



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Filogeografía de *Sceloporus serrifer*
(Squamata: Phrynosomatidae).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T A:

BIOL. NORBERTO MARTÍNEZ MÉNDEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. FAUSTO R. MÉNDEZ DE LA CRUZ

MÉXICO, D. F.

Enero2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se llevo a cabo gracias a la apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México. Asimismo recibí apoyo del proyecto PAPIIT-IN200109.

Agradezco a mi tutor el Dr. Fausto Méndez de la Cruz por el apoyo recibido durante la realización de este proyecto y por sus enseñanzas sobre la biología de los lacertilios.

Agradezco a los miembros de mi comité tutoral, el Dr. Daniel Piñero Dalmau, el Dr. Eduardo Morales Guillaumin y a la Dr. Gabriela Parra Olea por sus valiosos comentarios para el desarrollo y finalización de esta tesis.

Agradezco a los demás miembros del jurado, Dra. Sofía Solórzano Lujano, Dr. Jaime Zúñiga Vega, Dr. Hector Omar Mejía Guerrero y Dr. Gustavo Casas Andreu, por sus comentarios y sugerencias las cuales mejoraron esta investigación.

Agradezco al Dr. Oscar Flores Villela y al Dr. Robert W. Murphy por los valiosos comentarios y correcciones realizados al primer capítulo de esta tesis.

Agradezco al M. en C. Antonio Muñoz Alonso por sus indicaciones para localizar algunas de las poblaciones muestreadas en los Altos de Chiapas.

Un enorme agradecimiento a la M. en C. Laura Márquez responsable del Laboratorio de Biología Molecular y Secuenciador del Instituto de Biología, por su enorme apoyo en el trabajo de laboratorio y por su gran amistad.

Gracias a mi familia y a todos mis amigos del posgrado por su amor y amistad.

Para mi Padre

ÍNDICE

Resumen

Abstract

Capítulo I

Introducción general

Objetivos

Hipótesis

Capítulo II

Molecular phylogeny of the *Sceloporus torquatus* species-group (Squamata:Phrynosomatidae). Zootaxa 1609: 53-68

Capítulo III

Filogeografía de *Sceloporus serrifer* inferida a través de secuencias de mtDNA.

Capítulo IIV

Conclusiones generales

Anexo A

Resumen

El lacertilio *Sceloporus serrifer*, es uno de los pocos reptiles vivíparos que cuenta con poblaciones distribuidas en zonas montañosas y en zonas bajas y calidas. Lo anterior nos brinda una gran oportunidad para estudiar el surgimiento de la viviparidad en reptiles, ya que la principal teoría sobre la evolución de este modo reproductor refiere que fue en los sitios montañosos y altos de las latitudes tropicales en donde apareció esta característica como una manera de proteger a los huevos de la congelación.

Sin embargo las poblaciones de *S. serrifer* han presentado problemas taxonómicos y sus relaciones filogenéticas no son claras, además que se desconoce su historia demográfica. Por tal motivo en esta tesis abordamos el problema taxonómico y después determinamos su historia demográfica por medio de un trabajo filogeográfico.

Las distintas poblaciones de *S. serrifer* se han asignado tradicionalmente a tres subespecies, dos de ellas en el sureste de México y en Guatemala (*S. s. serrifer* y *S. s. prezygus*) y la otra en el estado de Tamaulipas (*S. s. plioporus*). Para determinar las relaciones filogenéticas de estas poblaciones se obtuvo una filogenia del grupo *torquatus*, que es el grupo de especies al cual pertenece *S. serrifer*. Con esta filogenia determinamos que solamente las poblaciones del sureste de México y Guatemala forman un grupo monofilético, mientras que la especie del norte resultó ser el grupo hermano de *S. cyanogenys*. Por tal motivo propusimos una serie de cambios nomenclaturales para que estas poblaciones y otras especies del grupo sean nombradas conforme lo obtenido en la filogenia del grupo. Es así que *S. s. plioporus* se sinonimizo con *S. cyanogenys* mientras que las poblaciones del sureste y Guatemala se conservaron como *S. serrifer prezygus* y como *S. serrifer serrifer*.

Conforme a los resultados anteriores, se decidió realizar el trabajo filogeográfico con las poblaciones de *S. serrifer serrifer* localizadas en la península de Yucatán y márgenes del río Usumacinta, y con las poblaciones de *S. s. prezygus* de las zonas altas de Chiapas y Guatemala. Encontramos que las poblaciones de *S. serrifer* se agrupan en dos clados principales uno el que comprende a los Altos de Chiapas y el área de Cuilco en Guatemala, y el otro en donde están las poblaciones de montaña de los Cuchumatanes en Guatemala junto con las poblaciones de las zonas bajas del Usumacinta y norte de la península de Yucatán. Los patrones temporales y geográficos de la diversidad genética de estas poblaciones nos indican que en las zonas bajas se presentaron fuertes cuellos de botellas que coinciden con las dos últimas glaciaciones, mientras que en las zonas altas este efecto es apenas reconocible. También determinamos que por lo menos existieron dos eventos de colonización de la península de Yucatán y que la zona de los Cuchumatanes, probablemente es la que tiene a las poblaciones más recientes.

Abstract:
Phylogeography of *Sceloporus serrifer* (Squamata: Phrynosomatidae)
Norberto Martínez Méndez

The lizard *Sceloporus serrifer* is one of the few examples of viviparous reptiles that has populations distributed both in mountains as in warm lowlands. This give us a great oportunity to the study of viviparity because according to the main theory about the origin of this reproductive character, the viviparity evolves at high elevations to protect the eggs against the freeze.

However the populations of *S. serrifer* has taxonomic problems and its phylogenetic relationships are not clear. Also its demographic history is unknown. For this reason in the present disertation we conducted a phylogenetic analysis to solve the phylogenetic relathionships of *S. serrifer* and then we performs phylogeographic and population genetic analyses to assess geographical subdivision and demographic history among populations of *S. serrifer*.

Traditionally the different populations of *S. serrifer* has been assigned to three subspecies, two located in the south of México and Guatemala (*S. s. serrifer* y *S. s. prezygus*) and the other located in the north of México in Tamaulipas state (*S. s. plioporus*). We proposed a phylogenetic hypothesis for *torquatus* group that is the group of species to wich *S. serrifer* belongs. The phylogenetic hypothesis showed that only the subspecies of the south of México and Guatemala form a monophyletic group, while *S. s. plioporus* of Tamaulipas was recuperated as sister group of *S. cyanogenys*. For this reason we proposed a number of taxonomic changes to the populations of *S. serrifer* and for the other species of the group. We synonymized *S. s. plioporus* into *S. cyanogenys* and the populations of the south of México and Guatemala were kept as *S. serrifer prezygus* and *S. serrifer serrifer*.

According to the results of phylogenetic study, we decided perform the phylogeogrphic study without the populations of Tamaulipas. We found that the populations of *S. serrifer* are grouped in two main clades. The first clade is formed by the populations of the Altos de Chiapas and Cuilco in Guatemala and the second by the populations of the Cuchumatanes mountains (Guatemala), Usumacinta river and Yucatán penninsula. The temporal and geographical patterns of genetic variability in *S. serrifer* populations showed that the lowlands populations suffered bottlenecks that coincide with the two last glacial periods, while in the upland areas the effect is barely recognizable. We also found that at least there were two colonizations events of the Yucatán peninsula by the populations of *S. serrifer* and that the Cuchumatanes populations are the most recent.

Capítulo I

Introducción general

Los estudios de sistemática molecular han aumentado enormemente en los últimos años quizá debido a dos grandes avances que son el desarrollo de rigurosos métodos de construcción de árboles y la tecnología relativamente rápida y económica para la obtención de datos moleculares comparativos (Sanderson y Shaffer, 2002). No obstante hacen falta más trabajos de este tipo y aún se está lejos de conocer las relaciones que guardan entre si una gran cantidad de organismos. Asimismo, dentro de este creciente número de estudios filogenéticos basados en datos moleculares, se pueden diferenciar muchos que conciernen a especies cercanamente relacionadas o a poblaciones dentro de una misma especie (Avice, 2000). En particular el uso del mtDNA como marcador molecular ha aumentado el conocimiento acerca de eventos pasados que determinaron la diversidad genética dentro de las especies (Gübitz, *et al.*, 2000). Es así que surgió la disciplina conocida como Filogeografía que estudia la distribución geográfica de secuencias de genes con relación a su filogenia (Avice, *et al.*, 1987). La Filogeografía es un poderoso concepto, que ha tenido un considerable impacto en campos como la conservación animal, en donde ha revelado casos de biodiversidad críptica, por ejemplo la identificación de distintos linajes evolutivos en donde la diferenciación morfológica es baja (Weisrock y Janzen, 2000; Pestano *et al.*, 2003).

Por lo anterior, se ha decidido plantear un trabajo con el lacertilio *Sceloporus serrifer* ya que su estudio es de bastante interés, pues que nos ofrece la oportunidad de trabajar en las dos áreas antes descritas. Primero, taxonómicamente las relaciones entre las subespecies reconocidas de *S. serrifer* y entre otras especies del grupo *Sceloporus torquatus*, aún no están bien determinadas (Stuart, 1970; Olson, 1987; Wiens y Reeder, 1987). Segundo, las distintas poblaciones de *S. serrifer* se encuentran distribuidas en ambientes muy distintos como los bosques tropicales caducifolios, bosques tropicales superenifolios y los bosques de pino-encino. Además es uno de los pocos reptiles vivíparos que tiene poblaciones en zonas tropicales al nivel del mar, lo cual tiene implicaciones en cuanto a la principal teoría

Objetivos

- I. Reconstruir las relaciones filogenéticas del grupo *Sceloporus torquatus* y revisar el estatus taxonómico de las subespecies de *S. serrifer* .
- II. Proponer una hipótesis filogeográfica que explique la distribución actual de las poblaciones de *S. serrifer*.

Hipótesis

1. Conforme a la principal teoría sobre el surgimiento de la viviparidad en zonas altas y frías, las poblaciones de *S. serrifer* en la península de Yucatán serían las últimas en establecerse, mientras que las más antiguas corresponderían a las poblaciones de zonas altas.
2. Si la viviparidad es una adaptación que ha permitido la supervivencia de los reptiles en zonas altas y frías, es probable que durante los periodos glaciares las poblaciones de *S. serrifer* de zonas bajas hayan aumentado sus números poblacionales al estar mejor adaptadas a condiciones templadas.

del surgimiento de la viviparidad en escamados que plantea que el surgimiento de este modo reproductor debió haber ocurrido en zonas altas y frías (Shine, 1985). Es por eso que el trabajo con *S. serrifer* se dividirá en dos tipos de estudios, el primero meramente de sistemática molecular y el otro de tipo filogeográfico.

Literatura citada

- Avise, J. C. 2002. Phylogeography: The History and formation of species. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 447 pp.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, Jr., E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb y N.C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Sist.* 18:489-522.
- Gübitz, T., R. S. Thorpe y A. Malhotra. Phylogeography and natural selection in the Tenerife gecko *Tarentola delalandii*: testing historical and adaptive hypotheses. *Mol. Ecol.* 9: 1213-1221.
- Olson , R. E. 1987. Taxonomic revision of the lizards *Sceloporus serrifer* and *cyanogenys* of the Gulf Coastal Plain. *Bull. Maryland Herp. Soc.* 23(4): 158-167.
- Pestano, J., R. P. Brown, N. M. Suárez y S. Fajardo. 2003. Phylogeography of pipistrelle-like bats within the Canary Islands, based on mtDNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 26: 56-63.
- Sanderson, M.J. y H.B. Shaffer. 2002. Troubleshooting molecular phylogenetic analysis. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 49-72.
- Shine, R. 1985. A new hypthesis for evolution of viviparity in reptiles. *Am. Nat.* 145: 809-823.
- Stuart, L. C. 1970. A brief review of the races of *Sceloporus serrifer* Cope with especial reference to *Sceloporus serrifer prezygus*. *Herpetologica* 26 (1): 141-149.
- Weisrock, D. Y F. Janzen. 2000. Comparative Molecular Phylogeography of North American Softshell Turtles (*Apalone*): implications for Regional and Wide-Scale Historical Evolutionary Forces. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 14: 152-164.

Wiens, J.J., y T.W. Reeder. 1997. Phylogeny of spiny lizards (*Sceloporus*) based on molecular and morphological evidence. Herpetol. Monogr. 11:1-101.

Capítulo II

Molecular phylogeny of the *Sceloporus torquatus* species-group (Squamata: Phrynosomatidae). Zootaxa 1609: 53-68 (2007)



Molecular phylogeny of the *Sceloporus torquatus* species-group (Squamata: Phrynosomatidae)

NORBERTO MARTÍNEZ-MÉNDEZ¹ & FAUSTO R. MÉNDEZ-DE LA CRUZ²

Laboratorio de Herpetología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., 04510, México.

E-mail: ¹nmm@ibiologia.unam.mx; ²faustor@ibiologia.unam.mx

Abstract

The genus *Sceloporus* is one of the largest genus of lizards in North and Central America, with 22 species groups. Among these, the *torquatus* group has a notably wide geographic distribution with populations occurring from southern United States to Guatemala. In spite of the taxonomical work done with the group, some problems remain unsolved. We therefore obtained the phylogeny of the *torquatus* group, based on 925 bp of the ribosomal 16S gene, 912 bp of the ribosomal 12S gene, and 893 bp of the ND4 gene, for a total of 54 specimens of 25 taxa. The genes were analyzed, both separately and combined, by means of maximum parsimony and Bayesian inference analyses. The subspecies of *S. serrifer* did not form a monophyletic group. The sequence data refuted the morphological evidence that suggested that *S. s. pliopus* and *S. cyanogenys* are closely related to *S. s. serrifer* and to *S. s. prezygus*. Regardless, these last two were recovered as sister taxa. Moreover, evidence was found that *S. ornatus* does not form a monophyletic group, and that *S. ornatus ornatus* and *S. oberon* are a single species, despite their marked differences in coloration and scutellation. In addition, the non-monophyly of *S. mucronatus* was confirmed and the phylogenetic relationships of its different species were determined. At the same time, the subspecies of *S. dugesii* were recovered as a monophyletic group, refuting the non-monophyly of this taxon suggested in the phylogenetic hypothesis of the entire genus.

Key words: Phrynosomatidae; *Sceloporus*; *torquatus* group; phylogeny; molecular systematics, mtDNA sequences

Resumen

El género *Sceloporus* es uno de los géneros más grande de lacertilios de Norte y Centroamérica, con 22 grupos de especies. Entre estos, el grupo *torquatus* tiene una amplia distribución geográfica, con poblaciones que ocurren desde el sur de Estados Unidos hasta Guatemala. No obstante los trabajos taxonómicos realizados hasta ahora con el grupo, algunos problemas permanecen sin resolver. Por esa razón, obtuvimos la filogenia del grupo *torquatus*, basados en 925 pb del gen ribosomal 16S, 912 pb del gen ribosomal 12S y 893 pb del gen ND4, para un total de 54 especímenes de 25 taxa. Los grupos de datos fueron analizados separadamente y en conjunto, por medio de máxima parsimonia e inferencia bayesiana. Las subspecies de *S. serrifer* no fueron recuperadas formando un grupo monofilético, los datos refutan la evidencia morfológica que sugiere que *S. s. pliopus* y *S. cyanogenys* se realcionan con *S. s. serrifer* y con *S. s. prezygus*, sin embargo estos dos últimos sí son recuperados como taxa hermanos. Asimismo, encontramos evidencia que sugiere que las subspecies de *S. ornatus* no forman un grupo monofilético, y que *S. ornatus ornatus* y *S. oberon* forman parte de una sola especie, a pesar de sus marcadas diferencias en coloración y escutelación. También, se confirmó la no monofilia de *S. mucronatus* y se determinaron las relaciones filogenéticas de sus distintas especies. Al mismo tiempo, las subspecies de *S. dugesii* se recuperaron como un grupo monofilético, lo cual refuta la no monofilia de este taxon como se había sido sugerido en la filogenia previa del género.

Introduction

The genus *Sceloporus* (Squamata: Phrynosomatidae) is probably the best represented genus of small lizards in North and Central America, with ca. 70 species distributed from the Northern United States to Panama. Within the genus, 22 groups are distinguished, with approximately 80 species, of which some 30 species are viviparous (Sites *et al.* 1992; Wiens and Reeder 1997).

The *torquatus* group (*sensu* Smith 1938) contains viviparous species widely distributed from the southern United States southward into Guatemala. Most of these species occur in mountainous areas with temperate environments. A few species are distributed in lowlands with tropical or semi-desert environments (Smith 1936; Smith 1939; Sites *et al.* 1992). This group was proposed by Smith (1938), originally with the name of *torquatus* group, but later Smith (1939) proposed that the group should be called the *poinsetti* group, because the name of *torquatus* was at one time a secondary homonym and under the nomenclatural rules of that time, the suppression of any homonym was considered permanent (Bell *et al.* 2003). Nevertheless different rules were proposed and Smith and Taylor (1950) revived *torquatus* as a group name, but this change was made official until 1961, when the new Code appeared.

The *torquatus* group can be diagnosed by a series of characters, described mainly by Smith (1938; 1939), with exception of some characters described later by Wiens and Reeder (1997): wide separation between xiphisternal ribs (Wiens and Reeder 1997); no contact between frontal and interparietal scales; no contact between frontal and median frontonasal scales; median parietal scale present; a lip below tip of scales (Wiens and Reeder 1997); granular skin between scales (Wiens and Reeder 1997); dorsal, ventral, and lateral scales distinctly differing in size; lateral nuchal scales not well differentiated from dorsal nuchal scales; dorsal scales subequal in size; a distinct dark, light bordered nuchal collar; male belly patch with incomplete dark margin (Wiens and Reeder 1997); female belly patches absents; karyological characters and DNA sequences (Wiens and Reeder 1997).

Since the proposal of the *torquatus* group by Smith (1938), the description of many new species and subspecies continued with traditional morphological characters. Nevertheless, when Wiens and Reeder (1997) proposed the *Sceloporus* phylogeny based on molecular and morphological characters, they detected a strongly supported conflict between DNA and morphological data. The study of Wiens *et al.* (1999), in which molecular data for the majority of the subspecies of *S. jarrovi* Cope in Yarrow were obtained, found that these subspecies were not monophyletic, and suggested a series of nomenclatural changes within which five evolutionary species were proposed. Wiens *et al.* (1999) also proposed that the divergence in coloration is possibly the result of sexual selection and habitat features. In other study carried out by Wiens and Penkrot (2002), concerning the delimitation of species using DNA and morphological characters, they used species of the *torquatus* group for the exemplification of a new protocol, and again a discordance between morphology and DNA was found, where two mtDNA clades were recognized as species that lacked diagnostic morphological characters. They established that in the *torquatus* group there is a particular pattern of morphological variation, in which between-species differentiation is small relative to within-species, the worst combination for morphology-based delimitation. For this reason, the taxonomic status of some species of the *torquatus* group remains uncertain, taking into account that in the studies of Wiens and Reeder (1997) and Wiens *et al.* (1999), no DNA sequence data were available for many taxa.

We undertook a phylogenetic investigation of the *torquatus* group using mtDNA sequence data from all taxa. The results of this study are reported herein.

Materials and methods

Taxon sampling

Samples of liver and muscle tissue were obtained from the 17 taxa not included in previous studies on the

torquatus group, and for which no sequence data existed in DNA sequence data banks. Additional samples included a new record (*S. sp. 1*), a population of *S. bulleri* Boulanger (*S. bulleri* 2 + *S. bulleri* 3), additional *S. cyanogenys* Cope (*S. cyanogenys* 2), *S. minor* Cope and a recently discovered population of *S. torquatus melanogaster* Cope (Hernandez-Gallegos *et al.* 2003) (Fig. 1, Tab. 1). We included sequences generated by Wiens and Reeder (1997) and Wiens *et al.* (1999), which were obtained from GenBank (accession numbers in Table 1).

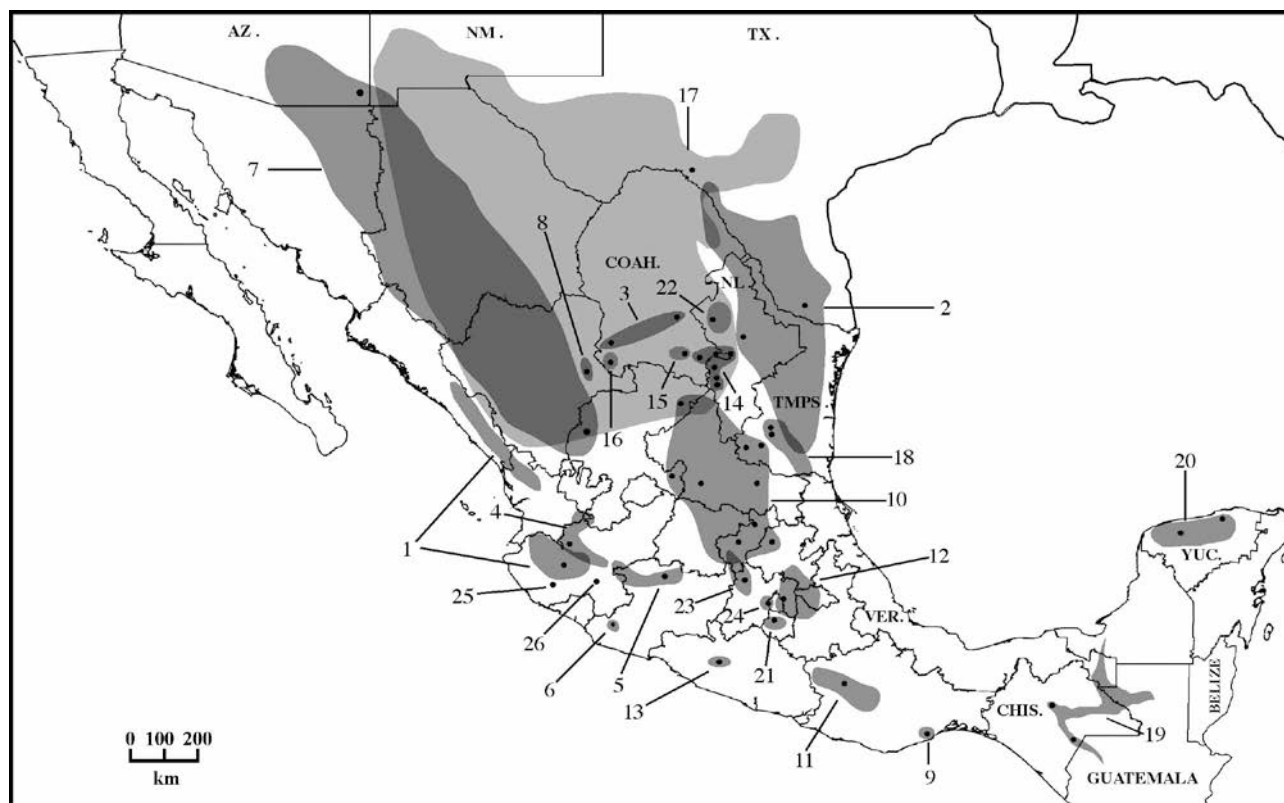


FIGURE 1. Distribution of *Sceloporus torquatus* species-group in México, south of United States of America and Guatemala, based on Smith 1938, Wiens *et al.* (1999) and museum data. Dots represents localities sampled for this study and those reported for each specimens included from GenBank. Numbers represents the taxa included in the analyses: 1. *S. bulleri*; 2. *S. cyanogenys*; 3. *S. cyanostictus*; 4. *S. dugesii dugesii*; 5. *S. d. intermedius*; 6. *S. insignis*; 7. *S. jarrovii*; 8. *S. lineolateralis*; 9. *S. macdougalli*; 10. *S. minor*; 11. *S. mucronatus aureolus*; 12. *S. mucronatus mucronatus*; 13. *S. mucronatus omiltemanus*; 14. *S. oberon*; 15. *S. ornatus caeruleus*; 16. *S. ornatus ornatus*; 17. *S. poinsettii*; 18. *S. serrifer plioporus*; 19. *S. serrifer prezygus*; 20. *S. serrifer serrifer*; 21. *S. sugillatus*; 22. *S. torquatus binocularis*; 23. *S. torquatus melanogaster*; 24. *S. torquatus torquatus*; *Sceloporus sp. 1*; 26. *Sceloporus sp. 2*. The abbreviations means: In United States of America: AZ.= Arizona, NM.= New Mexico, TX.= Texas; In Mexico: CHIS.= Chiapas, COAH.= Coahuila, NL.= Nuevo Leon, TAMP.= Tamaulipas VER.= Veracruz and YUC.= Yucatan.

