) (Black *et al.* 2001). Así, es posible utilizar los escaneos genómicos para identificar loci candidatos a estar bajo selección natural en cualquier especie. Para esto, se han desarrollado varios métodos estadísticos que permiten identificar dichos genes con facilidad y con un alto grado de confianza. Los primeros utilizan los índices de diferenciación F_{ST} entre poblaciones; los segundos, buscan asociaciones estadísticas entre la variación genética en el espacio y las condiciones ambientales.

Los análisis que utilizan índices F_{ST} se encuentran entre los primeros métodos moleculares desarrollados para detectar selección (Lewontin & Krakauer 1973). Estos análisis se basan en la idea de que si la selección direccional ocurre localmente sobre un locus dado, la diferenciación (determinada por F_{ST}) incrementará para éste locus comparado con lo que se espera teóricamente bajo un modelo neutral para el genoma en general (De Mita *et al.* 2013). Dichos loci merecen atención particular, ya que la selección podría ser la causa detrás de su conducta atípica, ya sea porque son los objetos directos de la selección natural o porque están físicamente ligados al/los genes bajo selección (Bonin *et al.* 2006).

La segunda aproximación para detectar selección se basa en la correlación estadística que pudiera existir entre la variación genética espacial y la información ambiental (Endler 1986). El método estadístico más apropiado para detectar dicha correlación es la regresión logística (Joost *et al.* 2008). A diferencia de los métodos que utilizan índices de diferenciación, la regresión logística considera las condiciones ambientales como las variables que determinan la presencia o ausencia de un alelo. Otro método estadístico capaz de detectar loci bajo selección natural son los modelos mixtos de factores latentes. Este análisis considera que cierto número de factores pueden estar determinando la estructura poblacional de una especie. Al ser factores desconocidos, el análisis los modela dentro de cierto rango

de valores al tiempo que estima la relación entre los loci y algún cierto factor. Los análisis con modelos de factores latentes son capaces de estimar la estructura poblacional en segundo plano y considerarla al momento de inferir las relaciones genotipo-ambiente (Frichot *et al.* 2013). Esto es importante, ya que la correcta asignación de la estructura filogeográfica de las poblaciones puede ser determinante para la correcta detección de loci bajo selección (Excoffier *et al.* 2009, De Mita *et al.* 2013).

La estructuración es una consecuencia de niveles bajos de flujo génico y puede estar estrechamente relacionada al surgimiento de adaptaciones (Hedrick 2011). Los niveles bajos de flujo génico pueden ser consecuencia tanto de barreras geográficas que impiden la dispersión de individuos entre poblaciones, cómo a las restricciones selectivas que imponen las localidades sobre los individuos (Coyne & Orr 2005). En cualquier caso, la disminución del flujo favorece el aumento de la frecuencia de caracteres adaptativos al no recibir individuos con óptimos distintos o caracteres adaptativos diferentes.

Dicha estructuración debe considerarse en los análisis mediante la integración de modelos demográficos. Estos modelos reflejan los patrones de migración entre poblaciones y pueden ayudar a identificar mejor las relaciones filogenéticas que existen entre ellas. El uso de un modelo demográfico correcto según las poblaciones naturales, mejora nuestra capacidad para detectar genes bajo selección (Excoffier *et al.* 2009, De Mita *et al.* 2013, Tiffin & Ross-Ibarra 2014).

Desde su aparición, una de las técnicas moleculares más utilizadas para detectar selección natural con escaneos genómicos han sido los AFLPs (*Amplified Fragment-Lenght Polimorfism*, por sus siglas en inglés) (Vos *et al.* 1995). Los AFLPs se generan por digestión del ADN genómico con endonucleasas de restricción, seguido de un PCR selectivo de amplificación y una electroforesis de un subconjunto de estos fragmentos, resultando en un perfil único y perfectamente reproducible para cada individuo (Meudt & Clarke 2007). Esta técnica permite obtener un enorme número de marcadores, con alta reproducibilidad y a bajo costo en prácticamente cualquier especie.

La técnica de AFLPs ha sido utilizada con éxito en la identificación de variantes genéticas

relacionadas a enfermedades del ser humano, la identificación de genes útiles para cultivos agrícolas y el estudio de plagas que afectan a éstos cultivos (Bensch & Akensson 2005). Más recientemente, ha comenzado a ser utilizada en estudios ecológicos y evolutivos en la identificación de genes candidatos a estar bajo selección en poblaciones naturales (Wood *et al.* 2008, Freedman *et al.* 2010, Nunes *et al.* 2012). En uno de los trabajos clásicos con escaneos genómicos, Bonin *et al.* (1995) analizaron las poblaciones de *Rana temporaria* a lo largo de un gradiente altitudinal y pudieron encontrar ocho loci con señales de selección natural utilizando dos métodos distintos de detección. En un ejemplo más reciente, Nunes *et al.* (2011) analizaron poblaciones de *Lacerta lepida* a lo largo de la península Ibérica implementando diversos métodos de detección. En este caso, lograron identificar 23 loci con comportamientos estadísticos atípicos relacionados al cambio de temperatura, radiación solar y precipitación a lo largo de un gradiente ambiental.

Aunque esta técnica tiene importantes ventajas, también tiene algunos inconvenientes cuando se compara con el resto de los marcadores moleculares. Por ejemplo, y tal vez más importante, está su carácter dominante. En los AFLPs es difícil conocer la identidad de los alelos, pues se trabaja con la presencia o ausencia de fragmentos. Esto se traduce en una pérdida de información que puede ser contrarrestada por el número de marcadores producidos (Meudt & Clarke 2007, Varshney *et al.* 2007).

En segundo lugar, la cantidad de análisis disponibles para información binaria es mucho más limitada que para marcadores como microsatélites o secuencias, para los que se conoce su genotipo y con los cuales incluso se pueden inferir haplotipos. Sin embargo, a pesar de todo esto, la generalidad de los AFLPs permite aplicarlos a cualquier especie, incluso sin tener información previa sobre el genoma de la misma o sobre los caracteres con valor adaptativo en sus poblaciones.

A pesar de esto, todas estas técnicas han aumentado sustancialmente las oportunidades para estudiar la adaptación al permitirnos integrar un mayor número de especies en los estudios evolutivos. Así es como, más recientemente, las especies exóticas han sido integradas a estos estudios, mostrando ser sistemas invaluable para el estudio de la evolución y, más concretamente, los procesos adaptativos.

ESPECIES INVASORAS

Las especies invasoras son todas aquellas que ocurren fuera de su lugar de distribución original y más allá de su distribución potencial (CONABIO 2015). Al encontrarse fuera de sus condiciones naturales, las especies invasoras se enfrentan a condiciones físicas y bióticas totalmente diferentes, lo que se traduce en presiones selectivas distintas. Este proceso puede favorecer el surgimiento de nuevas adaptaciones, tanto en las poblaciones invasoras cómo en las poblaciones de especies nativas al nuevo hábitat. Stuart *et al.* (2014) documentaron el cambio que sufre una especie local de *Anolis* al poco tiempo de la introducción de otra especie de *Anolis* en una isla de Florida. Estos cambios incluyeron el desplazamiento de los individuos locales hacia lugares más altos de los árboles y, como consecuencia, el desarrollo de falanges más largas en las patas que mejoran el agarre.

A pesar de que los intercambios bióticos han sido fenómenos comunes en la historia de la Tierra, en tiempos recientes el número e intensidad de estos intercambios ha ido en aumento debido a las actividades humanas como el turismo y el comercio. Aunque las especies invasoras han sido estigmatizadas como dañinas, hay quién opina que son pocas las especies que interfieren de forma negativa en las comunidades invadidas (Sax *et al.* 2005). Dado que las invasiones biológicas son prácticamente imposibles de erradicar, se podrían aprovechar como oportunidades para estudiar los procesos evolutivos, a diversas escalas y en diferentes sistemas.

La primera de ellas es que las invasiones biológicas se desarrollan en condiciones ambientales naturales y en tiempos ecológicos observables por el ser humano. Esto mejora, por mucho, cualquier experimento realizado en un laboratorio. En segundo lugar, las invasiones biológicas ofrecen réplicas, tanto espaciales como temporales, que permiten realizar estudios comparativos a distintas escalas. Por último, existe mucha información relacionada a ciertas especies invasoras, incluyendo el tiempo desde el inicio de la invasión, el número (aproximado) de individuos fundadores o el lugar de origen de los mismos. Esto nos permite formular hipótesis más precisas sobre los procesos poblacionales,

demográficos o históricos, que han ocurrido en cierto lugar (Valade *et al.* 2009).

El estudio de las invasiones biológicas ha permitido formalizar algunas ideas importantes en el campo de la biología evolutiva. Primero, la idea de que la evolución puede ser también un proceso rápido (Lee 2002, Prentis *et al.* 2008). Esto contradice la idea clásica de la evolución como un proceso lento y gradual, pues ha sido posible observar cambios adaptativos al cabo de pocas generaciones en distintos casos de invasión. La segunda idea tiene que ver con el papel de la plasticidad fenotípica dentro del proceso evolutivo. En muchas invasiones biológicas, la plasticidad fenotípica es el primer mecanismo adaptativo que utilizan las especies para colonizar nuevos hábitats, mostrando en poco tiempo cambios fenotípicos que no involucran cambios genéticos. Esto ha permitido situarla en el centro del proceso evolutivo como una propiedad fundamental de los seres vivos (Pigliucci 2001, West-Eberhard 2003, Pigliucci and Müller 2010).

Las especies que están más estrechamente relacionadas al ser humano, ya sea por ser comensales, mascotas, especies de ornato o de importancia económica son algunos de los casos más interesantes de plasticidad y adaptación. Esto se debe principalmente a que dichas especies han alcanzado junto al ser humano distribuciones mundiales, enfrentándose a todo tipo de presiones selectivas y regímenes de domesticación. Una de las especies invasoras comensales del ser humano con mayor distribución a nivel mundial es el gecko casero *Hemidactylus frenatus* (Cole *et al.* 2005).

HEMIDACTYLUS FRENATUS

Hemidactylus frenatus (Dumeril & Bribon 1836) es un reptil perteneciente al orden Squamata, infraorden Gekkota, familia Gekkonidae. El infraorden Gekkota es el segundo grupo más diverso de vertebrados terrestres y comprende siete familias, incluidos los geocos sin extremidades (Pygopodidae). La familia Gekkonidae, a la cual pertenece *H. frenatus*, cuenta con alrededor de 950 especies distribuidas en 51 géneros. El género *Hemidactylus* se distribuye en las zonas tropicales a nivel mundial y cuenta con un gran número de especies consideradas invasoras. De estas se considera que *H.*

frenatus es la especie de reptil con mayor distribución adquirida a nivel global. Originaria de sudeste asiático, muy posiblemente de Indonesia (Case *et al.* 1994, Lever 2006, Csurshes & Markula 2009), esta especie posee actualmente numerosas poblaciones estables en Australia, las Islas del Pacífico, Estados Unidos, México, Centro y Sudamérica y África (Álvarez-Romero *et al.* 2005, Caicedo-Portillas *et al.* 2011, Hoskin 2011). Naturalmente, la especie posee una vagilidad muy limitada, pero su estrecha relación como comensal del ser humano ha facilitado su traslado alrededor del mundo en barcos comerciales y transportes terrestres.

H. frenatus es una especie sumamente territorial (Bolger & Case 1992, Petren & Case 1998, Brown *et al.* 2002) y un importante depredador con hábitos oportunistas (Canyon & Hill 1997, Wilson 2006). Las hembras ponen 2 huevos en cada evento reproductivo (Church 1962, Husband 1980, Cogger *et al.* 1983, Krysko *et al.* 2003), con períodos de incubación que van de 45 a 90 días dependiendo de la temperatura ambiental (Greer 1989, Krysko *et al.* 2003, Das 2006). Luego de alcanzar la madurez sexual, después de aproximadamente un año (Hoskin 2011), los individuos de esta especie pueden reproducirse todo el año en las zonas tropicales, y de manera estacional en las zonas subtropicales (Church 1962, Cogger *et al.* 1983, Ota 1994, Murphy-Walker & Haley 1996, Wilson 2006, Yamamoto & Ota 2006). Adicionalmente, las hembras tienen la capacidad de almacenar esperma hasta por un año (Murphy-Walker & Haley 1996, Yamamoto & Ota 2006) lo que, sumado a una esperanza de vida cercana a los 5 años (Csurshes & Markula 2009), favorece notablemente el crecimiento demográfico de la especie.

En nuestro país, el registro más antiguo de *H. frenatus* se remonta al año de 1895 en las costas del estado de Guerrero en el puerto de Acapulco (Pope 1935, Farr 2011). Actualmente la especie se encuentra distribuida en prácticamente toda la región neotropical de México abarcando los estados de Baja California Sur, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Morelos, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Quintana Roo, Yucatán, Tabasco, Veracruz y Tamaulipas (CONABIO 2015). En algunos de estos lugares su distribución se eleva desde los 0 hasta casi los 1600 m s.n.m. (Reyes-Pérez obs.

personal).

A pesar de que existen algunos trabajos sobre su distribución, ecología y conducta, los trabajos relacionados a los aspectos genéticos, filogeográficos o evolutivos de la especie son prácticamente inexistentes. Por esta razón, el presente trabajo utiliza un enfoque de genómica de poblaciones para realizar un primer acercamiento al estado genético de la población invasora de *Hemidactylus frenatus* en el Pacífico mexicano; además de abordar preguntas sobre la existencia de adaptaciones locales, a través de la detección de regiones genéticas candidatas a selección.

A lo largo de su distribución, las poblaciones de *Hemidactylus frenatus* se enfrentan a distintas condiciones ambientales. Si que las presiones selectivas varían a lo largo de gradientes altitudinales y de vegetación, las poblaciones de esta especie podrían haber desarrollado adaptaciones que respondan a dichos cambios en las condiciones ambientales. Es importante recordar que el tipo de dispersión predominante en la especie (natural o asistida) determinará los niveles de flujo génico a diferentes escalas espaciales. Esto podría ser un factor decisivo en el surgimiento de adaptaciones.

OBJETIVOS

- Obtener parámetros descriptivos básicos sobre la diversidad genética de la especie y su distribución en las poblaciones del territorio nacional
- Determinar la existencia y el patrón de estructuración poblacional para la especie en México
- Deducir, mediante el uso de técnicas genómicas, la posible existencia de adaptaciones locales en las poblaciones invasoras de *Hemidactylus frenatus* a lo largo de su distribución en dos regiones del Pacífico mexicano

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREO

El estudio se realizó en la región del Pacífico Mexicano siguiendo la distribución de *H. frenatus* en esta región e incluyó los estados de Nayarit, Jalisco, Colima, Oaxaca y Chiapas e involucró las laderas de la Sierra Madre Occidental, la Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre del Sur y la Sierra de Chiapas (Fig. 1). Según la clasificación de Rzedowsky (1988), el área de estudio posee vegetación de bosque tropical subcaducifolio, bosque tropical caducifolio, bosque espinoso y bosque de coníferas y *Quercus*. La división climatológica del territorio nacional realizada por la CONABIO (1998) establece para esta área geográfica los climas Aw (tropical con lluvias en verano) y BSh (semiárido cálido) principalmente. Algunas zonas de poca extensión corresponden a climas templados.

Con el fin de aumentar las probabilidades de encontrar variantes genéticas asociadas a adaptaciones locales a lo largo de un gradiente altitudinal, se visitaron once localidades distribuidas en dos gradientes de los 0 a los 1600 m s.n.m. dentro de los estados señalados. La altura máxima (1600 m) responde al hecho de que la especie presenta sus poblaciones más extremas a poco más de 1500 msnm (Guadalajara y Oaxaca de Juárez).

Para cada punto de muestreo se obtuvieron los valores de tres variables climáticas: temperatura mínima promedio del mes más frío, la precipitación máxima del mes más húmedo y la precipitación máxima del mes más seco. Estos valores fueron obtenidos de las bases de datos del Servicio Meteorológico Nacional y la Comisión Nacional de Aguas. Las variables fueron elegidas considerando la temperatura mínima crítica de la especie (17 °C), bajo la cual los organismos dejan de alimentarse, y la sensibilidad de los huevos a la humedad y la desecación, esperando que dichos factores pudieran representar presiones selectivas diferenciales a lo largo de la distribución de la especie.

El muestreo consistió en localizar a los individuos sobre las paredes de casas y edificios dentro de cada localidad. Dada su poca vagilidad, se procuró no tomar más de dos individuos del mismo

edificio para reducir las probabilidades de muestrear individuos relacionados. En cada localidad se colectaron de 15 a 25 muestras de tejido muscular (cola) que fueron conservadas en etanol al 70% para su procesamiento posterior. Los estados de Guerrero y Michoacán tuvieron que ser excluidos del muestreo debido a la situación de inseguridad y violencia que se vivió en éstas entidades durante el periodo en que se realizó este estudio.

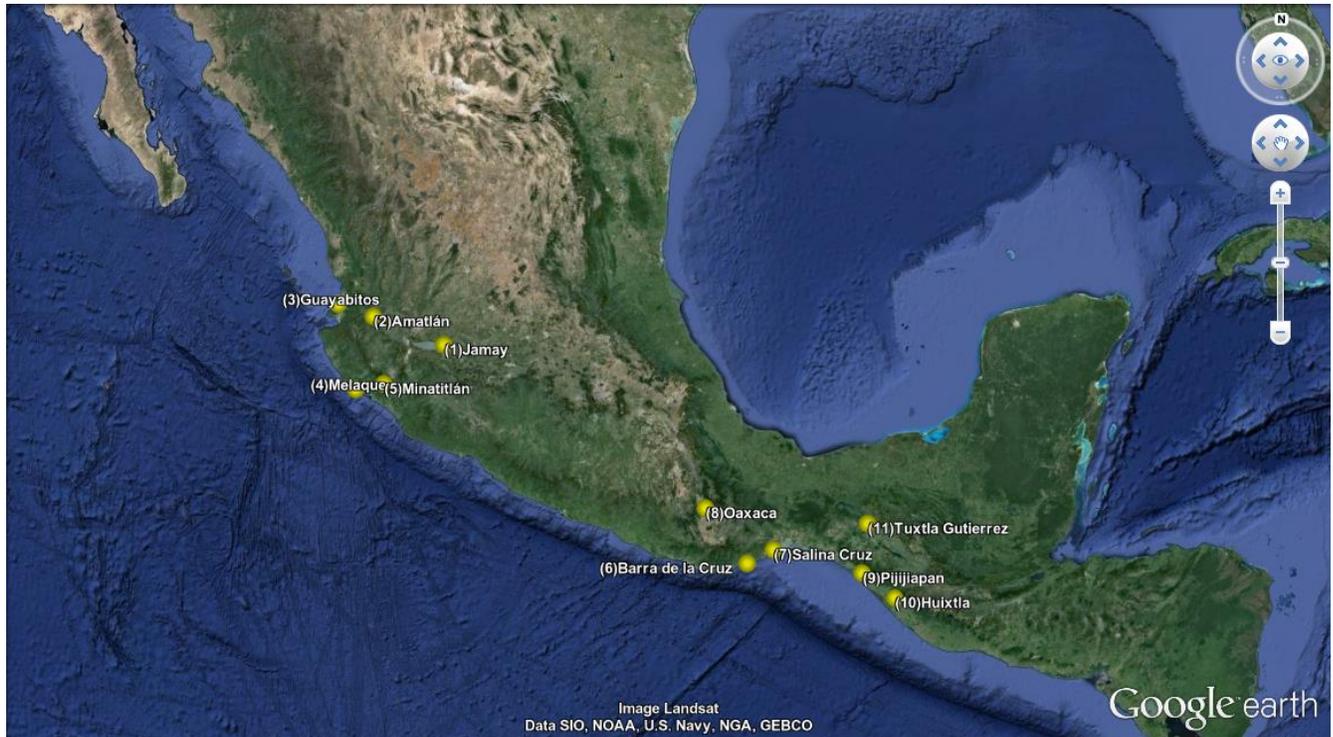


Figura 1. Ubicación y nombre de las localidades en donde se colectaron muestras de *Hemidactylus frenatus* para la estimación de estructura genética y la detección de loci "outliers" relacionados a variables ambientales.

EXTRACCIÓN DE ADN Y OBTENCIÓN DE AFLPs

El ADN genómico se extrajo con el kit Qiagen DNeasy Blood & Tissue siguiendo las instrucciones del proveedor, realizando una centrifugación extra (8000 rpm durante 2 minutos) después de la digestión con proteinasa K para eliminar pigmentos y posibles residuos de hueso y escamas. La técnica de AFLPs fue implementada según Vos *et al.* (1995) con algunas modificaciones menores. Brevemente, el ADN fue digerido durante tres horas a 37° C con la enzima *EcoRI* (Invitrogen) y durante tres horas

más a 65° C con la enzima *MseI* (ThermoScientific). Para la ligación se utilizaron los adaptadores *EcoRI*-adapter (F_CTCGTAGACTGCGTACC y R_AATTGGTACGCAGTCTAC) y *MseI*-adapter (F_GACGATGAGTCCTGAG y R_TACTCAGGACTCAT) en concentraciones de 3.8 mM y 0.38 mM, respectivamente. La reacción tuvo un volumen total de 12.94 µL y contenía 6.47 µL del ADN previamente digerido y fue incubada a 37° C durante tres horas. Posteriormente, se realizaron dos reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) consecutivas para obtener el perfil genético de cada individuo.

En la primera reacción se utilizaron cebadores *Eco*+0 y *Mse*+0 junto a 3 µL de ADN ligado. Esta PCR-preselectiva incluyó 2 minutos de desnaturalización a 94° C, seguidos de 30 ciclos de 20 segundos de desnaturalización a 94° C, 90 segundos de alineación a 57° C y 3 minutos de extensión a 72° C cada uno. La segunda reacción se llevó a cabo en un volumen total de 12.5 µL que contenía 2.5 µL de Green go *Taq* Flexi Buffer, 0.5 µL de MgCl₂ 1.5 mM, 0.625 µL de dNTPs, primer *Eco*+3 (+ACG) marcado con fluorescencia y uno de cinco primers *Mse*+4 (+CCCG, +CCGA, +AGCA, +CCAA, +CCCA), los tres en una concentración 0.5 mM, 0.2 µL de Go *Taq* Flexi DNA polimerasa (PROMEGA) y 1.5 µL del producto del PCR-preselectivo. Esta segunda reacción consistió en un primer paso de desnaturalización a 94°C durante 2 minutos, seguido de 10 ciclos de 20 segundos de desnaturalización a 94°C, 30 segundos de alineación que comenzaron a 65°C y luego fueron descendiendo 0.4° C cada ciclo (hasta terminar en 61°C), y 30 segundos de extensión. Después de esto se programaron 25 ciclos más conservando la temperatura de alineación constante a 61°C. La reacción finalizó con una extensión a 72°C durante 5 minutos.

Los electroferogramas correspondientes a cada individuo y reacción fueron obtenidos con un secuenciador automático 3730xl de Applied Biosystems, a través de los servicios de secuenciación de la Universidad de Illinois en Urbana-Champaign. Para evaluar la reproducibilidad de los marcadores obtenidos, el 12% de las muestras fueron enviadas por duplicado.

ANÁLISIS

Los electroferogramas fueron visualizados con el programa PeakScanner v1.0 (Applied Biosystems) para detectar la presencia, tamaño e intensidad de cada fragmento. Posteriormente, se utilizó el paquete RawGeno v2.02 (Arrigo *et al.* 2009) en R v3.0.2 (R Core Team 2009) para marcar y agrupar los fragmentos detectados en cada electroferograma. RawGeno incluye diversos filtros para asegurar la calidad de los picos y la consistencia del marcaje. El primer filtro permite excluir del análisis muestras de mala calidad (p. ej. con un número de bandas presentes demasiado bajo respecto al resto de la muestra). La siguiente serie de filtros se aplica en el proceso de “*scoring*” o genotipado. Los parámetros utilizados para éste fueron la detección de fragmentos mayores a 100 pares de bases (pb) con una intensidad mínima de fluorescencia de 100 rfu, y una reproducibilidad de bandas del 100% en muestras duplicadas. También se conservaron las bandas cuya reproducibilidad no se evaluó al no estar presentes en los individuos duplicados, pero que existen en otros individuos dentro la muestra.

Luego se utilizó el programa FAMD (Schlüter & Harris 2006) para eliminar loci cuyas presencias estaban por arriba del 95% o por debajo del 1% del total de la muestra. Esto se realizó con el fin de eliminar aquellos loci que, al ser prácticamente monomórficos, podrían ocasionar falsos positivos en ciertos análisis (por ej. regresiones logísticas) o sesgar las estimaciones de algunos índices. Con las bandas retenidas se elaboraron matrices de presencia/ausencia de fragmentos para cada par de primers e individuo que luego fueron concatenadas en una sola matriz para los análisis posteriores.

Diversidad génica y estructura poblacional

Los primeros análisis se realizaron con el programa AFLPdat (Ehrich 2006) para obtener los índices de diversidad para cada población. Estos incluyeron el número de sitios polimórficos (cuya frecuencia estuviera entre 0.05 y 0.95) y el índice de diversidad de Nei (H_e , heterocigosis esperada bajo Hardy-Weinberg en proporciones genotípicas). Con el programa AFLPsurv (Vekemans 2002) se estimó la varianza en H_e debida a diferencias en el tamaño de las muestras y el programa FAMD fue utilizado

para estimar el índice de diversidad Shannon por población.