DNA isolation, PCR amplification and sequencing

MtDNA was isolated from small quantities of liver and muscle (approx. 100 mg) following Fetzer's (1996) extraction protocol with ammonium acetate. The target genes were amplified using the polymerase chain reaction (PCR; Saiki *et al.* 1998). The amplified regions correspond to a fragment of approximately 912 base pairs of the ribosomal 12S (rRNA) gene using the primers tPhe and 12e (Wiens *et al.* 1999); 925 base pairs of the 16S (rRNA) gene using the primers 16SaR-L and 16Sd-H (Reeder 1995) and 893 base pairs of the ND4 gene that additionally included the complete portions of t-RNA-His, t-RNA-Ser and a portion of the t-RNA-Leu, amplified with the primers ND4 and LEU (Arevalo *et al.* 1994; Forstner *et al.* 1995). These genes yielded good results in other studies of *Sceloporus* (Benabib *et al.* 1997; Wiens and Reeder 1997; and Wiens *et al.* 1999).

TABLE 1. Species, localities, voucher specimen number and GenBank accession numbers for specimens evaluated in the *Sceloporus torquatus* species-group. The acronyms follow the nomenclature of Leviton *et al.* (1985) except for MZFC, which corresponds to the Museo de Zoología of the Facultad de Ciencias of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM); MX, MZFC frozen collection, and IBH, which corresponds to the Colección Nacional de Anfibios y Reptiles of the Instituto de Biología of the UNAM. The numbers and letters after *S. oberon* and *S. minor* correspond to the population and organism code with which they are identified in the study of Wiens *et al.* (1999).

Species	Locality	Voucher	GenBank accession no.		
			12S	16S	ND4
<i>Sceloporus bulleri</i> 1	México: Jalisco: 1.0 km S Mascota	IBH 18034	DQ525887	DQ525904	DQ525865
<i>Sceloporus bulleri</i> 2	México: Jalisco	MX15-63		EF608027	EF608022
<i>Sceloporus bulleri</i> 3	México: Jalisco	MX15-64		EF608028	EF608023
<i>Sceloporus cyanogenys</i>	United States: Texas: McMullen	LSUMZ 48852	AF15414	AF000876	AF154193
<i>Sceloporus cyanogenys</i> 2	México: Nuevo León: Escobedo: 25.3 km NW Monterrey	IBH 18051	DQ525893	DQ525910	DQ525868
<i>Sceloporus cyanostictus</i> 1a	México: Coahuila: 23.6 km S Monclova	CM 147644	AF154146		AF154194
<i>Sceloporus cyanostictus</i> 1b	México: Coahuila: 1.0 km S San Lorenzo	MZFC 7411b	AF000825	AF000865	AF154195
<i>Sceloporus dugesii dugesii</i>	México: Jalisco: Tapalpa	UTA-R 23955	AF154170	AF000877	AF154190
<i>Sceloporus dugessi intermedius</i>	México: Guanajuato: 2.0 km E Moroleón	IBH 18002	DQ525886	DQ525903	DQ525878
<i>Sceloporus dugessi intermedius</i> 2	México: Guanajuato: 2.0 km E Moroleón	IBH 18004	DQ525889	DQ525906	DQ525866
<i>Sceloporus insignis</i>	México: Michoacán	no voucher	AF000806	AF000846	
<i>Sceloporus jarrovii</i> 11a	México: Zacatecas: 24 km W Fresnillo	CM 147650	AF15173		AF154209
<i>Sceloporus jarrovii</i> 11b	México: Zacatecas: 24 km W Fresnillo	CM 147651	AF15418		AF154210
<i>Sceloporus jarrovii</i> 10	United States: Arizona: Cochise Co., near Portal	LSUMZ 48786	AF154163	AF000881	AF154208
<i>Sceloporus lineolateralis</i>	México: Durango: near Pedricena	MZFC 6650	AF000807	AF000847	AF154211
<i>Sceloporus macdougalli</i>	México: Oaxaca: Rincón Bamba, 35.2 km SW Tehuantepec	MZFC 7017	AF000809	AF000849	
<i>Sceloporus minor</i>	México: Tamaulipas: 17.7 km SW Ciudad Victoria	IBH 18012	DQ525891	DQ525908	DQ525872
<i>Sceloporus minor</i> 13a	México: Zacatecas: 4.0 km W Concepción del Oro.	MZFC 10703	AF154185		AF154222
<i>Sceloporus minor</i> 14a	México: San Luis Potosí: Colonia Insurgentes, 2.5 km W San Luis Potosí	CM 147653	AF154174		AF154218
<i>Sceloporus minor</i> 15a	México: San Luis Potosí: 14.1 km E Ciudad del Maíz	CM 147630	AF154136		AF154213

to be continued.

TABLE 1. (continued)

Species	Locality	Voucher	GenBank accession no.		
			12S	16S	ND4
<i>Sceloporus minor</i> 17	México: San Luis Potosí: 22.8 km E Matehuala	CM 147679	AF154148		AF154231
<i>Sceloporus minor</i> 3	México: Queretaro: 4.9 km S Ezequiel Montes	MZFC 10736	AF154138		AF154198
<i>Sceloporus minor</i> 4b	México: Queretaro: 1.0 km S Cadereyta	MZFC 10738	AF154175		AF154200
<i>Sceloporus minor</i> 5	México: Hidalgo: Barranca de los Marmoles W of Jacala	CM 147625	AF154142		AF154201
<i>Sceloporus minor</i> 6a	México: Hidalgo: Puerto de la Zorra, between Cuesta Colorada and Jacala on Hwy 85	CM 147628	AF154143		AF154202
<i>Sceloporus minor</i> 8	México: Tamaulipas: 16.9 km W Ciudad Victoria	MZFC 10666	AF154155		AF154204
<i>Sceloporus mucronatus aureolus</i>	México: Oaxaca: Temazulapan	IBH 18022	DQ525884	DQ525901	DQ525875
<i>Sceloporus mucronatus mucronatus</i>	México: Estado de México: Ajusco Volcano: Ejido Capulín	IBH 18008	DQ525885	DQ525902	DQ525864
<i>Sceloporus mucronatus omiltemanus</i>	México: Guerrero: Omiltemi National Park	UTA-R 24004	L41419	L41469	AF154233
<i>Sceloporus oregon</i> 21 b	México: Nuevo León: 9.0 km E San Roberto	MZFC 8032	AF000826	AF000866	AF154212
<i>Sceloporus oregon</i> 24a	México: Nuevo León: 2.1 km S Santa Clara de Cienega	CM 147675	AF154157		AF154228
<i>Sceloporus oregon</i> 27b	México: Coahuila: N of El Diamante	CM 147674	AF154183		AF154239
<i>Sceloporus oregon</i> 28a	México: Coahuila: 22.3 km E San Antonio de las Alazanas	CM 147641	AF154160		AF154234
<i>Sceloporus oregon</i> 29a	México: Nuevo León: 2.5 km E San Isidro, turnoff for Laguna Sánchez	MZFC 10698	AF154147		AF154236
<i>Sceloporus ornatus caeruleus</i>	México: Coahuila	JAM 652	AF000814	AF000854	AF154240
<i>Sceloporus ornatus ornatus</i>	México: Coahuila: Ojo Caliente N of Ramos Arizpe	IBH 18041	DQ525879	DQ525896	DQ525862
<i>Sceloporus poinsettii</i>	United States: Texas: Val Verde Co.	LSUMZ 48847	AF154176	AF000883	AF154241
<i>Sceloporus serrifer plioporus</i>	México: Tamaulipas: Padilla, 4.5 km NW Ciudad Victoria	IBH 18014	DQ525882	DQ525899	DQ525873
<i>Sceloporus serrifer plioporus</i> 2	México: Tamaulipas: Padilla, 4.5 km NW Ciudad Victoria	IBH 18015	DQ525883	DQ525900	DQ525874
<i>Sceloporus serrifer prezygus</i>	México: Chiapas: 2.5 km NW Teopisca	IBH 18027	DQ525880	DQ525897	DQ525870
<i>Sceloporus serrifer prezygus</i> 2	México: Chiapas: Ixtapa, 26.3 km E San Cristobal de las Casas on Hwy 190	IBH 18095	DQ525881	DQ525898	DQ525875

to be continued.

TABLE 1. (continued)

Species	Locality	Voucher	GenBank accession no.		
			12S	16S	ND4
<i>Sceloporus serrifer serrifer</i>	México: Yucatan: 13 km N Merida	IBH 18020	DQ525894	DQ525911	DQ525876
<i>Sceloporus serrifer serrifer</i> 2	México: Yucatan: 20 km N Tizimin	IBH 18123	DQ525895	DQ525912	DQ525877
<i>Sceloporus sugillatus</i> 30a	México: Morelos: Lagunas de Zempoala, W of Huitzilac	CM 147623a	AF154187		AF154242
<i>Sceloporus torquatus binocularis</i>	México: Nuevo León	MZFC 8033	AF000827	AF000867	
<i>Sceloporus torquatus melanogaster</i> 1	México: N of Estado de México	UTA-R 24016	AF154179	AF000890	AF154244
<i>Sceloporus torquatus melanogaster</i> 2	México: Estado de México: 2.0 km N Polotitlan	IBH 18006	DQ525892	DQ525909	DQ525863
<i>Sceloporus</i> sp. 1	México: Nayarit: Sierra de Alica: Carretera Huajimintepic	MX14-4	EF608018	EF608026	EF608021
<i>Sceloporus</i> sp. 1	México: Jalisco: Bolaños	MX13-24	EF608016	EF608024	EF608019
<i>Sceloporus</i> sp. 1	México: Jalisco: Carretera Bolaños-Tuxpan de Bolaños	MX13-80	EF608017	EF608025	EF608020
<i>Sceloporus heterolepis</i>	México: Jalisco: Cumbre de los Arrastrados	IBH 18138	DQ525890	DQ525907	DQ525869
<i>Sceloporus grammicus</i>	México: Oaxaca: Sierra de Juárez	UTA-R 23970	L40457	L41464	AF154188

PCR reactions in a Perkin-Elmer 2400 thermocycler had a final volume of 50 µl. The conditions for the PCR reaction for the different genes were: 12S with 45 cycles of 94° C for 30 sec, 53° C for 30 sec, and 72° C for 2 min; 16s with 45 cycles of 94° C for 30 sec, 50° C for 45 sec, and 72° C for 30 sec; and for the ND4, 35 cycles of 94° C for 1 min, 50° C for 1 min, and 72° C for 1 min were performed. The first cycle of each of the amplification reactions included a denaturalization cycle of 94° C for 3 min, and the last cycle was completed with a cycle for final extension (two in the case of ND4) of 72° C for 5 min. The PCR products were purified using the QIA quick purification kit, and the resulting samples were sequenced by means of the automated sequencing service of the UNAM's Instituto de Biología, utilizing an ABI PRISM, 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) automated sequencer. All DNA sequences obtained were deposited in the GenBank (Accession Nos. DQ525862-DQ525912) and are listed in Table 1.

Sequence alignment

The sequences obtained were compiled and edited in ProSeq 2.91 (Filatov 2002). Sequence alignment was carried out separately for each region, employing Clustal X (Thompson *et al.* 1997), using the default parameters, and, later, manually refined using the secondary structural models for the 12S and 16S (Ortí and Meyer 1987). Consequently, alignment was again made using Clustal X, with apertures and gap extensions of 15:6, 10:5, 6:3 and 3:1. The sequence regions, whose homologies by the nucleotide position were at a variance, in differing penalizations, were considered ambiguous and were not included in the phylogenetic analyses. The ND4 protein-coding genes lacked insertions and deletions (indels) and were aligned by eye. Later, this codifying region was transferred to amino acids in order to check whether stop codons existed that could indicate the presence of pseudogenes. The tRNAs region adjacent to the ND4 was also aligned by eye, and

was later reanalyzed with Clustal X using different gap costs. For the total evidence analysis, the matrices aligned for each region were combined into a new matrix. Different number of terminals for each region were coded as missing data.

Phylogenetic analysis

The phylogenetic analysis of the molecular data used total evidence (Kluge and Wolf 1993). In order to detect possible areas of significant incongruence, the genes were also analyzed independently (Wiens 1998a).

We did not test for the presence of phylogenetic signal. The signal is additive across different matrices and can dominate in a combined analysis in cases where the separate matrices have a very weak signal (Barrett *et al.* 1991; Wenzel and Siddall 1999). Because some of the sequences were obtained from GenBank, the separate matrices did not include the same taxa. Nevertheless, all the sequences were included in the combined analysis to maximize sampling.

Maximum parsimony analyses (MP) were conducted in PAUP version 4.0b10 (Swofford 1998) for the separate and the total evidence data sets. We used a heuristic search with tree bisection and reconnection (TBR) branch swapping and 1000 random sequence addition replicates. Characters were treated as unordered and equally weighted, and gaps were coded as missing data. Branches were collapsed if the maximum length was zero. Clade support was evaluated using nonparametric bootstrap proportions (BSP, Felsenstein 1985) with 1000 pseudoreplicates. BSPs proportions of <70% were considered to indicate poor support (Brandley and De Queiroz 2004). BSPs of =95% were interpreted as representing very strong support and from 70% to 94% moderate support.

Modeltest (version 3.07, Posada and Crandall 1998) was used to infer the best-fit model of evolution for the Bayesian inference (BI) analyses for each partition based on the Bayesian Information Criterion (BIC) method. The Hierarchical Ratio Test (hLRTs), although being the most popular method, is not the optimum strategy for choosing substitution models for phylogenies (Sanderson and Kim 2000; Posada and Buckley 2004).

BI analyses (Larget and Simon 1999; Lewis 2001) were performed for 12S, 16S, and ND4 matrices (with four partitions: codons + tRNAs) and for the combined data set with the six previous partitions, using MrBayes 3.0 b4 (Huelsenbeck and Ronquist 2001). Because MrBayes is limited to models with one, two or six base-substitution rate matrices, we used the GTR+I+G model for 12S, 16S and ND4 second and third codon positions instead of TrN+I+G model (best model obtained by Modeltest) because TrN has three parameters. For tRNAs we used the GTR+G model instead of K81uf+G model, because K81uf also has three parameters. For the first position codon in ND4 we used the HYK+G model inferred by Modeltest. In each analysis, four Markov chains were run, beginning with a random tree. The analysis used 2.0×10^6 generations with sampling every 1000 generations. Likelihood scores were graphed against generation time using Tracer v.1. 2.1. (Rambaut and Drummond 2005) to identify stationarity, and thus to determine how many generations must be discarded as burn-in, and whether or not more generations were required to be run. In order to insure that the analyses had found the optimal arrangements, they were performed twice for each data group and the stationarity levels were compared for convergence. When the different analyses reached stationarity and the topologies were congruent, the resultant trees were combined using a majority-rule consensus tree in PAUP ver.4 (Swofford 1998). Congruence for each branch indicated the posterior probability (PP). Using the criterion of $\alpha=5\%$, clades were considered to be significantly supported when PP =95% (Wilcox *et al.* 2002; Reeder 2003).

Choosing the outgroup

In a preliminary analysis, the trees were rooted utilizing sequences of *S. grammicus* Wiegman and *S. megalepidurus* Smith, which are the first and second outgroups of the *torquatus* group (Wiens and Reeder 1997), respectively. However, the furthestmost external group contributed less in terms of character states and

rooting information, and introduced errors into the analysis (Lyons-Weiler, *et al.* 1998; Nylander 2001; Sanderson and Shaffer 2002). Therefore, we added one more taxon to the first outgroup (*S. heterolepis* Boulenger), thus breaking the long branch leading to the external group and adding balance to the topology (Swofford and Olsen 1990; Smith 1994).

Results

Sequences

Sequence data from 54 lizards belonging to 25 taxa were assembled. We could not amplify 12S from *S. bulleri* 1 and *S. bulleri* 2. We obtained 912 and 925 bp of the ribosomal genes 12S and 16S respectively, and 709 bp of encoding ND4 plus 184 bp of the adjacent tRNAs. After alignment, a matrix of 2701 characters was obtained, of which 1789 were constant, 304 were variable but not phylogenetically informative, and 599 were potentially phylogenetically informative.

Phylogenetic analyses

Analyses of the separate genes typically resulted in congruent topologies. The relationships are similar for those obtained in the total evidence analyses, with the exception of two incongruent nodes, that were weakly supported (the trees are not shown, but they are available upon request). First, in the analyses of 16S and ND4 (and also in the combined analysis), *S. insignis* Webb was resolved as the sister taxon of a clade formed by (((*S. sp1* + (*S. t. melanogaster* 1 + *S. t. melanogaster* 2)) + (*S. t. torquatus* Wiegmann + *S. t. binocularis* Dunn)) + ((*S. bulleri* 2 + *S. bulleri* 3) + *S. bulleri* 1)), but with low BSPs (16s and ND4: BSP=57) and high and moderate PPs (16s: PP=100; ND4: PP=94). Alternatively, 12S recovered *S. insignis* as the sister taxon of a clade formed by ((*S. j. jarrovii* 11a + *S. j. jarrovii* 11b) + (*S. jarrovii* 10 + *S. lineolateralis* Smith)) with a weak support (BSP<50, PP=58). Second, *S. ornatus caeruleus* Smith was in a polytomy in the analyses of 16S and ND4, but 12S (like in the combined analysis) recovered it as the sister species of a clade formed by (((*S. cyanogenys* 1, 2, 96) + (*S. plioporus* Smith, 1 + *S. plioporus* 2)) + (*S. j. cyanostictus* Axtell and Axtell, 1a + *S. j. cyanostictus* 1b)) with a weak and strong support (BSP<50, PP=98).

The MP of the combined data found 30 most parsimonious trees (MPTs: length=2254, CI=0.524, RI=0.733) and the strict consensus tree is shown in Figure 2. For the BI of the combined data, the first 2000 generations were discarded as the burn-in. The strict consensus of the MPTs and the Bayesian majority-rule probability tree of 18001 trees were congruent in their relationships, although MP recovered *S. o. caeruleus*, one population of *S. oberon* Smith and Brown (*S. oberon* 21b) and one population of *S. minor* (*S. minor* 13a) as a polytomy. The better resolved BI tree is our preferred phylogenetic hypothesis and is presented in Figure 3 along with PP and BSPs support above and below the branches, respectively. This hypothesis (Fig. 3) shows two strongly supported basal clades, A and B (BSP=100 and PP=100). Clade A includes the subspecies of *S. torquatus* plus *S. bulleri*, *S. insignis*, *S. sp. 1*, *S. lineolateralis* and *S. jarrovii*. whereas Clade B includes the remaining species.

Clade A has two strongly supported subclades (BSP=100, PP=100). In one subclade *S. lineolateralis* was resolved within populations of *S. jarrovii* and this association was strongly supported (BSP=100, PP=100). In the second subclade, *S. insignis* was the sister taxon to all other species (BSP=52, PP=99). The next node of this subclade resolved the populations of *S. bulleri* clade ((*S. bulleri* 1 + (*S. bulleri* 2 + *S. bulleri* 3)) with strong support (BSP=100, PP=100). *Sceloporus sp. 1* was resolved within the subspecies of *S. torquatus* as ((*S. sp. 1*, *S. t. melanogaster*) + (*S. t. torquatus*, *S. t. binocularis*)) with moderate and strong support (BSP=72, PP=100). *Sceloporus torquatus* subspecies were the sister group of *S. bulleri* (BSP=95, PP=100).

Within Clade B, Clade C was strongly supported (BSP=100, PP=95). *Sceloporus mucronatus aureolus* Smith was the sister of (*S. m. omiltemanus* Günther + *S. macdougalli* Smith and Bumzahem) and this clade

received moderate support (BSP=67, PP=95). Surprisingly, nominate *S. m. mucronatus* Cope was resolved with strong support (BSP=95, PP=100) in Clade G as the sister taxon of (*S. sugillatus* Smith + *S. poinsettii* Baird and Girard). Therefore, the subspecies of *S. mucronatus* did not form a monophyletic group.