Para evaluar la estructuración poblacional existente en la muestra se utilizó el programa BAPS v6.0 (Corander *et al.* 2008). BAPS es un programa de inferencia bayesiana que considera las frecuencias alélicas y el número de grupos genéticos como variables aleatorias. Con este programa se llevó a cabo el análisis de agrupamiento de individuos bajo un modelo de mezcla (“*admixture*”). Para ello se realizaron 10 corridas independientes, explorando valores para el número de poblaciones (k) de 1 a 14 en cada corrida, para evaluar el máximo número posible de grupos (igual al número de poblaciones muestreadas) más dos.

Detección de outliers génicos

Debido a que los resultados entre los métodos antes mencionados (ver Introducción) para detección de outliers pueden variar según el enfoque utilizado (F_{ST} o asociaciones genotipo-ambiente; De Mita *et al.* 2013), se utilizaron ambas aproximaciones para comparar resultados.

El primer método que se revisó fue el basado en índices de diferenciación F_{ST} . Desde que fuera presentado, este método ha sufrido distintos ajustes que permiten realizar análisis más precisos. Arlequin utiliza la aproximación del programa FDIST propuesta por Beaumont & Nichols (1996) para la detección de *outliers*. Dicha aproximación consiste en modelar una distribución neutral a partir de la distribución conjunta de F_{ST} y la heterocigosidad esperada entre poblaciones (H_e) bajo un modelo demográfico con un número finito (aunque muy elevado) de islas. A diferencia de FDIST, Arlequin incorpora un modelo jerárquico de islas que agrupa a las poblaciones en k grupos de d poblaciones con distintas tasas de migración dentro y entre grupos (Excoffier *et al.* 2009). Este escenario se adecúa perfectamente a las poblaciones de *H. frenatus*, ya que presupone que las poblaciones se agrupan en “vecindarios” dentro de los cuáles existe un flujo génico considerable pero entre los cuáles el flujo génico es mucho menor (Slatkin and Voelm 1991; Excoffier *et al.* 2009). Las pruebas para desequilibrio de ligamiento y diferenciación poblacional se realizaron para cada par de loci utilizando

10,000 cadenas MCMC y 1000 pasos de desmemorización. Para detectar los loci bajo selección se realizaron 20,000 simulaciones con 100 demes por grupo y 10 grupos.

Al igual que Arlequin, el software Bayescan v2.1 (Foll & Gaggiotti 2008) implementa este método pero utilizando estadística bayesiana para la detección de loci candidatos a la adaptación. De esta forma, se incorpora una cierta incertidumbre en las frecuencias alélicas que puede deberse a bajos tamaños de muestra. Estas pueden usarse sin mucho riesgo de sesgo pero con poca resolución. El programa Bayescan asume que las frecuencias alélicas siguen una distribución multinomial de Dirichlet (Foll & Gaggiotti 2008). En este caso, el índice F_{ST} será una función tanto de componentes poblacionales específicos compartidos por todos los loci como de componentes específicos de locus compartidos por todas las poblaciones. En esta aproximación, la desviación de la neutralidad en un locus dado se supone cuando el componente locus-específico es necesario para explicar el patrón de distribución espacial de la variación (Excoffier *et al.* 2009). La distribución de Dirichlet de frecuencias alélicas puede resultar de una amplia variedad de escenarios demográficos en los cuáles las poblaciones intercambian genes que pertenecen a una poza común (Balding 2003; Beaumont, 2005). En el caso de Bayescan, esta distribución se determina asumiendo un modelo infinito de islas, lo que tiene como consecuencia una distribución que puede ajustarse a varios modelos demográficos (Beaumont & Nichols 1996).

Para detectar la presencia de *outliers* en la muestra se realizaron cuatro análisis. Para el primero de ellos se dividió el total de la muestra en grupos de distintas altitudes (1500, 750, 400 y 0 m s.n.m.). El segundo análisis se realizó considerando los dos grupos encontrados por BAPS para buscar loci candidatos entre norte y sur. El tercero y cuarto análisis se realizaron dentro de cada grupo, dividiendo las poblaciones al interior en sus respectivas altitudes (1500, 750 y 0 m en el grupo norte y 1500, 400 y 0 m en el grupo sur). Para todos los análisis se realizaron 10 corridas piloto con una duración de 5,000 iteraciones cada una con el fin de obtener una distribución con la cual comenzar el proceso de MCMC. Los análisis finales consistieron en 100,000 iteraciones y un período *burn-in* de 10,000 repeticiones.

Para el segundo método, se utilizaron el software de estadística R v3.0.2 (R Core Team 2009) y el programa LFMM (Frichot *et al.* 2013) para realizar las distintas regresiones. La primera de ellas, la regresión logística, es uno de los modelos lineares generalizados (GLM por sus siglas en inglés) (Nelder & Wedderburn 1974) diseñado para trabajar con datos de respuesta categórica y cuya distribución no es normal. La regresión logística es una modificación al modelo de regresión lineal que transforma la probabilidad de la variable dependiente a través de un logaritmo para posteriormente realizar el modelo de ajuste sobre dicha transformación (Fig. 2). Este método nos permite explicar la media de los datos a través de una o más variables explicativas independientes. La regresión logística permite trabajar con datos de respuesta binaria y variables independientes tanto categóricas como continuas.

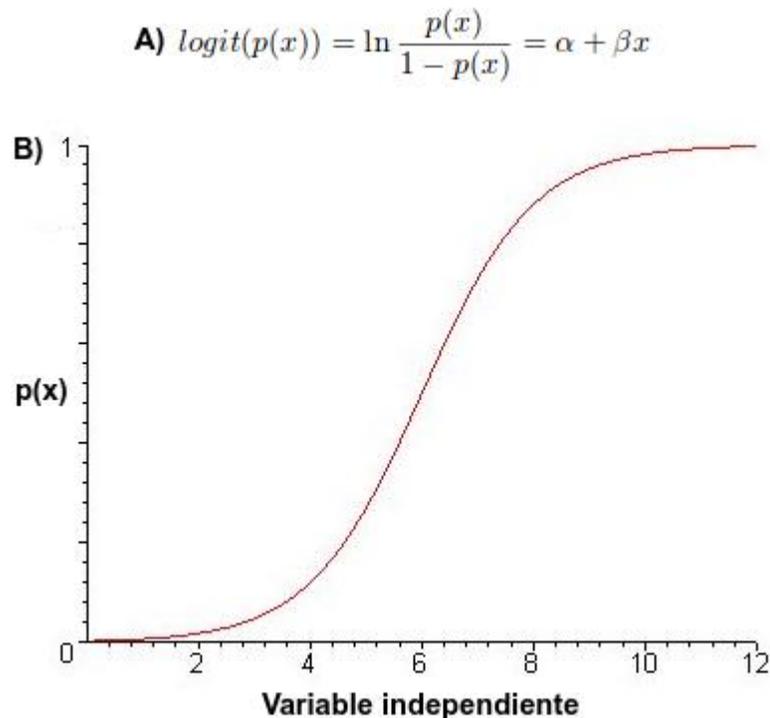


Figura 2. A) Ecuación general de la regresión logística, B) Gráfica general de un modelo de regresión logística

Utilizando la información de presencia o ausencia de fragmentos como respuesta dependiente binomial y la altitud, la temperatura promedio del mes más frío y la precipitación como variables

explicativas independientes, se realizó una serie de regresiones logísticas simples a cada loci detectado como outlier por los programas Arlequin y Bayescan. Para esto, se utilizó el software estadístico R con el cuál también se corroboró el ajuste del modelo con los datos mediante una prueba de bondad de ajuste χ^2 para cada regresión.

El programa LFMM fue especialmente diseñado para probar asociaciones entre loci y gradientes ambientales mediante el uso de modelos mixtos con factores latentes o “*latent factor mixed models*”. A diferencia de la regresión logística, este método implementa un algoritmo con MCMC para un análisis de regresión en el que las variables consideradas son modeladas como factores no observados (latentes). De esta forma, busca la correlación entre las variables ambientales y las frecuencias alélicas al mismo tiempo que estima, en segundo plano, los niveles de estructuración entre poblaciones. La estimación de parámetros se realiza con una extensión probabilística de análisis de componentes principales y técnicas estadísticas de aprendizaje (Frichot *et al.* 2013). Los análisis se realizaron incluyendo los 287 loci y considerando un número de factores latentes $K= [2,6]$ con 10 repeticiones para cada uno por variable ambiental (total de 250), y con 10,000 iteraciones que siguen a un periodo de *burn-in* de 1,000 repeticiones para cada corrida.

RESULTADOS

El total de bandas detectadas por RawGeno fue de 1279. La combinación *Eco+ACG/Mse+CCAA* produjo el mayor número de bandas con un total de 289, mientras que la de menor número fue la combinación *Eco+ACG/Mse+AGCA* con 229 fragmentos. El promedio de bandas producidas por par de primers fue de 256. Una vez realizada la primera depuración, dónde se eliminaron 18 reacciones de mala calidad, se conservaron 532 loci para su posterior análisis. La combinación más informativa fue *Eco+ACG/Mse+CGAC* de dónde se retuvieron el 59.5% de las bandas producidas (147 de 247). Luego de eliminar todos aquellos fragmentos con frecuencias por arriba del 95% o por debajo del 1% se

retuvieron 287 bandas polimórficas y altamente reproducibles para realizar los análisis posteriores.

Diversidad génica y estructura poblacional

Los índices poblacionales de diversidad obtenidos se muestran en la Tabla 1. La población con mayor número de sitios polimórficos fue Rincón de Guayabitos, en Nayarit, con el 57.49% (165 de 287). La población menos polimórfica, sin considerar Jamay cuyo N=1, se encontró en Salina Cruz, Oaxaca con el 29.61% (85 de 287). Considerando que el índice de diversidad de Nei (1987) puede tomar un valor máximo de 0.5 para marcadores bialélicos como los AFLPs, el total de las poblaciones muestra valores intermedios de diversidad (0.1111 - 0.1805) a lo largo de todos los loci. Las localidades de Oaxaca de Juárez y Salina Cruz presentan los mayores niveles de diversidad para este índice a pesar de tener un muestreo menor y una varianza mayor debida a este tamaño de muestra. Podemos observar que la varianza en H_e debida al tamaño muestral disminuye a medida que éste aumenta, siendo mayor para la población de Jamay (N=1). Finalmente, el índice de Shannon muestra valores relativamente elevados (5.7 – 6.8429) considerando que para sitios poco variables éste tomaría valores cercanos a cero.

<i>Población</i>	<i>N</i>	<i>Sitios polimórficos</i>	<i>Diversidad génica H_e (Nei 1987)</i>	<i>Var. H_e</i>	<i>S de Shannon</i>
1. Jamay, Jal.	1	0	0	0.000116	5.7004
2. Amatlán de Cañas, Nay.	20	158 (55.05 %)	0.1387	0.000012	6.6376
3. Guayabitos, Nay.	24	165 (57.49 %)	0.1374	0.000009	6.8429
4. Melaque, Jal.	20	143 (49.82 %)	0.1312	0.000012	6.6681
5. Minatitlán, Col.	21	126 (43.90 %)	0.1111	0.000011	6.5014
6. Barra de la Cruz, Oax.	17	136 (47.38 %)	0.1347	0.000016	6.6343
7. Salina Cruz, Oax.	5	85 (29.61 %)	0.1456	0.000057	6.3371
8. Oaxaca de Juárez, Oax.	5	106 (36.93 %)	0.1805	0.000054	6.6181
9. Pijjiapan, Chis.	16	120 (41.81 %)	0.1261	0.000016	6.4924
10. Huixtla, Chis.	15	111 (38.67 %)	0.1118	0.000017	6.4132
11. Tuxtla Gutiérrez, Chis.	16	152 (52.96 %)	0.1513	0.000017	6.8435

Tabla 1. Índices de diversidad obtenidos con los programas AFLPdat (sitios polimórficos y H_e), AFLPsurv (Var H_e) y FAMD (índice de Shannon).

El programa BAPS encontró dos particiones genéticas como el valor óptimo dentro de la muestra con una verosimilitud de -12094.2573 y una probabilidad posterior de 1 (Fig. 3). Estas particiones coinciden con los dos grandes grupos de muestreo formados al norte y sur del Pacífico.

Adicionalmente se realizó un segundo análisis dentro de cada una de las particiones encontradas. Ninguno de los dos grupos pudo ser subdividido en otros clusters (PP= 0.9798 y 1, para los grupos Sur (Chiapas-Oaxaca) y Norte (Nayarit-Jalisco-Colima), respectivamente).

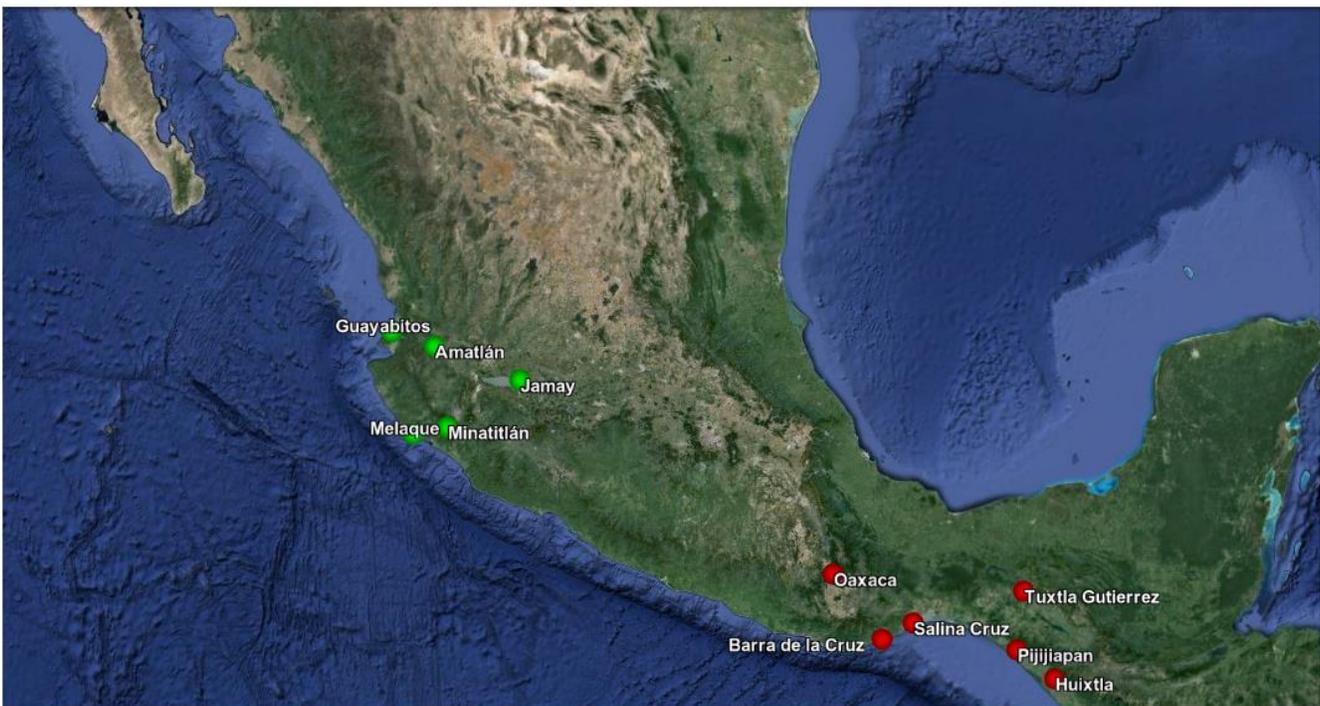
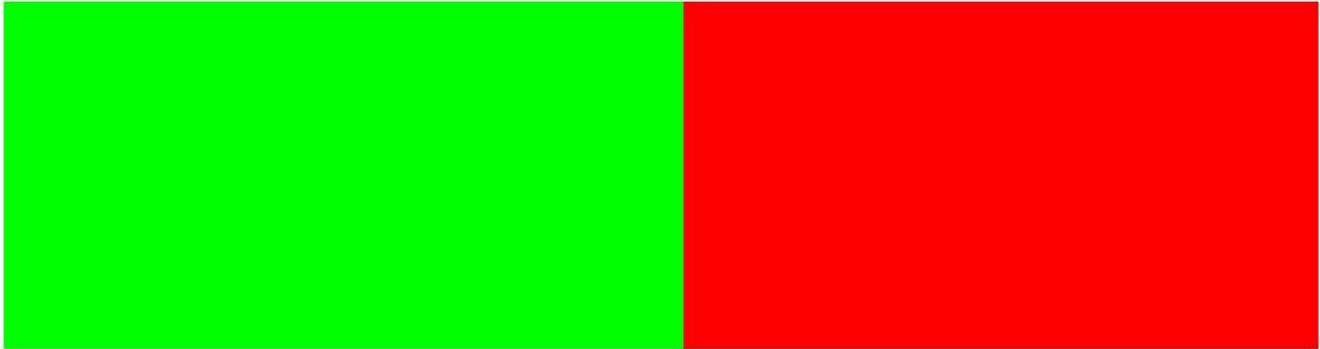


Figura 3. Gráfica de estructuración población obtenida con BAPS y localización espacial de los grupos. El color rojo corresponde a los individuos del grupo sur (Oaxaca y Chiapas) y el color verde indica la población del norte (Nayarit, Jalisco y Colima).

Los análisis realizados con Arlequin también sugieren la presencia de dos grupos genéticos en el Pacífico mexicano. La Figura 4 muestra la matriz de F_{ST} pareados entre poblaciones. El color más claro refleja índices de diferenciación menores. En el Anexo II se muestran los valores numéricos para cada par de poblaciones de esta gráfica; ninguna de las comparaciones superó $F_{ST} > 0.3$.

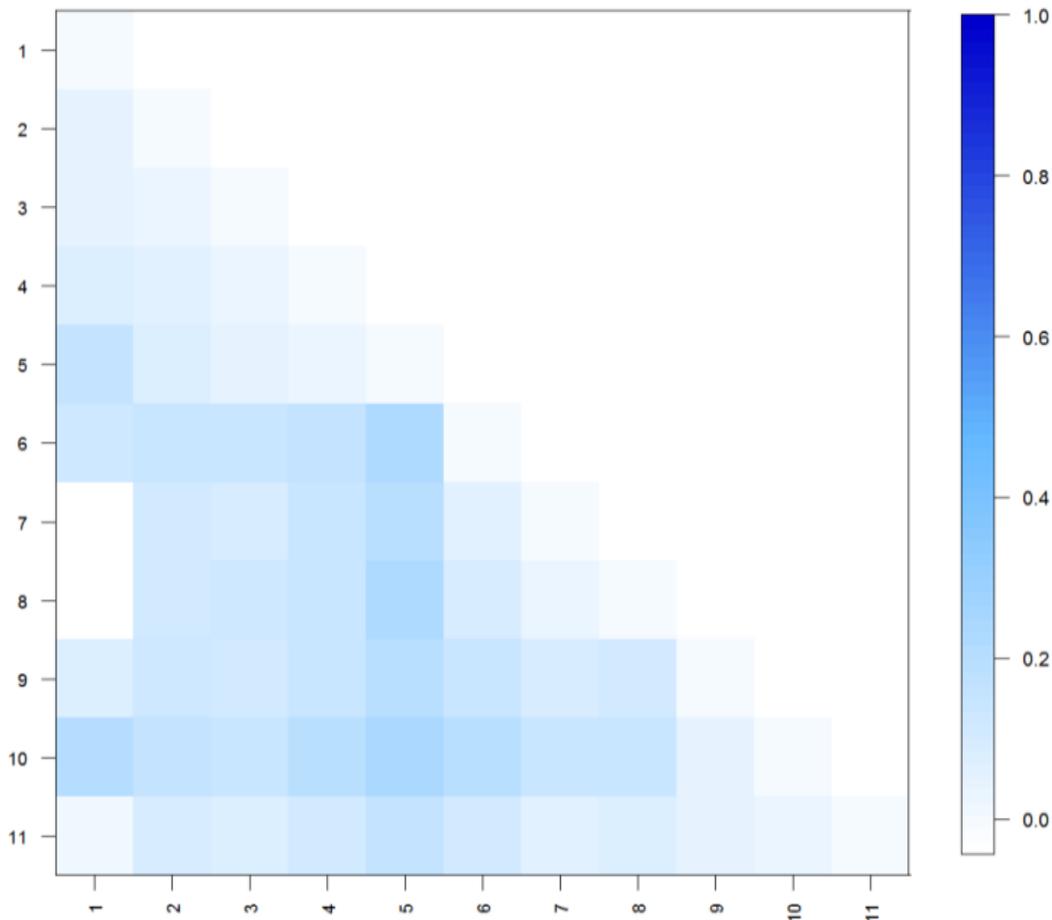


Figura 4. Gráfica de los valores pareados de F_{ST} entre poblaciones. Los tonos más oscuros representan valores mayores de estructuración que se concentran más en la región central, dividiendo los grupos norte y sur

Detección de outliers

A) Con índices de diferenciación (F_{ST})

- *Arlequin*

Los análisis para detección de *outliers* llevados a cabo en Arlequin lograron detectar algunos loci candidatos a ser adaptativos (Figs. 5 y 6). La primera búsqueda se realizó dividiendo el total de la muestra por altitudes (0, 400, 750 y 1500 msnm). En este análisis se encontraron 16 *outliers* (L009, L017, L025, L033, L086, L125, L133, L142, L149, L165, L167, L190, L196, L204, L243 y L287), todos por arriba del límite. En el segundo análisis, realizado entre los grupos Norte y Sur encontrados por BAPS y sugeridos por el mismo Arlequin, se encontraron siete loci con señales de selección

natural, cinco por arriba del límite (L133, L149, L167, L190 y L204) y únicamente dos por debajo (L178 y L198). Los loci L133, L149, L167, L190 y L204 fueron detectados como *outliers* por ambas pruebas.

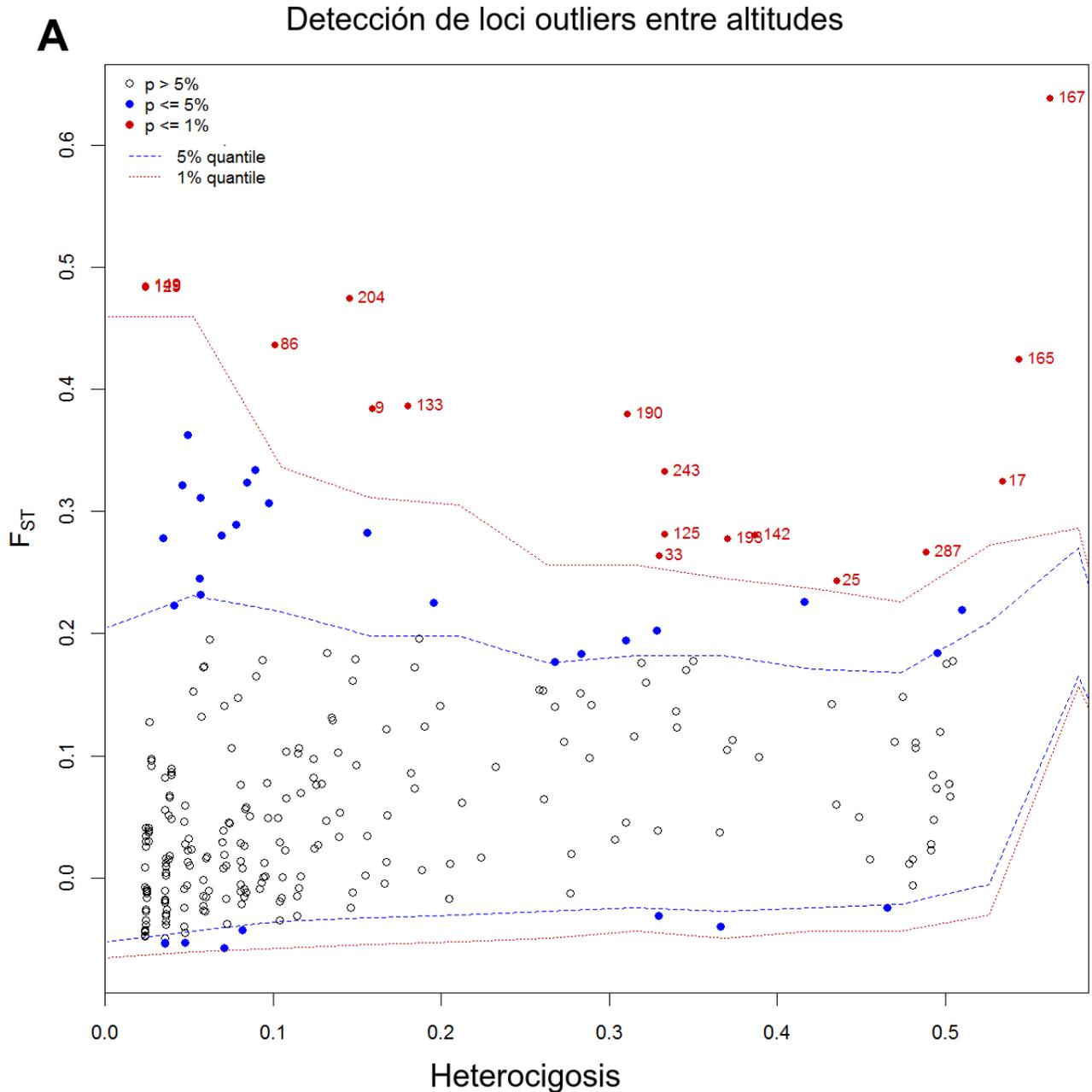


Figura 5. Gráficas de detección de outliers por altitud de cada población por el método de F_{ST} implementado en Arlequín. Los puntos rojos representan aquellos loci con índices de estructuración mayores a lo esperado bajo neutralidad. Los números en cada punto se refieren el número de loci

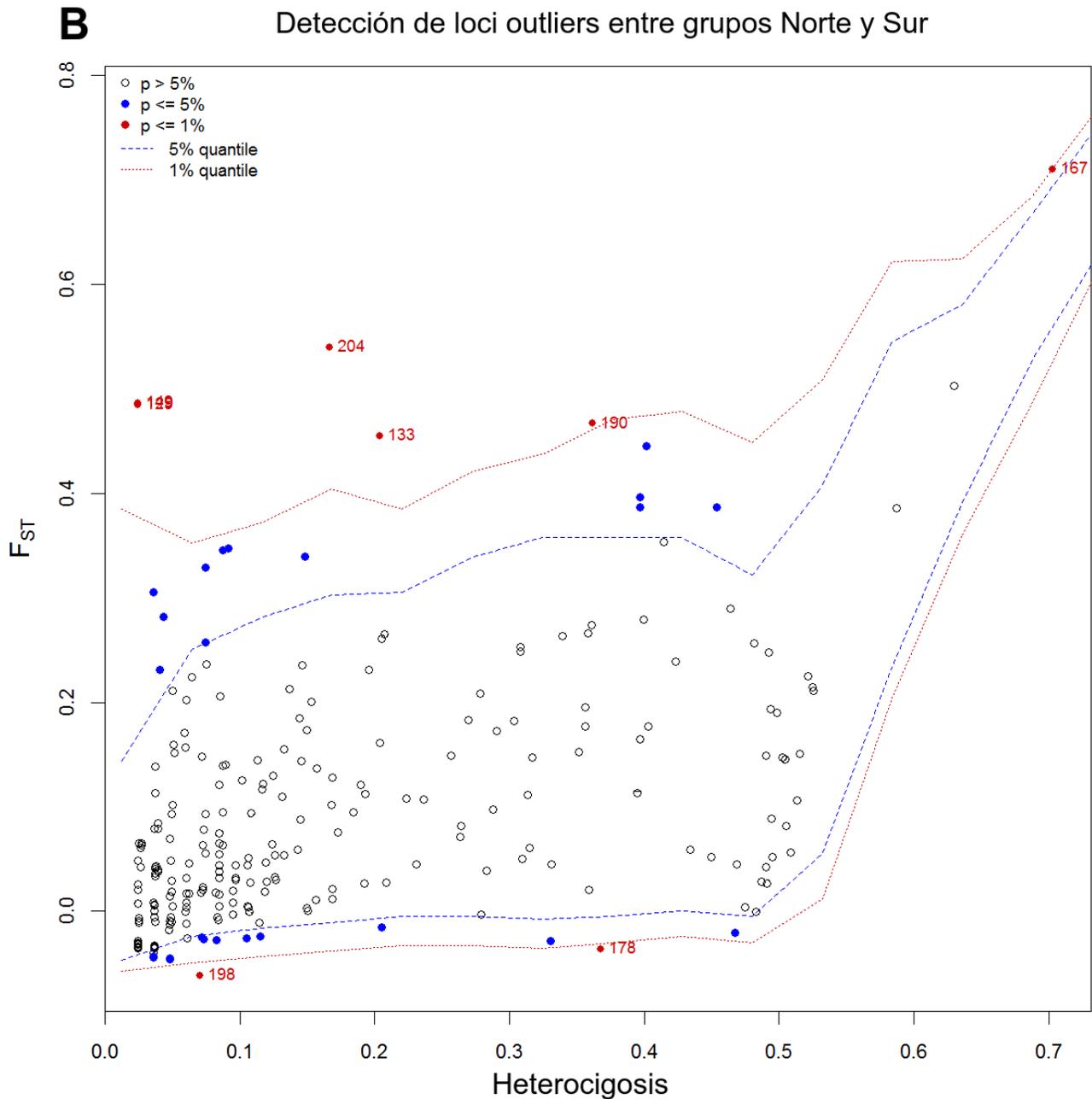


Figura 6. Gráfica de detección de outliers entre los grupos norte y sur por el método de F_{ST} implementado en Arlequín. Los puntos rojos representan aquellos loci con índices de estructuración mayores o menores a lo esperado bajo neutralidad. Los números en cada punto se refieren el número de loci dentro de este trabajo

- *Bayescan*

De los cuatro análisis realizados con el programa Bayescan únicamente uno, el realizado entre los

grupos norte y sur, mostró loci con comportamientos estadísticos diferentes a lo esperado bajo un modelo neutral (Fig. 7B). En este caso, cinco loci (L007, L017, L067, L142 y L243) mostraron índices superiores a lo esperado por neutralidad ($F_{ST} > 0.018$), colocándolos como posibles candidatos a estar bajo selección natural entre ambos grupos.

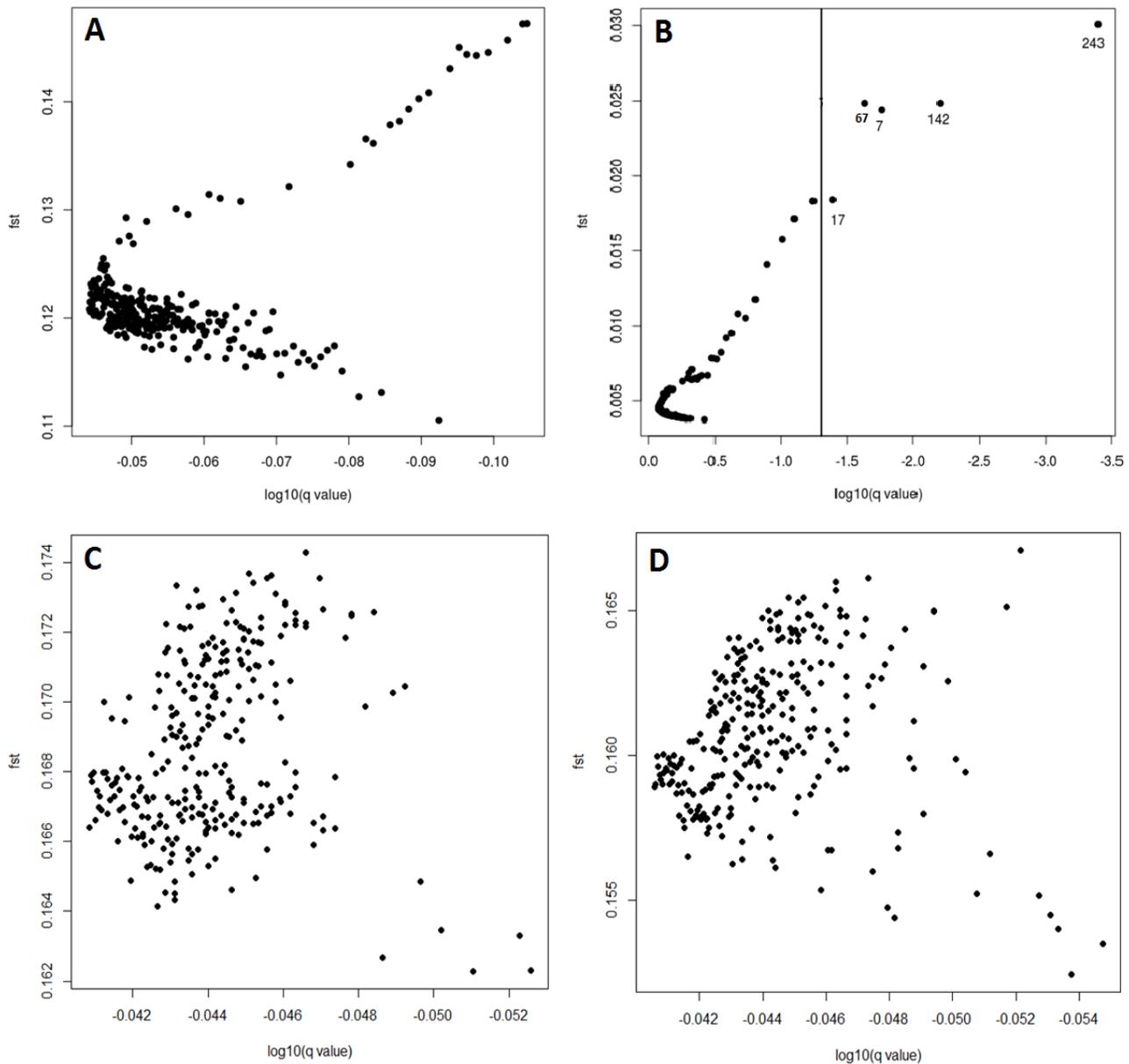
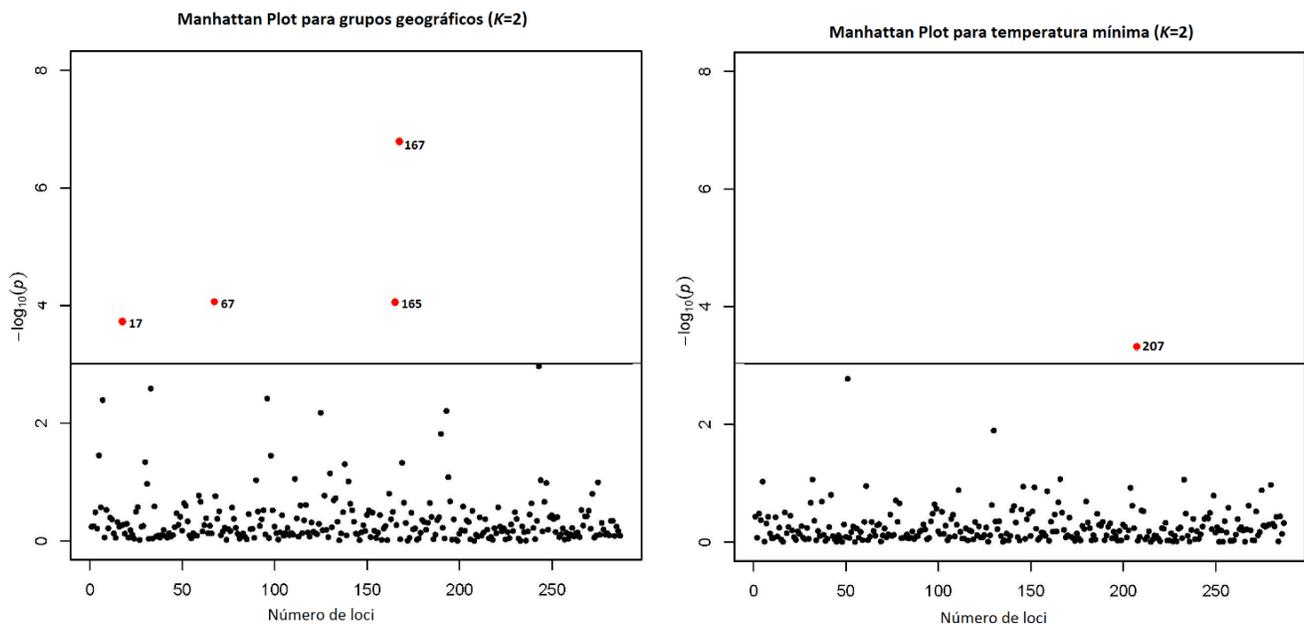


Figura 7. Distribuciones obtenidas con Bayescan para A) el total de la muestra dividida por alturas (1500, 750, 400 y 0 msnm); B) Entre los grupos norte y sur encontrados por BAPS. En este panel se observan cinco loci bajo selección; C) la población norte dividida por Alturas (0, 750 y 1500 msnm) y D) La población sur dividida por alturas (0, 400, 750 y 150 msnm)

B) Con métodos de regresión

- LFMM

Del total de los análisis realizados con LFMM únicamente cuatro detectaron loci con valores z-score superiores a 3 con probabilidades asociadas iguales o inferiores a 0.001. De estas pruebas, una corresponde a la división en grupos geográficos norte-sur. Considerando $K=2$ (L017, $p=0.00018$; 67, $p=0.00008$, L165, $p=0.00008$ y L167, $p=0.0000001$). Para la altitud se detectó un solo locus (L207, $p=0.00046$) considerando $K=2$. Los análisis realizados para la temperatura mínima no detectaron ningún locus. Los análisis para precipitación máxima del mes más frío detectaron tres loci (L132, $p=0.00063$; L244, $p=0.00071$; L249, $p=0.00053$) con una $K=2$ y los realizados para precipitación máxima del mes más seco detectaron un solo locus (L166, $p=0.0006$) con $K=3$ (Fig. 7).



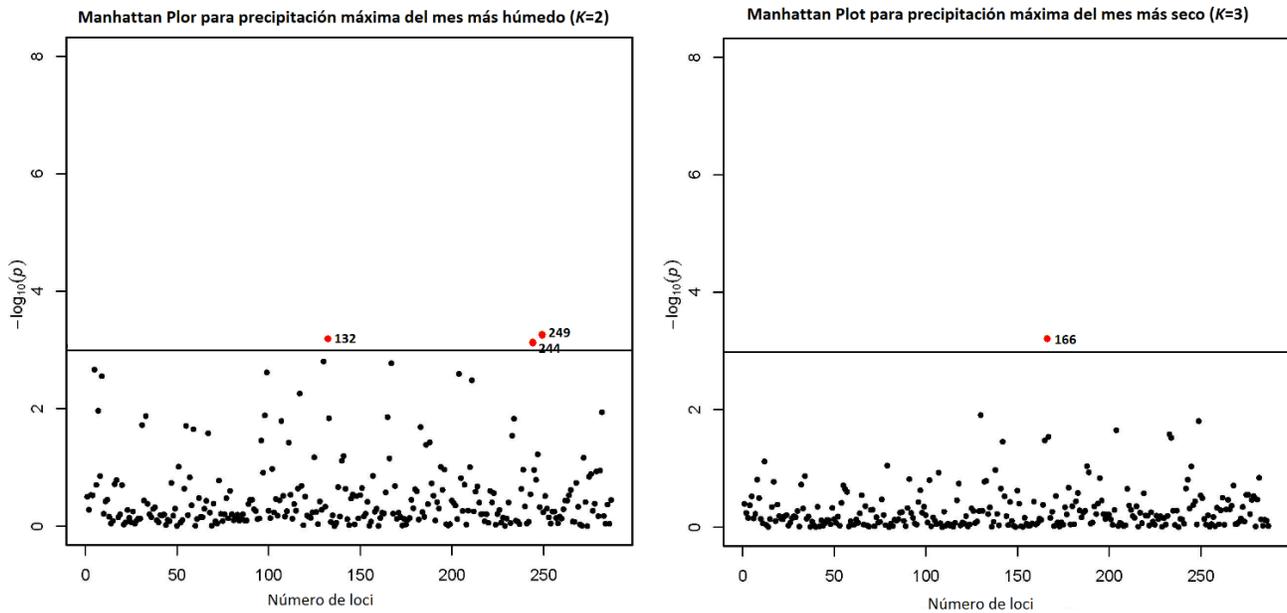


Figura 8. Gráficas obtenidas con LFMM para los análisis que detectaron loci con desviaciones standard superiores a la media de los datos

- Regresión logística en R

El total de regresiones logísticas realizadas dieron un resultado negativo para la relación entre factores ambientales y presencia/ausencia de loci ($\chi^2 \geq 0.05$). En la tabla 2 se presentan únicamente los valores de P para la prueba de bondad de ajuste χ^2 . Las gráficas para cada una de éstas regresiones se muestran en los Anexos III-VII.

<i>LOCUS</i>	<i>NORTE-SUR</i>	<i>ALTITUD</i>	<i>T° MÍNIMA</i>	<i>PREC. MAX.</i>	<i>PREC. MIN.</i>
L007	0.4405	-	-	-	-
L009	-	0.0744	0.4208	0.0198	0.4474
L017	0.4405	0.3921	0.4815	0.4846	0.4846
L025	-	0.3668	0.4639	0.4312	0.4406
L033	-	0.2705	0.5007	0.242	0.4434
L067	0.4405	-	-	-	-
L086	-	0.4692	0.5813	0.4507	0.9994
L125	-	0.3793	0.4586	0.9818	0.4505
L133	0.4405	0.4404	0.1018	0.4722	0.5197
L142	0.4405	0.4487	0.4278	0.5061	0.3742
L149	0.9999	1	1	1	0.5237
L165	-	0.1851	0.467	0.4387	0.4832
L167	0.9999	0.4065	0.3953	0.995	0.4318
L178	0.4405	-	-	-	-

L190	1	0.4201	0.4417	0.9447	0.4440
L196	-	0.4437	0.4403	0.4406	0.0007
L198	0.4405	-	-	-	-
L204	1	0.9462	0	0.9305	0.9056
L243	0.9999	0.4552	0.3983	0.9977	0.3695
L287	-	0.4353	0.4337	0.9977	0.4412

Tabla 2. Valores de P para la prueba de ajuste χ^2 de las regresiones logísticas realizadas para cada locus outlier detectado con Arlequin o Bayescan con cuatro variables ambientales en poblaciones de *H. frenatus* (Figs. 6 y 7).

DISCUSIÓN

Diversidad génica y estructura poblacional

Tanto el número de sitios polimórficos como los valores del índice de Shannon nos sugieren que la población de *Hemidactylus frenatus* en el Pacífico mexicano posee una alta diversidad genética, repartida de manera más o menos equitativa a lo largo de todas las poblaciones analizadas. Es importante notar que el número de sitios polimórficos aumenta de acuerdo al tamaño muestral (N), lo que puede interpretarse también como una señal de alta diversidad genética. Estos resultados concuerdan con otros estudios dónde se registró una alta diversidad mitocondrial para la especie en las islas del Pacífico, donde también ha sido introducida (Moritz *et al.* 1993, Tonione *et al.* 2011).

El punto de muestreo más polimórfico fue Guayabitos, un destino turístico con un gran número de visitantes a lo largo del año. Este flujo de transporte y personas podría estar favoreciendo la migración de individuos de varias poblaciones para enriquecer el *pool* génico del sitio. Casos similares podrían estarse presentando en Amatlán de Cañas y Tuxtla Gutiérrez, segundo y tercer sitios más polimórficos, respectivamente. Salina Cruz, el punto menos polimórfico, además de tener un muestreo menor, es un sitio con perturbaciones ecológicas mayores. Si bien Salina Cruz es un puerto importante que recibe embarcaciones de manera constante, el petróleo constituye la principal actividad económica del lugar y cuenta con una de las refinerías más importantes del país. Esto genera contaminación y alteraciones ambientales importantes en la zona, sugiriendo que tal vez *H. frenatus* no tolere

condiciones tan extremas. En este sitio también existe un gran número de edificaciones abandonadas y en mal estado, lo que podría dificultar el establecimiento de individuos ya que la especie forrajea alrededor de puntos de alumbrado (focos, lámparas o faroles). La población de *H. frenatus* era notablemente menos abundante que en otros sitios de la costa.

El incremento de la diversidad genética en especies invasoras suele ser favorecido por múltiples eventos de introducción, al constituir las poblaciones con individuos de distintas localidades y diferentes generaciones (Dlugosch & Parker 2008, Simberloff 2009). Por esta razón, y considerando los altos índices de diversidad que presenta la especie, es muy probable que la población de *H. frenatus* en México tenga su origen en múltiples individuos y varios eventos de invasión a lo largo del tiempo. Recordando algunas características de la especie, su tamaño, hábitos gregarios y patrones de actividad y reproducción favorecen su capacidad para aprovechar la distribución asistida (Hoskin 2011). Además, siendo una estrecha comensal del ser humano, su movimiento constante desde diversos sitios en embarcaciones mercantes a través del Pacífico es altamente probable.

Realizar estudios comparativos a diferentes escalas espaciales (Sax *et al.* 2005) podría ser de gran utilidad para investigar la hipótesis de múltiples introducciones de *H. frenatus* y determinar con mayor precisión la historia de invasión de la especie en el país. Analizar las poblaciones de Indonesia, el área original de distribución de la especie, y otras áreas de distribución adquirida, generaría información sobre la diversidad genética que poseen las distintas poblaciones de la especie. Esto nos permitiría comparar poblaciones y determinar los puntos de origen de los individuos que conformaron las poblaciones locales en México. Un buen ejemplo de esto es el estudio realizado por Kolbe *et al.* (2004) donde se utilizaron marcadores mitocondriales para inferir la historia de invasión de *Anolis sagrei* en la isla de Cuba. Ellos concluyen que la población local está formada por individuos de diversas localidades externas con un número aproximado de ocho introducciones históricas. Aunque previo a la realización de esta investigación se trabajó con el gen mitocondrial 16S de algunos individuos, este mostró poca variación y tuvo que ser descartado para utilizar otro tipo de marcadores.

El análisis de estructuración realizado con el programa BAPS encontró dos particiones que corresponden a los grupos norte (Nayarit, Jalisco y Colima) y sur (Oaxaca y Chiapas) del muestreo. Al realizar los análisis al interior de cada grupo, fue imposible detectar una estructuración a menor escala geográfica. Existe una remota posibilidad de que incluir las poblaciones de Guerrero y Michoacán modifiquen este patrón espacial de estructuración. Los valores numéricos de diferenciación estimados con Arlequin para estas particiones apoyan la presencia de dos grupos bien diferenciados en el Pacífico mexicano, aunque es importante recordar la falta de muestras en Michoacán y Guerrero. Los índices pareados de F_{ST} son coherentes con la estructuración excepto en cuatro comparaciones, donde los índices son similares o llegan a superar aquellos estimados entre poblaciones que no corresponden al mismo vecindario (Anexo II). En ningún caso las comparaciones alcanzan valores mayores a 0.23, un valor que podría considerarse más o menos elevado.

La estructuración observada en este estudio podría deberse al patrón de movimiento de los individuos entre sitios. Al ser una especie comensal del ser humano, las actividades mercantes y de turismo favorecen la migración de individuos a distancias mayores de lo que permite su vagilidad natural, incrementando así el flujo génico entre poblaciones distantes. Esto puede disminuir, o aumentar, la estructuración poblacional a ciertas escalas geográficas. Un buen ejemplo de los efectos de la migración asistida en la estructuración poblacional se presenta en el estudio realizado por Short & Petren (2011) en otro geco invasivo del mismo género, *H. mabouia*. Utilizando microsátélites en las poblaciones de Florida, EU, ellos detectaron distintos patrones de estructuración a escalas geográficas variables. A escalas geográficas reducidas o regionales era posible detectar estructuración significativa entre poblaciones ($F_{ST} > 0.17$). Al expandir la escala geográfica a un nivel estatal, la estructuración poblacional se reducía de manera importante ($F_{ST} < 0.11$). Al aumentar más la escala geográfica, comparando distintos estados, era posible observar nuevamente una estructuración poblacional considerable para la especie.

El hecho de que no haya sido posible observar una estructuración al interior de cada grupo, nos

ayuda a descartar el fenómeno de aislamiento por distancia a lo largo de la distribución, lo que sugiere la posible existencia de uno o más quiebres filogeográficos definidos para la especie. De ser así, la inclusión de las poblaciones intermedias (Michoacán y Guerrero) podrían generar dos resultados: conformar un tercer grupo filogeográfico al centro del Pacífico o que los individuos muestreados allí se agrupen en los clusters encontrados en este estudio, mostrando, posiblemente, una zona de contacto entre ambos. Con la realización de este análisis de estructuración espacial podríamos llegar a entender qué factores geográficos o humanos limitan la dispersión y el flujo génico de la especie y a qué distancias actúan, o si la estructuración poblacional de la especie concuerda con áreas mayores que correspondan a las de especies locales. Recordemos que dentro del área de estudio se encuentran quiebres filogeográficos importantes como el Istmo de Tehuantepec, la faja Volcánica Transmexicana y el llamado bloque Jalisco, dónde muchas especies muestran patrones especiales de estructuración poblacional. Sería sumamente interesante verificar si las especies invasoras también están respondiendo a estos quiebres, tal y como se ha propuesto para las especies nativas de México.

Según algunos autores (Ibrahim *et al.* 1996, Klopstein *et al.* 2006, Ramakrishan *et al.* 2010), es posible encontrar patrones de estructuración y variación genética espacial muy particulares en poblaciones que se encuentran o tuvieron un proceso de expansión reciente como el que pueden presentar las especies invasoras. El primero de estos patrones está relacionado a múltiples eventos de colonización y a altos índices de diversidad genética. En este caso, se debería observar una diversidad genética elevada en la región dónde se cree que haya iniciado la invasión (en este caso Acapulco) y que debería ir disminuyendo conforme nos alejamos de dicho punto hacia la periferia del intervalo actual de distribución. De ser este el caso de la población mexicana de *H. frenatus*, el análisis de las poblaciones intermedias en Michoacán y Guerrero sería de suma importancia y se esperaría que arroje valores de diversidad aún mayores que los observados para los grupos Norte y Sur.