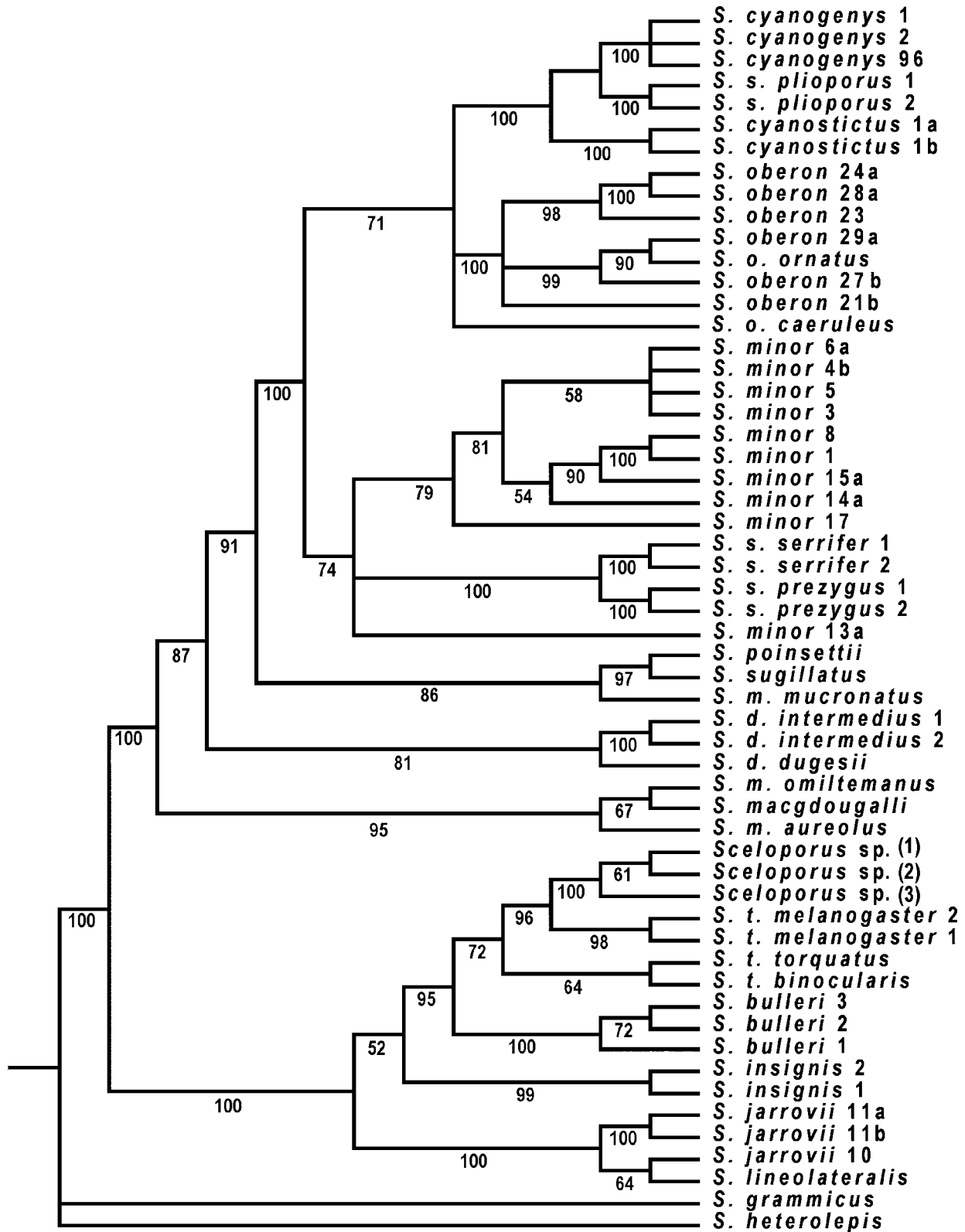


FIGURE 2. Strict consensus of 30 trees from the parsimony analysis based on 12S 16S and ND4 mtDNA sequences (length=2254, CI=0.524, RI=0.733). Bootstrap proportions > 50 % are indicated above the branches.

Clade D contains Clade E as the sister group of Clade F. In Clade E, the monophyly of *S. dugessi* Bocourt is well supported (BSP=81, PP=100). This result differed from that of Wiens and Reeder (1997) who, with weak support, placed *S. d. dugesii* as a sister taxon of *S. poinsettii*.

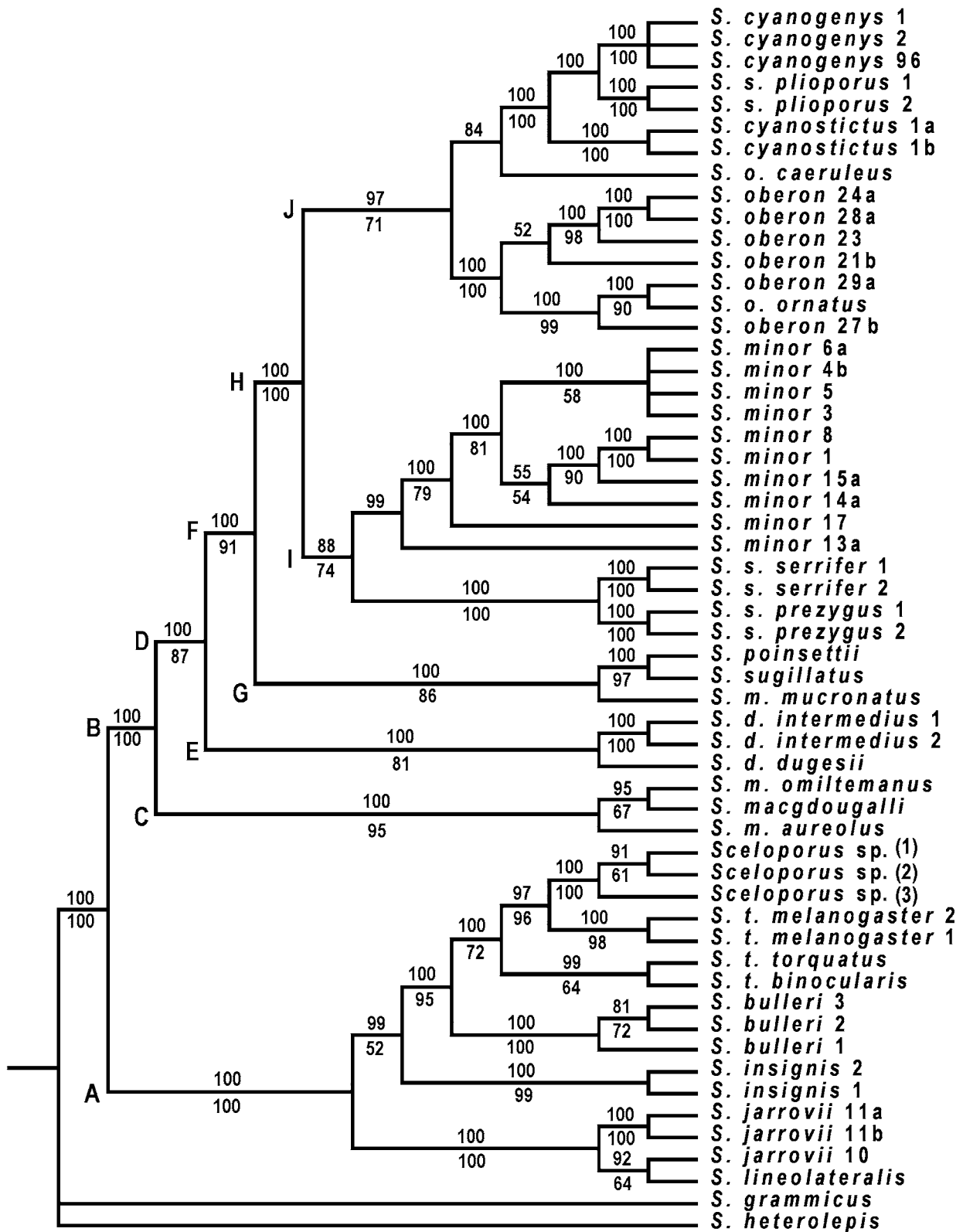


FIGURE 3. Bayesian inference tree based on 12S 16S and ND4 mtDNA sequences. Posterior probabilities > 50% and bootstrap proportions > 50 % (from the parsimony analysis) are indicated above and below the branches, respectively.

Clade F had two primary groups, clades G and H, and in turn, Clade H contained clades I and J. Clade I (BSP=74, PP=88) consisted of two subspecies of *S. serrifer* Cope plus *S. minor*; *S. s. serrifer* was the sister to *S. s. prezygus* Smith (BSP=100, PP=100) and together they formed the sister group of *S. minor* (Fig. 3). However, the subspecies of *S. serrifer* were not recovered as a monophyletic group because *S. s. plioporus* was resolved as the sister taxon of *S. cyanogenys* in Clade J (BSP<50, PP=100), an arrangement that agreed with the morphological analysis of Olson (1987).

Incidences of non-monophyly occurred in Clade J. *Sceloporus ornatus ornatus* Baird, branched off from within *S. oregon* and *S. o. caeruleus* was the sister group of *S. cyanostictus*, *S. s. plioporus*, and *S. cyanogenys*. The phylogenetic relationships of *S. cyanogenys*, *S. cyanostictus*, *S. oregon* and *S. minor* are in discordance with the analysis of Wiens *et al.* (1999). We recovered moderate and strong support (BSP=71, PP=97) for the placement of *S. oregon* as sister taxon of *S. cyanogenys*, *S. cyanostictus*, and *S. plioporus*. In contrast, Wiens *et al.* (1999) reported a weakly supported subclade where *S. minor* and *S. oregon* were the sister group of *S. cyanogenys* and *S. cyanostictus*.

TABLE 2. Data partitions, the best models of sequence evolution according to the BIC method and the number of characters of each partition used in the Bayesian inference analysis.

Partition	Model	Number of characters in partition
12S	TrN+I+G	912
16S	TrN+I+G	925
ND4 1 st codon	HKY+G	237
ND4 2 nd codon	TrN+I+G	236
ND4 3 rd codon	TrN+G	236
tRNAs	K81uf+G	184

TABLE 3. Values of the parameters, estimated using the BIC method of Bayesian Inference for the different data groups.

	Substitution rates						Ti/tv ratio	Site rates		Nucleotide frequencies			
	A<->C	A<->G	A<->T	C<->G	C<->T	G<->T		I	Ä	A	C	G	T
12S	1.0000	5.9702	1.0000	1.0000	9.3163	1.0000	-	0.3641	0.4946	0.3778	0.2361	0.1649	0.2212
16S	1.0000	2.7657	1.0000	1.0000	6.1090	1.0000	-	0.4981	0.5931	0.3735	0.2414	0.1658	0.2194
1 st codon	-	-	-	-	-	-	4.6456	-	0.3055	0.3425	0.2571	0.1717	0.2287
2 nd codon	1.0000	19.4007	1.0000	1.0000	1.3595	1.0000	-	0.5900	0.3189	0.1632	0.2936	0.1454	0.3978
3 rd codon	1.0000	32.0663	1.0000	1.0000	10.6605	1.0000	-	-	2.5339	0.4534	0.3046	0.0478	0.1942
tRNAs	1.0000	2.9227	0.1462	0.1462	2.9227	1.0000	-	-	0.4739	0.3709	0.1958	0.1575	0.2758

Discussion

In this study, significantly and moderately supported relationships were obtained for all species and subspecies of the *torquatus* group. In general, the relationships agreed with those of Wiens *et al.* (1999), although some of the relationships recovered by Wiens and Reeder (1997) differed. Unlike Wiens and Reeder (1997), the monophyly of the subspecies of *S. torquatus* and their relationships with *S. bulleri* and *S. insignis* were strongly supported. *S. sp. 1* from Jalisco was the sister taxon of *S. t. melanogaster*. Similarly, *S. lineolateralis* was resolved as the sister taxon of *S. jarrovi*, as suggested by Sites *et al.* (1992).

The non-monophyly of *S. mucronatus* was corroborated according to Wiens and Reeder (1997) and *S. m. mucronatus* was supported as being the sister taxon of (*S. sugillatus* + *S. poinsettii*) (BSP=86, PP=100). *Sceloporus m. aureolus* was the sister taxon of (*S. macdougalli* + *S. m. omiltemanus*) (BSP=67, PP=95). In contrast, Wiens and Reeder (1997) reported that *S. macdougalli* was the sister taxon of (*S. m. aureolus* + *S. m. omiltemanus*), albeit with weak support. We found support for the monophyly of *S. dugesii* (BSP=81, PP=100), a relationship that also differs from the analysis of Wiens and Reeder (1997). They resolved *S. d. dugesii* as the sister taxon of *S. poinsettii*, and *S. d. intermedius* as the sister taxon to all other species of the *torquatus* group.

In the study of Wiens and Reeder (1997), *S. s. serrifer*, *S. s. prezygus*, and *S. cyanogenys*, were not found to be sister taxa. However, Wiens and Reeder treated that result with caution, given the low branch support. Similarly, our hypothesis (Fig 3) did not resolve these taxa as being a monophyletic assemblage. This finding contrasts with the morphological evidence of Olson (1987), who proposed that *S. cyanogenys* was a subspecies of *S. serrifer*.

Olson (1987) associated *S. s. plioporus* (not included by Wiens and Reeder 1997) with *S. cyanogenys*. In our study, *S. serrifer plioporus* was the sister taxon of *S. cyanogenys* and this association received strong support (BSP=100, PP=100). This association also has geographical support. Whereas both *S. s. serrifer* and *S. s. prezygus* occur in southeastern Mexico, *S. s. plioporus* principally inhabits southern Tamaulipas and a small portion of northern Veracruz (Fig. 1). This is south of the distribution of *S. cyanogenys*. Olson's results (1987) as well as ours show that *S. s. plioporus* forms the southern part of a morphological cline of *S. cyanogenys*, and should be considered as the same species. A single morphological characteristic typically differentiates *S. s. plioporus* from *S. cyanogenys*. In *S. s. plioporus*, the supraocular scales are complete and separated from the parietals by a row of intervening small scales. Alternatively, in *S. cyanogenys*, the supraocular scales are divided and in contact with the parietal scales. Within populations of *S. s. plioporus* in Tamaulipas, both morphological conditions exist. The percentage of individuals with divided supraocular scales increases northwardly. Similarly, in some individuals, the supraoculars contact with the parietals, and in others they do not. The percentage of individuals that have supraoculars contacting the parietals diminishes northwardly. Unfortunately, we could not locate any population of *S. serrifer* from Veracruz (Smith 1939; Stuart 1970 and Olson, 1987). A large percentage of Veracruz has suffered deforestation and been subjected to other types of ecological modification. For that reason, we cannot genetically determine whether these populations are more closely associated with *S. cyanogenys* or with *S. serrifer* of southeastern Mexico.

Wiens and Reeder (1997) resolved the two subspecies of *S. ornatus* as sister taxa. However, no molecular data were available for *S. o. ornatus* and the association was weakly supported. In contrast, the two subspecies were not recovered as sister taxa in our study. *Sceloporus o. ornatus* occurs in Coahuila, and is geographically close to populations of *S. oberon* (Fig. 1). Although possible, we do not believe that our results are the consequence of a recent invasion or introgression of the maternal genotype of *S. oberon* into *S. o. ornatus*. If migration was involved, then we would expect *S. o. ornatus* to be more closely related to the geographically closest population, that of *S. oberon* 27 from Coahuila (see Figure 1 and Table 1). However, *S. o. ornatus* appeared as the sister group of the geographically furthestmost population from Nuevo León (*S. oberon* 29). Moreover, these taxa occur in very different environments. Whereas *S. oberon* occurs in oak woodlands, *S. o. ornatus* lives at lower altitude in desert regions. While *S. oberon* exhibits dark colors on its back, *S. o. ornatus* is yellow and light blue. With respect to the dorsal scales, *S. oberon* has relatively large scales, averaging 37.5 around the body, but *S. o. ornatus* averages 55, smaller scales. Our tree leaves three possible options to consider: 1) *S. oberon* and *S. o. ornatus* form a single species; 2) *S. oberon* contains at least three cryptic species; or 3) the non-monophyly owes to incomplete lineage sorting. An evaluation of highly variable nuclear genes could differentiate between these possibilities. However, for the time being, we prefer the first option and consider the taxa to be conspecific. The phylogenetic relationships of *S. o. caeruleus* are still not satisfactorily resolved, and we believe that more detailed studies are necessary.

The extensive variation in coloration between individuals in the *torquatus* group may reflect sexual selection (Wiens *et al.* 1999). Regardless, environmental characteristics might also play a very important role, particularly in the number and size of the dorsal scales, given that scales are involved in thermoregulation and humidity exchange (Soulé and Kerfoot 1972; Fox 1975).

Taxonomy of the *torquatus* group

In order to obtain a taxonomy that reflects phylogenetic history, a number of taxonomic changes are necessary. The following modifications are proposed:

1) *Sceloporus mucronatus* should be treated as a monotypic species. The subspecies *S. mucronatus mucronatus* should not be recognized.

2) The subspecies *Sceloporus mucronatus aureolus* should be elevated to full species status as *Sceloporus aureolus* [new combination].

3) The subspecies *Sceloporus m. omiltemanus* should be elevated to full species status as *S. omiltemanus* [new combination].

In this study, we showed molecular evidence for the non-monophyly of *S. mucronatus* subspecies, which indicates a discordance between morphological and mtDNA species limits. The main differences between *S. mucronatus* subspecies have traditionally been identified as some patterns on the coloration, the number of dorsal scales and femoral pores (Smith 1939). In *S. m. mucronatus* dorsal scales are 27 to 30 with 11 to 17 femoral pores on each side; in *S. m. omiltemanus* dorsal scales are 30 to 38 with 12 to 16 femoral pores, and in *S. m. aureolus* dorsal scales are 32 to 36 with 12 to 16 femoral pores. Nevertheless, due to wide morphological overlapping between species, no consistent diagnostic characters have been observed.

4) *Sceloporus oberon* should be synonymized into *Sceloporus ornatus*. *Sceloporus ornatus* Baird, 1859 has priority over *S. oberon* (*S. jarrovii oberon* Smith and Brown, 1941). Although recognition of subspecies has become controversial, *S. ornatus ornatus* could continue to be recognized. If so, then populations presently known as *S. oberon* should be referred to as *S. ornatus oberon* [new combination]. We recognize that this arrangement results in a paraphyletic taxonomy for the subspecies.

5) *Sceloporus ornatus caeruleus* should be elevated to full species status as *S. caeruleus* [new combination].

As in *S. mucronatus*, we observed discordances between morphology and mtDNA data. According to the molecular phylogeny of Wiens *et al.* (1999) *S. jarrovii oberon* and some northern populations of *S. j. minor* are synonymized in *S. oberon*, despite the differences in coloration of these two taxa. Wiens *et al.* (1999) suggested that the differences in dorsal coloration in the populations of *S. oberon* may reflect sexual selection. Furthermore, in our study we also found that *S. o. ornatus* and *S. oberon* conforms an evolutionary species, despite the differences in coloration and scutellation. The populations of *S. oberon* have between 34 to 46 dorsal scales, whereas *S. o. ornatus* have between 55 to 63 dorsal scales with a complex coloration pattern (Smith 1939). The differences in the number of dorsal scales may be due to habitat, as was pointed out in a previous paragraph. Habitat influence may explain the morphological similarities between *S. o. ornatus* and *S. o. caeruleus* which has a high number of dorsal scales (47 to 53) and also occurs in semi-desert habitats, but without a close phylogenetic relationship.

6) *Sceloporus serrifer plioporus* Smith, 1939 from southern Tamaulipas, should be synonymized into *S. cyanogenys* Cope, 1885. The taxonomic status of populations in Veracruz remains uncertain. The original morphological difference between putative populations of *S. s. plioporus* and *S. cyanogenys*, was the divided supraoculars scales in the latter (Smith 1939). However, on closer inspection, these differences are not supported (Olson, 1987) because the percentage of individuals with divided supraoculars scales increases northwardly.

7) *Sceloporus dugesii* should be recognized as being monotypic, instead of having two subspecies *S. d. dugesii* and *S. d. intermedius*. Despite Wiens and Reeder (1997) found some weakly supported morphological

differences between *S. d. dugesii* and *S. d. intermedius*. The main diagnostic character between these two taxa, the presence of head scales microscopically rugose in *S. d. dugesii* (Smith, 1939), is not a fixed character (see morphological matrix in the study of Wiens and Reeder 1997), and it could be chosen on a small sample size basis.

8) *Sceloporus lineolateralis* Smith, 1936 should be synonymized into *Sceloporus jarrovii* Cope, in Yarrow, 1875, but potentially recognized as the subspecies *S. jarrovii lineolateralis* [new combination]. Unfortunately *S. j. jarrovii* lacks fixed diagnostic morphological characters (Wiens and Penkrot 2002). The characters early identified by Smith (1939) like diagnostic of *S. j. jarrovii* (e. g., the first canthal seldom forced above canthal ridge by contact of second canthal and subnasal, prefrontals in contact, color pattern etc.), exhibit some intra-specific variation even in other populations. Some authors have similarly reported that *S. lineolateralis* and *S. j. jarrovii* intergrade with each other based on morphological characters (Webb and Hensley 1959; Chrapliwy 1964; Wiens *et al.* 1999). The previous studies along with our molecular results indicate the conspecificity between *S. lineolateralis* and *S. j. jarrovii*.

Acknowledgements

We thank Robert W. Murphy and anonymous reviewers for helpful advice and comments on the manuscript; M. en C. Laura Márquez and the Laboratorio de Biología Molecular at Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) for providing facilities and helping with the laboratory work; and Posgrado en Ciencias Biológicas (UNAM). We also thank Drs. Oscar Flores-Villela (UNAM-MZFC) and Jonathan A. Campbell (University of Texas at Arlington) for providing tissues of *Sceloporus* sp. and *S. bulleri* (2 and 3). Funding for this study was provided by a Ph.D. Scholarship from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) and from Dirección General de Asuntos del Personal Académico (Project IN213405).

References

- Arévalo, E., Davis, S.K. & Sites, J.W., Jr. (1994) Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central México. *Systematic Biology*, 43, 387–481.
- Baird, S.F. (1859) Description of new genera and species of North American lizards in the museum of the Smithsonian Institution. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 10, 253–256.
- Bell, E.L., Smith, H.M., & Chizar, D. (2003) An Annotated list of the species-group names applied to the lizard genus *Sceloporus*. *Acta Zoologica Mexicana*, n.s., 103–174.
- Barrett, M., Donoghue, M.J., & Sober, E. (1991) Against consensus. *Systematic Zoology*, 40, 486–493.
- Benabib, M., Kjer, K.M. & Sites, J.W., Jr. (1997) Mitochondrial DNA sequence-based phylogeny and the evolution of viviparity in the *Sceloporus scalaris* group (Reptilia: Squamata). *Evolution*, 51, 1262–1275.
- Brandley, M. C. & De Queiroz, K. (2004) Phylogeny, ecomorphological evolution, and historical biogeography of the *Anolis cristatellus* series. *Herpetological Monographs*, 18, 90–126.
- Cope, E. D. (1875) Check list of North American Batrachia and Reptilia with a systematic list of the higher groups and an essay on geographic distribution based on the specimens in United States National Museum. *Bulletin of United States Natural Museum*, 1, 1–104.
- Cope, E. D. (1885) A contribution to the herpetology of Mexico. I. The collection of the Comisión Científica. IV. Cozumel Island. VI. A synopsis of the Mexican species of the genus *Sceloporus*. *Wieg. Proceedings of American Philosophical Society*, 22, 379–404.
- Chrapliwy, P. S. (1964) Taxonomy and distribution of *jarrovii* complex of lizards of the *torquatus* group, genus *Sceloporus*. Ph.D. dissertation. University of Illinois, Urban, IL.
- Dugès, A. A. D. (1877) Una nueva especie de saurio. *La Naturaleza*, 4, 29–34.
- Felsenstein, J. (1985) Confident limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution*, 39, 783–781.
- Fetzner, J.W. Jr. (1999) Extracting High-Quality DNA from shed reptile skins: A simplified method. *Biotechniques*, 26,

1052–1054.

- Filatov D.A. (2002) ProSeq: A software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes*, 2, 621–624.
- Forstner, M.R., Davis, S. K. & Arévalo, E. (1995) Support for the hypothesis of anguimorph ancestry for the suborder Serpentes from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4, 93–102.
- Fox, S. F. (1975) Natural selection on morphological phenotypes of the lizard *Uta stansburiana*. *Evolution*, 29, 95–107.
- Hernández-Gallegos, O., Rodríguez-Romero, F. & Casas-Andreu, G. (2003) *Sceloporus torquatus melanogaster*. *Herpetological Review*, 34, 385.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. (2001) MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17, 754–755.
- Kluge, A. G. & Wolf, A. J. (1993) Cladistics: What's in a word?. *Cladistics*, 9, 183–199.
- Larget, B. & Simon, D. L. (1999) Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 750–759.
- Larsen, K.R. & Tanner, W. W. (1974) Numeric analysis of the lizard genus *Sceloporus* with special reference to cranial osteology. *Great Basin Naturalist*, 35, 1–20.
- Larsen, K.R. & Tanner, W. W. (1975) Evolution of the sceloporine lizards (Iguanidae). *Great Basin Naturalist*, 35, 1–20.
- Lee, J. C. (1996) *The Amphibians and Reptiles of the Yucatan Peninsula*. Cornell University Press, E.U.
- Lee, J. C. (2000) *A Field Guide to the Amphibians and Reptiles of the Maya World, the Lowlands of México, Northern Guatemala, and Belize*. Cornell University Press, Ithaca, New York, 402 pp.
- Leviton, A. E., Gibbs, R. H., Heal, E. & Dawson, C. E. (1985) Standards in herpetology and ichthyology: Part I. Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology. *Copeia*, 1985, 802–832.
- Lewis, P.O. (2001) Phylogenetics systematics turns over a new leaf. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 30–37.
- Lyons-Weiler, J., Hoelzer, G. A. & Tausch, R. J. (1998) Optimal outgroup analysis. *Biological Journal of the Linnean Society*, 64, 493–511.
- Martin, P. S. (1952) A new subspecies of the iguanid lizard *Sceloporus serrifer* from Tamaulipas, Mexico. *Occasional Papers of the Museum of Zoology University of Michigan*, 534, 1–7.
- Nylander, J. A. A. (2001) Taxon sampling in phylogenetic analysis: Problems and strategies reviewed. Introductory Research Essay No. 1. Department of Systematic Zoology, Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Olson, R. E. (1987) Taxonomic revision of the lizards *Sceloporus serrifer* and *cyanogenys* of the Gulf Coastal Plain. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society*, 23, 158–167.
- Ortí, G. & Meyer, A. (1997) The radiation of characiform fishes and the limits of resolution of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Systematic Biology*, 46, 75–100.
- Posada, D. & Buckley, T. R. (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, 53, 793–808.
- Posada, D., & Crandall, K. A. (1998) Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14, 817–818.
- Rambaut, A., & Drummond, A. (2005) Tracer v1.2.1 2003- MCMC Trace File Analyser University of Oxford. Available from <http://evolve.zoo.ox.ac.uk/beast/>
- Reeder, T.W. (1995) Phylogenetic relationship among phrynosomatid lizards as inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences: substitutional bias and information content of transitions relative to transversions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4, 203–222.
- Reeder, T.W. (2003) A phylogeny of the Australian *Sphenomorphus* group (Scincidae: Squamata) and the phylogenetic placement of the crocodile skinks (Tribolonotus): Bayesian approaches to assessing congruence and obtaining confidence in maximum likelihood inferred relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 27, 384–397.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. & Erlich, H.A. (1998) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487–491.
- Sanderson, M. J. & Kim, J. (2000) Parametric phylogenetics?. *Systematic Biology*, 49, 817–829.
- Sanderson, M. J. & H. B. Shaffer. 2002. Troubleshooting molecular phylogenetic analyses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33, 49–72.
- Sites, J. W., Jr., Archie, J. W., Cole, Ch. J. & Flores-Villela, O. (1992) A review of phylogenetic hypotheses for lizards of the genus *Sceloporus* (Phrynosomatidae): Implications for ecological and evolutionary studies. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 213, 1–110.
- Smith, A. B. (1994) Rooting molecular trees: problems and strategies. *Biological Journal of the Linnean Society*, 51, 279–292.
- Smith, H. M. (1936) Description of new species of lizards of the genus *Sceloporus* from Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 49, 87–96.
- Smith, H. M. (1938) The lizard of the *torquatus* group of the genus *Sceloporus* Wiegmann 1828. *University of Kansas, Scientific Bulletin*, 24, 539–693.
- Smith, H. M. (1939) The Mexican and Central American lizards of the genus *Sceloporus*. *Field Museum of Natural His-*

- tory, *Publications in Zoology Series*, 26,1–397.
- Smith, H. M. & Brown, B. C. (1941) A new subspecies of *Sceloporus jarrovii* from Mexico. *Zoological Series of the Field Museum of Natural History*, 24, 253–257.
- Smith, H. M. & Taylor, E. H. (1950) An annotated checklist and key to the reptiles of Mexico exclusive of the snakes. *Bulletin of United States Natural Museum*, 199, 1–253.
- Soulé, M. & Kerfoot, C. (1972) On the climatic determination of scale size in a lizard. *Systematic Zoology*, 21, 97–105.
- Stuart, L. C. (1970) A brief review of the races of *Sceloporus serrifer* Cope with especial reference to *Sceloporus serrifer prezygus*. *Herpetologica* 26, 141–149.
- Swofford, D. L. (1998) “PAUP”: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (And other Methods), version 4. Sinauer, Sunderland, MA.
- Swofford, D. L. & Olsen, G. J. (1990) Phylogeny reconstruction. In: Hillis, D. M. & Moritz, C. (Eds.). *Molecular Systematics*. Sunderland, Mass. Sinauer Press, pp. 411–501.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. (1997) The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24, 4876–4882.
- Webb, R. G. & Hensely (1959) Notes on reptiles from the Mexican state of Durango. Publications of the Museum, Michigan State University. Biological series,1, 252–258.
- Wenzel, J. W. & Sidall M. E. (1999) Noise. *Cladistics*, 15, 51–64.
- Wiens, J. J. (1998a) Combining data sets with different phylogenetic histories. *Systematic Biology*, 47, 568–581.
- Wiens, J. J., & Penkrot, T. A. (2002) Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology*, 51, 69–91.
- Wiens, J. J., Reeder, T.W. & Nieto-Montes de Oca, A. (1999) Molecular phylogenetics and evolution of sexual dichromatism among populations of the Yarrow’s spiny lizard (*Sceloporus jarrovii*). *Evolution*, 53, 1884–1897.
- Wiens, J. J., & Reeder, T.W. (1997) Phylogeny of spiny lizards (*Sceloporus*) based on molecular and morphological evidence. *Herpetological Monographs*, 11, 1–101.
- Wilcox, T.P., Zwickl, D.J., Heath, T.A. & Hillis, D.M. (2002) Phylogenetic relationships of the dwarf boas and comparison of Bayesian and bootstrap measures of phylogenetic support. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25, 361–371.

Capítulo III

Filogeografía de *Sceloporus serrifer* inferida a través de secuencias de mtDNA.

Introducción

Estudios sistemáticos previos basados en morfología externa, habían sugerido que las poblaciones de *Sceloporus serrifer serrifer* y *S. s. prezygus* del suroeste de México y Guatemala, así como las poblaciones de *S. s. pliopus* y *S. cyanogenys* del noroeste de México y sur de Texas formaban un grupo monofilético (Stuart, 1970; Olson, 1987). Sin embargo con el estudio del capítulo anterior se demostró que las especies norteñas *S. cyanogenys* y *S. s. pliopus* son especies hermanas, pero no forman parte de las especies sureñas, las cuales constituyen otro clado (Martínez-Méndez y Méndez-de la Cruz, 2007).

Las poblaciones de *S. serrifer* del sureste de México y Guatemala a pesar de su cercanía filogenética, habitan regiones geográficas muy contrastantes. *S. s. serrifer* se distribuye en el norte de la Península de Yucatán habitando bosques tropicales caducifolios y bosques espinosos (Rzedowski, 1981), con climas BS secos o áridos y climas tipo Aw calientes subhúmedos con lluvias en verano y temperaturas medias anuales alrededor de los 26° C (García, 1981; INEGI, 2004). Mientras que las poblaciones de *S. s. prezygus* de los altos de Chiapas y zonas montañosas aledañas de Guatemala, habitan áreas con climas de tipo C(w) que es un tipo de clima templado subhúmedo con lluvias en verano y temperaturas medias anuales entre 14 y 20° C (García, 1981; INEGI, 2004), con vegetación de bosques de pino-encino y de encino (Rzedowski, 1981). Asimismo, hay otra población de *S. s. prezygus* que habita las Sierras bajas del Petén y Selva Lacandona en donde el clima es tipo Am (caliente húmedo con lluvias en verano con una temperatura media anual entre 26 y 28° C; García, 1981; INEGI, 2004) y vegetación de bosques tropicales subperenifolios y sabanas (Rzedowski, 1981).

Este tipo de distribución es presentado por algunos otros reptiles y anfibios, como lo demuestra el análisis ecogeográfico de Lee (1980) sobre la herpetofauna de la península de Yucatán. Sin embargo este es el único trabajo que trata sobre las

distribución de los reptiles en el sureste de México y el único en donde se sugiere que algunas de las distribuciones observadas en anfibios y reptiles pueden estar influenciadas por los cambios climáticos durante el plesitoceno. Asimismo, es probable que los efectos climáticos pudieran afectar de manera considerable a los reptiles y anfibios debido a que son organismos ectotérmicos con límites de tolerancia y temperaturas de actividad muy específicas, que dependen de las fuentes externas de calor para su supervivencia, lo que aunado a su baja capacidad de movilidad limita su distribución a regiones con climas para los cuales poseen ciertas adaptaciones fisiológicas (Huey, 1982; Shine, 2005).

Por tanto, es posible que las distintas poblaciones de *S. serrifer* se encuentren distribuidas en zonas que pueden estar funcionando como islas continentales promoviendo un aislamiento no sólo por distancia sino también ecológico, en donde el flujo genético debe ser nulo o casi nulo, permitiendo la diferenciación genética de las poblaciones. Además otro factor que pudiera haber condicionado inicialmente la distribución de las poblaciones de *S. serrifer* es su modo reproductor vivíparo. Pues la principal teoría sobre el surgimiento de la viviparidad en escamados plantea que este modo reproductor surgió en zonas de alta montaña como una manera de proteger a los embriones de morir por bajas temperaturas en los nidos, por lo que la distribución de especies vivíparas al nivel del mar como las poblaciones del norte de Yucatán de *S. serrifer* se explicaría como un fenómeno de invasión secundaria (Shine, 1985; Blackburn, 2006).

Es así que planteamos un estudio filogeográfico que por medio de datos moleculares pueda ayudarnos a dilucidar patrones históricos de colonización y aislamiento de las poblaciones de *S. serrifer*, para discernir si es que las poblaciones de la península de Yucatán efectivamente fueron las últimas en establecerse como lo prediciría la principal teoría sobre el surgimiento de la vivíparidad (Shine, 1985). Asimismo, sabiendo que la estructura genética y geográfica de las especies está determinada no sólo por patrones históricos de dispersión y vicarianza, sino también por su ecología, nos interesa saber si es que la vivíparidad al ser una probable adaptación a climas fríos pudo ser un factor que favoreciera demográficamente a las

poblaciones de zonas bajas durante los periodos glaciares en comparación con tiempos más calurosos.

Materiales y métodos

Muestreo Taxonómico.

Se obtuvieron muestras de tejido hepático y del músculo de la cola de organismos capturados en 19 localidades de *S. serrifer serrifer* y *S. serrifer prezygus* localizadas en el sureste de México y Guatemala (Fig. 1), cubriendo toda la distribución de la especie.

Extracción de ADN, amplificación y secuenciación.

Se aisló el DNA mitocondrial de pequeñas cantidades de las muestras de hígado y músculo de la cola (aprox. 100 mg) siguiendo el protocolo de extracción con Acetato de Amonio de Fetzner (1996). Posteriormente, el genoma mitocondrial se amplificó usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; Saiki *et al.*, 1998).

Las regiones amplificadas corresponden a un fragmento de 877 pares de bases del gen ND4, amplificados con los oligos ND4 y LEU (Arevalo *et al.*, 1994; Forstner *et al.*, 1995) y a 1045 pares de bases del Citocromo B (CytB) amplificado con los oligos L16355 y H17415 (Roe *et al.*, 1985; Lindell *et al.*, 2005). Las reacciones de PCR fueron llevadas a cabo en un termociclador Perkin Elmer 2400 en un volumen final de 50 μ l. Las condiciones de la reacción de PCR para el ND4 fueron 35 ciclos de 94^o por 1 min., 50^o por 1 min. y 72^o por 1 min. El primer ciclo de todas las reacciones de amplificación incluyó un ciclo de desnaturalización de 94^o por 3 min. y se completó con dos ciclos para extensión final de 72^o por 5 min. Los productos de la PCR fueron purificados utilizando el kit de purificación QIA quick y las muestras resultantes fueron secuenciadas en un secuenciador automático ABI PRISM, 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

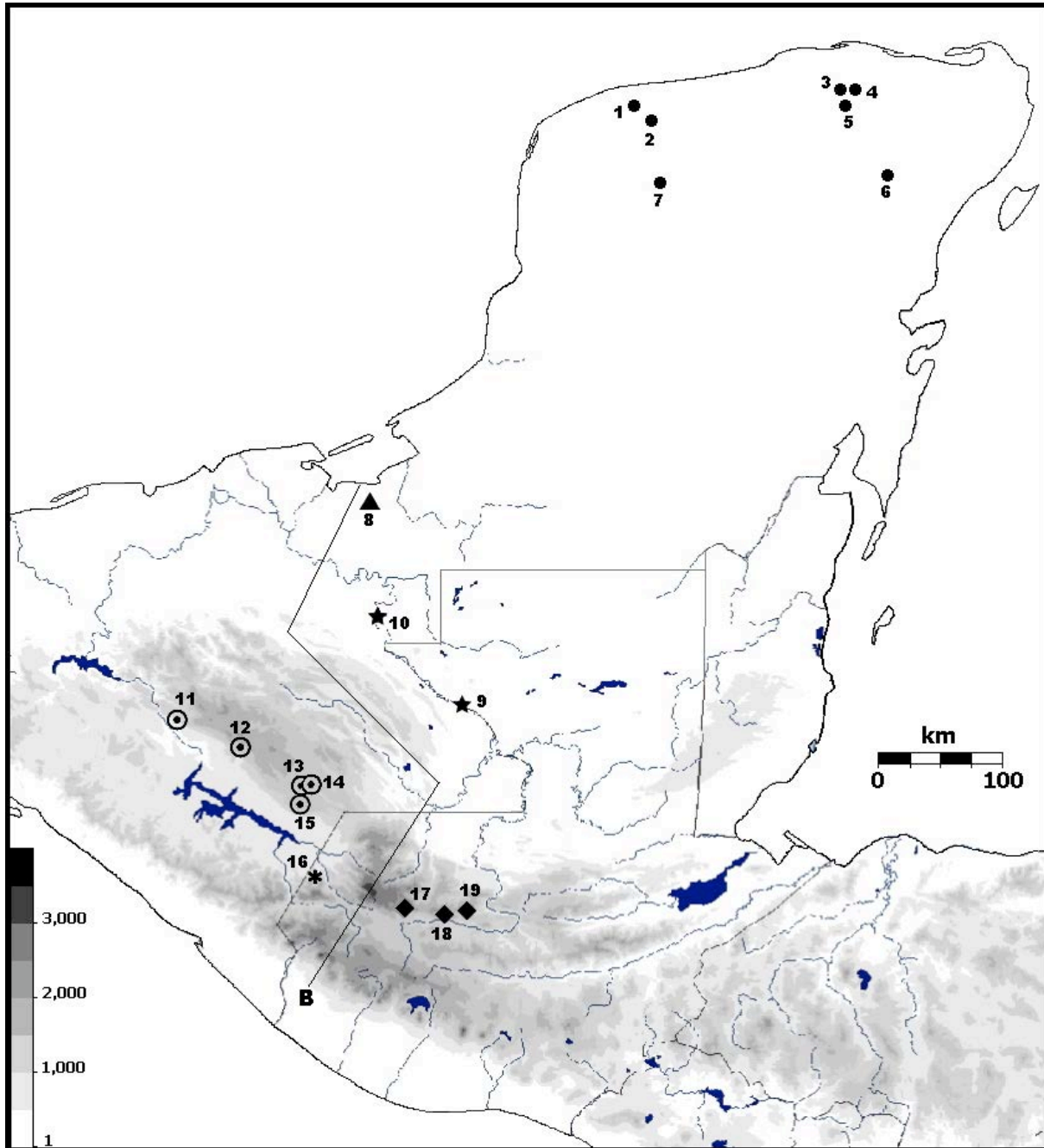


Figura 1. Mapa que muestra las localidades de colecta. Para *S. s. serrifer* : ● = Península; ▲ = Campeche; ★ = Usumacinta. Para *S. s. prezygus* : ⊙ = Altos, * = Cuilco y ◆ = Cuchumatanes. En el mapa el incremento en la altura se indica como un incremento en la tonalidad gris. La altura se codifica en la barra inferior izquierda en unidades de metros sobre el nivel del mar (m. s. n. m.). Con el sombreado más oscuro se localizan las montañas de los Cuchumatanes, que probablemente han funcionado como barrera geográfica para explicar la discontinuidad genética entre las poblaciones de los Altos y Cuilco con respecto a las poblaciones del este (E). La Discontinuidad inferida por el algoritmo de Monmonier y por SAMOVA se marca con la letra B (ver texto). Los números de localidad corresponden a los de la tabla 1.

Tabla 1. Relación de las localidades muestreadas. Pe= Península de Yucatán; Ca= Campeche (Chumpán); Us= Márgenes del río Usumacinta; Al= Altos de Chiapas, Cl= Cuilco; Cu= Sierra de los Cuchumatanes.

Localidad	Especie	n	Clave	Región
1. Municipio de Progreso, Yucatán.	<i>S. serrifer serrifer</i>	9	Pe	
2. Conkal, Yucatán, a 14.45 km al sur de Mérida.	<i>S. serrifer serrifer</i>	17	Pe	
3. Xpanha Toro a 20 km al Norte de Tizimín, Yucatán. Tizimín 1	<i>S. serrifer serrifer</i>	1	Pe	
4. Centro de Xpanha Toro municipio de Tizimín, Yucatán. Tizimín 2	<i>S. serrifer serrifer</i>	1	Pe	Norte de Península de Yucatán
5. 440 m al S de Xpanha Toro municipio de Tizimín, Yucatán. Tizimín 3	<i>S. serrifer serrifer</i>	6	Pe	
6. Carretera Tizimín-Mérida a 33.2 km al S de Tizimín y a 121 km al E de Mérida, Yucatán. Tizimín 4	<i>S. serrifer serrifer</i>	1	Pe	
7. Zona Arqueológica de Mayapán, Yucatán.	<i>S. serrifer serrifer</i>	5	Pe	
8. Margen W del río Chumpán, 16 km al SW de boca de Balchaca o Balchacaj, Campeche.	<i>S. serrifer serrifer</i>	6	Ca	Campeche
9. Ruinas de Yaxchilan, municipio de Ocozingo, Chiapas.	<i>S. serrifer serrifer</i>	6	Us	
10. Margen N del río Usumacinta, en Boca del Cerro, Tabasco.	<i>S. serrifer serrifer</i>	1	Us	Márgenes del río Usumacinta
11. Municipio de Ixtapa Chiapas a 26.28 km al E de San Cristobal de las Casas .	<i>S. serrifer prezygus</i>	6	Al	
12. Municipio de Teopisca, Chiapas.	<i>S. serrifer prezygus</i>	9	Al	
13. Municipio de la Independencia, Chiapas. A 11.16 km al W de Comitán.	<i>S. serrifer prezygus</i>	1	Al	Altos de Chiapas
14. Ranchería Chitijá, municipio de Comitán, Chiapas.	<i>S. serrifer prezygus</i>	8	Al	
15. Barrio Alto, municipio de la Trinitaria, Chiapas, a 0.86 km al NE del Centro de la Trinitaria.	<i>S. serrifer prezygus</i>	3	Al	
16. Municipio de Cuilco, Depto. De Huehuetenango, Guatemala.	<i>S. serrifer prezygus</i>	9	Cl	Cuilco
17. Municipio de Aguacatán, Huehuetenango, Guatemala.	<i>S. serrifer prezygus</i>	8	Cu	
18. Carretera Cunén-Uxpantán, Depto. De Quiché, Guatemala. A 24 km al W de Cunén.	<i>S. serrifer prezygus</i>	5	Cu	Sierra de los Cuchumatanes
19. Carretera Uxpantán-Chicaman, municipio de Uxpantán, Depto. De Quiché, Guatemala. A 24 km al W de Cunén.	<i>S. serrifer prezygus</i>	5	Cu	

Alineamiento de las secuencias.

Las secuencias obtenidas fueron recopiladas y editadas cotejando los electroferogramas correspondientes por medio del programa ProSeq versión 2.91 (Filatov, 2002). La alineación de las secuencias se hizo para cada región por separado empleando el programa Clustal X (Thompson *et al.*, 1997) con los parámetros "default". Las secuencias de ND4 y Cytb al ser codificantes de proteínas carecen de "indels" por lo que fueron alineadas sin ambigüedad. Posteriormente cada región codificante, fue trasladada a aminoácidos para revisar si existían codones de paro que pudieran indicarnos la presencia de pseudogenes. La región de tRNAs adyacente al ND4 presentó algunos "indels", pero por su poca longitud (173 pb) fue alineada también a ojo y posteriormente se reanalizó con Clustal X utilizando distintos costos de huecos, encontrándose que los alineamientos no variaban en comparación con el alineamiento a ojo. Posteriormente para el análisis de los datos en conjunto, las matrices alineadas de cada región se combinaron en una nueva matriz.

Análisis sistemático.