La segunda opción, aunque muy poco probable, es que la población invasora haya sido originada por pocos individuos iniciales sin eventos posteriores de introducción. De ser así, la

expansión poblacional de la especie habría sido un proceso más lento, implicando eventos de expansión, adaptación y colonización gradual debido a la poca diversidad genética que se presenta en eventos simples de introducción. En este caso, existiría también mayor diversidad genética en la región donde haya comenzado la invasión y ésta disminuiría drásticamente conforme nos acercamos a la periferia de la distribución. Este patrón responde al hecho de que, si es necesaria una adaptación previa a la colonización de cierto sitio, la combinación adecuada de genes para llevar a cabo el proceso sería muy restringida, eliminando aquellos genes que no fueran favorables en dicha región, para luego limitar la diversidad en las zonas de colonización reciente; es decir, los límites de la distribución actual. Considerando los valores de diversidad encontrados en el presente estudio, el segundo escenario es poco probable pues ambos grupos geográficos presentan niveles más o menos elevados de variabilidad genética. La realización de estudios comparativos a escalas temporales podría ayudar a la resolución de este problema al permitir rastrear el movimiento de genes en las poblaciones a lo largo del tiempo.

Evidentemente, los estudios comparativos, tanto espaciales como temporales, deben ser enriquecidos con la inclusión de las poblaciones presentes en los estados de Michoacán y Guerrero y el uso de otros marcadores moleculares que pudieran aportar mayor información. Al ser Acapulco el primer sitio donde se registró la especie, el análisis de ésta y otras poblaciones cercanas nos ayudaría a entender de mejor manera los patrones geográficos de diversidad y estructuración poblacional encontrados en el presente trabajo.

Detección de outliers

En las pruebas de detección de outliers realizadas con Arlequin se encontraron un total de 18 loci con comportamientos estadísticos diferentes. El análisis entre grupos norte y sur dio un total de 7 loci, cinco con señales de selección direccional (por arriba de los esperado en un escenario neutral) y dos que sugieren selección estabilizadora (por debajo del mismo). Es importante recordar que el método carece de robustez al momento de detectar selección balanceadora por lo que es mejor

interpretar con precaución este último resultado (Excoffier *et al* 2009). Por su parte, el análisis realizado entre altitudes encontró un total de 16 loci, todos por arriba de lo esperado, sugiriendo selección direccional. Cinco loci (L133, L149, L167, L190 y L204) fueron encontrados en común entre ambas pruebas.

Es importante recordar que, aunque el método implementado por Arlequin es el más sencillo y por lo tanto es muy probable la detección de un gran número de falsos positivos, este nos permite asumir un modelo jerárquico de islas durante el análisis, lo que puede mejorar notablemente su poder de detección (ver introducción). El análisis de estructuración poblacional sugiere que la población de *H. frenatus* presenta precisamente este tipo de modelo filogeográfico, pues se detectaron dos grupos bien diferenciados entre sí pero sin diferenciación significativa al interior de cada uno, lo que puede ajustarse a un patrón de estructuración jerárquica.

Por su parte, los análisis realizados con Bayescan para detectar *outliers* no dieron resultados positivos salvo el realizado entre los grupos norte y sur. Las pruebas en dónde se dividió a la población y subpoblaciones con base en su altitud no detectaron locus con comportamiento distinto a lo esperado bajo un modelo de neutralidad. Sin embargo, según los índices logarítmicos para los cinco loci detectados entre grupos geográficos, éstos muestran una señal fuerte de estar bajo selección ($\log_{10}(q\text{-value}) > 1.5$). Además de esto, tres de los cinco loci detectados entre grupos Norte y Sur por Bayescan también fueron detectados por Arlequin en el análisis realizado por altitudes (L017, L142 y L243). En este caso, el programa supone implícitamente un modelo de islas que puede no ajustarse del todo a la dinámica poblacional de la especie por lo que puede resultar poco confiable si se compara con el análisis realizado con Arlequin. Por esta razón, sería posible descartar de forma automática estos resultados frente a los de Arlequin; sin embargo, podemos considerar de interés los tres fragmentos que fueron detectados por ambos métodos, recordando que las diferencias entre altitudes podrían estar reflejando de alguna forma también diferencias entre grupos geográficos.

Es importante recordar que los índices F_{ST} no llegan a ser tan altos ni tan diferentes de lo

esperado en un modelo neutral, y que los resultados positivos obtenidos con estos dos programas podrían tener otras explicaciones. Este tipo de análisis están diseñados para detectar valores extremos de la distribución que pueden ser en realidad falsos positivos. Por ejemplo, en un análisis de modelos realizado por De Mita *et al.* (2013), se concluyó que los métodos estadísticos para detectar correlaciones genotipo-ambiente suelen ser más robustos y confiables para la correcta detección de *outliers*, que aquellos métodos que buscan diferenciación adaptativa basados en índices F_{ST} . Por lo tanto, la aplicación de ambos tipos de método permite determinar con mayor seguridad aquellos loci que pudieran responder a selección natural en poblaciones silvestres, permitiendo contrastar resultados y utilizar únicamente aquellos loci que muestran un carácter adaptativo con más de un método (De Mita *et al.* 2013).

Por esta razón, a los 20 loci que fueron detectados con la serie de análisis basados en índices F_{ST} , se les aplicaron métodos de regresión logística para buscar su correlación con algún factor ambiental que pudiera variar a lo largo de la distribución. Ningún loci detectado entre grupos geográficos por Arlequín o Bayescan dio una señal positiva en los modelos de regresión logística. De los 16 loci detectados entre altitudes, únicamente dos, L009 y L196, mostraron un verdadero ajuste con el modelo de regresión logística ($\chi^2 < 0.05$) realizada para los valores de precipitación. Esto sugiere que podría existir una relación entre la presencia o ausencia de dichos fragmentos con condiciones relacionadas a la precipitación o humedad relativas. Este método tuvo, sin embargo, el problema de que no ser corregido para la estructura poblacional. De haberse considerado este factor, es posible que el número de loci detectados hubiera sido mayor pero con un aumento proporcional en el número de falsos positivos (De Mita *et al.* 2013).

El programa LFMM, por su parte, también detectó algunos loci que no habían sido detectados previamente y que, en concordancia con las regresiones logísticas, pertenecen a las pruebas realizadas para la precipitación máxima del mes más frío (L132, L244 y L249) y para la precipitación máxima del mes más cálido (L166). Debido a que el programa LFMM toma en cuenta la estructuración poblacional

en la muestra al tiempo que realiza la búsqueda de *outliers*, lo que genera una robustez similar a la que se puede obtener con Arlequin, los loci detectados con este método y que ya habían sido encontrados en los análisis previos merecen un poco más de atención. Este fue el caso de los *loci* L017 y L067, encontrados por Bayescan entre grupos geográficos, y el locus L167, detectado por Arlequin también entre grupos geográficos.

Las concordancias entre métodos (Arlequin-RL, Arlequin-LFMM y Bayescan-LFMM) nos sugieren, por un lado, que podrían existir diferencias importantes en alguna condición ambiental entre localidades geográficas, por lo que estos *loci* podrían estar respondiendo directamente a un proceso adaptativo diferencial entre grupos. Si el patrón observado fuera resultado de un proceso de adaptación local, la selección natural y el flujo génico serían las dos fuerzas mayormente involucradas en el proceso. En primer lugar, podríamos hablar de presiones selectivas importantes, que impongan un régimen de selección fuerte hacia la entrada de individuos externos a cada grupo geográfico. Esto reduciría notablemente el flujo de genes por baja adecuación de los migrantes. La segunda opción permitiría la entrada de individuos externos en un régimen de selección más laxo, pero la migración se vería limitada por la distancia o barreras geográficas entre grupos, lo que permitiría el aumento de la frecuencia de genes potencialmente adaptativos dentro de cada conjunto. Analizar la adecuación de individuos externos, las tasas de migración entre grupos, la existencia de “híbridos” (p. ej. individuos con ancestría de ambos grupos) o las frecuencias de los fragmentos candidatos a mayor detalle nos ayudarían a decidir entre ambos escenarios.

Por otro lado, también existe la posibilidad de que las diferencias poblacionales tengan su origen en otra fuerza evolutiva importante, la deriva génica. En este caso, las frecuencias de estos *loci* estarían reflejando únicamente los efectos estocásticos y aleatorios característicos de esta fuerza, y podrían no tener relación alguna con la selección natural, sino ser simplemente alelos privados para cada población. La deriva génica influye en la presencia de genes o alelos en relación a los tamaños poblacionales y las frecuencias de cada gen. Si consideramos que los grupos genéticos detectados se

encuentran aislados uno de otro, los tamaños poblacionales serían menores y la deriva podría conducir distintos fragmentos hacia frecuencias diferentes, dando un efecto similar al de la selección natural.

Uno de los procesos que puede contrarrestar los efectos de la deriva es el flujo génico. Si existiera migración considerable entre grupos geográficos, los efectos de la deriva serían menores. Sin embargo, un flujo génico considerable también podría eliminar las adaptaciones que surgen por selección natural si las presiones selectivas no son lo suficientemente fuertes entre poblaciones. Considerando que los resultados de la estructuración poblacional sugieren una falta de flujo génico entre grupos geográficos, es imposible descartar por completo la acción de la deriva si no se analizan las frecuencias de los alelos en un mayor número de poblaciones.

De forma general, y apeándose a los objetivos iniciales del presente trabajo, estos resultados sugieren que podría existir una diferencia importante en los valores ambientales de precipitación o características relacionadas (p. ej. humedad relativa). Dado que son mayores las diferencias entre grupos geográficos que entre altitudes, estas diferencias podrían representar presiones selectivas para la especie desde una perspectiva latitudinal.

La influencia de las diferencias latitudinales en cuestiones adaptativas también ha sido analizada en diversos estudios y diferentes especies (David & Bocquet 1975, van Berkum 1988, Nylén & Svärn 1991, Willing *et al.* 2003, Geerts *et al.* 2015). Todos estos estudios utilizan especies con poblaciones distribuidas a lo largo de gradientes latitudinales para analizar los cambios morfológicos o fisiológicos adaptativos que se presentan considerando la variación geográfica o temporal de factores y condiciones ambientales importantes a lo largo de dichos gradientes. Esto muestra que existe una influencia importante de las variaciones ambientales que se presentan en clinas latitudinales y que éstas suelen determinar con frecuencia cambios adaptativos diferenciales. Esto puede deberse a los grandes cambios que se producen latitudinalmente a escalas geográficas mayores y que, en ocasiones, suelen ser más notorios que aquellos cambios que se presentan desde una perspectiva longitudinal en el planeta.

Es importante recordar que esta investigación consideró únicamente algunas variables

geográficas que, si bien suelen representar presiones selectivas generales para el grupo de los reptiles, pueden no ser los factores más importantes para detonar un cambio adaptativo en esta especie. Un mejor conocimiento sobre la biología general de *H. frenatus* (la etología, fenología, desarrollo, fisiología y ecología) permitiría determinar con mayor exactitud los factores o condiciones que pudieran representar presiones selectivas reales para la especie, además de definir con mayor precisión en qué etapa de vida de los individuos es que dichas condiciones resultan más determinantes.

Existen distintos métodos para caracterizar de mejor manera los polimorfismos moleculares encontrados en este estudio, así como experimentos para poner a prueba las señales adaptativas aquí encontradas. Como parte de los primeros procedimientos, sería posible aislar los fragmentos candidatos con el fin de realizar su secuenciación para una búsqueda posterior de genes similares (BLAST). De no encontrarse identidad con genes conocidos, los métodos de secuenciación de nueva generación podrían servir para ampliar la longitud de los fragmentos candidatos o encontrar un mayor número de marcadores con los cuáles investigar hipótesis de desequilibrio de ligamiento. Este tipo de estudios nos permitiría determinar con mayor exactitud si nuestros fragmentos candidatos son en sí los genes bajo selección, si se trata de regiones cercanas o si forman parte de un conjunto o red de genes que funcionan como una unidad que confiera adaptación, para lo que no se requiere necesariamente cercanía física entre las regiones participantes. Este patrón de segregación involucraría la herencia de conjuntos de genes que deberían ser diferentes entre los dos grupos genéticos aquí encontrados.

Para poner a prueba las señales adaptativas detectadas en este trabajo se pueden realizar experimentos con un carácter mucho más ecológico. El primero de ellos, comúnmente utilizado para identificar diferencias en la adecuación de organismos pertenecientes a poblaciones o regiones geográficas distintas, son los trasplantes recíprocos de individuos (Declerck *et al.* 2001, Nuismer & Gandon 2008, Ridell *et al.* 2015). Este tipo de experimentos consiste únicamente en intercambiar individuos con características conocidas y previamente identificadas entre poblaciones (en este caso Norte-Sur o sobre el gradiente altitudinal) y analizar su adecuación y supervivencia en las nuevas

localidades. Aunque este tipo de experimentos generalmente utiliza características físicas diferenciales entre grupos, la información generada en este estudio nos permitiría utilizar individuos caracterizados genéticamente para evaluar el papel de los *outliers* genéticos detectados entre regiones, así como utilizar genotipos neutrales para evaluar su potencial adaptativo. De existir adaptaciones locales a su lugar de origen, lo que podría traducirse en fuertes presiones selectivas que impidan el establecimiento de individuos externos, los individuos trasplantados no podrán sobrevivir en las nuevas localidades o mostrarán una disminución notable en su adecuación.

Asímismo, existen dos tipos de experimentos o pruebas que se podrían realizar en instalaciones de laboratorio. La primera de ellas consiste, cómo ya se mencionó, en recrear de la mejor manera posible las condiciones que se presentan en cada localidad, someter a algunos individuos con genotipos conocidos a las condiciones que enfrentarían en las localidades ajenas y evaluar su desempeño y adecuación. La segunda opción nos permite determinar con un poco más de precisión la existencia de diferencias adaptativas entre localidades y consiste en el análisis de capacidades físicas, fisiológicas o conductuales a partir de experimentos controlados para determinar posteriormente su composición genética. Como parte de las pruebas realizadas en este trabajo se intentó llevar a cabo una evaluación de características fisiológicas entre individuos de diferentes poblaciones. Algunas de estas comprendían la temperatura mínima crítica de los individuos, la temperatura preferida, los periodos de actividad y medidas morfológicas. Desafortunadamente fue imposible evaluar estas características, pues los individuos parecían no responder bien al ser extraídos de sus poblaciones y morían al poco tiempo de llegar a la Ciudad de México al no poder mantenerlas en condiciones de alimentación, temperatura y humedad adecuadas. Los resultados obtenidos sobre morfología y temperatura mínima crítica para algunas poblaciones se presentan en el Anexo I.

Respecto a las medidas morfológicas consideradas, longitud y anchura del cráneo, longitud hocico cloaca y longitud total, no se observaron diferencias significativas entre poblaciones a diferentes altitudes; sin embargo, es posible observar una ligera tendencia hacia individuos de mayores

proporciones en las poblaciones de mayor altitud. Los datos sobre temperatura mínima crítica se obtuvieron de individuos pertenecientes a dos poblaciones a 750 m s.n.m y no fue posible realizar una comparación entre sitios; por esta razón se presenta únicamente el valor promedio de dicho carácter.

Todas las pruebas antes mencionadas (secuenciación y BLAST, detección de SNPs con métodos de nueva generación, trasplante de individuos y evaluación de respuestas fisiológicas y conductuales) nos ayudarían a evaluar de forma más robusta el papel adaptativo de las diferencias genéticas aquí encontradas y la presencia de adaptaciones locales en la especie para poder determinar mejor el papel de este proceso en la colonización del territorio nacional por parte de *H. frenatus* así como enriquecer el conocimiento sobre el papel general del proceso adaptativo en el éxito o fracaso de las especies invasoras.

CONCLUSIONES

Esta investigación se presenta como una primera aproximación al estado genético de una especie no modelo, invasora y con amplia distribución a nivel mundial. El uso de técnicas generalistas de escaneo genómico permitió proyectar una imagen general del estado genético de las poblaciones de *Hemidactylus frenatus* en una región del país. Es importante recalcar que existen algunas deficiencias en el muestreo que pudieran estar determinando en gran medida los resultados obtenidos y que, además de esto, sería de gran utilidad el desarrollo de un mayor número de marcadores para obtener un panorama más exacto de los resultados obtenidos en esta investigación. A pesar de constituir un primer acercamiento, fue posible obtener información valiosa y generar algunas buenas conclusiones al respecto.

Cómo primera conclusión general, la población de *Hemidactylus frenatus* presenta altos índices de diversidad y una estructuración poblacional media, presentando dos grupos geográficos a lo largo de su distribución en el Pacífico mexicano ($F_{ST}=0.23$). En segundo lugar, no fue posible encontrar

evidencia clara de cambios genéticos adaptativos en la población de *Hemidactylus frenatus* que respondieran a un gradiente altitudinal o a algunas condiciones ambientales que varían a lo largo de dicha distribución, pero fue posible detectar nueve fragmentos candidatos con comportamientos estadísticos particulares respecto al resto de los loci analizados. Seis de estos parecen responder a factores relacionados con la precipitación y tres más muestran una relación con los diferentes grupos geográficos (Norte y Sur). Con estos datos, la distribución mundial del gecko impide descartar completamente la diferenciación adaptativa de las poblaciones a una escala espacial mayor. Por último, las ligeras variaciones morfométricas detectadas entre poblaciones (Anexo I) deberían ser resultado únicamente de plasticidad fenotípica, aunque un mayor número de loci y un muestreo más intenso podrían esclarecer esta hipótesis y confirmar que no existen presiones selectivas importantes para la especie a en la distribución estudiada del Pacífico mexicano.

REFERENCIAS

- Álvarez-Romero, J., R. A. Medellín, H. Gómez de Silva & A. Oliveras de Ita. 2005. *Hemidactylus frenatus*. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto U020. México. D.F.
- Anderson, J. T., M. R. Wagner, C. A. Rushworth, K. V. S. K. Prasad, & T. Mitchell-Olds. 2013. The evolution of quantitative traits in complex environments. *Heredity* 112:4–12.
- Arrigo N, Tuszynski JW, Ehrich D. & Gerdes T, Alvarez N. 2009. Evaluating the impact of scoring parameters on the structure of intra-specific genetic variation using RawGeno, an R package for automating AFLP scoring. *BMC Bioinformatics* doi: 10.1186/1471-2105-10-33.
- Avise, J.C., 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge.
- Balding DJ. 2003. Likelihood-based inference for genetic correlation coefficients. *Theor Popul Biol* 63: 221–230.
- Baldwin, J.M. 1902. *Development and evolution*. Macmillan, New York.
- Beaumont MA. 2005. Adaptation and speciation: What can F_{st} tell us? *Trends Ecol Evol* 20: 435–440.
- Beaumont MA & Nichols RA. 1996. Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proc R Soc Lond B* 263: 1619–1626.
- Bensch, S., & Åkesson, M. 2005. Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals?. *Molecular Ecology*, 14(10), 2899-2914.
- Black IV, W. C., Baer, C. F., Antolin, M. F., & DuTeau, N. M. 2001. Population genomics: genome-wide sampling of insect populations. *Annual review of entomology*, 46(1), 441-469.

- Brown S. G., Lebrun R., Yamasaki J. & Ishii-Thoene D. 2002. Indirect competition between a resident unisexual and an invading bisexual gecko. *Behaviour* 139: 1161–73.
- Bolger D. T. & Case T. J. 1992. Intra- and interspecific interference behaviour among sexual and asexual geckos. *Anim Behav* 44, 21–30.
- Bonin, A., Taberlet, P., Miaud, C., & Pompanon, F. 2006. Explorative genome scan to detect candidate loci for adaptation along a gradient of altitude in the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular Biology and Evolution*, 23(4), 773-783.
- Burns, J.G., Price, A.C., Thomson, J.D., Hughes, K.A. & Rodd, F.H., 2016. Environmental and genetic effects on exploratory behavior of high-and low-predation guppies (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, pp.1-10.
- Caicedo-Portilla R., & Dulcey-Cala C.J. 2011. Distribución del gecko introducido *Hemidactylus frenatus* (Dumeril y Briçon 1836) (Squamata: Gekkonidae) en Colombia. *Biota Colombiana* 12: 45-56
- Canyon D.V. & Hii J. L. K. 1997. The gecko: an environmentally friendly biological agent for mosquito control. *Med Vet Entomol* 11, 319–23.
- Case T. J., Bolger T. & Petren K. 1994. Invasions and competitive displacement among house geckos in the tropical Pacific. *Ecology* 75, 464–77.
- Church G. 1962. The reproductive cycles of the Javanese house geckos, *Cosymbotus platyurus*, *Hemidactylus frenatus*, and *Peropus mutilatus*. *Copeia* 2, 262–9.
- Clusella-Trullas, S. & Chown, S.L., 2014. Lizard thermal trait variation at multiple scales: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 184(1), pp.5-21.
- Cogger H. G., Sadler R. A. & Cameron E. E. 1983. *The Terrestrial Reptiles of Australia's Island Territories*. Special Publication 11. National Parks and Wildlife Service, Canberra.
- Cole N. C., Jones C. G. & Harris S. 2005. The need for enemy-free space: the impact of an

- invasive gecko on island endemics. *Biol Conserv* 125, 467–74.
- CONABIO. 1998. Mapa de división climatológica de México
 - CONABIO. 2015. Sistema de información sobre especies invasoras en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
 - Corander J, Siren J & Arjas E. 2008. Bayesian spatial modeling of genetic population structure. *Computational Statistics*, 23, 111-129.
 - Coyne, J. A., & Orr, H. A. (2004). *Speciation* (Vol. 37). Sunderland, MA: Sinauer Associates.
 - Csurhes S. & Markula A. 2009. Pest Animal Risk Assessment: Asian House Gecko *Hemidactylus frenatus*. Queensland Primary Industries and Fisheries report, June 2009, Department of Employment, Economic Development and Innovation.
 - Darwin, C. 1859. *The origin of species by means of natural selection*
 - Das I. 2006. *Snakes and Other Reptiles of Borneo*. New Holland, London
 - David, J.R. & Bocquet, C., 1975. Similarities and differences in latitudinal adaptation of two *Drosophila* sibling species.
 - Declerck, S., Cousyn, C. & De Meester, L., 2001. Evidence for local adaptation in neighbouring *Daphnia* populations: a laboratory transplant experiment. *Freshwater Biology*, 46(2), pp.187-198.
 - Dlugosch K.M. & Parker I.M. 2008. Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* 17: 431–449.
 - Ehrich, D. 2006. AFLPdat: a collection of R functions for convenient handling of AFLP data. *Mol. Ecol. Notes*, 6, 603-604.
 - Endler, J. A. 1977. *Geographic variation, speciation, and clines* (No. 10). Princeton University Press.
 - Endler, J. A. 1986. *Natural selection in the wild* (No. 21). Princeton University Press.

- Excoffier, L. & H.E. L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Excoffier, L., Hofer, T., & Foll, M. 2009. Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity*, 103(4), 285-298.
- Farr William L. 2011. Distribution of *Hemidactylus frenatus* in Mexico. *Southwestn Nat* 56:265-273
- Fitzpatrick, S.W., Gerberich, J.C., Kronenberger, J.A., Angeloni, L.M. & Funk, W.C., 2015. Locally adapted traits maintained in the face of high gene flow. *Ecology letters*, 18(1), pp.37-47.
- Fleagle, J. G. 2013. *Primate Adaptation and Evolution*: 3rd Ed. Academic Press.
- Foll, M & O.E. Gaggiotti. 2008. A genome scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: A Bayesian perspective. *Genetics* 180: 977-99
- Francis, R. C. 2012. *Epigenetics: How environment shapes our genes*. WW Norton & Company
- Fraser, B.A., Künstner, A., Reznick, D.N., Dreyer, C. & Weigel, D., 2015. Population genomics of natural and experimental populations of guppies (*Poecilia reticulata*). *Molecular ecology*, 24(2), pp.389-408.
- Freedman, A. H., Thomassen, H. A., Buermann, W., & Smith, T. B. 2010. Genomic signals of diversification along ecological gradients in a tropical lizard. *Molecular Ecology*, 19(17), 3773-3788.
- Frichot E, Schoville SD, Bouchard G & Francois O. 2013. Testing for associations between loci and environmental gradients using latent factor mixed models. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (7), 1687-1699
- Funk, D.J., Nosil, P. & Etges, W.J., 2006. Ecological divergence exhibits consistently positive

associations with reproductive isolation across disparate taxa. PNAS 103, 3209–3213.

- Futuyma, D. 2013. Evolution. Sinauer Associates, Inc.
- Geerts, A.N., De Meester, L. & Stoks, R., 2015. Heat tolerance and its evolutionary potential along a latitudinal gradient in *Daphnia magna*. Evolutionary Ecology Research, 16(6), pp.517-528.
- Glor, R. E., Kolbe, J. J., Powell, R., Larson, A., & Losos, J. B. 2003. Phylogenetic analysis of ecological and morphological diversification in Hispaniolan trunk-ground anoles (*Anolis cybotes* group). Evolution, 57(10), 2383-2397.
- Greer A. E. 1989. The Biology and Evolution of Australian Lizards. Surrey Beatty, Sydney.
- Gvoždík, L., & Castilla, A. M. 2001. A comparative study of preferred body temperatures and critical thermal tolerance limits among populations of *Zootoca vivipara* (Squamata: Lacertidae) along an altitudinal gradient. Journal of Herpetology, 486-492.
- Hedrick, P. W. 2011. Genetics of populations. Jones & Bartlett Learning.
- Hertz, P. E. 1992. Adaptation to altitude in two West Indian anoles (Reptilia: Iguanidae): field thermal biology and physiological ecology. J. Zool., Lond, 195125-37.
- Hickerson MJ, Carstens BC, Cavender-Bares J, Crandall KA, Graham CH, Johnson JB, Rissler LJ, Victoriano PF & Yoder AD. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. Mol Phylogenet Evol 54:291–301
- Hoskin, Conrad J. 2011. The invasión and potential impact of the Asian House Gecko (*Hemidactylus frenatus*) in Australia. Austral Ecology 36, 240-251.
- Huang, S. P., Hsu, Y., & Tu, M. C. 2006. Thermal tolerance and altitudinal distribution of two *Sphenomorphus* lizards in Taiwan. Journal of Thermal Biology, 31(5), 378-385.
- Husband G. A. 1980. A note on egg-laying by *Hemidactylus frenatus* (house gecko) in Darwin. Herpetofauna 12, 36.

- Huxley, J. 1942. *Evolution: the modern synthesis*.
- Ibrahim K.M., Nichols R.A. & Hewitt G.M. 1996. Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion. *Heredity* 77: 282–291.
- Jablonka, E. & Lamb, M.J., 2005. *Evolution in four dimensions: Genetic. Epigenetic, Behav.*
- Joost, S., Kalbermatten, M., & Bonin, A. 2008. Spatial analysis method (SAM): a software tool combining molecular and environmental data to identify candidate loci for selection. *Molecular Ecology Resources*, 8(5), 957-960.
- Jordan, M.A. & Snell, H.L., 2008. Historical fragmentation of islands and genetic drift in populations of Galápagos lava lizards (*Microlophus albemarlensis* complex). *Molecular Ecology*, 17(5), pp.1224-1237.
- Keller I., Taverna A. & Seehausen O. 2010. Evidence of neutral and adaptive genetic divergence between European trout populations sampled along altitudinal gradients. *Mol Ecol* 20:1888–1904
- Klopstein S., Currat M. & Excoffier L. 2006. The fate of mutations surfing on the wave of a range expansion. *Molecular Biology and Evolution* 23: 482–490.
- Kolbe J.J., Glor R.E., Schettino L.R.G., Lara A.C., Larson A, et al. 2004. Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431:177–181.
- Krysko K. L., Sheehy C. M. III & Hooper A. N. 2003. Interspecific communal oviposition and reproduction of four species of lizards (Sauria: Gekkonidae) in the lower Florida Keys. *Amphib-reptil.* 24, 390–6.
- Lever, C. 2006. *Naturalized Reptiles and Amphibians of the World*. Oxford University Press, NewYork.
- Lewontin, R. C., & Krakauer, J. 1973. Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms. *Genetics*, 74(1), 175-195.

- Liao, W. B., & Lu, X. 2011. Variation in body size, age and growth in the Omei Treefrog (*Rhacophorus omeimontis*) along an altitudinal gradient in western China. *Ethology Ecology & Evolution*, 23(3), 248-261.
- Losos, J. B. 2009. *Lizards in an evolutionary tree: ecology and adaptive radiation of anoles* (Vol. 10). Univ of California Press.
- Lotterhos, K. E., & Whitlock, M. C. 2015. The relative power of genome scans to detect local adaptation depends on sampling design and statistical method. *Molecular ecology*, 24(5), 1031-1046.
- Luquet, E., Léna, J. P., Miaud, C., & Plénet, S. 2015. Phenotypic divergence of the common toad (*Bufo bufo*) along an altitudinal gradient: evidence for local adaptation. *Heredity*, 114(1), 69-79.
- Mackay, T. F., Stone, E. A., & Ayroles, J. F. 2009. The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics*, 10(8), 565-577.
- Merilä, J. & Hendry, A. P. 2014. Climate change, adaptation, and phenotypic plasticity: the problem and the evidence. *Evolutionary Applications*, 7: 1–14. doi: 10.1111/eva.12137.
- Meudt, H. M., & Clarke, A. C. 2007. Almost forgotten or latest practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in plant science*, 12(3), 106-117.
- Mila, B., Carranza, S., Guillaume, O. & Clobert, J., 2010. Marked genetic structuring and extreme dispersal limitation in the Pyrenean brook newt *Calotriton asper* (Amphibia: Salamandridae) revealed by genome- wide AFLP but not mtDNA. *Molecular Ecology*, 19(1), pp.108-120.
- Mita, S., Thuillet, A. C., Gay, L., Ahmadi, N., Manel, S., Ronfort, J., & Vigouroux, Y. 2013. Detecting selection along environmental gradients: analysis of eight methods and their effectiveness for outbreeding and selfing populations. *Molecular ecology*, 22(5), 1383-1399.

- Moritz, C., Case, T.J., Bolger, D.T. & Donnellan, S., 1993. Genetic diversity and the history of Pacific island house geckos (*Hemidactylus* and *Lepidodactylus*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 48(2), pp.113-133.
- Muñoz, M. M., Crawford, N. G., McGreevy, T. J., Messana, N. J., Tarvin, R. D., Revell, L. J., ... & Schneider, C. J. 2013. Divergence in coloration and ecological speciation in the *Anolis marmoratus* species complex. *Molecular ecology*, 22(10), 2668-2682.
- Murphy-Walker S. & Haley S. R. 1996. Functional sperm storage duration in female *Hemidactylus frenatus* (Family Gekkonidae). *Herpetologica* 52, 365–73.
- Nelder, J. A., & Baker, R. J. 1972. Generalized linear models. *Encyclopedia of Statistical Sciences*.
- Nelson- Tunley, M., Morgan- Richards, M. & Trewick, S.A., 2016. Genetic diversity and gene flow in a rare New Zealand skink despite fragmented habitat in a volcanic landscape. *Biological Journal of the Linnean Society*.
- Nuismer, S.L. & Gandon, S., 2008. Moving beyond common- garden and transplant designs: insight into the causes of local adaptation in species interactions. *The American Naturalist*, 171(5), pp.658-668.
- Nunes, V.L., Beaumont, M.A., Butlin, R.K. & Paulo, O.S., 2011. Multiple approaches to detect outliers in a genome scan for selection in ocellated lizards (*Lacerta lepida*) along an environmental gradient. *Molecular Ecology*, 20(2), pp.193-205.
- Nunes, V. L., Beaumont, M. A., Butlin, R. K., & Paulo, O. S. 2012. Challenges and pitfalls in the characterization of anonymous outlier AFLP markers in non-model species: lessons from an ocellated lizard genome scan. *Heredity*, 109(6), 340-348.
- Nylin, S. & Svärd, L., 1991. Latitudinal patterns in the size of European butterflies. *Ecography*, 14(3), pp.192-202.

- Ota H. 1994. Female reproductive cycles in northernmost populations of the two gekkonid lizards, *Hemidactylus frenatus* and *Lepidodactylus lugubris*. *Ecol. Res.* 9, 121–30.
- Peterson, B.K., Weber, J.N., Kay, E.H., Fisher, H.S. & Hoekstra, H.E., 2012. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one*, 7(5), p.e37135.
- Petren, K., & Case, T. J. (1998). Habitat structure determines competition intensity and invasion success in gecko lizards. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(20), 11739-11744.
- Pope, C. H. 1935. The reptiles of China: turtles, crocodiles, snakes, lizards. *American Museum of Natural History, Natural History of Central Asia* 10:1–604.
- Ramakrishnan A.P., Musial T. & Cruzan M.B. 2010. Shifting dispersal modes at an expanding species' range margin. *Molecular Ecology* 19: 1134–1146.
- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL: <http://www.R-project.org>.
- Reguera, Senda, Francisco J. Zamora-Camacho & Gregorio Moreno-Rueda. 2014. The lizard *Psammodromus algirus* (Squamata: Lacertidae) is darker at high altitudes. *Biological Journal of the Linnean Society* 112.1 : 132-141.
- Reznick, D. & Endler, J.A., 1982. The impact of predation on life history evolution in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Evolution*, pp.160-177.
- Reznick, D.N. & Bryga, H., 1987. Life-history evolution in guppies (*Poecilia reticulata*): 1. Phenotypic and genetic changes in an introduction experiment. *Evolution*, pp.1370-1385.
- Riddell, E.A., Plaskon, J., Apanovitch, E.K. & Sears, M.W., 2015, April. Reciprocal transplant of salamanders reveals potential local adaptation of acclimatization of water loss rates. In

INTEGRATIVE AND COMPARATIVE BIOLOGY (Vol. 55, pp. E152-E152). JOURNALS DEPT, 2001 EVANS RD, CARY, NC 27513 USA: OXFORD UNIV PRESS INC.

- Runemark, A., Hansson, B., Pafilis, P., Valakos, E.D. & Svensson, E.I., 2010. Island biology and morphological divergence of the Skyros wall lizard *Podarcis gaigeae*: a combined role for local selection and genetic drift on color morph frequency divergence?. *BMC evolutionary biology*, 10(1), p.1.
- Rzedowski, J. 1988. *La vegetación de México*. Limusa, México.
- Savolainen, O., Lascoux, M. & Merilä, J., 2013. Ecological genomics of local adaptation. *Nature Reviews Genetics*, 14(11), pp.807-820.
- Sax, D. F., Stachowicz, J.J. & Gaines S.D. 2005. *Species invasion: Insights into ecology, evolution and biogeography*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. USA.
- Schlüter, P. M. & Harris, S. A., 2006. Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data, *Mol. Ecol. Notes*: 6: 569-572.
- Short, K.H. & Petren, K., 2011. Multimodal dispersal during the range expansion of the tropical house gecko *Hemidactylus mabouia*. *Ecology and evolution*, 1(2), pp.181-190.
- Simberloff, D., 2009. The role of propagule pressure in biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, pp.81-102.
- Slatkin, M., & Voelm, L. 1991. F_{ST} in a hierarchical island model. *Genetics*, 127(3), 627-629.
- Stuart, Y. E., Campbell, T. S., Hohenlohe, P. A., Reynolds, R. G., Revell, L. J., & Losos, J. B. 2014. Rapid evolution of a native species following invasion by a congener. *Science*, 346(6208), 463-466.
- Tiffin, P. & Ross-Ibarra, J. 2014. Advances and limits of using population genetics to understand local adaptation. *Trends in ecology & evolution*, 29(12), pp.673-680.
- Tigano, A. & Friesen, V.L., 2016. Genomics of local adaptation with gene flow. *Molecular*

ecology.

- Tonione, M.A., Reeder, N. & Moritz, C.C., 2011. High genetic diversity despite the potential for stepping-stone colonizations in an invasive species of gecko on Moorea, French Polynesia. *PloS one*, 6(11), p.e26874.
- van Berkum, F.H., 1988. Latitudinal patterns of the thermal sensitivity of sprint speed in lizards. *American Naturalist*, pp.327-343.
- Varshney, R. K., Chabane, K., Hendre, P. S., Aggarwal, R. K., & Graner, A. 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Science*, 173(6), 638-649.
- Vekemans X., T. Beauwens, M. Lemaire & I. Roldan Ruiz, 2002. Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size. *Molecular Ecology*, 11, 139-151.
- Velasco, J. A., Martínez-Meyer, E., Flores-Villela, O., García, A., Algar, A. C., Köhler, G., & Daza, J. M. 2016. Climatic niche attributes and diversification in *Anolis* lizards. *Journal of Biogeography*, 43(1), 134-144.
- Vera, C., Wheat, C.W., Fescemyer, H.W., Frilander, M.J., Crawford, D.L., Hanski, I., Marden, J.H., 2008. Rapid transcriptome characterization for a non-model organism using massively parallel 454 pyrosequencing. *Mol. Ecol.* 2371.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M & Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23, 4407–4414.
- Waddington, C.H., 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, 150(3811), pp.563-565.

- Waddington, C.H., 1953. Genetic assimilation of an acquired character. *Evolution*, pp.118-126.
- West-Eberhard, M.J. 2003. *Developmental plasticity and evolution*. Oxford University Press.
- Wheeler, W.M. 1910. *Ants*. Columbia University Press, New York
- Willig, M.R., Kaufman, D.M. & Stevens, R.D., 2003. Latitudinal gradients of biodiversity: pattern, process, scale, and synthesis. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, pp.273-309.
- Willson, M.F. 1984. *Vertebrate Natural History*. Saunders College Publishing, Philadelphia
- Wilson S. K. 2006. *Asian House Geckos: Fact Sheet*. Queensland Museum, Brisbane. Available from URL: http://www.qm.qld.gov.au/inquiry/factsheets/Geckos_20070605.pdf
- Wood, H. M., Grahame, J. W., Humphray, S., Rogers, J., & Butlin, R. K. 2008. Sequence differentiation in regions identified by a genome scan for local adaptation. *Molecular Ecology*, 17(13), 3123-3135.
- Yamamoto Y. & Ota H. 2006. Long-term functional sperm storage by a female Common House Gecko, *Hemidactylus frenatus*, from the Ryukyu Archipelago, Japan. *Curr. Herpetol.* 25, 39–40.

ANEXO I

En las poblaciones de Melaque y Guayabitos (0m s.n.m) y Minatitlán y Amatlán de Cañas (750m s.n.m.) se tomaron medidas morfológicas de algunos individuos colectados. Éstas consistieron en la longitud total (LT), la longitud hocico-cloaca (HC), la longitud del cráneo (LC) y la anchura del cráneo (AC) en milímetros.

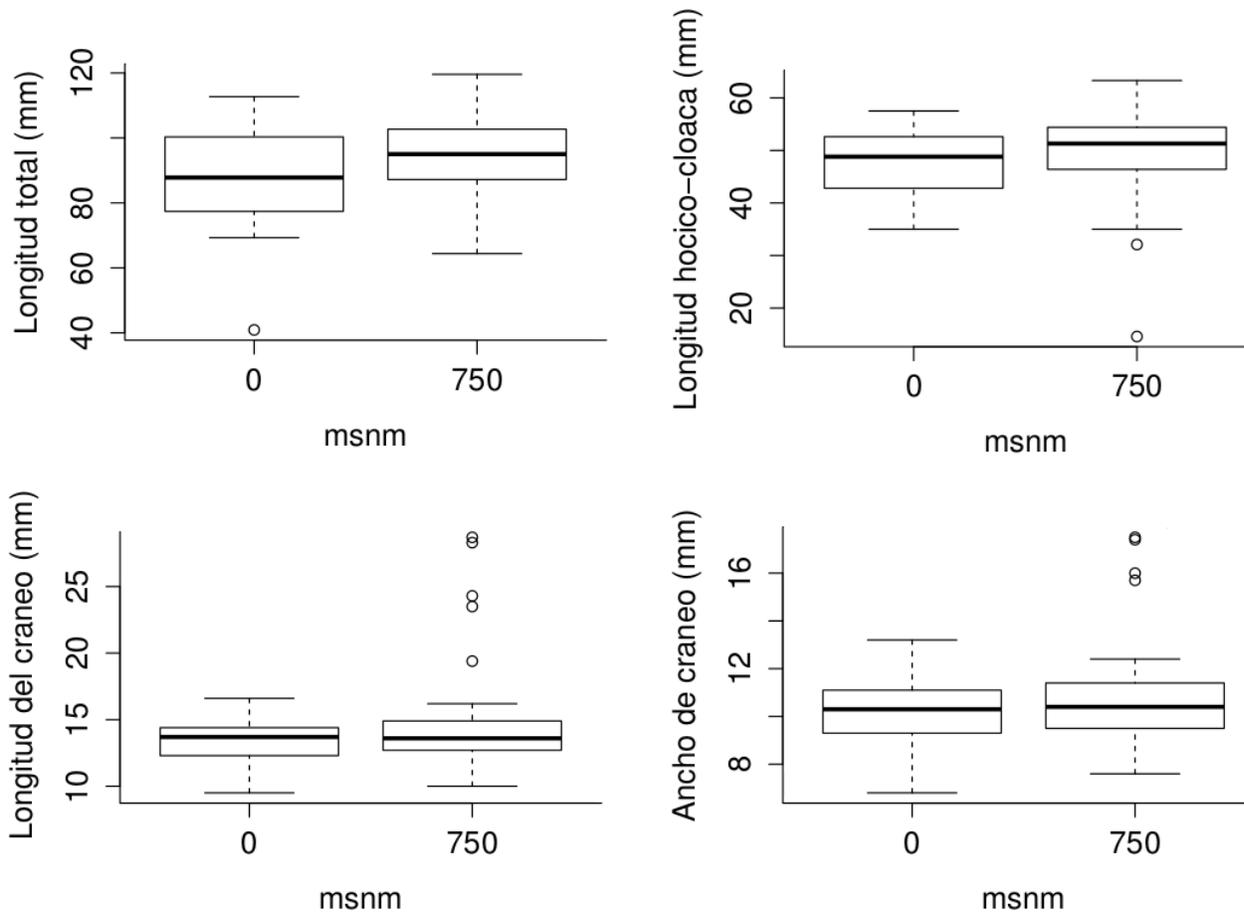


Figura 1. Medidas morfológicas tomadas para dos poblaciones de *Hemidactylus frenatus* en el Pacífico mexicano. Aunque ninguna muestra diferencias significativas, los individuos a 750m parecen ser ligeramente más grandes que aquellos a nivel del mar

En la población de Amatlán de Cañas también se tomaron medidas de respuesta fisiológica al frío. Se investigó la temperatura mínima crítica de la especie mediante un enfriamiento progresivo de los individuos. Esta se consideró en el momento en que los individuos eran incapaces de voltearse si eran colocados boca abajo, un reflejo natural de sobrevivencia. La temperatura mínima crítica se acerca a la temperatura de muerte en algunas especies de reptiles y está por debajo de la temperatura metabólica óptima (alrededor de 17° C para *H. frenatus*).

Las medidas obtenidas fueron las siguientes: 12.8, 10.6, 11.1, 10.0, 14.3, 12.8, 12.6, 13.5, 14.2, 14.0, 12.8, 14.0, 13.9 y 12.6. La media de la temperatura mínima crítica obtenida de catorce individuos fue de 12.8° C, poco más de 4° C por debajo de la temperatura metabólica óptima de la especie. Estos factores (temperatura metabólica óptima y temperatura mínima crítica) podrían representar una limitante para el establecimiento de la especie en lugares donde la temperatura descienda por debajo de los 17° C por periodos prolongados de tiempo.

ANEXO II

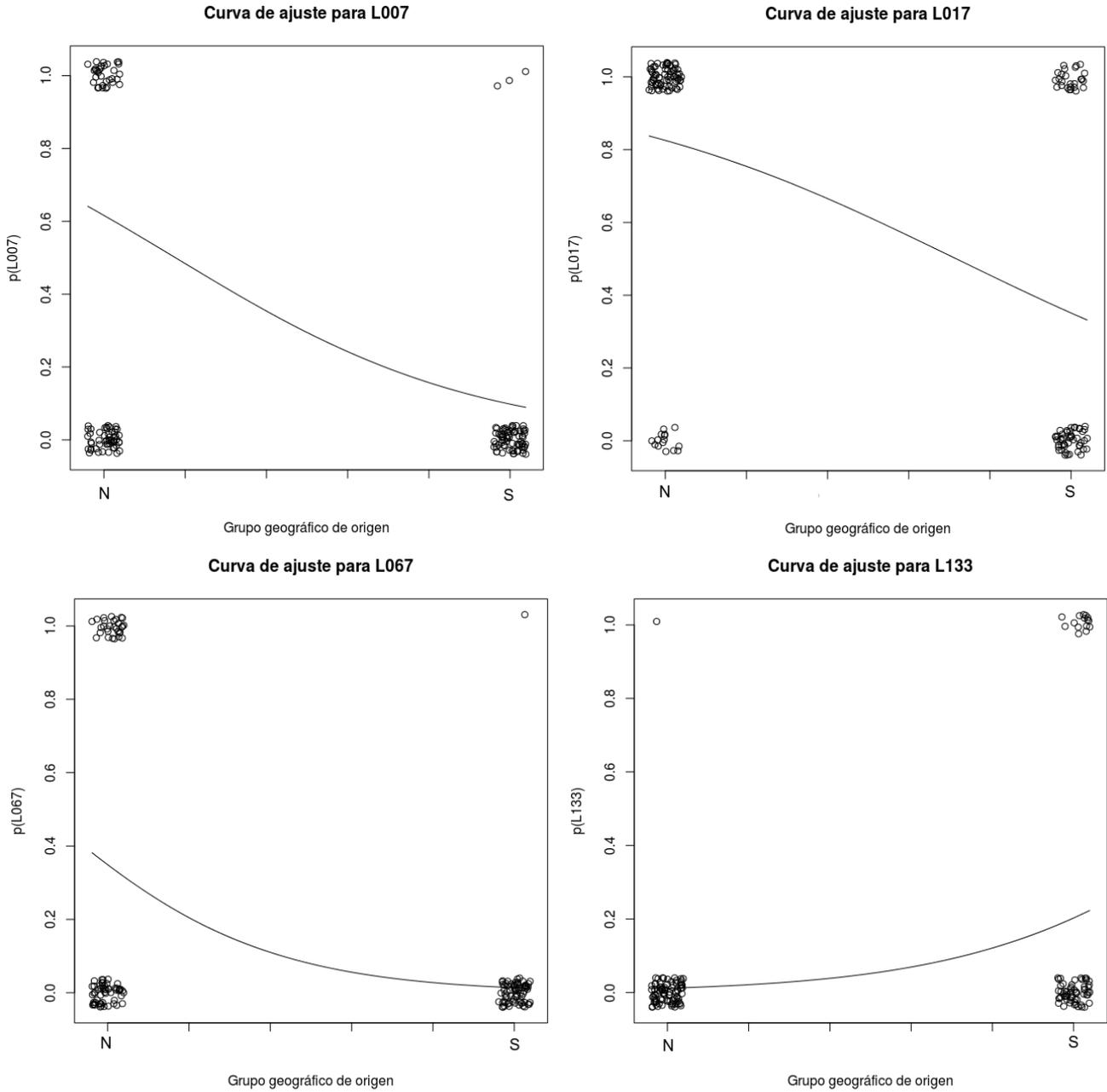
Los valores numéricos para las comparaciones pareadas de F_{ST} para los grupos encontrados por BAPS se muestran en la Tabla 1. Las poblaciones que forman el grupo Sur se muestran en color verde, las del grupo norte en color rojo y aquellas señaladas con color amarillo, fueron agrupadas en su respectivo vecindario local pero muestran valores de F_{ST} pareados ligeramente mayores a los que presentan con el resto del grupo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	-										
2	0.04302	-									
3	0.04768	0.03011	-								
4	0.08486	0.05985	0.02637	-							
5	0.15668	0.08495	0.04864	0.02331	-						
6	0.13292	0.14383	0.1422	0.16743	0.21712	-					
7	-0.0296	0.10339	0.09559	0.13569	0.19685	0.05947	-				
8	-0.0443	0.10725	0.12773	0.14762	0.22129	0.10235	0.03065	-			
9	0.0823	0.12017	0.10729	0.14255	0.19612	0.14048	0.10152	0.10833	-		
10	0.2008	0.15427	0.14003	0.18858	0.23971	0.19169	0.14056	0.14043	0.04209	-	
11	0.0115	0.0943	0.07456	0.11639	0.16549	0.11233	0.05427	0.07265	0.29965	0.02889	-

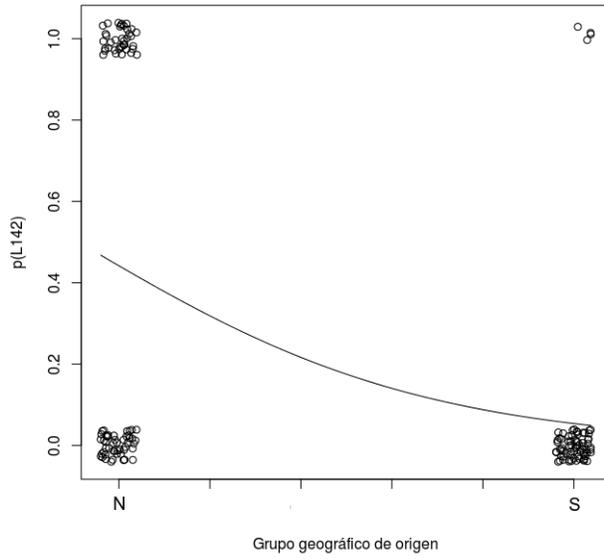
Tabla 2. Valores de F_{ST} pareadas entre poblaciones. Los pares marcados con color amarillo muestran valores de diferenciación similares a los que muestran con el resto de las poblaciones que no pertenecen al mismo vecindario.

ANEXO III

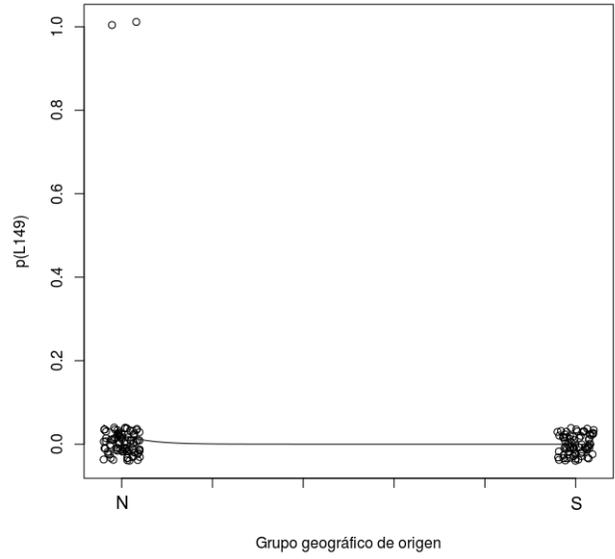
Curvas de regresión logística considerando los grupos geográficos como variable independiente para 12 loci detectados por Arlequín y Bayescan. Todas ellas fueron negativas.