Los dos conjuntos de datos (ND4 y Cyt B) se analizaron por medio de inferencia bayesiana utilizando como grupos externos secuencias de *S. torquarus torquatus* y *S. mucronatus mucronatus*, dos especies del grupo *torquatus*. Los modelos de sustitución más apropiados para cada partición se determinaron con la ayuda del programa Modeltest (versión 3.07, Posada y Crandall, 1998), utilizando el método del Bayesian Information Criterion (BIC). Las particiones a los datos empleadas corresponden para cada gen a la primera, segunda y tercera posición y tRNA's para el caso del ND4, utilizando los correspondientes modelos de evolución molecular y la matriz de tasas de sustitución que se obtuvieron para cada partición por medio del programa Modeltest (versión 3.07, Posada y Crandall, 1998). Para los datos en conjunto el mejor modelo encontrado fue el GTR + I + G. La proporción de sitios invariables (I) se estimó en 0.4116 con un parámetro de forma de la distribución gamma de 0.7126.

El análisis Bayesiano se implementó en el programa MrBayes 3.0 b4 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Se implementaron cuatro cadenas de Markov comenzando con un árbol al azar y se corrieron 2.0×10^6 generaciones con muestreos cada 1000 generaciones y posteriormente los datos se analizaron con el programa Tracer v.1.2.1. (Rambaut y Drummond, 2005) para graficar la verosimilitud de los puntos de muestreo contra las generaciones (generation time) e identificar cuando el análisis Bayesiano alcanzó la estacionalidad y así determinar cuantas generaciones se debían descartar como calentamiento (burn-in) o si es que se necesitaban correr más generaciones. Para estar seguros que el análisis Bayesiano no había quedado atrapado en un óptimo local, los análisis fueron reanalizados dos veces y comparados para determinar si los niveles estacionarios aparentes se alcanzaban en el mismo número de generaciones. Una vez que los distintos análisis habían alcanzado la estabilidad (stationarity) en verosimilitudes similares y que las topologías fueron congruentes, los árboles resultantes se combinaron por medio de un árbol de compromiso de mayoría en PAUP ver.4 (Swofford, 1998), indicando las probabilidades posteriores mayores a 50% arriba de cada rama. Asimismo, bajo el criterio comúnmente aceptado de $\alpha = 5\%$ se consideró significativamente apoyados a los clados con probabilidades posteriores (PP) $\geq 95\%$ (Wilcox, *et al.*, 2002; Reeder, 2003).

Análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA)

Para analizar la distribución espacial de la variabilidad genética del conjunto de datos obtenidos, utilizamos el análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA) (Templeton, 1998). Primero se construyó la red de parsimonia estadística (*statistical parsimony network*) construida por medio del programa TCS versión 1.1.3 (Clement *et al.*, 2000). Debido a que la red obtenida a un nivel del 95% de límite de conexión formó cuatro redes inconexas, se fijó el límite de conexión a 32 pasos para obtener una sola red. Los rizos (loops) ambiguos en la red (dos), fueron resueltos siguiendo las recomendaciones de Pfenninger y Posada (2002). Posteriormente, los distintos haplotipos de las redes se agruparon en un diseño jerárquico anidado siguiendo la propuesta de Templeton *et al.* (1995). Se probó la significancia estadística de las relaciones entre las localidades geográficas de los organismos y su posición en la

red anidada de haplotipos por medio del programa GEODIS versión 2.4 (Posada *et al.*, 2000) con un millón de permutaciones. Los resultados del anterior análisis se interpretaron con la clave de inferencia filogeográfica de Templeton (2004).

Estructura poblacional

El principal supuesto para poder determinar la estructura y la historia poblacional es que la variación molecular evoluciona de manera neutral, por tanto es necesario probar tal condición antes de interpretar los resultados de posteriores análisis. Para tal motivo se utilizó la prueba de McDonald-Kreitman (M-K) de neutralidad (1991), la cual compara la proporción de sustituciones sinónimas y no sinónimas dentro de especies en relación a la misma proporción de sustituciones que están fijadas en una o más especies de un grupo externo relacionado. Esta es una prueba cuyos estadísticos se distribuyen de manera independiente de la genealogía (Nielsen 2001). Esta propiedad es importante, ya que para determinar si hay equilibrio poblacional de manera independiente del análisis de clados anidados (NCA), se utilizará tanto la prueba-D de neutralidad de Tajima (Tajima, 1989) como la prueba de neutralidad F_s (Fu, 1997), las cuales detectan desviaciones en el equilibrio del tamaño poblacional que se interpretan en el contexto de expansión poblacional o cuellos de botella siempre y cuando la prueba M-K no refute la hipótesis nula de evolución neutral. La prueba M-K se realizó en el programa DNASP versión 3.0 (Rozas y Rozas, 1999) y las pruebas D de neutralidad de Tajima y la de F_s de Fu, se realizaron con Arlequin versión 2.000 (Schneider *et al.*, 2000). Adicionalmente, bajo el supuesto de neutralidad se esperaba que los valores de las pruebas de Tajima y de Fu atribuibles a procesos demográficos fueran más o menos uniformes a lo largo de las secuencias analizadas y no concentrados en ciertas regiones lo que nos podría indicar selección; por tal motivo para verificar dicho supuesto estas pruebas se repitieron en ventanas de diez bases con un solapamiento cada 5 por medio del programa DNASP versión 3.0 (Rozas y Rozas, 1999).

También se calcularon la diversidad haplotípica (h), la diversidad nucleotídica (π), se estimó el parámetro mutacional $\theta = 2Nu$ (en donde N es el tamaño poblacional y u es la tasa de mutación) por medio del estimador de Tajima ($\theta\pi$) y por medio del

estimador de Watterson (θ_s) y los valores de F_{ST} determinados por medio de un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés; Excoffier *et al.*, 1992), que se calcularon por medio del programa Arlequin versión 2.000 (Schneider *et al.*, 2000). Para el cálculo de los índices de diversidad genética y F_{ST} , se utilizó el modelo de Tamura y Nei (1993) con el parámetro de forma de la distribución gamma de 0.7126, en lugar del modelo GTR + I + G determinado por el Modeltest, ya que este modelo no está disponible en Arlequin. La significancia de los componentes de la varianza y de los F_{ST} fue obtenida por medio de 1000 permutaciones de los datos. Los grupos de poblaciones se definieron en función de las grandes zonas geográficas muestreadas y de los clados identificados por medio de la filogenia obtenida con el análisis de inferencia bayesiana. Asimismo se utilizó una prueba de Mantel (1967) para determinar la relación entre la distancia geográfica y la distancia genética y explorar un posible patrón de aislamiento por distancia. La prueba de Mantel se implementó en el programa Alleles in Space (AIS) versión 1.0 (Miller, 2005) usando 1000 permutaciones, para los datos en total y para las poblaciones de los principales clados identificados.

Estructura poblacional e historia demográfica

Para examinar un posible rastro de expansión poblacional en las poblaciones de *S. serrifer* y *S. serrifer prezygus*, se calculó la distribución del número de diferencias entre pares de haplotipos (“*mismatch distribution*”; Rogers and Harpending, 1992), por medio del programa Arlequin ver. 2.000 (Schneider, *et al.*, 2000). Debido a que este análisis se ve afectado por la subdivisión poblacional (Marjoram y Donnelly, 1994), además de aplicarse para los datos en conjunto, se realizó para los clados identificados en el análisis sistemático. Para probar el ajuste de las distribuciones observadas con las esperadas bajo el modelo de expansión, se calculó el índice de rugosidad “*raggedness*” (r) y se comparó la suma de desviaciones al cuadrado (SSD) entre los datos observados y los simulados (Rogers and Harpending, 1992).

También se utilizó el modelo de Bayesian Skyline Plot (BSP, Drummond *et al.*, 2005) que es una aproximación de genética de poblaciones basada en coalescencia que utiliza estadística bayesiana acoplada con cadenas de Markov (Markov Chain Monte

Carlo) para el muestreo de los datos, que permite inferir la historia demográfica de las poblaciones y al mismo tiempo estimar los tiempos de divergencia. El modelo BSP se ajusta a diferentes escenarios demográficos y minimiza los problemas de sobreparametrización, además hace las estimaciones de los parámetros poblacionales directamente de la secuencias y no de una genealogía generada, disminuyendo el error asociado a la reconstrucción filogenética. Este método también proporciona intervalos de credibilidad de los parámetros de interés como el *highest posterior density* (HPD) que indica los intervalos del 95% (mínimo y máximo) en el que se contienen los valores de los parámetros buscados. Se utilizó el programa Beast 1.4 (Drummond y Rambaut, 2006) para correr los análisis de Bayesian Skyline Plot empleando el modelo GTR + I +G con 45×10^6 generaciones. Para obtener los tiempos de divergencia de los principales nodos recuperados en el análisis sistemático y debido a que una tasa de substitución nucleotídica apropiada no ha sido calculada para este linaje, se utilizaron tres posibles tasas de mutación en los análisis del Bayesian Skyline Plot: 1) 0.0025 mutaciones/sitio/ millón de años (m. a.) que equivale a una divergencia entre secuencias de 0.5%; 2) 0.007 mutaciones/sitio/ m. a. que equivale a una divergencia entre secuencias de 1.4% y 3) 0.01 mutaciones/sitio/ m. a. que equivale a una divergencia entre secuencias de 2%. Las divergencias de 0.5% y del 1.4% se utilizaron debido a que existe evidencia que indica que éstas son el intervalo reportado para muchos pequeños vertebrados (Avice *et al.*, 1992; Caccone *et al.*, 1997; Macey *et al.*, 1999), mientras que Thorpe *et al.* (2005) reporta que divergencias entre 1-2% son las que se han calculado para CytB, Nd2 y otros genes mitocondriales en pequeños lacertilios.

Para determinar la localización geográfica de barreras que expliquen las posibles discontinuidades genéticas en los datos, se recurrió al algoritmo de máxima diferencia de Monmonier (Monmonier, 1973) el cual ha sido utilizado recientemente con un razonable desempeño para determinar cuáles regiones, a través del terreno, pueden ser interpretadas como barreras genéticas (Dupanloup *et al.*, 2002; Manni *et al.*, 2002; Manel *et al.*, 2003). Básicamente el análisis consiste en generar una red de conectividad con todos los puntos de muestreo de acuerdo a su posición geográfica, después las distancias genéticas entre muestras de puntos vecinos se

calculan y se asocian a cada borde de la red, después el algoritmo de máxima diferencia de Monmonier es utilizado para localizar los puntos adyacentes que tengan la mayor distancia genética, lo que indica una posible barrera. El análisis se efectuó con distancias genéticas no corregidas por medio del programa Alleles in Space (AIS) versión 1.0 (Miller, 2005). Asimismo, como un método alternativo para identificar las posibles barreras al flujo génico utilizamos el análisis espacial de varianza molecular implementado en el programa SAMOVA 1.0 (Dupanloup *et al.*, 2002) con unas 1000 permutaciones.

Resultados

Análisis sistemático

Un total de 107 individuos colectados en toda el área de distribución conocida de la especie (fig. 1 , tabla 1 y 2) fueron secuenciados para los genes ND4 y Cytb. Para el análisis de inferencia bayesiana con los dos conjuntos de datos se obtuvieron 2000 árboles, de los cuales se descartaron los primeros 120 como calentamiento, por lo que se construyó un árbol de compromiso de mayoría de 1880 árboles (fig. 2). En este árbol se pueden observar dos grandes clados, el primero que se forma por los organismos de los Altos de Chiapas y Cuilco en Guatemala, al que llamaremos clado de la región oeste (W) y el segundo formado por todas las demás poblaciones al que llamaremos clado este (E), por su posición geográfica con respecto al primer clado. En este árbol se observa que la subespecie *S. serrifer prezygus* de las zonas altas, no forma un grupo monofilético, ya que las poblaciones de la zona de la sierra de los Cuchumatanes se recuperan como grupo hermano de organismos procedentes de las poblaciones de *S. serrifer serrifer* que ocurren en las zonas bajas del río Usumacinta y la Península de Yucatán, mientras el resto de las poblaciones de las zonas altas se agrupan en el clado de la región oeste (W), correspondiente a la zona de los Altos y Cuilco. En el clado de la zona este (E), observamos que las poblaciones del norte de la Península de Yucatán no forman un grupo monofilético, ya que algunos de los organismos colectados en la pequeña población de Conkal (haplotipos identificados como Con) se recuperan en el mismo clado que los organismos de Campeche (Chu), mientras que los demás organismos forman otro clado junto con las demás poblaciones de la Península.

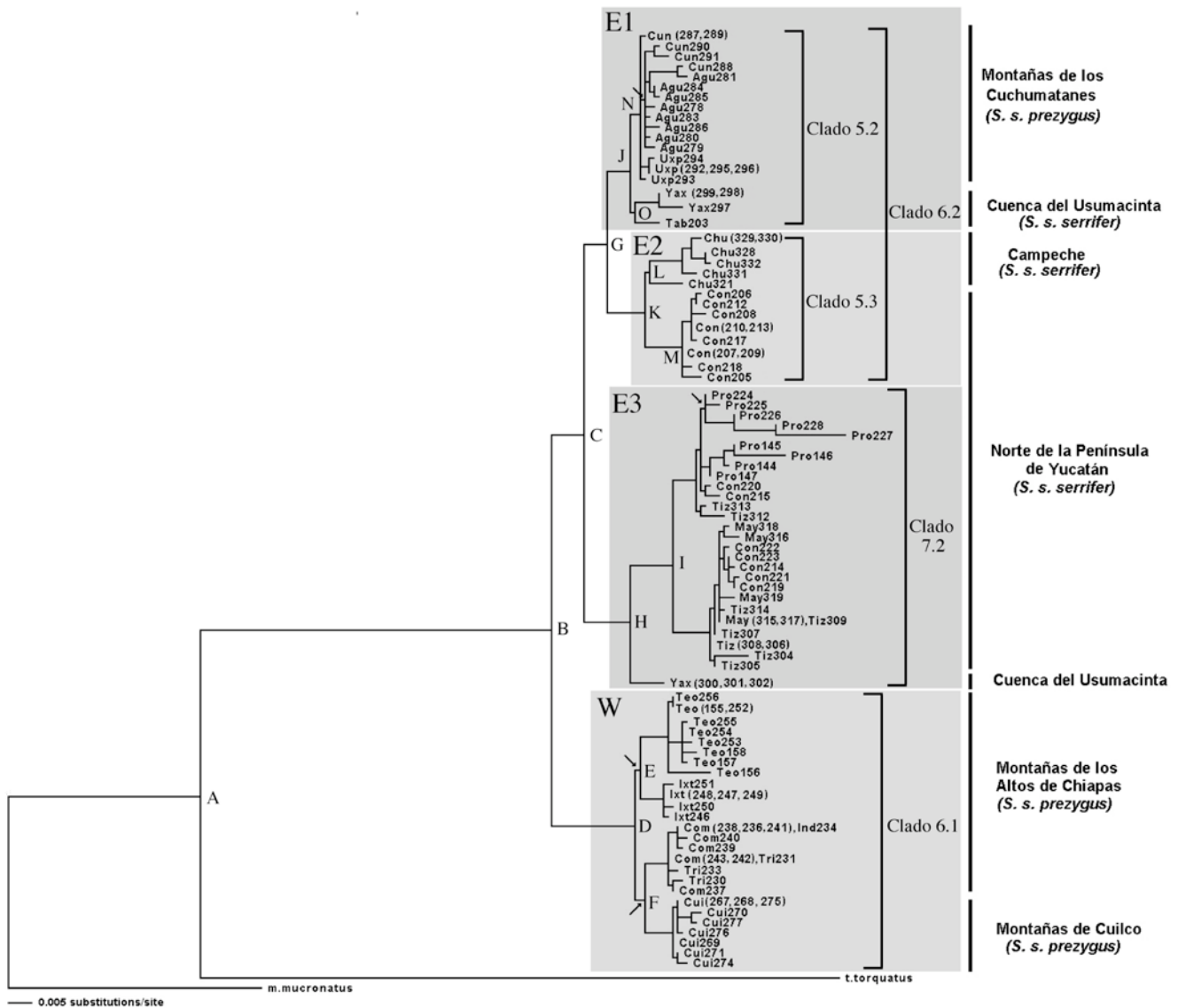


Fig. 2. Filograma de compromiso de mayoría del análisis Bayesiano de los genes ND4 y Cyt.B Todas las ramas presentaron probabilidades posteriores $\geq 95\%$ y valores de bootstrap $\geq 75\%$, exceptuando aquellas marcadas con una flecha. Los clados principales se indican con letras. La letra W corresponde a las poblaciones del oeste que son los Altos de Chiapas y Cuilco, mientras que las letras E seguidas de un número corresponden a los clados de todas las poblaciones al este del clado W. Los números indican los distintos clados encontrados en el análisis de clados anidados. Con letras se indican los distintos nodos datados por medio de una aproximación con Coalescencia. Asimismo, se indican las regiones geográficas de las colectas y la subespecie a la que corresponden. Las abreviaciones corresponden a: Cun= Cunen; Agu= Aguacatán; Uxp= Uxpantán; Yax= Yaxchilán; Tab= Tabasco (Boca del Cerro); Chu= Chumpán; Con= Conkal; Pro= Progreso; Tiz= Tizimín; May= Mayapán; Teo= Teopisca; Ixt= Ixtapa; Com= Comitán; Tri= Trinitaria; Ind= Independencia y Cui= Cuilco. Los números después de las abreviaciones corresponden a los números de colecta.

Tabla 2. Relación de los diferentes haplotipos incluidos en los análisis. Las letras en la columna de haplotipos indican los principales clados identificados en el análisis sistemático. El ID del organismo se compone de la abreviatura de la localidad y el número de colecta: Agu= Aguacatán; Cun= Cunen; Uxp= Uxpantán; Yax= Yaxchilán; Tab= Tabasco (Boca del Cerro); Chu= Chumpán; Con= Conkal; Pro= Progreso; Tiz= Tizimín; May= Mayapán; Teo= Teopisca; Ixt= Ixtapa; Com= Comitán; Tri= Trinitaria; Ind= Independencia y Cui= Cuilco.

Haplotipo	ID Organismo	Localidad	Haplotipo	ID Organismo	Localidad	Haplotipo	ID Organismo	Localidad
E1			E3			W		
1	Agu 278	17	32	Con 214	2	60	Cui 267	16
2	Agu 279		33	Con 215			Cui 268	
3	Agu 280		34	Con 219			Cui 275	
4	Agu 281		35	Con 220		61	Cui 269	
5	Agu 283		36	Con 221		62	Cui 270	
6	Agu 284		37	Con 222		63	Cui 271	
7	Agu 285		38	Con 223		64	Cui 274	
8	Agu 286		39	May 316	7	65	Cui 276	
9	Cun 287	18	40	May 318		66	Cui 277	
	Cun 289		41	May 319		67	Ind 234	13
10	Cun 288		42	May 315			Com 236	14
11	Cun 290			May 317			Com 238	
12	Cun 291			Tiz 309	5		Com 241	
13	Uxp 292	19	43	Tiz 304	3	68	Com 237	14
	Uxp 295		44	Tiz 305	4	69	Com 239	
	Uxp 296		45	Tiz 306	5	70	Com 240	
14	Uxp 293			Tiz 308		71	Com 242	
15	Uxp 294		46	Tiz 307			Com 243	
16	Tab 203	10	47	Tiz 312	6		Tri 231	15
17	Yax 297	9	48	Tiz 313		72	Tri 230	
18	Yax 298		49	Tiz 314		73	Tri 233	
	Yax 299		50	Pro 144	1	74	Ixt 246	11
E2			51	Pro 145		75	Ixt 247	
19	Chu 321	8	52	Pro 146			Ixt 248	
20	Chu 328		53	Pro147			Ixt 249	
21	Chu 329		54	Pro 224		76	Ixt 250	
	Chu 330		55	Pro 225		77	Ixt 251	
22	Chu 331		56	Pro 226		78	Teo 155	12
23	Chu 332		57	Pro 227			Teo 252	
24	Con 205	2	58	Pro 228		79	Teo 156	
25	Con 206		59	Yax 300	9	80	Teo 157	
26	Con 207			Yax 301		81	Teo 158	
	Con 209			Yax 302		82	Teo 253	
27	Con 208					83	Teo 254	
28	Con 210					84	Teo 255	
	Con 213					85	Teo 256	
29	Con 212							
30	Con 217							
31	Con 218							

Análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA)

Como se mencionó anteriormente la red obtenida con todos los datos superó el nivel del 95% del límite de conexión (27 pasos), formando cuatro redes inconexas que se corresponden con los cuatro clados principales que se pueden observar en el árbol filogenético de la figura 2. Sin embargo el límite de conexión se fijo en 32 pasos para obtener una sola red, que se muestra en la figura 3 con el diseño de anidación asociado.

La red obtenida muestra una congruencia con la geografía y con los principales clados identificada en el árbol de genes. En el análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA) encontramos que de los 30 clados generados en el diseño anidado sólo once presentaron asociaciones geográficas significativas (tabla 3). De estos clados significativos la mayoría sugiere procesos de fragmentación alopátrica tanto en tiempos recientes como en los clados 3-6 (Cuchumatanes) y 4-2 (parte de los Altos de Chiapas), así como en tiempos más antiguos como en los clados 5-3 (Norte de la península de Yucatán y Campeche), 6-1 (Altos de Chiapas y Cuilco), 6-3 (parte de la península de Yucatán y Usumacinta), 6-4 (parte de la península de Yucatán) y 7-2 (península de Yucatán y Yaxchilán), lo cual puede ser debido a la sensibilidad a la fragmentación del hábitat característica de los pequeños lacertilios. El siguiente proceso inferido más comúnmente y que se presentó también en clados de niveles altos y bajos fue la restricción de flujo génico con aislamiento por distancia como en los clados 4-11 (parte de la península de Yucatán), 5-2 (Cuchumatanes y Usumacinta) y 7-1 (Altos de Chiapas, Cuchumatanes y Campeche), que pudiera ser debido a la baja capacidad de dispersión característica de los lacertilios. Sin embargo como veremos más adelante con los análisis de Mantel la relación entre distancias genéticas y geográficas no fue significativa para estas poblaciones. Otro proceso inferido fue el de colonización a larga distancia y/o fragmentación antigua en el clado 5-1 (Cuilco y parte de los Altos de Chiapas), no obstante debido a la baja capacidad de dispersión de los lacertilios es más probable que la fragmentación antigua hubiera sido el proceso ocurrido. Por último en el clado 6-2 (Cuchumatanes, Usumacinta y Campeche) el proceso inferido es el aumento constante en el límite de distribución. En estas últimas poblaciones

que son de las más alejadas geográficamente muy probablemente el río Usumacinta influyó en la dispersión de los organismos, quizá por medio de ramas que bajaron por el río trayendo a unos pocos organismos, lo que probablemente produce un patrón similar al aumento del límite de distribución.