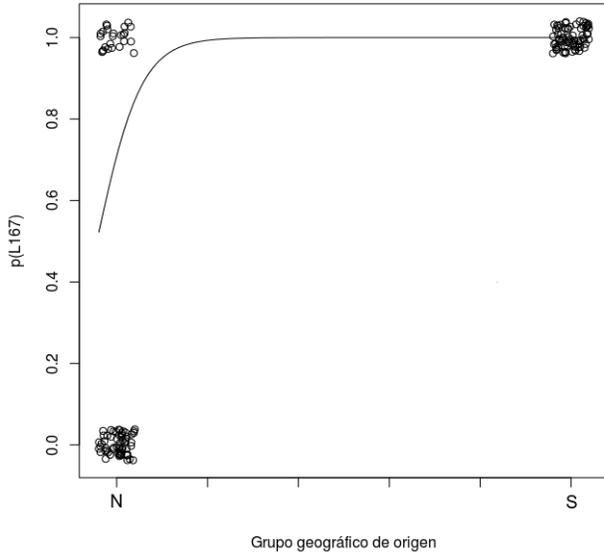
Curva de ajuste para L142



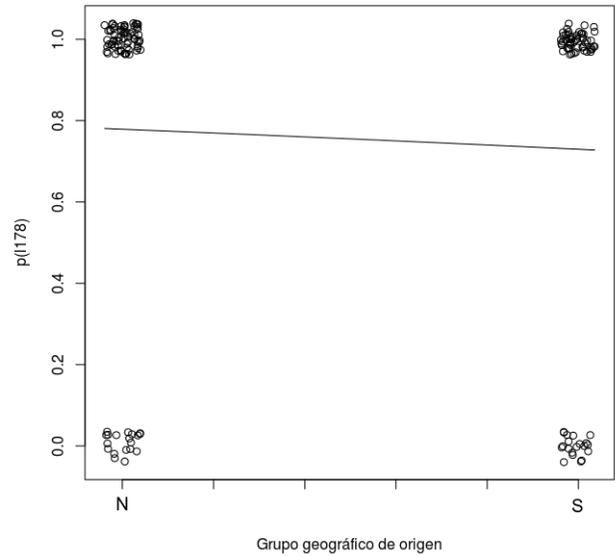
Curva de ajuste para L149



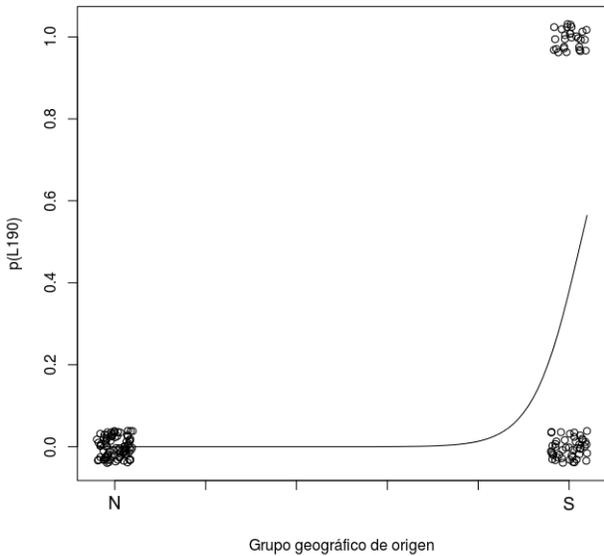
Curva de ajuste para L167



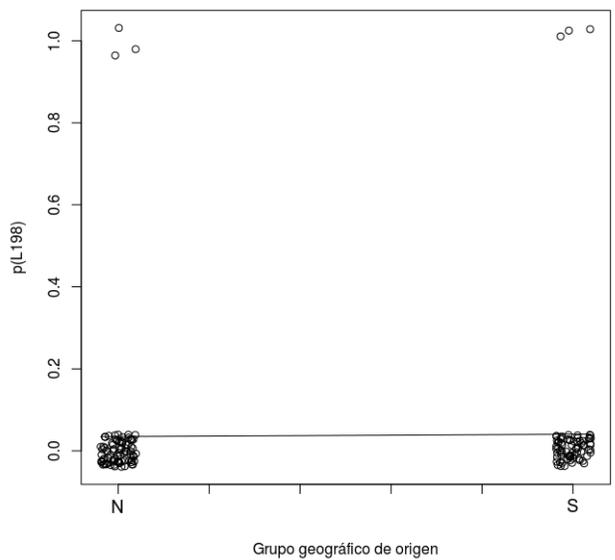
Curva de ajuste para L178



Curva de ajuste para L190

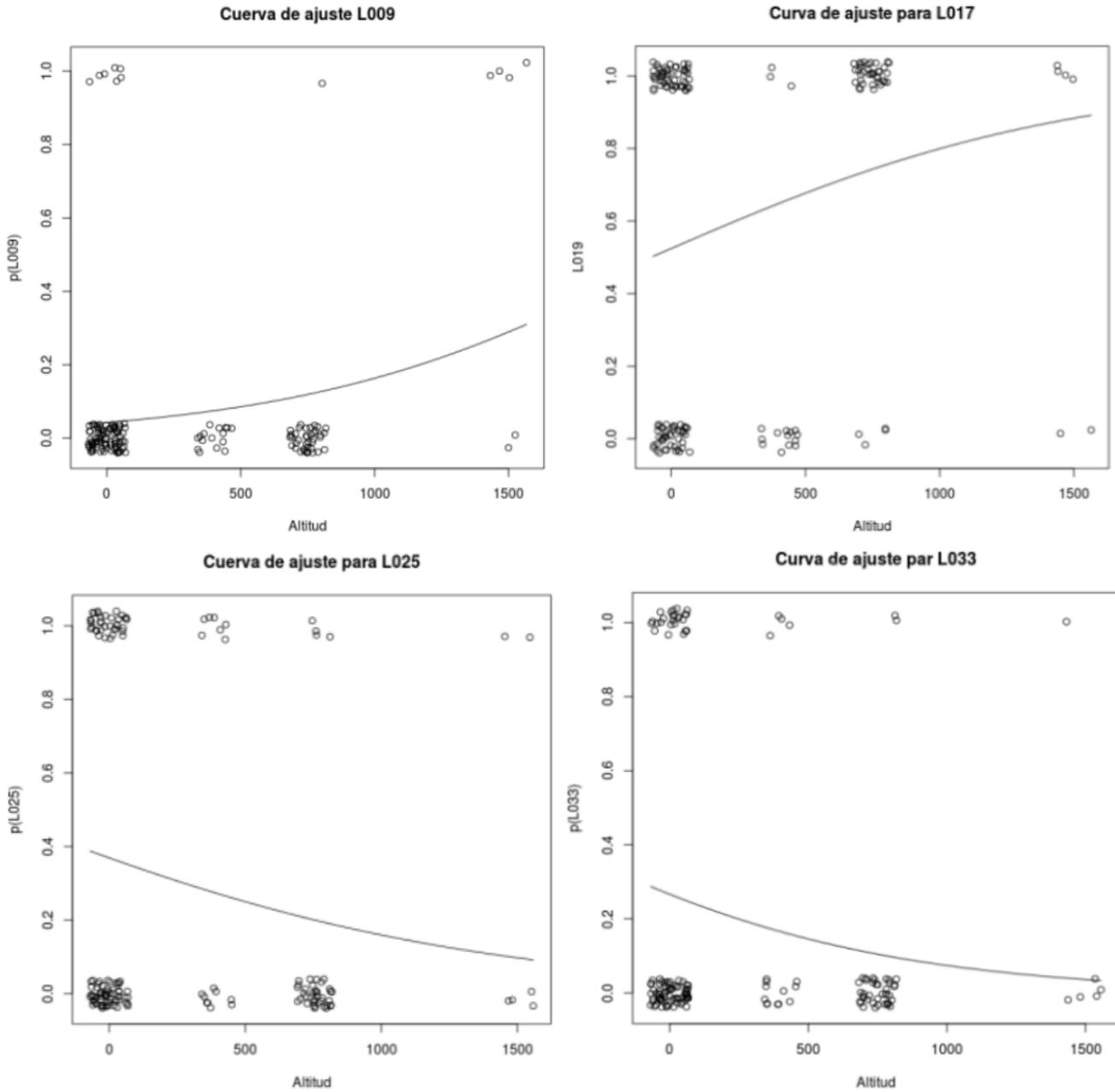


Curva de ajuste para L198

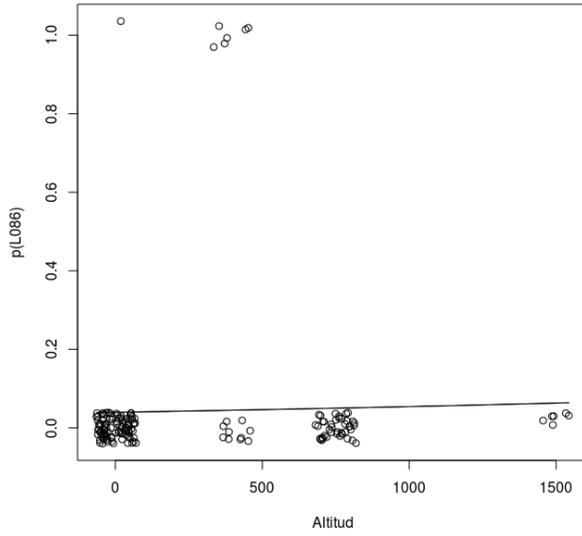


ANEXO IV

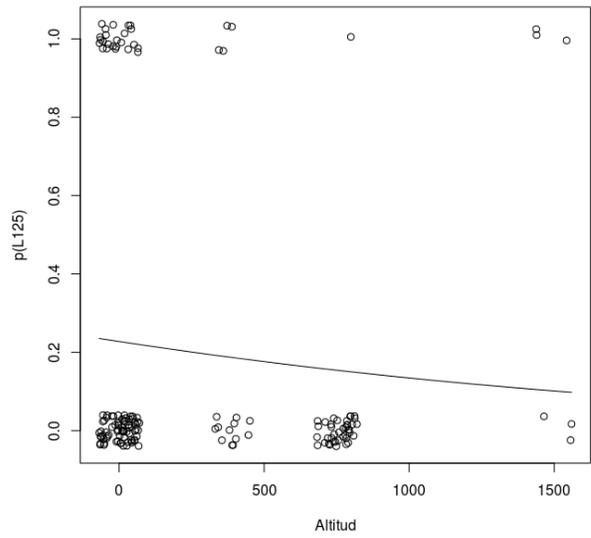
Curvas de regresión logística con la altitud como variable independiente para los 16 loci detectados por Arlequín. Todas ellas fueron negativas.



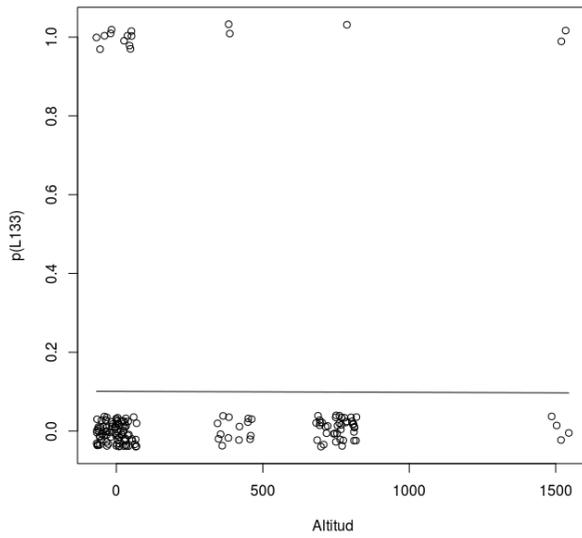
Curva de ajuste para L086



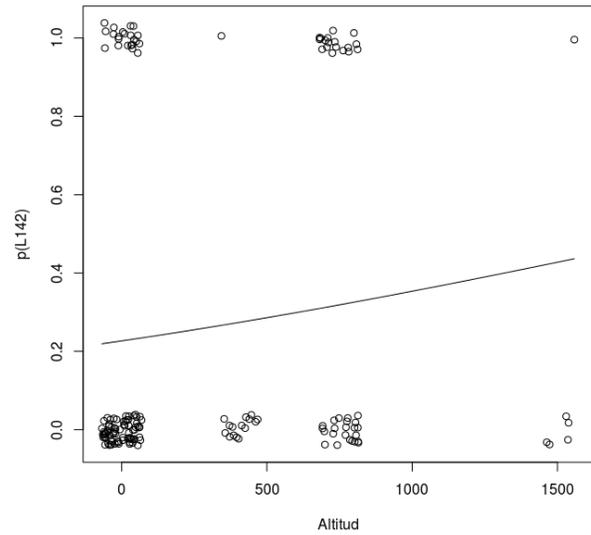
Curva de ajuste para L125



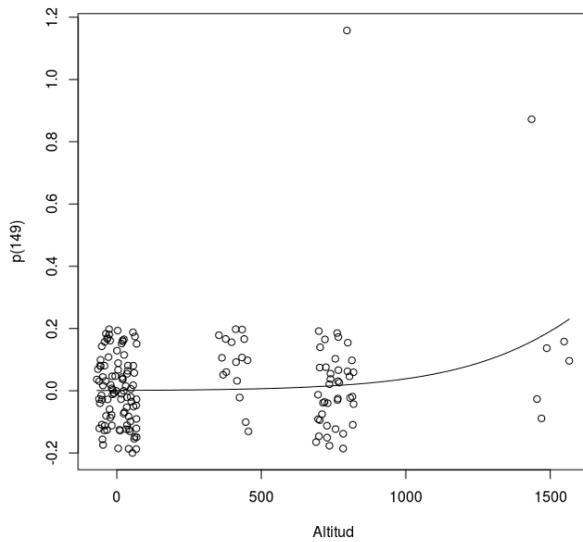
Curva de ajuste para L133



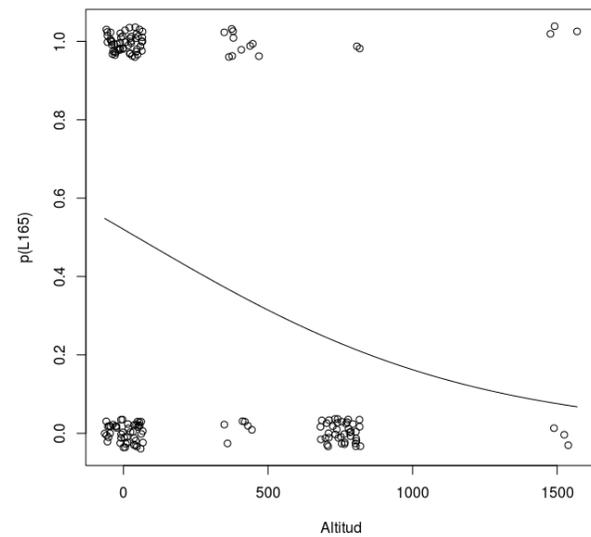
Curva de ajuste para L142



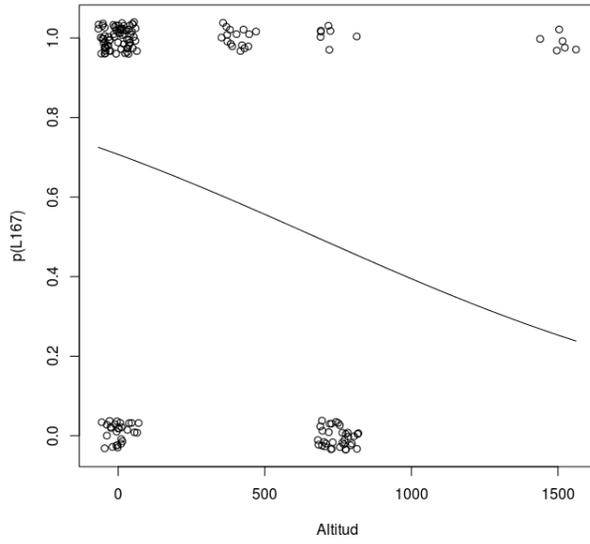
Curva de ajuste para L149



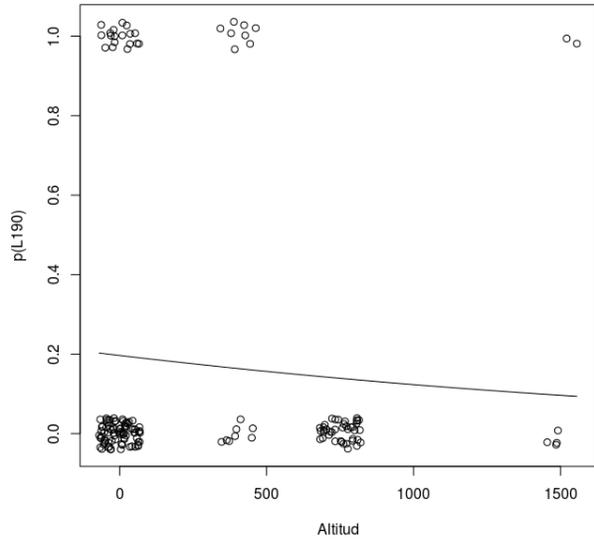
Curva de ajuste para L165



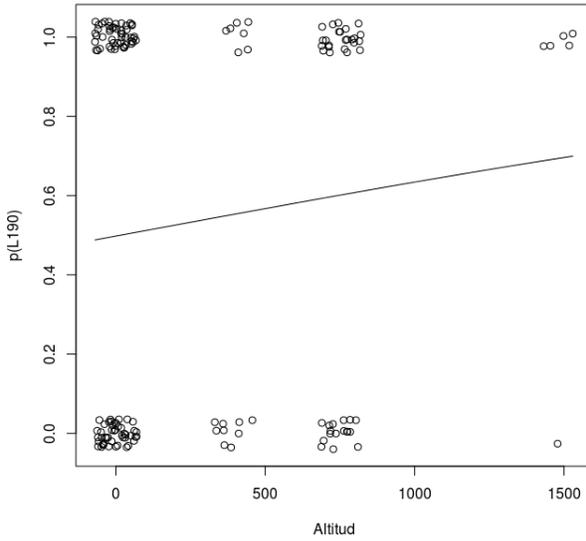
Curva de ajuste para L167



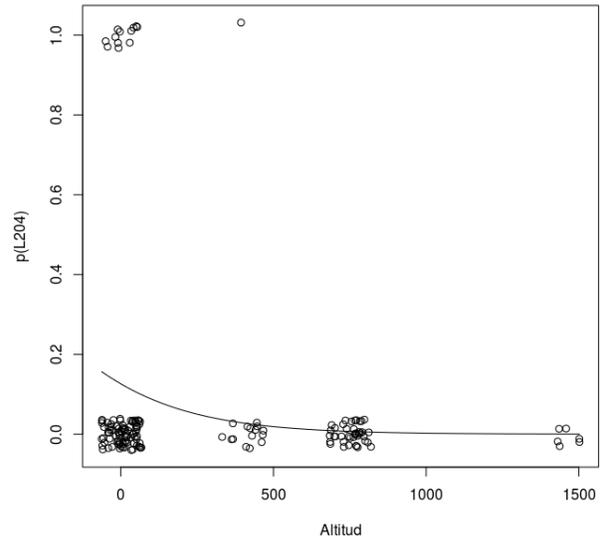
Curva de ajuste para L190



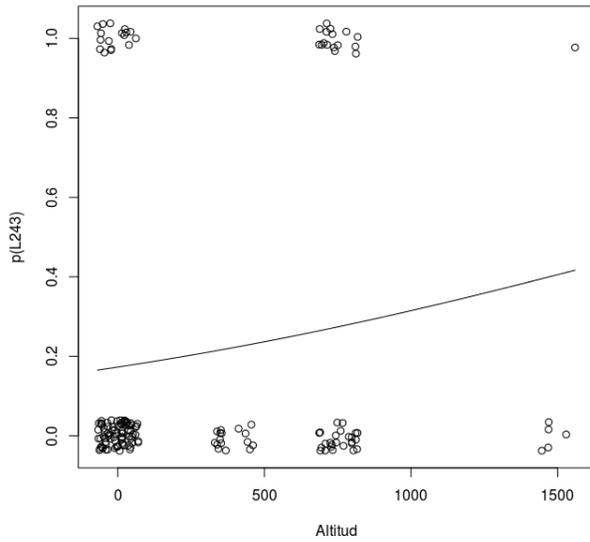
Curva de ajuste para L196



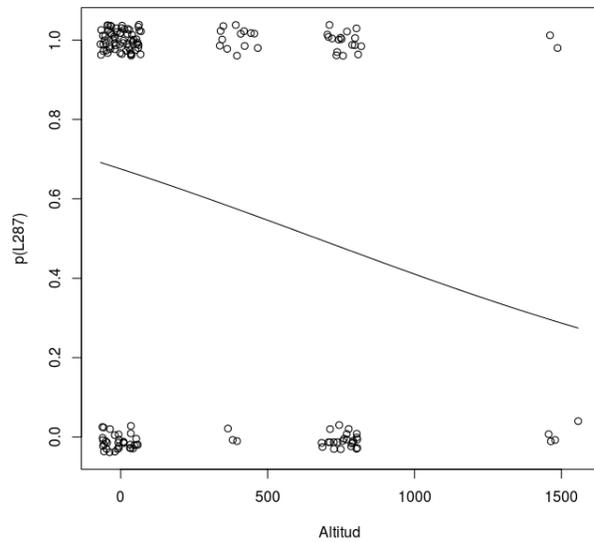
Curva de ajuste para 204



Curva de ajuste para 243



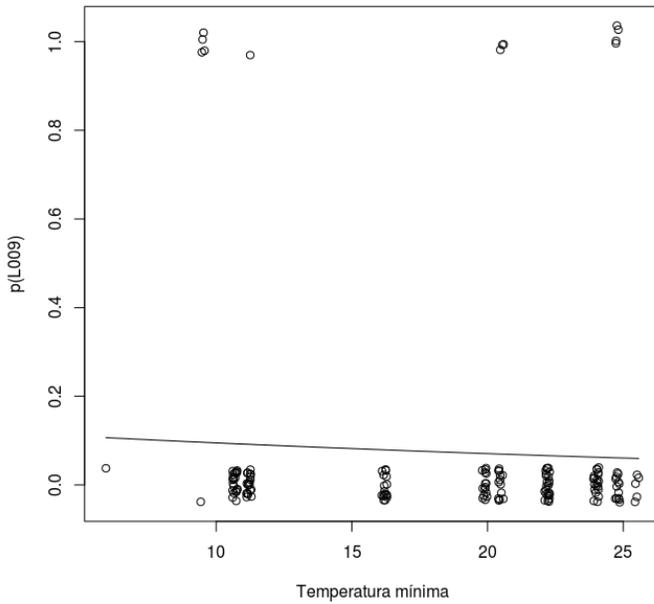
Curva de ajuste para L287



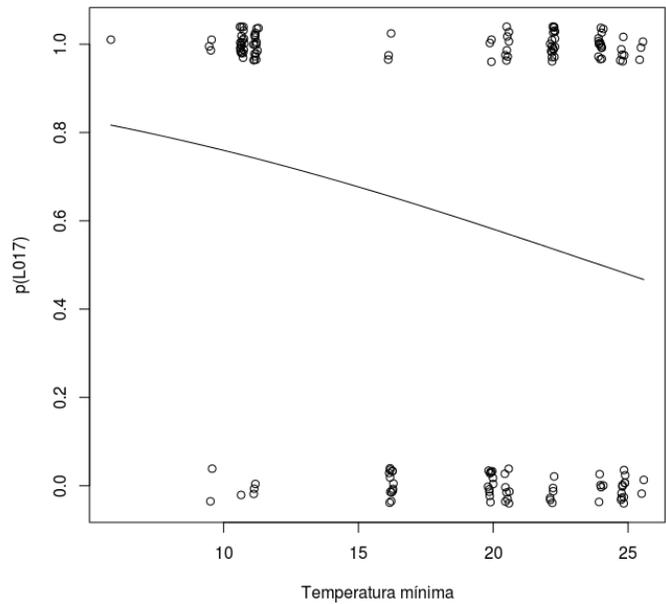
ANEXO V

Curvas de regresión logística con la temperatura mínima promedio del mes más frío como variable independiente para los 16 loci. Todas ellas fueron negativas.