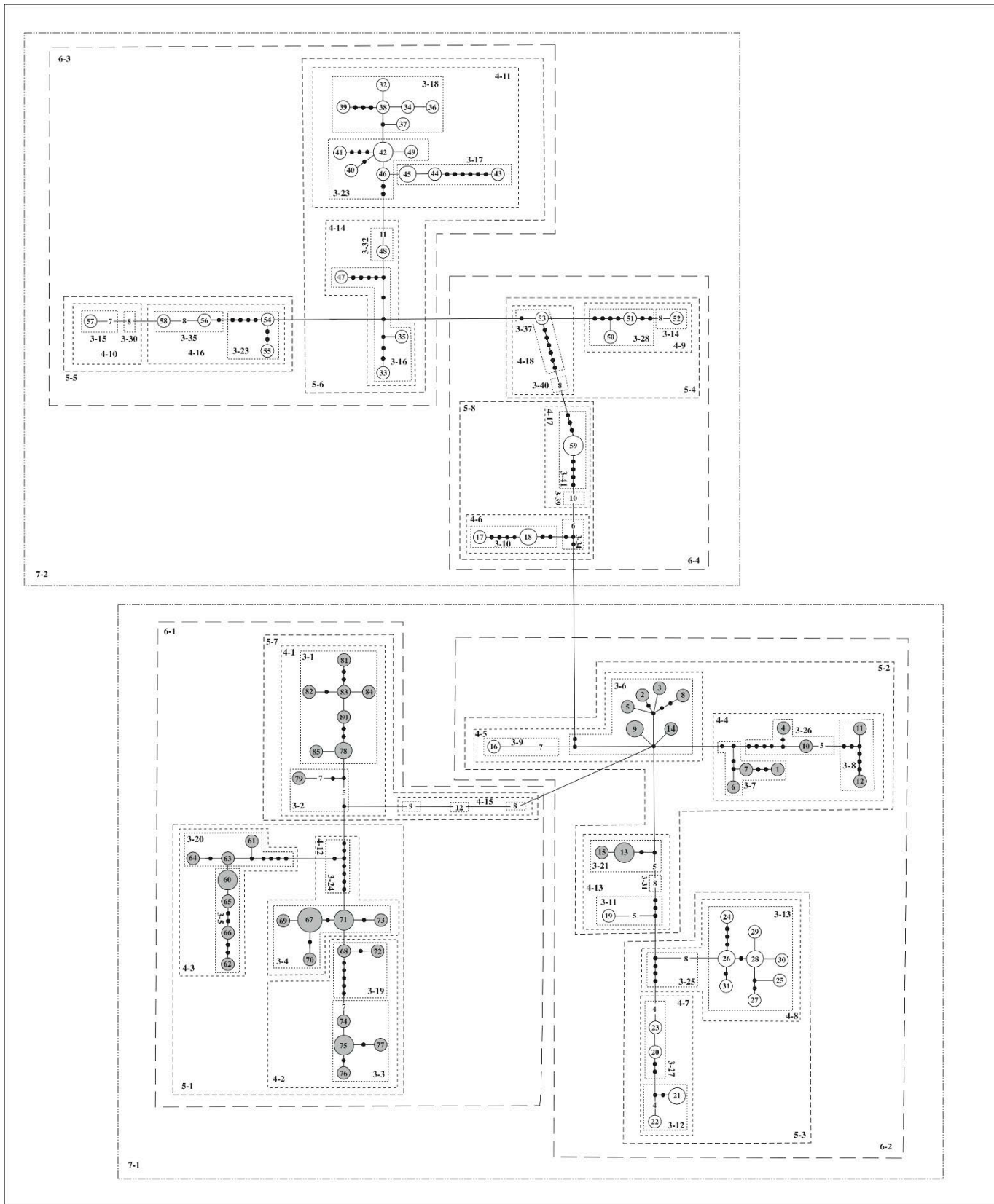


Figura 3. Red de haplotipos resuelta y diseño de clados anidados. Los haplotipos se indican con números que corresponden a los asignados en la tabla 2. El tamaño de los círculos corresponde a la frecuencia del haplotipos como se indica en la clave de la derecha. Los círculos grises corresponden a los haplotipos de *S. s. prezygus*.

Tabla 3. Resultados significativos del análisis filogeográfico de clados anidados.

Clado	No. de Haplotipo/ Localidad/	Clave de inferencia
3-6	2, 3, 5, 8, 9, 14 (Cuchumatanes).	1-19 NO: Fragmentación alopátrica.
4-2	68 (Comitán), 72 (Trinitaria), 74, 75, 76, 77 (Ixtapa).	1-19 NO: Fragmentación alopátrica.
4-11	Conkal (una fracción), Mayapán y Tizimin (parte de las poblaciones del norte de Península de Yucatán).	1-2-3-4 NO: Restricción de flujo génico con aislamiento por distancia.
5-1	Cuilco (Guatemala), Comitán e Ixtapa (parte de los Altos de Chiapas).	1-2-11-12-13-14 NO: Colonización a larga distancia y/o fragmentación antigua.
5-2	Montañas de los Cuchumatanes y Tabasco (sobre el Usumacinta). Equivale al clado E1 (sin Yaxchilán)	1-2-11-17-4 NO: Restricción de flujo génico con aislamiento por distancia.
5-3	Parte de los haplotipos de Conkal (norte de la Península de Yucatán) y Chumpán (Campeche). Equivale a clado E2	1-19 NO: Fragmentación alopátrica.
6-1	Toda la región de los altos de Chiapas y Cuilco. Equivale al clado W	1-19 NO: Fragmentación alopátrica.
6-2	Cuchumatanes, poblaciones del río Usumacinta y los haplotipos de Campeche y Conkal que se agrupan juntos. Equivale al clado E1 + E2	1-2-11-12 NO: Aumento constante del límite de distribución.
6-3	Gran parte de los haplotipos del norte de la península de Yucatán y parte de los de Yaxchilán (río Usumacinta).	1-19 NO: Fragmentación alopátrica.
6-4	El restante grupo de haplotipos de la península de Yucatán y de Yaxchilán.	1-19 NO: Fragmentación alopátrica.
7-1	Altos de Chiapas, Cuchumatanes, Tabasco, Chumpán y parte de haplotipos de Conkal (península de Yucatán).	1-19-20-2-3-4 NO: Restricción de flujo génico con aislamiento por distancia.
7-2	Todo el norte de la península de Yucatán y Yaxchilán. Equivale al clado E3	1-19 NO: Fragmentación alopátrica.

Estructura poblacional e historia demográfica

Como se indicó en la sección anterior se identificaron dos grandes clados este y oeste, el primero dividido en tres subclados principales. Además, los sitios de muestreo en donde se pudieron localizar organismos, forman grupos localizados en regiones geográficas bien definidas que se corresponden con clados más pequeños identificables en el análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA). Por tanto decidimos considerar como grupos o poblaciones para los análisis de estructura poblacional a los dos grandes clados, las regiones geográficas y a los principales clados identificados en el análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA), por lo que se analizaron 12 grupos (Tabla 4).

Los resultados de la prueba de McDonald y Kreitman (M-K) son consistentes con una evolución neutral de las poblaciones de *Sceloporus serrifer*, ya que las pruebas de significancia estadística aplicadas para determinar si se mantiene constante la proporción de sustituciones sinónimas y no sinónimas entre especies (grupo interno y grupo externo) y dentro de poblaciones, no son significativas (Prueba exacta de Fisher: $P=0.1065$; Prueba de G con corrección de Williams: $P=0.0792$; Prueba de G con corrección de Yates: $P=0.1119$). Esto nos indica que las regiones genéticas analizadas están evolucionando de la misma manera (neutral) entre especies y entre poblaciones. Asimismo las pruebas de neutralidad de Tajima y F_u por ventanas nos indican que en las poblaciones analizadas, las secuencias presentan una distribución más o menos homogénea de valores positivos, negativos y neutrales (cero), presentándose muy pocos valores significativos (un máximo de cinco) solo para el clado este. Sin embargo algunas poblaciones muestran cierta concentración de valores negativos en ciertas regiones pero sin llegar a ser estadísticamente significativos (ver anexo A).

Por lo anterior las pruebas D de neutralidad de Tajima (índice D de Tajima) y la prueba F_s de F_u (índice F_s de F_u) se pueden analizar en el contexto de una expansión poblacional (tabla 4), ya que estas dos pruebas están diseñadas para examinar la distribución de polimorfismos del DNA dentro de especies y sus valores significativos se interpretan como efectos de expansión poblacional en el pasado, si

es que la región genética analizada está evolucionando de manera neutral (Gerber *et al.*, 2001; Morando *et al.*, 2004). El índice de D de Tajima aunque presentó valores negativos en casi todas las poblaciones, ninguno fue significativo. No obstante el índice F_s de F_u es más sensible a los eventos demográficos que el de Tajima (Rand, 1996), pero sólo se debe considerar con valores significativos si los valores de probabilidad están por debajo de 0.002 y no por debajo de 0.05 (Fu, 1997). Así que aunque prácticamente todas las poblaciones de los dos principales clados presentaron valores negativos del índice de F_s de F_u (exceptuando Ca y Us con valores positivos pero no significativos), lo cual puede indicarnos que tal vez el incremento poblacional histórico ha sido muy pequeño como para ser significativo con esta prueba, sólo los Cuchumatanes (Cu) tienen valores significativos menores a 0.002 ($P < 0.001$) lo que es una prueba sólida de un incremento poblacional histórico. También cuando se obtiene el índice de F_u para todas las poblaciones del clado este (E) el resultado es significativo, pero tal vez se tiene que tomar con cuidado sus resultados, pues el clado E está compuesto de varias poblaciones en regiones distintas, y sabemos que los valores significativos del índice de F_u deben ser tomados con cuidado en presencia de subdivisión poblacional pues el poder de la prueba disminuye y pueden haber falsos positivos (Fu, 1996), además de que al sumar datos de distintas poblaciones en regiones distantes, pueda haber un efecto aditivo que no refleje una historia verdadera.

La tendencia al incremento poblacional de prácticamente todas las poblaciones también se puede ver reflejada en los valores de los parámetros poblacionales θ_π (estimador de Tajima) y θ_s (estimador de Watterson). El θ_π es un parámetro que está fuertemente influenciado por el tamaño de la población original, mientras que θ_s es más dependiente del tamaño de población actual (Liu, *et al.*, 2006) y así vemos que en todos los casos el valor de θ_π es un poco menor al de θ_s , lo que nos indicaría un leve incremento en el tamaño efectivo de la población. Las únicas excepciones son la población de la península (Pe) en donde el valor mayor corresponde a θ_π . Esto podría ser debido a que algunas de los haplotipos de la zona de Conkal (norte de Mérida), como lo indica el análisis sistemático, pertenecen a un linaje distinto a los demás del norte de la península, los cuales se relacionan con la población de

Chumpán en Campeche, por lo que si estos dos linajes entraron en contacto secundariamente en el pasado es posible un incremento en el tamaño efectivo de la población más o menos rápido que explicaría el valor mayor de $\theta\pi$ de esta población en comparación con las tendencias observadas en las demás poblaciones. Para apoyar lo anterior podemos ver que los resultados de la población que comprende a todos los individuos de la península, sin tomar en cuenta a los que se recuperan como grupo hermano de los organismos de Chumpán (poblaciones del nodo I), dan valores $\theta\pi$ menores a los de θ_s , lo que sí refleja un aumento en el tamaño efectivo de la población. El contacto secundario de poblaciones o linajes diferentes probablemente también afectó a otros análisis como lo veremos más adelante con los valores de diversidad nucleotídica.

La otra población que parece no indicar un incremento en el tamaño poblacional es la del Usumacinta (Us), pero esto quizá se pueda explicar por el mismo fenómeno que pudo haber ocurrido en la Península, ya que prácticamente la mitad de los haplotipos de Yaxchilán (a un lado del río Usumacinta) junto con el de Tabasco (también sobre el Usumacinta) se recuperan como grupo hermano de las poblaciones de los Cuchumatanes, en la zona montañosa de Guatemala, mientras que los restantes haplotipos de Yaxchilán son el grupo hermano de la mayoría de los haplotipos de la península de Yucatán que indicaría que son dos linajes distintos que han entrado en contacto secundariamente. Aunque la explicación también pudiera ser atribuida al bajo número de muestra que podría haber sesgado los análisis estadísticos, afectando a la diversidad haplotípica y a todos aquellos análisis que utilizan sitios segregantes para ser calculados como en el caso del índice D de Tajima, sin embargo cálculos como la diversidad nucleotídica se verían poco afectados, ya que esta medida del polimorfismo del DNA no depende del tamaño de muestra.

Todas las poblaciones mostraron una alta diversidad haplotípica (Tabla 4), siendo la población con menor diversidad haplotípica la del río Usumacinta (Us) con un valor de 0.809. La diversidad nucleotídica en la mayoría de las poblaciones presenta valores que van de 0.002-0.008 (0.2-0.8%), los cuales podrían ser considerados bajos y moderadamente bajos al compararlos con los valores de 0.015 (1.5%) de la

península de Yucatán (Pe) que son un orden de magnitud mayor, lo cual junto con los valores altos de diversidad haplotípica es un indicativo de un probable cuello de botella con una subsiguiente expansión poblacional (Grant y Bowen, 1998; Alves *et al.*, 2001). Sin embargo como mencionamos para la península de Yucatán (Pe), los valores de diversidad nucleotídica son los más altos (1.5%), que junto con los valores altos de diversidad haplotípica puede ser indicativo de dos cosas: 1) Que se trata de una población que se ha mantenido estable por un largo periodo de tiempo con una larga historia evolutiva ó 2) Es una población que ha entrado en contacto de manera secundaria con otro linaje previamente diferenciado (Grant y Bowen, 1998). La segunda explicación es la que parece ser la más plausible como lo habíamos ya sugerido en un párrafo anterior, pues derivado del análisis sistemático y del análisis de clados anidados se puede ver que una parte de los haplotipos de Conkal (norte de Mérida) son el grupo hermano de los haplotipos de Chumpán en Campeche. Es así que cuando analizamos los datos de la península, sin incluir a estos haplotipos de Conkal (nodo I) la diversidad haplotípica resulta ser mucho más baja con 0.008 (0.8%).

En el análisis de discordancia (mismatch) para todas las poblaciones (tabla 4) observamos que en ningún caso (excepto para los 7 haplotipos de Us) se pudo rechazar la hipótesis nula de expansión poblacional, además no hubo ningún valor significativo para el índice r (reggednex) lo que significa un ajuste relativamente bueno de los datos al modelo de expansión. Solamente mostramos en la figura 4 las gráficas de discordancia (mismatch) para los datos en conjunto (SSD = 0.0029, $P=0.762$; $r = 0.001$, $P = 0.991$) y las regiones este (E) (SSD = 0.0040, $P= 0.831$; $r =0.0017$, $P= 0.980$) y oeste (W) (SSD = 0.0076, $P= 0.319$; $r =0.0076$, $P= 0.582$). En estas gráficas que aunque estadísticamente se ajustan al modelo de expansión súbito, se pueden ver ciertos picos que nos indican una cierta estructuración interna como lo demuestra el análisis de AMOVA (ver adelante).

Tabla 4. Diversidad haplotípica (h), Diversidad nucleotídica (π), Estimados del parámetro θ (θ_{π} y θ_s), Índice de Tajima (D), Índice de F_u (F_s) y estadísticos asociados a la distribución *mismatch*.

Poblaciones		N	h(SD)	π (SD)	θ_{π} (SD)	θ_s (SD)	D de Tajima	F_s de F_u	Mismatch distribution	
ID región o localidad	Nodo/Clado								SDD	r
Este (E)										
Cu	N	18	0.984 (0.028)	0.003 (0.001)	5.562 (3.134)	8.140 (3.150)	-1.290	-9.410**	0.016	0.036
Con (parte)	M	10	0.956 (0.06)	0.002 (0.001)	3.594 (2.251)	4.595 (2.183)	-1.007	-2.973*	0.002	0.023
Ca	L (4-7)	6	0.933 (0.121)	0.004 (0.002)	9.194 (5.698)	9.635 (4.862)	-0.370	0.655	0.066	0.093
Pe (parte)	I	30	0.991 (0.012)	0.008 (0.004)	15.736 (8.038)	21.455 (6.911)	-1.0841	-10.370*	0.007	0.004
Pe (total)	-	40	0.992 (0.007)	0.015 (0.007)	28.219 (14.009)	26.801 (8.049)	0.023	-8.560*	0.006	0.003
Us	-	7	0.809 (0.130)	0.009 (0.005)	17.947 (10.417)	14.285 (6.729)	1.261	5.049	0.132*	0.281
Total	C	71	0.994 (0.003)	0.016 (0.008)	31.736 (15.531)	34.970 (9.304)	-0.451	-20.496**	0.004	0.001
Oeste (W)										
Al	D (6-1)	27	0.963 (0.021)	0.006 (0.003)	13.011 (6.734)	13.491 (4.574)	-0.201	-2.706	0.011	0.013
Com	-	12	0.8636 (0.078)	0.001 (0.0008)	2.573 (1.670)	3.311 (1.592)	-0.932	-1.810	0.014	0.064
Teo-lxt	E	15	0.9619 (0.04)	0.005 (0.003)	10.467 (5.671)	10.764 (4.232)	-0.188	-1.902	0.010	0.987
Cl	4-3	9	0.917 (0.092)	0.002 (0.001)	3.183 (2.058)	3.311 (1.699)	-0.201	-2.394*	0.013	0.037
Total	D	36	0.974 (0.013)	0.007 (0.003)	14.237 (7.262)	16.157 (5.098)	-0.499	-5.571*	0.007	0.007

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$

Región: Cu= Cuchumatanes; Ca= Campeche; Pe= Península de Yucatán; Us= Márgenes del río Usumacinta y Al=Altos.

Localidades: Con= Conkal; Com= Comitán; Teo= Teopisca; lxt= Ixtapa y Cl= Cuilco.

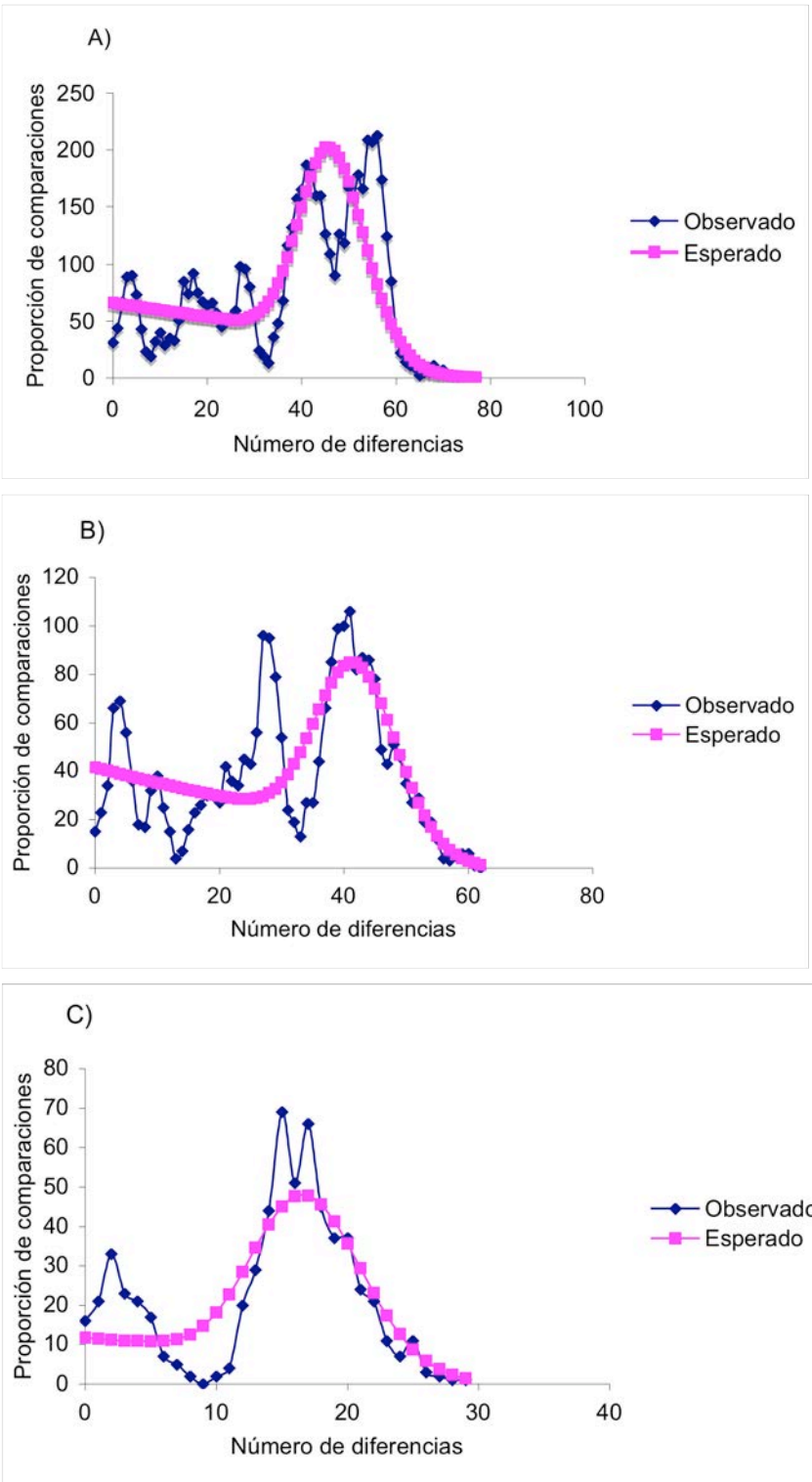


Figura 4. Distribución de discordancias (mismatch) para los datos en conjunto y para las dos grandes regiones (clados) identificados. A) Total (SSD = 0.0029, $P=0.762$; $r = 0.001$, $P = 0.991$). B) Región este (SSD = 0.0040, $P=0.831$; $r = 0.0017$, $P = 0.984$). C) Región Oeste (SSD = 0.0076, $P = 0.319$; $r = 0.0076$, $P = 0.582$).

Las pruebas de Análisis de varianza molecular (AMOVA), indicaron que para toda la distribución de los organismos y en particular para cada una de las grandes regiones analizadas, este (E) y oeste (W), los valores de F_{st} son significativos y relativamente altos (F_{st} Total = 0.535, F_{st} Este= 0.486 y F_{st} Oeste= 0.461) (tabla 5). Estos valores indican una estructuración de las poblaciones con un bajo o nulo flujo génico en donde un porcentaje del 46 al 48% de la variación se encuentra entre las poblaciones de ambos clados.

Tabla 5. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de la variabilidad genética de las subespecies *S. serrifer serrifer* y *S. serrifer prezygus* en toda su área de distribución y, separadamente, en cada una de las dos grandes regiones ocupadas por diferentes linajes de haplotipos: Este y Oeste

Región analizada y fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	% de la varianza	P
Área total de la distribución ($F_{st}= 0.535$)					
Entre regiones	1	725.478	14.914	53.52	< 0.001
Dentro de regiones entre poblaciones	105	1359.875	12.951	46.48	< 0.001
Total	106	2085.353	27.865		
Región Este ($F_{st}= 0.486$)					
Entre poblaciones	3	436.408	9.512	48.59	< 0.001
Dentro de poblaciones	67	674.362	10.065	51.41	< 0.001
Total	70	1110.770	19.577		
Región Oeste ($F_{st}= 0.461$)					
Entre poblaciones	1	67.271	4.587	46.16	< 0.001
Dentro de poblaciones	34	181.889	5.349	53.84	< 0.001
Total	35	249.160	9.936		

La prueba de Mantel se realizó para todos los datos ($r= 0.490$, $P=0.0001$) (figura 5), para el clado W ($r= 0.1299$, $P= 0.0019$) y para los conjuntos de poblaciones del clado E que son más grandes como Cuchumatanes (Cu) ($r= 0.2072$, $P=0.00499$) y península de Yucatán (Pe) ($r= 0.0558$, $P=0.5894$). Pero dado que valores significativos de $r<0.7$ son considerados como correlaciones débiles (Rohlf, 1993), no podemos afirmar que exista un patrón de aislamiento por distancia sólido, por lo menos al interior de las grandes regiones. Sin embargo con el análisis de clados anidados (NCA), el patrón inferido para el clado E1 que incluye a los Cuchumatanes y algunos de los haplotipos de Yaxchilán y Tabasco es el de restricción de flujo génico con aislamiento por distancia.

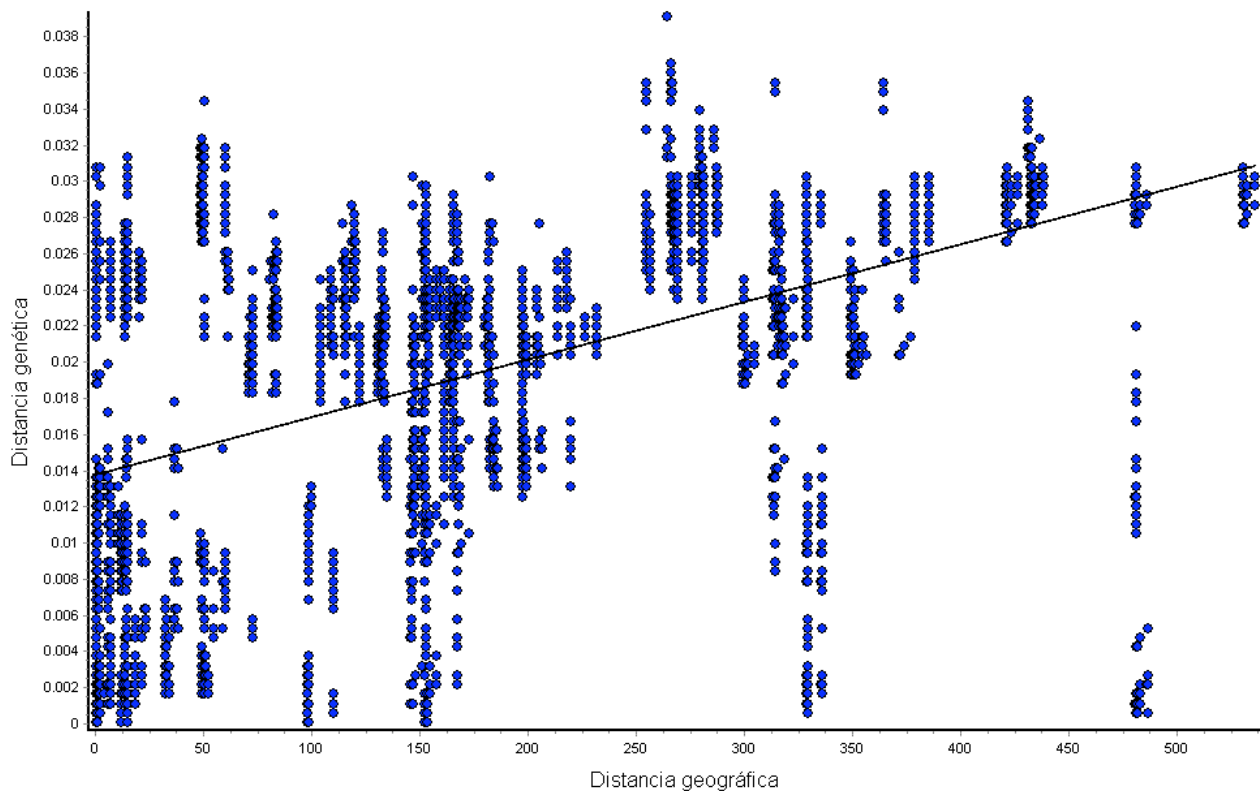


Figura 5. Regresión de Mantel para todos los organismos muestreados, que muestra un patrón débil de aislamiento por distancia ($r = 0.490$, $P < 0.001$).

La reconstrucción de la historia demográfica por medio del modelo de Bayesian Skyline Plot (BSP, Drummond *et al.*, 2005) se muestra en la figura 9 y 10, en donde mostramos solamente las gráficas para las tasas de divergencia de 1.4% y 2% por millón de años (m.a.). No mostramos las gráficas para 0.5% porque básicamente presentan el mismo comportamiento, además como veremos posteriormente inferimos que la tasa de divergencia más cercana a la realidad para nuestros organismos está entre 1.4-2% por m.a. Para la población de la península de Yucatán se detecta un cuello de botella que varía según la tasa de divergencia utilizada entre 200,000-80,000 años para la tasa de 2% y de entre 100,000-40,000 años para la de 1.4%, que coincide aproximadamente con el comienzo de la glaciación Illinois (200,00 años) y el máximo de la última glaciación o glaciación Wisconsin (80,000 años), seguido de un rápido aumento en el tamaño de la población (figuras 6 y 7). Para la zona montañosa de los Altos de Chiapas se pueden apreciar dos leves disminuciones en la tasa del crecimiento poblacional, la primera y casi insignificante durante el periodo de la glaciación Illinois y el segundo más fuerte que el anterior durante la mitad de la última glaciación, seguido de un incremento poblacional aún mayor que los anteriores. Para la región de Comitán, Cuilco y los Cuchumatanes todas en áreas montañosas las gráficas poblacionales son prácticamente idénticas (sólo mostramos los Cuchumatanes), sin cuellos de botella y con un constante y leve aumento en la tasa poblacional. Los resultados de este análisis refuerzan lo indicado por los análisis e índices antes descritos en los cuales se infería un aumento en el tamaño poblacional y posibles cuellos de botella.

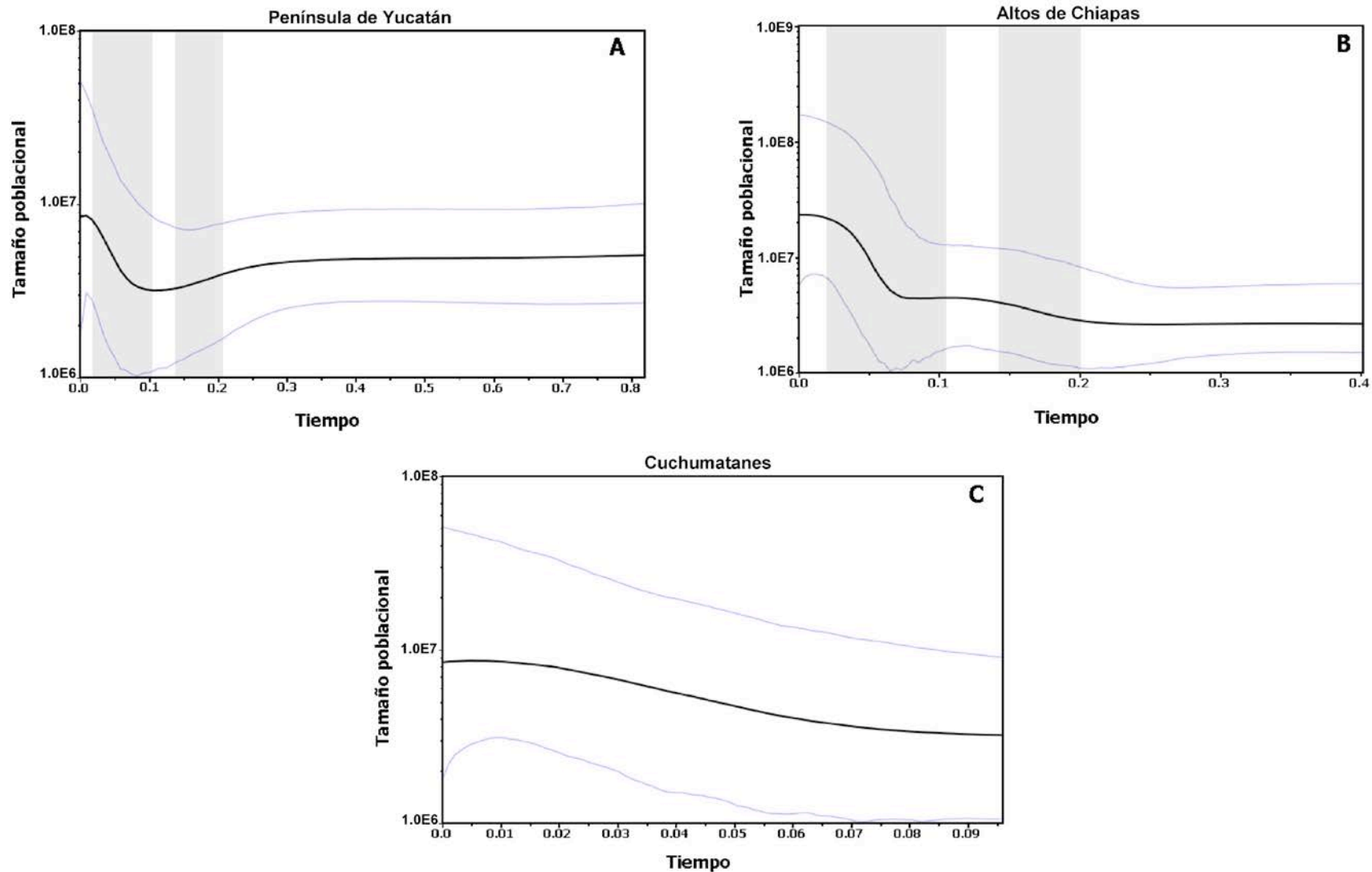


Figura 6. Gráficas de Bayesian skyline mostrando el cambio del tamaño efectivo de la población en el tiempo suponiendo una tasa de divergencia de 1.4% por millón de años (m. a). En el eje y el tamaño poblacional está en escala logarítmica en unidades de $N_e\tau$, (en donde τ es el tiempo generacional). En el eje x el tiempo está dado en m. a. antes del presente. La línea sólida es el estimado de la media del tamaño efectivo de la población y las líneas delgadas muestran los intervalos de 95% de la densidad posterior más alta (HPD= highest posterior density). A= poblaciones de la península de Yucatán (nodo I); B= Altos de Chiapas (nodo E) y C= Poblaciones de los Cuchumatanes (nodo N). Las barras grises indican los dos últimos periodos glaciales Wisconsin (aprox. 110,000-12,000 años) e Illinois (aprox. 200,000-130,000 años).

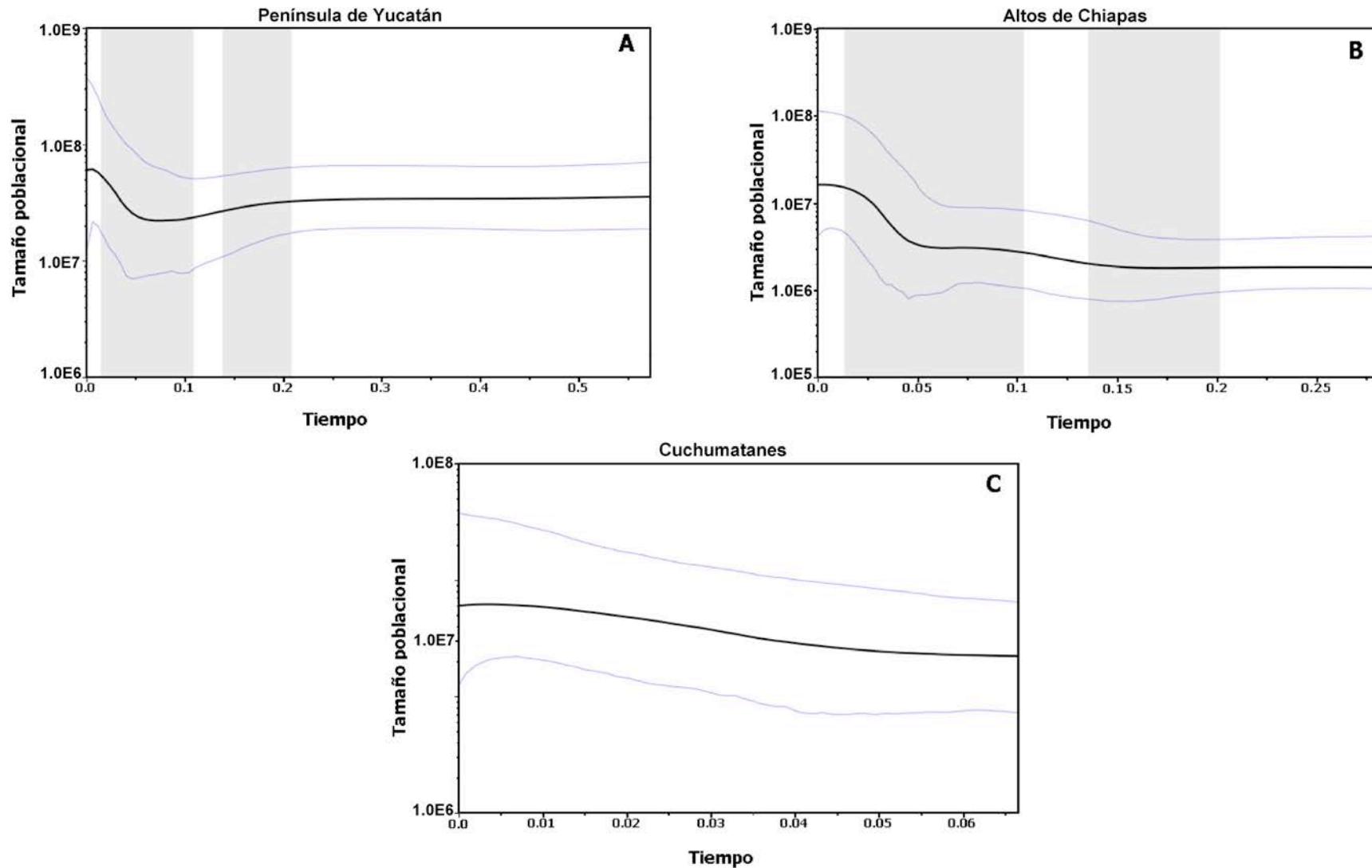


Figura 7. Gráficas de Bayesian skyline mostrando el cambio del tamaño efectivo de la población en el tiempo suponiendo una tasa de divergencia de 2 % por millón de años (m. a). En el eje y el tamaño poblacional está en escala logarítmica en unidades de $N_e\tau$, (en donde τ es el tiempo generacional). En el eje x el tiempo está dado en m. a. antes del presente. La línea sólida es el estimado de la media del tamaño efectivo de la población y las líneas delgadas muestran los intervalos de 95% de la densidad posterior más alta (HPD= highest posterior density). A= poblaciones de la península de Yucatán (nodo I); B= Altos de Chiapas (nodo E) y C= Poblaciones de los Cuchumatanes (nodo N). Las barras grises indican los dos últimos periodos glaciales Wisconsin (aprox. 110,000-12,000 años) e Illinois (aprox. 200,000-130,000 años).

Los tiempos de divergencia para los distintos nodos marcados en el árbol de poblaciones, se indican en la tabla 6 y en la figura 8. Por lo dicho anteriormente, pensamos que las fechas encontradas con una tasa de 0.5% no serían las más adecuadas, así que la discusión la centraremos para las tasas de 1.4-2%. En la tabla 6 y figura 8 podemos ver que la división entre los dos clados principales W y E (nodo B) probablemente ocurrió entre 2.4-1.6 m.a. Aunque no tenemos forma de saber si el ancestro común de las poblaciones del clado W ya ocupaba las montañas de los Altos o un sitio más bajo hacia las márgenes del río Usumacinta, lo más probable es que por lo menos estén ocupando esa área desde hace unos 768,000-537,000 años que es el tiempo de la división entre las poblaciones de los altos (nodo D). Para el clado E, la primera divergencia registrada (nodo C) es de entre 2.2-1.5 m.a. la cual dio origen por un lado al ancestro común del clado E1 y E2 (nodo G) y al del clado E3 (nodo H), que dado el orden de las divergencias en el clado E, posiblemente ocupaba una zona baja, quizá cercana al río Usumacinta. La división entre Yaxchilán (la mitad de los haplotipos) y el grueso de la península de Yucatán (nodo H) es de entre 1.25 m.a- 858,000 años, que probablemente sería la ventana temporal en la cual se pobló el norte de la península de Yucatán por primera vez y muy posteriormente alrededor de 590,000-414,000 años arribaría otro grupo de lagartijas al norte de la península, ya que esta es la edad que se marca entre la división de los haplotipos de Chumpán con los haplotipos de Conkal (parte). Pero anterior a eso ocurrió la divergencia entre los clados E2 y E1 (nodo G) entre 1.284 m.a- 899,000 años, siendo probable que el ancestro común de estas poblaciones ocupara un lugar intermedio en los márgenes del río Usumacinta. Finalmente, la última zona en poblarse fueron los Cuchumatanes (nodo J), ya que la fecha de divergencia con respecto de los haplotipos de Yaxchilán (parte) y Tabasco (nodo O) es de entre 519,000-359,000 años, la más reciente para las grandes áreas.

Tabla 6. Tiempo de divergencia estimado en millones de años (m.a.), para los principales nodos recuperados en el análisis filogenético utilizando coalescencia con la aproximación Bayesiana implementada en Beast 1.4 (ver texto para detalles), ausminado tres distintas tasas de mutación: 0.0025 mutaciones/sitio/m.a. (= 0.5% de divergencia); 0.007 mutaciones/sitio/m.a. (= 1.4% de divergencia) y 0.01 mutaciones/sitio/m.a. (= 2% de divergencia).

Nodo	0.5% (95% IC)	1.4% (95% IC)	2.0% (95% IC)
A	61.249 (50.471-72.385)	21.899 (18.155-25.886)	15.301 (12.611-18.044)
B	6.749 (5.453-8.192)	2.414 (1.931-2.606)	1.689 (1.355-2.041)
C (Clado Este)	6.216 (4.895-7.618)	2.223 (1.758-2.744)	1.557 (1.219-1.917)
D (Clado Oeste)	2.145 (1.463-2.877)	0.768 (0.529-1.034)	0.537 (0.362-0.719)
E	1.649 (1.113-2.237)	0.590 (0.388-0.794)	0.414 (0.274-0.556)
F	1.524 (0.925-2.184)	0.547 (0.351-0.796)	0.380 (0.235-0.543)
G	3.597 (2.686-4.559)	1.284 (0.970-1.631)	0.899 (0.674-1.134)
H (Clado E3)	3.439 (2.605-4.285)	1.225 (0.936-1.535)	0.858 (0.657-1.070)
I	3.162 (2.295-4.088)	1.130 (0.819-1.453)	0.794 (0.572-1.016)
J	1.436 (0.814-2.073)	0.519 (0.303-0.756)	0.359 (0.210-0.528)
K (Clado E2)	1.947 (1.364-2.533)	0.696 (0.486-0.911)	0.488 (0.345-0.640)
L (Ca)	1.649 (1.113-2.237)	0.590 (0.388-0.794)	0.414 (0.274-0.556)
M	0.610 (0.326-0.900)	0.216 (0.119-0.324)	0.152 (0.082-0.226)
N (Cu)	0.567 (0.275-0.927)	0.203 (0.096-0.325)	0.142 (0.066-0.226)
O	1.167 (0.632-1.756)	0.418 (0.228-0.623)	0.294 (0.158-0.436)

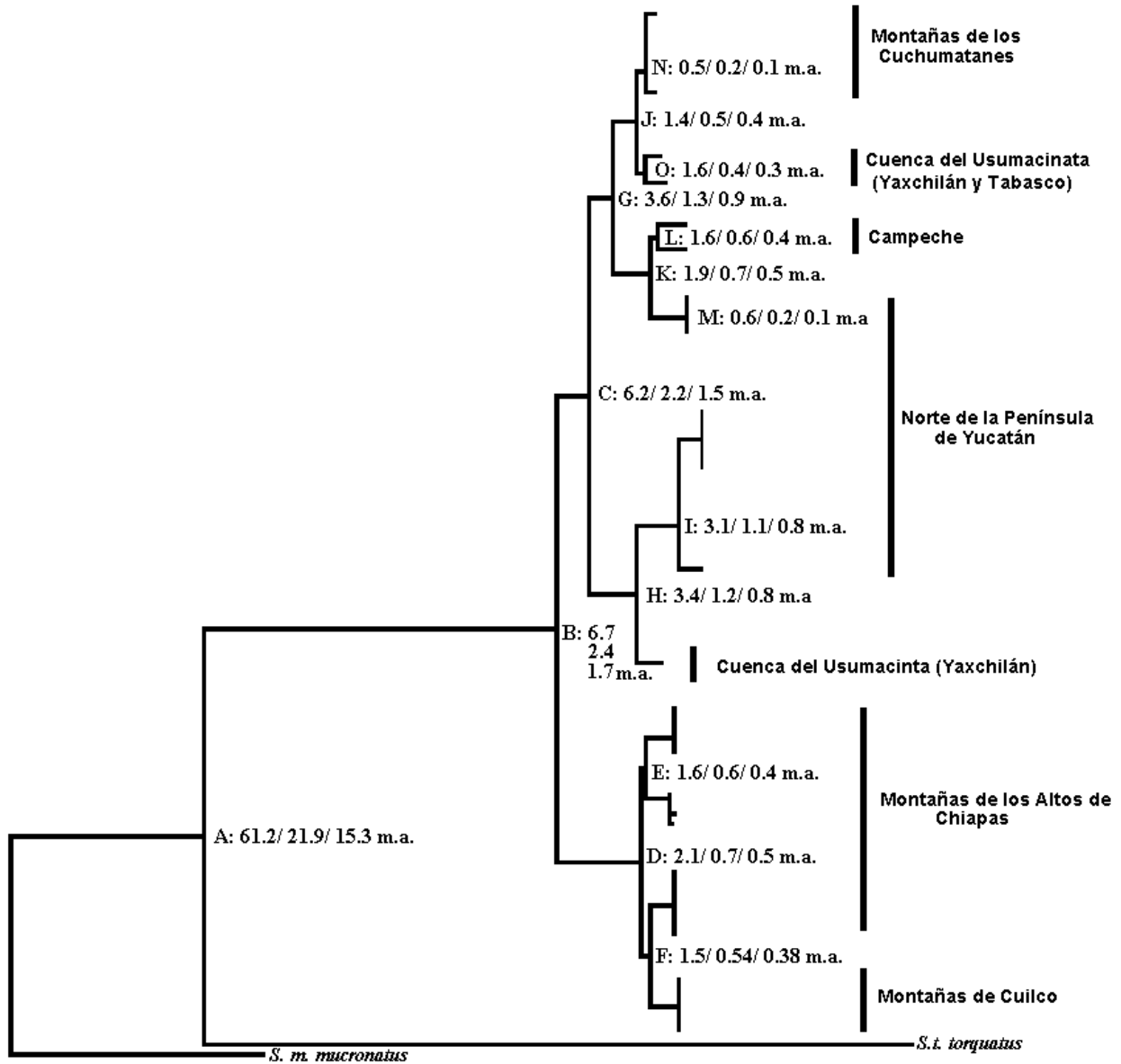


Figura 8. Representación simplificada del árbol de genes obtenido en el análisis sistemático. En la figura se indican los tiempos de divergencia de los principales nodos y las regiones geográficas a las que pertenecen. La primera cifra después de la letra corresponde a un tiempo de divergencia estimado con una tasa del 0.5% de divergencia, la segunda cifra a una tasa del 1.4% de divergencia y la última corresponde a 2% de divergencia. Las unidades están en millones de años (m.a.).