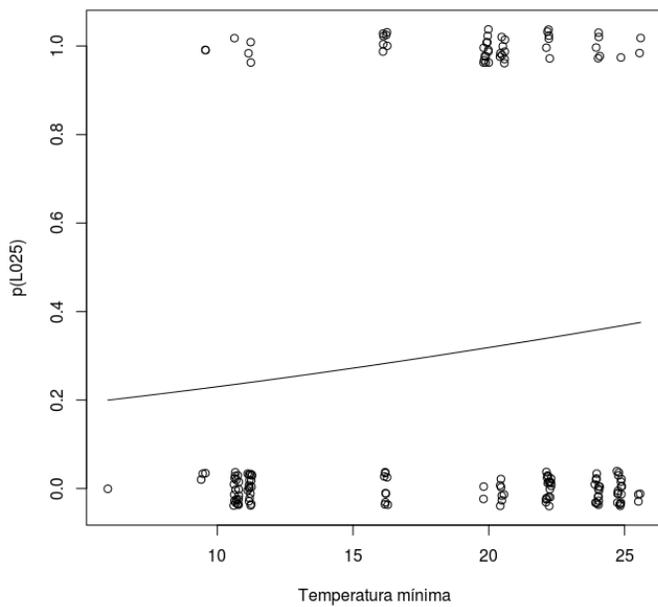
Curva de ajuste para L009



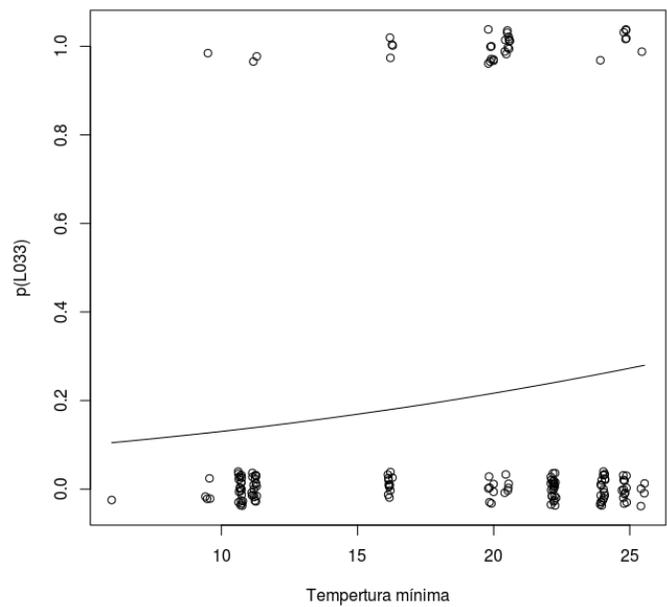
Curva de ajuste para L017



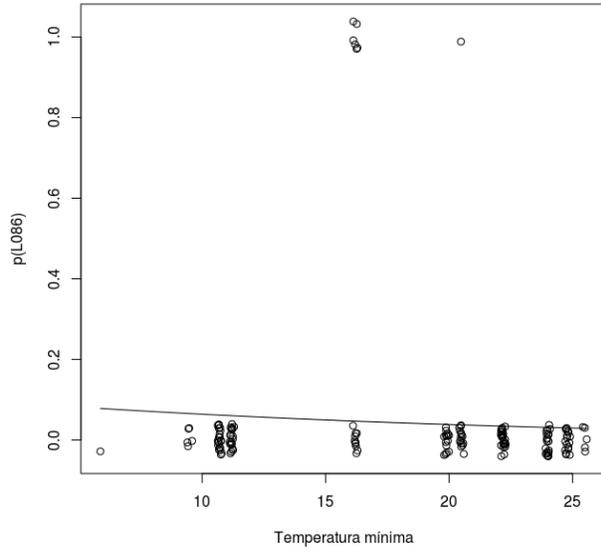
Curva de ajuste para L025



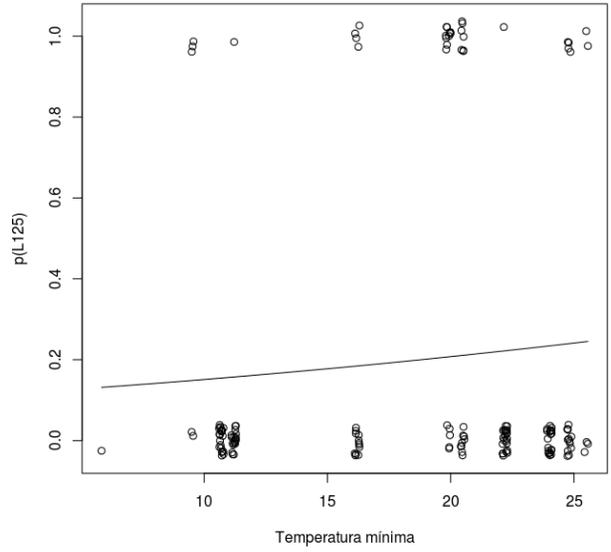
Curva de ajuste par L033



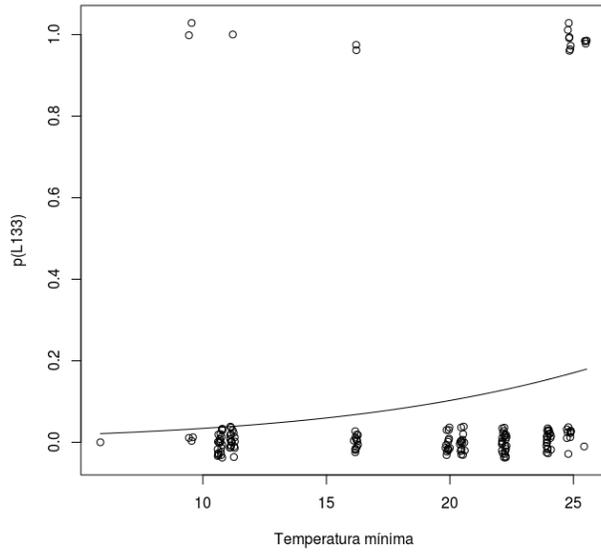
Curva de ajuste para L086



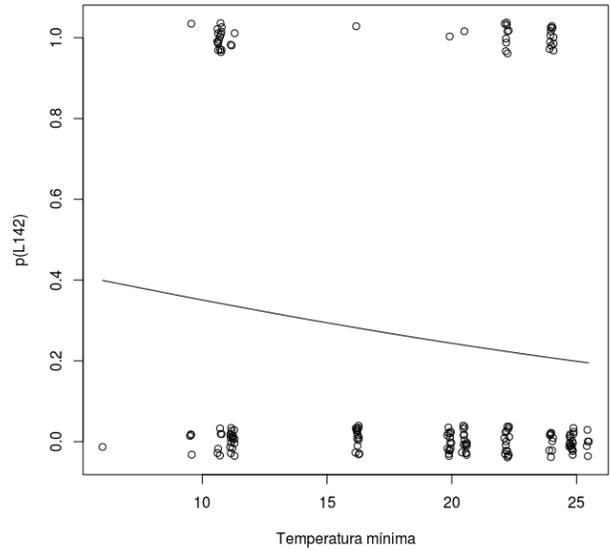
Curva de ajuste para L125



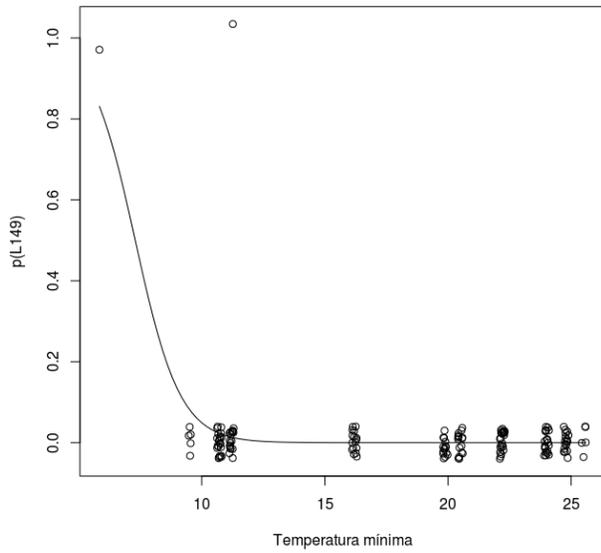
Curva de ajuste para L133



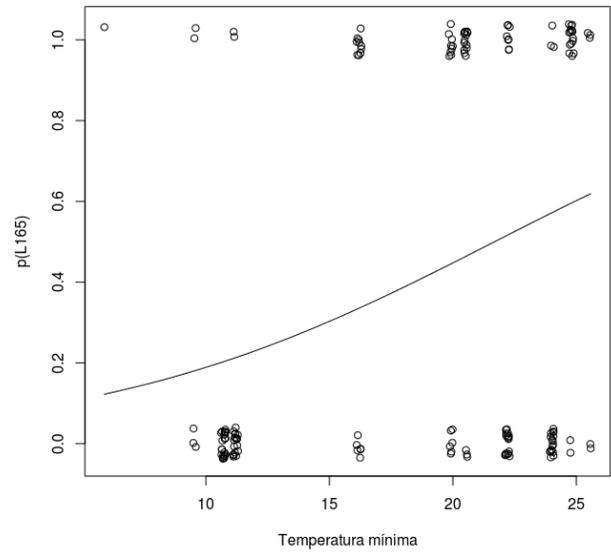
Curva de ajuste para L142



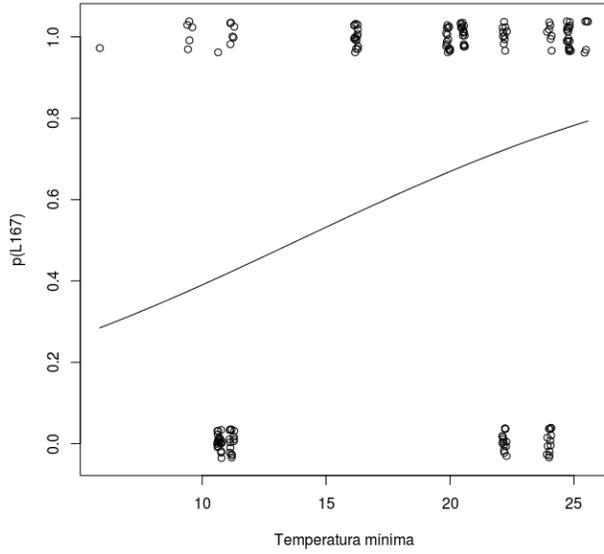
Curva de ajuste para L149



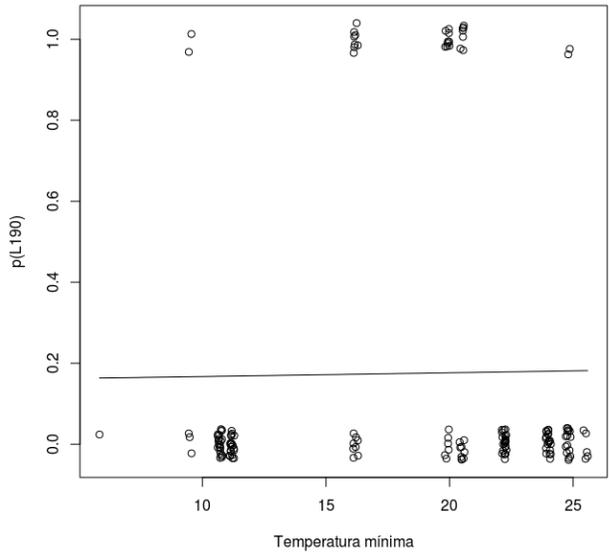
Curva de ajuste para L165



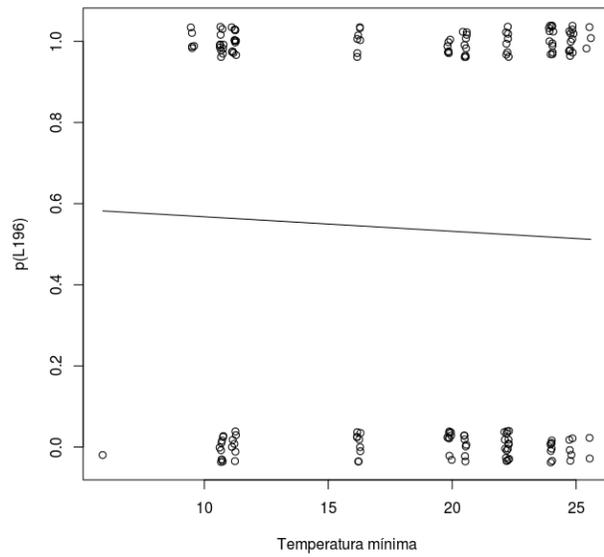
Curva de ajuste para L167



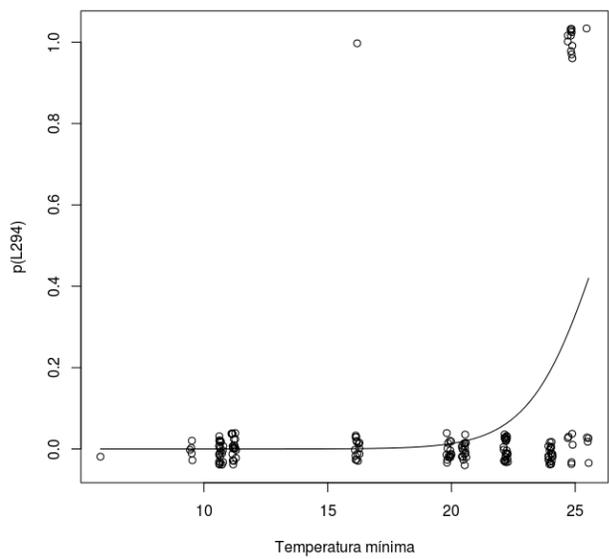
Curva de ajuste para L190



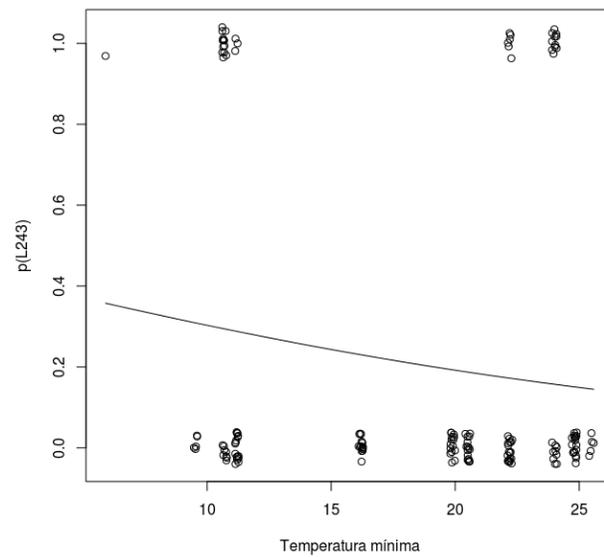
Curva de ajuste para L196



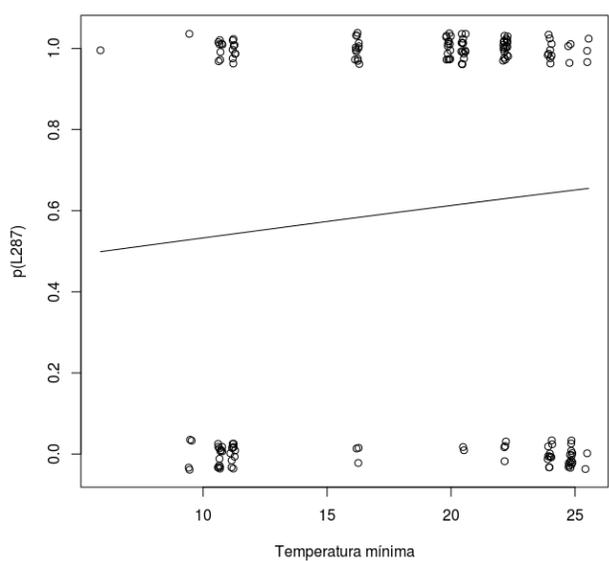
Curva de ajuste para L204



Curva de ajuste para L243

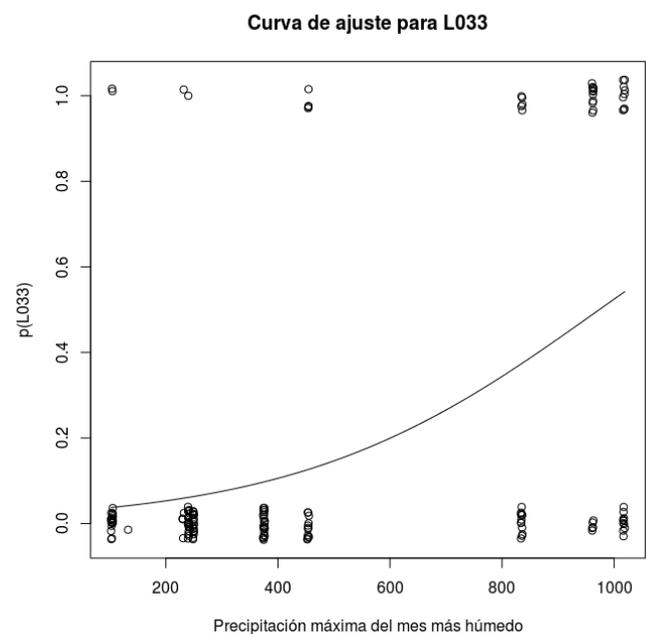
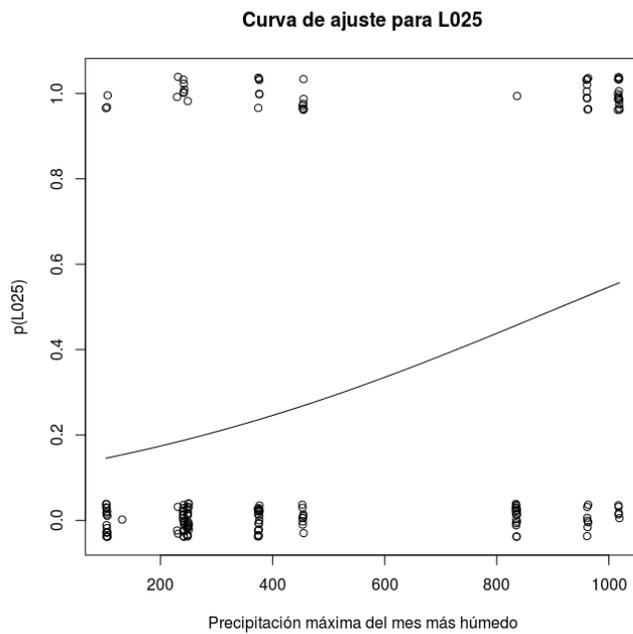
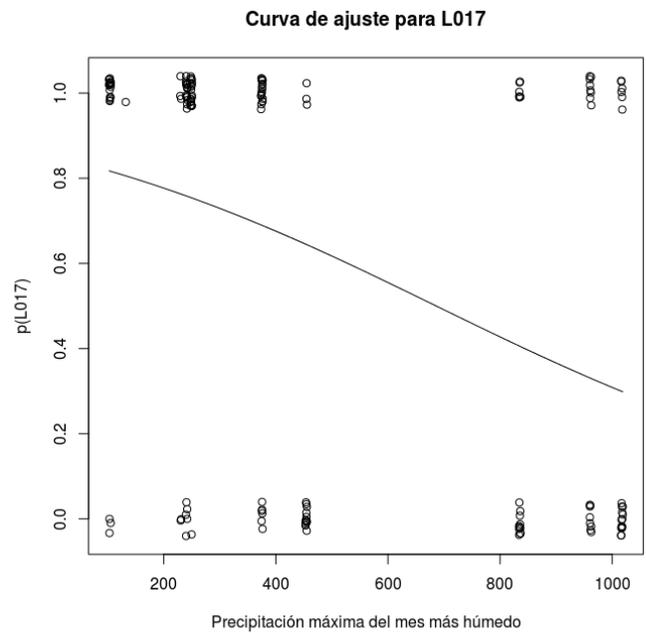
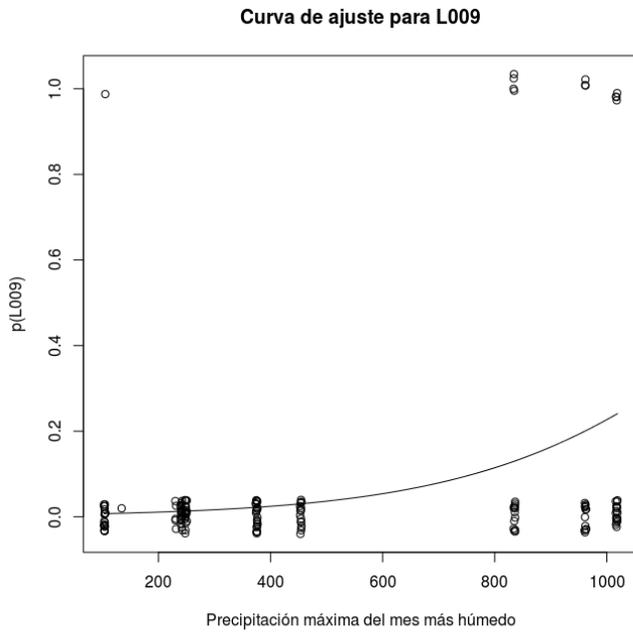


Curva de ajuste para L287

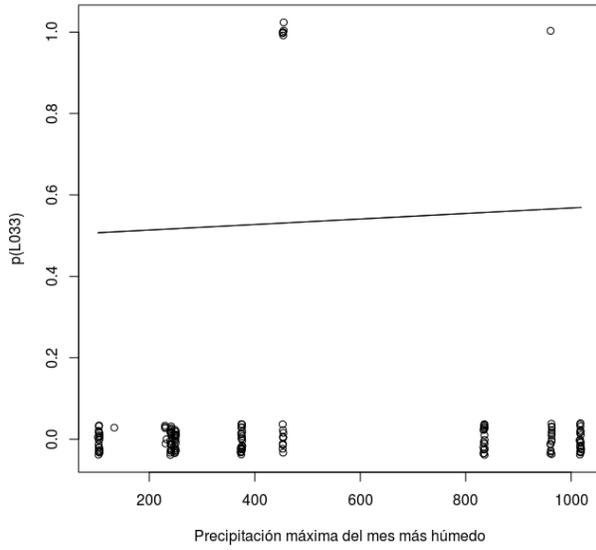


ANEXO VI

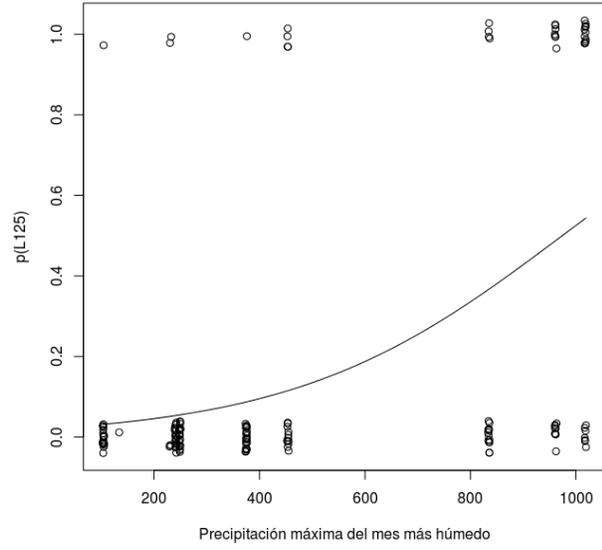
Curvas de regresión logística que utilizan la precipitación del mes más húmedo como variable independiente para los 16 loci. Todas ellas fueron negativas.