El análisis de los datos con el algoritmo de Monmonier y con SAMOVA (fig. 9) indicaron que la barrera principal detectada está entre la población de Cuilco y la de los Cuchumatanes en Guatemala. Esto refuerza el patrón encontrado en el árbol de inferencia bayesiana en el cual identificamos los dos principales clados (E y W). En el terreno también coincide con una barrera física evidente, ya que entre la población de Cuilco y el inicio de la sierra de los Cuchumatanes se presentan una serie de montañas que son las más altas de la zona y que marcan la división entre dos cuencas (fig. 1), una que drena hacia el noroeste en el estado de Chiapas en la cuenca del río Grijalva y la otra que marca el nacimiento del río Negro y Usumacinta, lo cual explicaría la cercanía entre los haplotipos de la zona del Usumacinta (Us) con la de los Cuchumatanes (Cu).

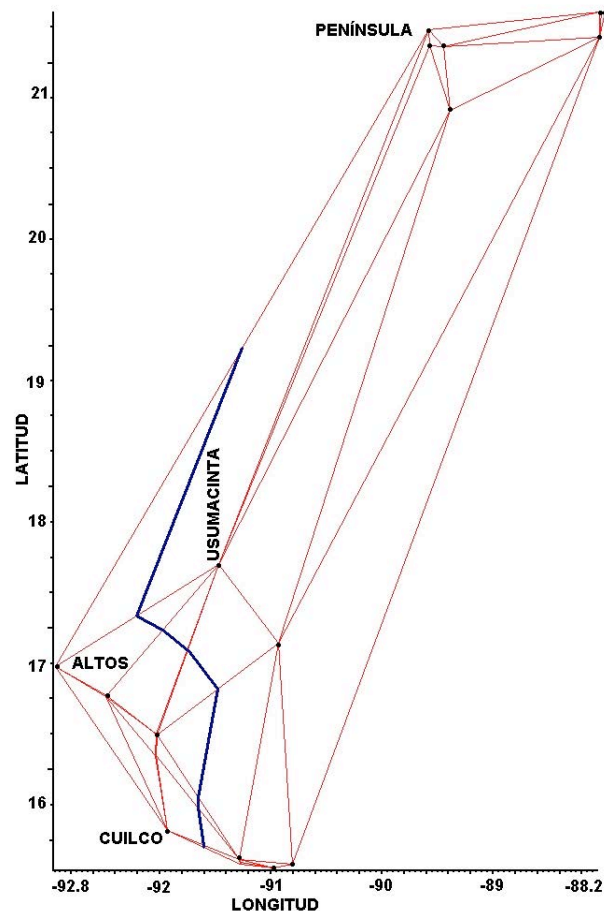


Figura 9. Barrera geográfica principal determinada por el método de Monmonier. Se muestran los puntos de muestreo georreferenciados relacionados por medio de la red de conectividad y con línea más oscura la posición de la barrera determinada por el algoritmo de Monmonier.

Discusión

Se analizó el patrón geográfico y temporal de la variabilidad genética de las poblaciones de *S. serrifer*, mostrando que mantienen múltiples poblaciones con una fuerte estructura filogeográfica. Primero observamos que se forman dos clados, el del oeste en las tierras altas de Chiapas y la zona de Cuilco en Guatemala y el del este en donde en tres subclados se agrupan las poblaciones de la zona montañosa de los Cuchumatanes en Guatemala, las poblaciones de las zonas de altitud intermedias en las márgenes del río Usumacianta y las de zonas bajas en Campeche y norte de Yucatán. Al parecer la principal barrera que divide actualmente a las poblaciones de zonas altas de ambos clados es el área de mayor elevación de los Cuchumatanes, pues las poblaciones del este y del oeste, se encuentran divididas precisamente por este macizo montañoso. No tenemos datos suficientes para afirmar que estas montañas hayan actuado como una barrera vicariante, ya que las montañas de Centroamérica comenzaron a elevarse a partir del oligoceno (36 m.a), y terminaron de elevarse hasta el plioceno (5-1.6 m.a.) a partir del momento en que la fisiografía de la región corresponde en gran medida a la fisiografía actual (Maldonado-Koerdell, 1964; Johnson, 1990), lo que podría coincidir con la probable división de los clados este (E) y oeste (W) entre 2.4-1.6 m.a. Aquí es conveniente señalar que nuestras inferencias temporales deben ser consideradas una hipótesis preliminar susceptible de ponerse a prueba hasta que podamos recabar la mayor cantidad de información, como registros fósiles fidedignos para poder datar una edad de divergencia lo más cercana a la realidad. No obstante, como ya se ha mencionado las tasas de entre 1.4-2% de divergencia por m.a. parecen ser las más conservadoras y cercanas a la realidad para pequeños lacertilios.

Derivado del análisis sistemático y con la datación de los distintos nodos, podemos inferir que después de la divergencia original de los dos grandes clados, la secuencia de división en el clado este (E) nos revela una historia un poco compleja en donde al parecer las zonas intermedias y bajas son colonizadas antes que las zonas más altas, esto tiene una gran importancia, pues bajo la teoría del surgimiento de la viviparidad en lagartijas que habitan zonas frías o altas, la dispersión a zonas bajas o tropicales es secundaria (Shine, 1985), sin embargo podemos observar que

la zona de los Cuchumatanes es probablemente la última en ser colonizada. Un aspecto muy importante para la historia de la península de Yucatán es que es colonizada por lo menos dos veces como lo apoyan los datos sistemáticos y de diversidad nucleotídica y haplotípica de la población de Conkal. En esta población se detectan dos linajes o grupos de haplotipos, el primero relacionado con las demás poblaciones de la península y el otro que se recupera como grupo hermano de la población de Chumpán en Campeche. También se infiere que muy probablemente la cuenca del río Usumacinta que nace en los Cuchumatanes (por lo menos el afluente mayor llamado río Negro o Chixoy, el otro es el río de la Pasión) ha servido de alguna manera como una vía de dispersión entre las poblaciones de zonas altas y bajas, como lo podemos ver por la composición de los haplotipos de la población de Yaxchilán, que parece estar formada de dos linajes distintos (como en el caso de Conkal en Yucatán), uno hermano de los haplotipos de los Cuchumatanes y otra parte relacionada como grupo hermano de la mayoría de los haplotipos de la península. Aquí también hay que hacer notar que la población de Chumpán se encuentra al lado del río del mismo nombre, que probablemente ha entrado en contacto con la cuenca de río Usumacinta en distintas épocas. Una probable explicación a lo anterior es quizá el tipo de vegetación que se conserva a los lados de estos ríos con árboles grandes que dan refugio a las lagartijas.

Dentro de cada una de las zonas identificadas, también podemos inferir historias más o menos complejas según los resultados de los análisis filogeográficos de clados anidados, en las cuales predominan patrones de fragmentación alopátrica, con algunos ejemplos de restricción del flujo génico con aislamiento por distancia como en el clado 7-1 o colonización a larga distancia y/o fragmentación antigua como en el caso del clado 5-1. Sin embargo estos resultados deben de ser tomados con reserva dado la serios señalamientos sobre las deficiencias del Análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA). Este análisis aunque es uno de los más utilizados en filogeografía no toma en cuenta la estocasticidad del proceso evolutivo y por tanto no es capaz de integrar intervalos de confianza a los resultados obtenidos (Knoweles, 2004), además se han detectado problemas en diferenciar entre eventos demográficos o históricos (Masta *et al.*, 2003). Pero quizá el problema

más grave es el referente a la prueba de permutación utilizada para la evaluación de los datos, ya que se tienden a encontrar resultados falsos positivos debido a que el proceso de permutación es con los individuos y no con las poblaciones, lo que provoca que procesos locales sean confundidos como procesos que actúan a mayor escala (Petit y Grivet, 2002). Lo anterior ha sido corroborado por el estudio de Panchal y Beaumont (2007) quienes por medio de la automatización de los procesos implicados en el Análisis filogeográfico de clados anidados (NCPA) pudieron analizar un número grande de datos simulados encontrando hasta un 76% de falsos positivos, por lo que incluso se ha sugerido que este método no se utilice más hasta que sea rigurosamente evaluado (Petit 2007). Por tanto apoyarse en una combinación de métodos y análisis distintos puede ayudarnos a distinguir entre explicaciones alternativas sobre los patrones filogeográficos encontrados, como en el caso de nuestro estudio en donde distintas pruebas a nuestros datos de historia demográfica nos indican probables cuellos de botella seguidos de un aumento en el tamaño poblacional.

Con las gráficas de skyline plot, pudimos confirmar el patrón inferido por los análisis tradicionales pero con un mayor precisión. Es así que se detecta un cuello de botella para las poblaciones de la península de Yucatán (y también para la zona de Yaxchilán) que al parecer comenzó desde el final de la glaciación Illinoise y que dura hasta la mitad de la última glaciación. Para la zona de los altos de Chiapas observamos un aumento poblacional cuyas tasas se ven disminuidas también durante la glaciación Illinoise y aproximadamente en la mitad del último periodo glacial, aunque después aumentan considerablemente. Para las poblaciones de Comitán y Cuilco en el clado oeste (W) y para los Cuchumatanes en el clado este (E) todas áreas altas, el patrón observado es el mismo, un incremento muy leve pero constante. También es de notar que los tamaños poblacionales históricos finales en las zonas altas de los dos clados es similar y de un orden de magnitud más al máximo alcanzado en la zona de la península de Yucatán. En este punto es necesario mencionar que el algoritmo de “Bayesian skyline plot” estima los tamaños poblacionales en unidades que son equivalentes a $N_e\tau$, en donde τ es el tiempo generacional en años. Sin embargo no se tienen trabajos demográficos con estas

poblaciones para poder estimar los tamaños poblacionales aproximados por medio de este método. No obstante podemos notar que los tamaños poblacionales históricos finales marcados en las gráficas de “Bayesian skyline plot” son similares en las zonas altas de Chiapas y de los Cuchumatanes y de un orden de magnitud más al máximo alcanzado en la zona de la península de Yucatán. No obstante actualmente las poblaciones de la zona de la península son mucho más numerosas que las que se pueden encontrar en cualquier otro sitio, pues han encontrado un buen refugio en las cercas de piedra que abundan en la zona.

Una posible explicación a los patrones encontrados puede ser debido a la disponibilidad de refugios, ya que éstas lagartijas viven entre rocas y entre las oquedades que se forman en ciertos árboles tropicales (ejem. *Ficus* sp.). Hay evidencia que indica que en la península de Yucatán existen cuatro áreas de endemismo fitogeográfico (Espadas-Manrique *et al.*, 2003), dos de las cuales coinciden más o menos con la distribución de las poblaciones de *S. serrifer*. La primera es el área de endemismo de la parte seca de la península de Yucatán, que coincide con las poblaciones del norte de la península, la segunda es la zona de endemismo del sur de la península, en el estado de Campeche a unos pocos kilómetros (aprox. 20 km) al este de la población de Chumpán (Espadas-Manrique *et al.*, 2003). Entonces la relación entre vegetación y distribución de los organismos estudiados es muy probable, ya que los autores refieren que la formación del patrón fitogeográfico observado es consecuencia de los periodos secos y fríos ocurridos durante las glaciaciones del pleistoceno (Espadas-Manrique *et al.*, 2003). Lee (1980) realizó un análisis ecogeográfico de la herpetofauna de la península de Yucatán, encontrando que muchas especies presentan distribuciones disjuntas con cuatro áreas homogéneas para ranas, cinco para lagartijas y tres para serpientes, siendo congruentes las áreas para lagartijas y ranas. En estas áreas existen especies de anfibios y lagartijas que presentan patrones de distribución similares a los de *S. serrifer* (Lee, 1980), con poblaciones en el norte de la península, en Campeche cerca del río Chumpán y en las márgenes intermedias y cerca del nacimiento del río Usumacinta (ejem. *Bolitoglossa yucatanica*, *B. dofleni*, *Leptodactylus melanotus*, *Anolis sagrei*, *Eumeces schwartzei* etc.). El autor sugiere que estos patrones de

distribución deben estar correlacionados con los cambios de vegetación durante el pleistoceno.

En consecuencia durante los tiempos más secos del pleistoceno los árboles tropicales grandes disminuyeron, dando paso al surgimiento de sabanas y por tanto los refugios adecuados para las lagartijas disminuyeron ya que las formaciones rocosas en la península son muy escasas con excepción de algunos grandes cenotes y sólo es hasta la llegada de los mayas que se extrae roca para formar construcciones. Posteriormente las condiciones cambiaron para ir dando paso nuevamente a bosques a medida que las condiciones se van haciendo más cálidas y húmedas hasta alcanzar un máximo hace unos 10,500 años (Espadas-Manrique *et al.*, 2003).

Sin embargo en las zonas altas los afloramientos rocosos son más abundantes (más abundantes en los Cuchumatanes que en los Altos de Chiapas), lo que probablemente amortiguó las condiciones cambiantes del medio ambiente durante el pleistoceno, provocando que las poblaciones se vieran apenas afectadas e incluso aumentarán su tamaño. En los periodos glaciales la cota de vegetación y de muchas especies animales se corrió por lo menos unos 800 metros más abajo incluso en la zona de los Cuchumatanes se formó un glaciar durante la última glaciación (Savage, 2002; Lachinet y Vázquez-Selem, 2005), pero a medida que las temperaturas retornaron en los periodos interglaciales las especies de zonas frías volvieron a subir las cordilleras (Cambell, 1984, Savage, 2002). Sin embargo es probable que si bien parte de las poblaciones de *S. serrifer* hayan bajado unos 800 metros de su ubicación actual algunas pequeñas poblaciones hayan podido persistir en algunas zonas un poco más altas con los suficientes refugios rocosos. Lo anterior pudiera explicar el aumento poblacional al final de la última glaciación, pues quizá aumentaron su área de distribución un poco más que otros organismos al tener más áreas para sobrevivir y verse libres de mucho depredadores y otros competidores. Esta última afirmación la basamos en observaciones personales de lagartijas vivíparas del mismo género (*S. bicanthalis*) que pueden persistir en zonas muy altas y aún sobrevivir en condiciones con nieve (por ejemplo en el nevado de Toluca), lo

cual también ha sido reportado para *S. grammicus* en el volcán Iztaccihuatl a más de 4000 m de elevación (Lemus-Espinal y Ballinger, 1995).

Taxonomía de *S. serrifer*

Conforme a los resultados las subespecies tradicionalmente reconocidas por caracteres morfológicos y ecológicos no se pueden seguir manteniendo, por ejemplo *S. serrifer prezygus* está conformado por dos grupos de poblaciones distintas y actualmente aisladas que se recuperan como un grupo polifilético, aunque ambos habitan en zonas altas, mientras que *S. s. serrifer* se recupera como parafilético. Por lo tanto se proponen los siguientes cambios para que la taxonomía refleje la historia filogenética del grupo:

- 1) Que el nombre *Sceloporus serrifer* se conserve para todas las poblaciones del clado este, ya que las poblaciones de la península de Yucatán fueron las primeras en ser descritas (Smith, 1936). Las poblaciones de los Cuchumatanes en Guatemala deben ser consideradas como una forma o ecotipo de zonas altas.
- 2) Las poblaciones del clado oeste (Altos y Cuilco) deben de ser elevadas al estatus de especie y ser identificadas como *Sceloporus prezygus*, ya que es en Chiapas (Canjob) la primera población que se describe con este nombre (Smith, 1942; Stuart, 1970).

Con los cambios anteriores tendríamos a dos especies monofiléticas hermanas en cada uno de los clados principales, *S. serrifer* para el clado este (E) y *S. prezygus* para el clado oeste (W). La propuesta anterior se justifica no solamente por la filogenia obtenida, sino por los datos demográficos e históricos expuestos en este trabajo por el cual sabemos que los dos principales clados que soportan a las especies hermanas que proponemos se han separado entre 2.414 a 1.689 m.a. probablemente por una barrera física como los Cuchumatanes que ha impedido el intercambio de organismos entre las dos especies.

Asimismo, se puede resaltar como lo discutimos en el capítulo uno (Martínez-Méndez y Méndez-de la Cruz, 2007) que los caracteres morfológicos dentro de este grupo de lacertilios no refleja a la filogenia, ya que es probable que estén fuertemente influidos por el medio ambiente y la selección sexual. Lo anterior explicaría por qué las poblaciones de los Altos de Chiapas y los de las zonas montañosas de los Cuchumatanes tendrían conteos de escamas y patrones de coloración muy similares (Smith, 1942; Stuart, 1970) siendo dos especies distintas pero en condiciones ecológicas similares mientras que las poblaciones de zonas bajas presentan otros números de escamas y patrones de coloración muy distintos (Smith, 1936).

Lieratura citada

- Alves, M. J., H. Coelho, M. J. Collares-Pereira y M. M. Coelho. 2001. Mitochondrial DNA variation in the highly endangered cyprinid fish *Anaecypris hispanica*: importante for conservation. *Heredity* 87: 463-473.
- Avise, J. C., B. W. Bowen, T. Lamb, A. B. Meylan y E. Birmingham. 1992. Mitochondrial DNA evolution at a turtle's pace: evidence for low genetic variability and reduced microevolutionary rate in the Testudines. *Mol. Biol. Evol.* 9: 457-473.
- Arévalo, E., S. K. Davis y J. W. Sites, Jr. 1994. Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico. *Syst. Biol.* 43: 387-481.
- Blackburn, D. G. 2006. Squamate reptiles as model organisms for the evolution of viviparity. *Herpetological Monographs* 20: 131-146.
- Caccone, A., M. C. Milinkovitch, V. C. Sbordoni y J. R. Powell. 1997. Mitochondrial DNA rates and biogeography in European newts (genus *Euproctus*). *Systematic Biology* 46: 126-144.
- Cambell, J. A. 1984. A new species of elongate *Abronia* (Sauria: Anguidae) with comments on the herpetogeography of the highlands of southern Mexico. *Herpetologica* 40: 373-381.
- Clement, M., D. Posada y K.A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* 9: 1657-1660.
- Drummond A. J. y A. Rambaut. 2006 BEAST v1.4, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/>.
- Drummond, A. J., A. Rambaut, B. Shapiro y O. G. Pybus. 2005. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Mol. Biol. Evol.* 22: 1185-1192.
- Dupanloup, I., Schneider, S., Excoffier, L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571-2581.
- Espadas-Manrique, C., R. Duran y J. Argáez. 2003. Phytogeographic analysis of taxa endemic to the Yucatán peninsula using geographic information systems,

- the domain heuristic method and parsimony analysis of endemism. *Diversity and Distributions* 9: 313-330.
- Excoffier, L. P. E. Smouse y J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Fetzner, J.W. Jr. 1999. Extracting High-Quality DNA from shed reptiles skins: A simplified method. *Biotechniques*. 26(6): 1052-1054.
- Filatov D.A. 2002. ProSeq: A software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes* 2: 621-624.
- Forstner, M.R., S.K. Davis, y E. Arévalo. 1995. Support for the hypothesis of Anguimorph ancestry for the suborder Serpentes from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 4: 93-102.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915-925.
- Fu, Y. X. 1996. New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics* 143: 557-570.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Inst. de Geografía. Univ. Nal. Aut. de México. 3ª ed. 252 pp.
- Gerber, A. S., R. Loggins, S. Kumar y T. E. Dowling. 2001. Does Nonneutral evolution shape observed patterns of DNA variation in animal mitochondrial genomes?. *Annual Review of Genetics* 35: 539-566.
- Grant, W. S. y B. W. Bowen. 1998. Shallow population histories in Deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *The Journal of Heredity* 89: 415-426.
- Huey, R. B. 1982. Temperatura, fisiología, and the ecology of reptiles. Pp 25-91 *in* C. Gans y F. H. Pough editores. *Biology of Reptilia*. Volumen 12. Academia Press, London UK.
- <http://www.inegi.gob.mx>. 2004. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Información Geográfica por Entidad Federativa.
- Jonson, J. D. Biogeographic aspects of the herpetofauna of the central depression of Chiapas, México, with comments on surrounding areas. *The Southwestern Naturalist* 35: 268-278.

- Knowles, L. L. 2004. The burgeoning field of statistical phylogeography. *Journal of Evolutionary Biology* 17: 1-10.
- Lachinet, M. S. y L. Vázquez-Selem. 2005. Last glacial maximum equilibrium line altitudes in the circuí-Caribbean (Mexico, Guatemala, Costa Rica, Colombia, and Venezuela). *Quaternary Internacional* 138-139: 129-144.
- Lee, J. C. 1980. An ecogeographic analysis of the herpetofauna of Yucatán Península. *Miscellaneous Publication Museum of Natural History, University of Kansas* 67, 1-79.
- Lemus-Espinal, J y Ballinger, R. E. 1995. Comparative thermal ecology of the high-altitude lizard *Sceloporus grammicus* on the eastern slope of the Iztaccihuatl volcano, Puebla, Mexico. *Can. J. Zool.* 73: 2184-2191.
- Lindell J., F. R. Méndez-de la Cruz y R. W. Murphy. 2005. Deep genealogical history without population differentiation: Discordance between mtDNA and allozyme divergence in the zebra-tailed lizard (*Callisaurus draconoides*). *Mol. Phylogenet. Evol.* 36: 682-694.
- Liu, J. X., T. X. Gao, K. Yokogawa y Y. P. Zhang. Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific. *Mol. Phylogenet. Evol.* 39: 799-811.
- Macey, J. R., Y. Wang, N. B. Ananjeva, A. Larson y T. J. Papenfuss. 1999. Vicariant patterns of fragmentation among gekonid lizards of the genus *