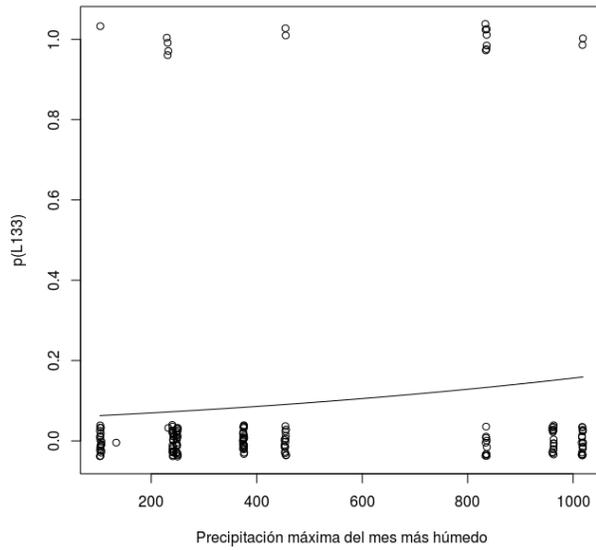
Curva de ajuste para L086



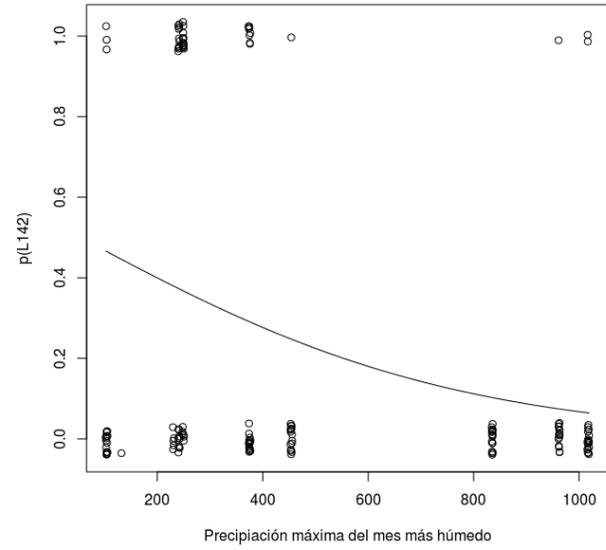
Curva de ajuste para L125



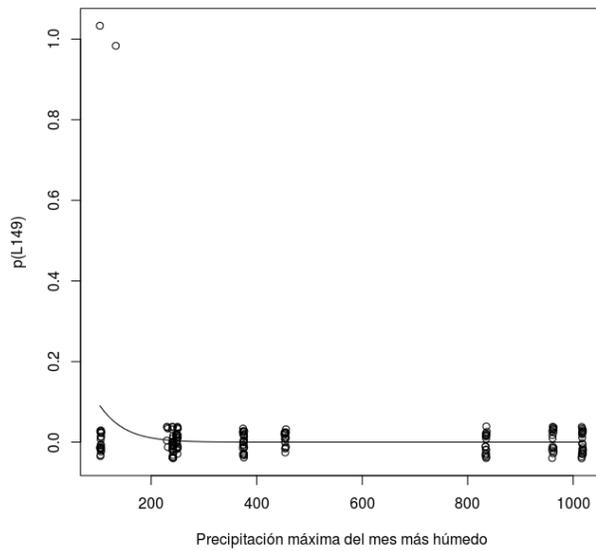
Curva de ajuste para L133



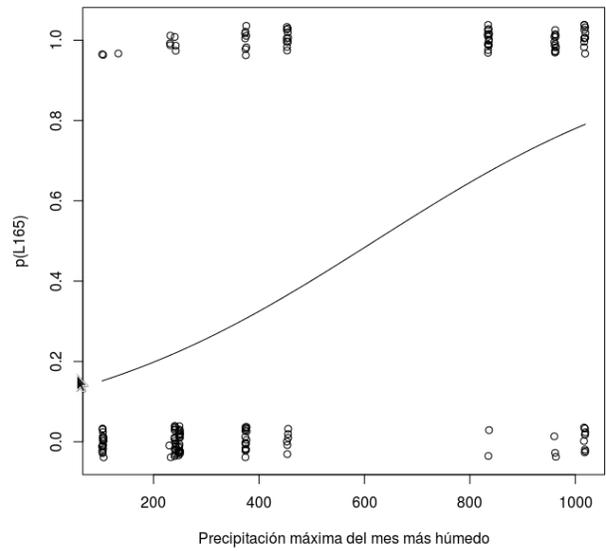
Curva de ajuste para L142



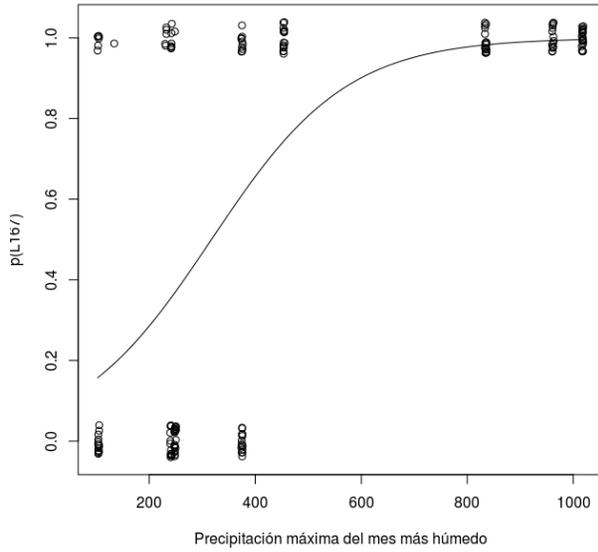
Curva de ajuste para L149



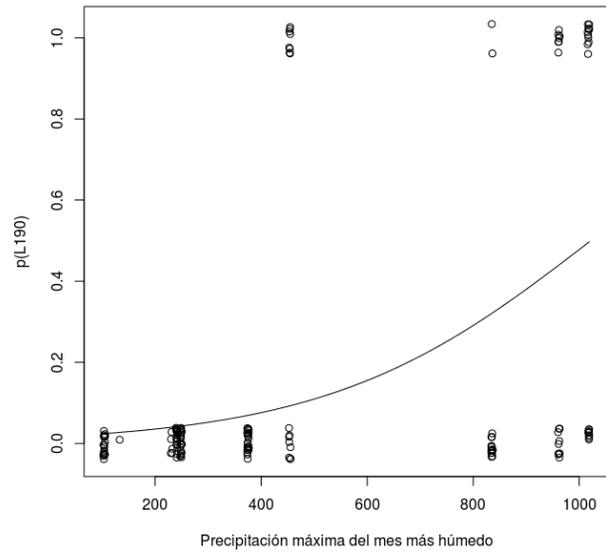
Curva de ajuste para L165



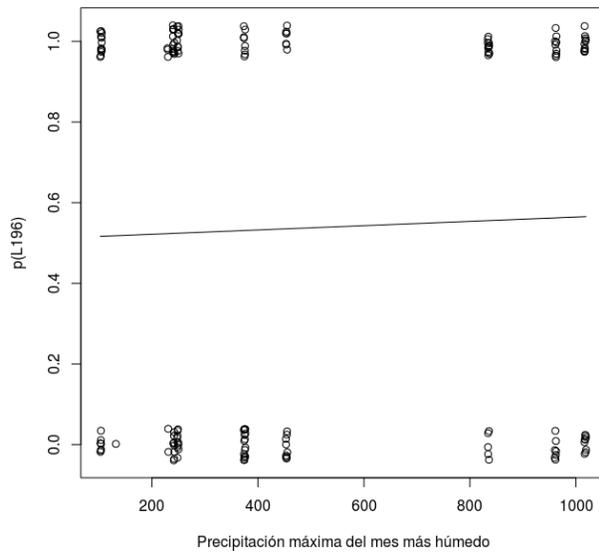
Curva de ajuste para L167



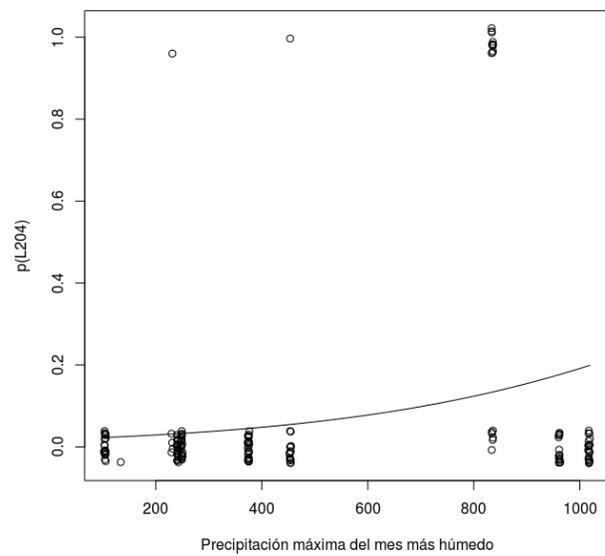
Curva de ajuste para L190



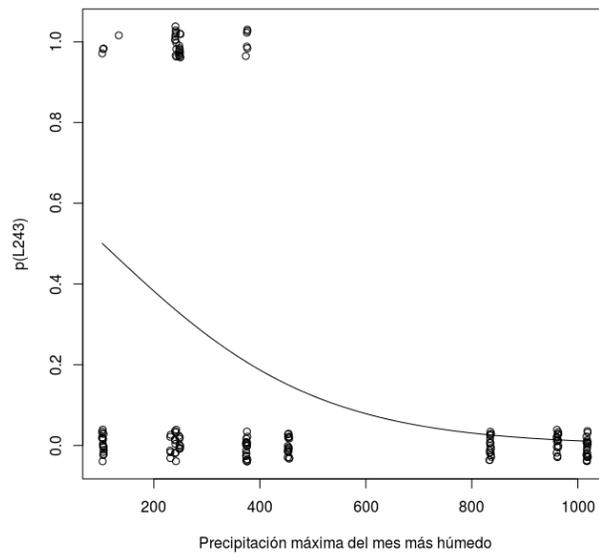
Curva de ajuste para L196



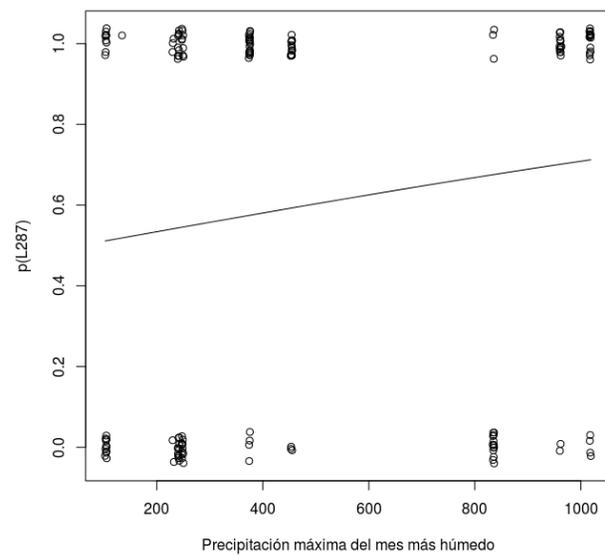
Curva de ajuste para L204



Curva de ajuste para L243

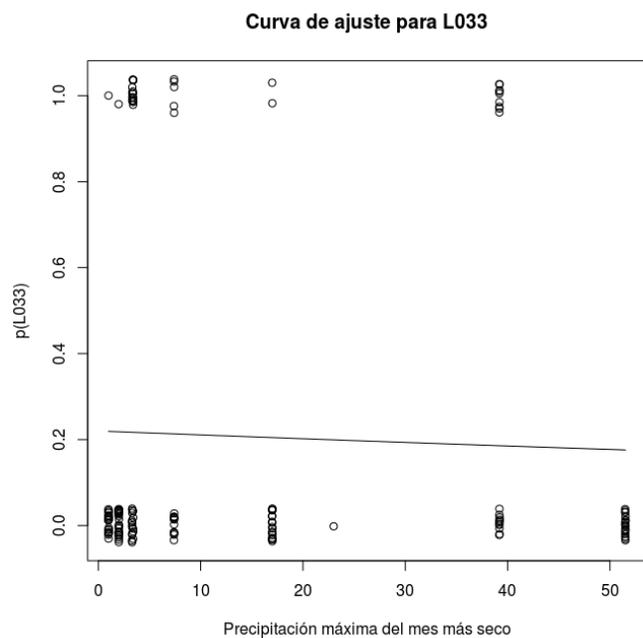
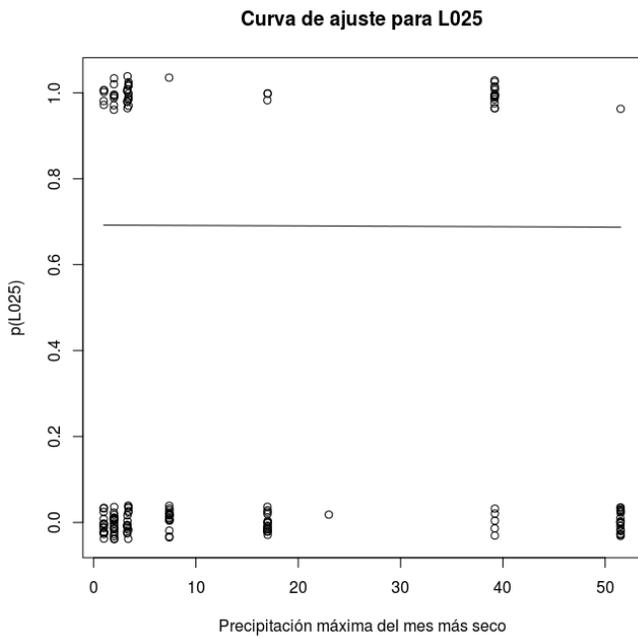
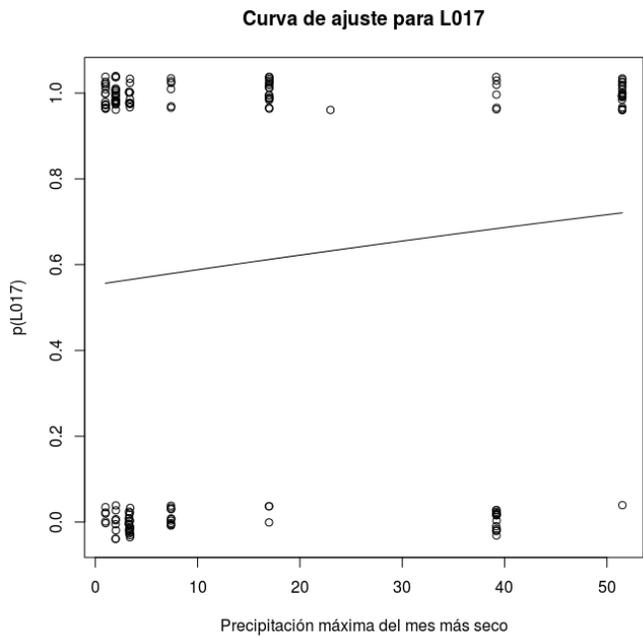
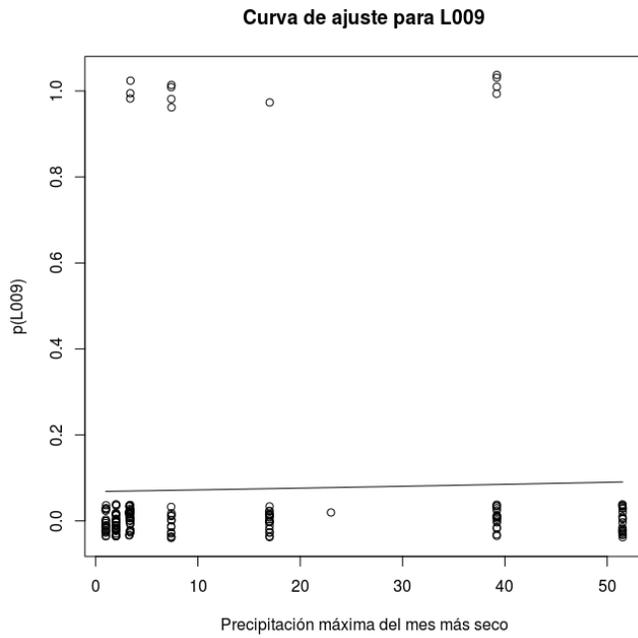


Curva de ajuste para L287

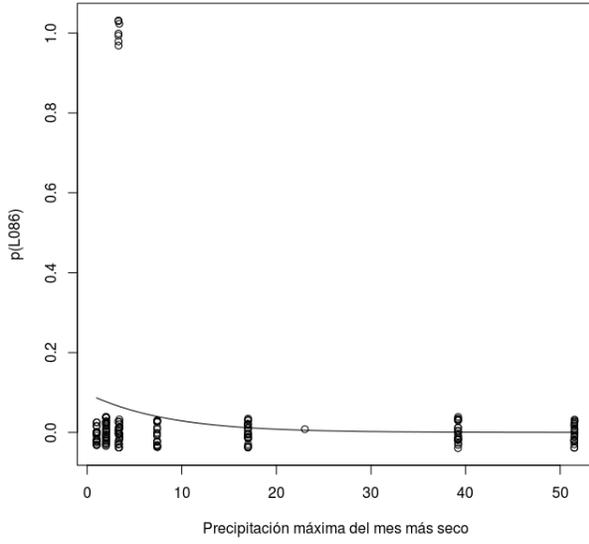


ANEXO VII

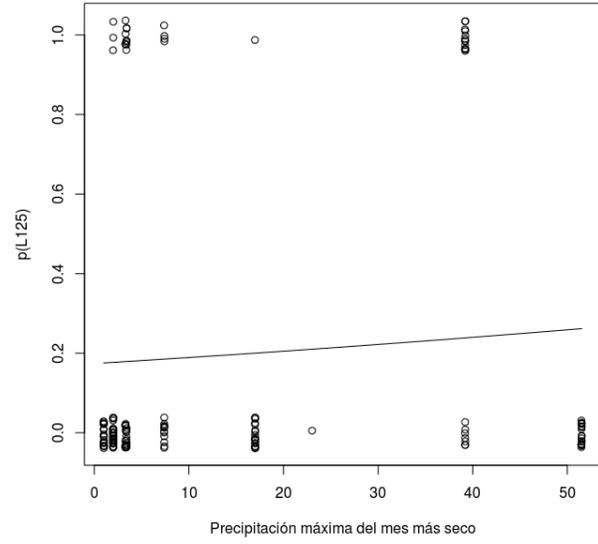
Curvas de regresión logística que utilizan la precipitación del mes más seco como variable independiente para los 16 loci. Todas ellas fueron negativas.



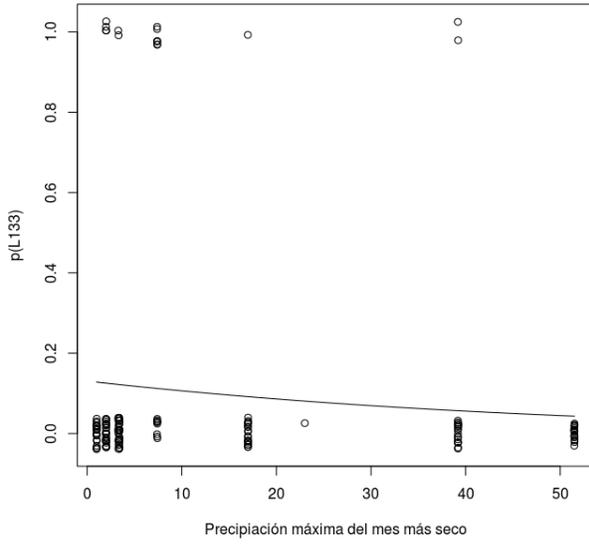
Curva de ajuste para L086



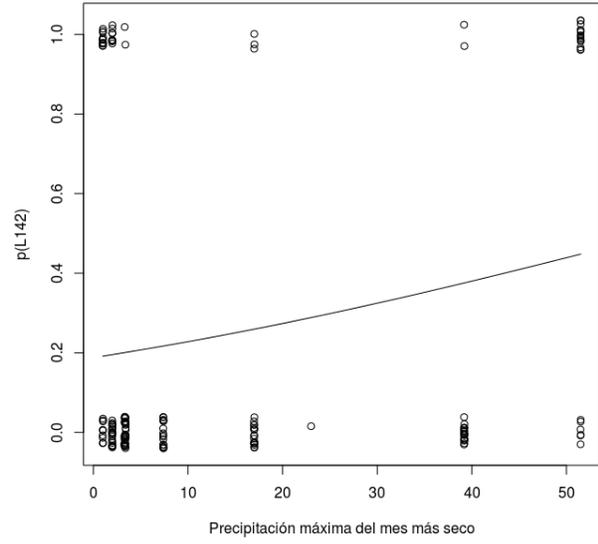
Curva de ajuste para L125



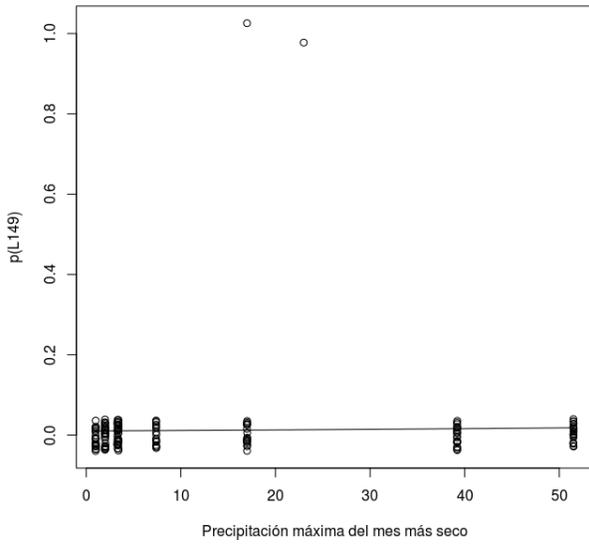
Curva de ajuste para L133



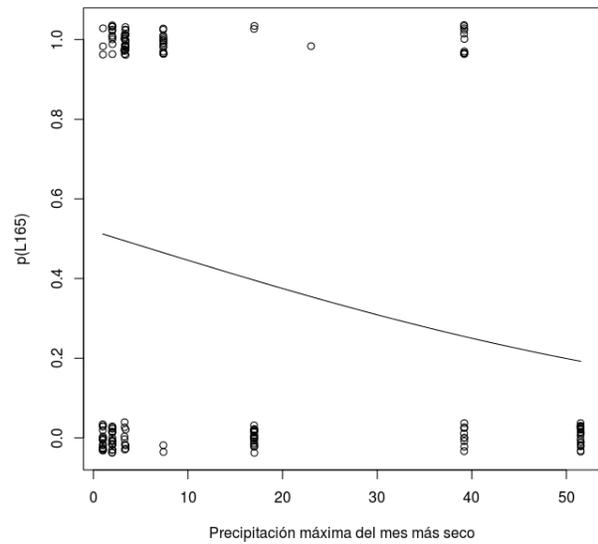
Curva de ajuste para L142



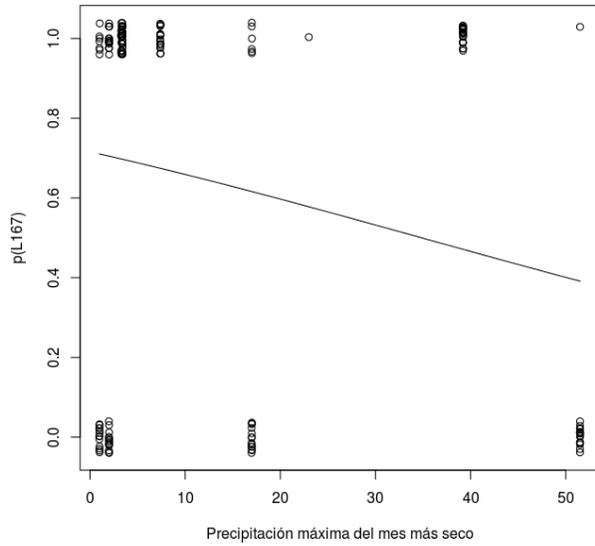
Curva de ajuste para L149



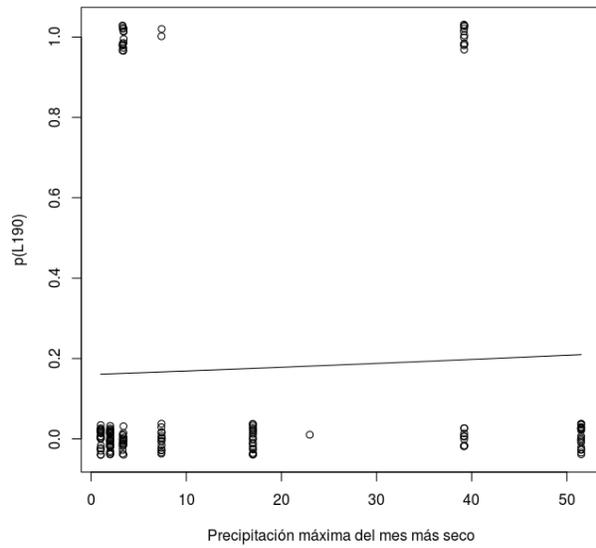
Curva de ajuste para L165



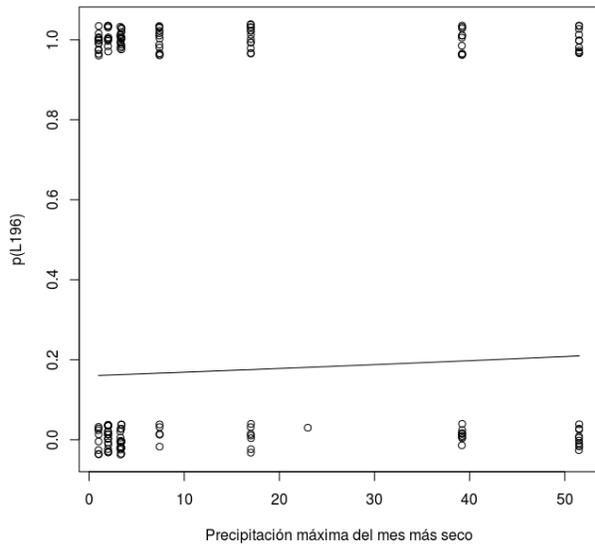
Curva de ajuste para L167



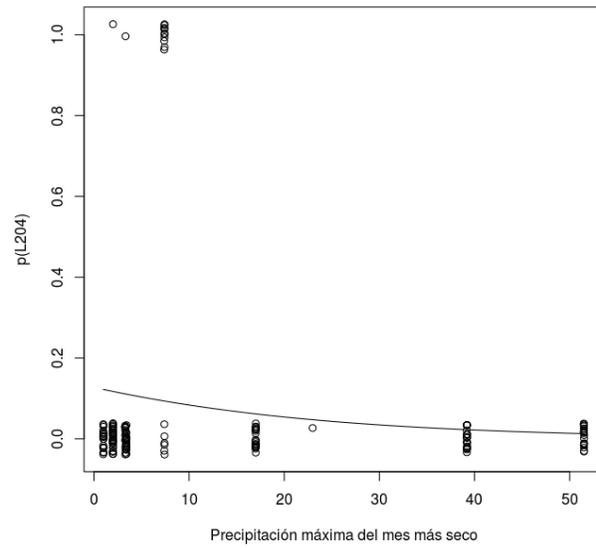
Curva de ajuste para L190



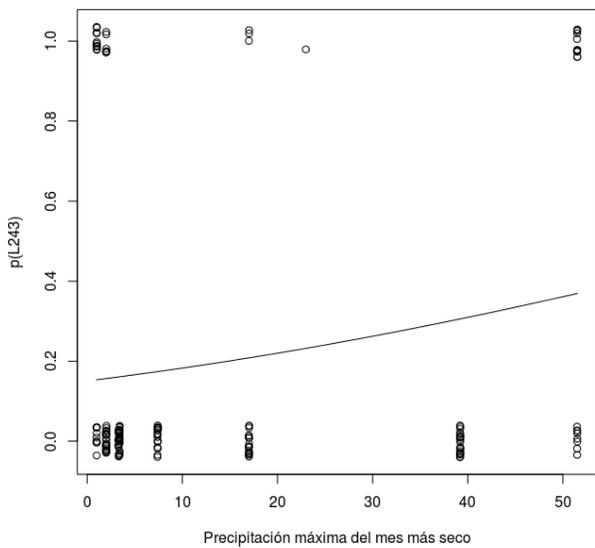
Curva de ajuste para L196



Curva de ajuste para L204



Curva de ajuste para L243



Curva de ajuste para L287

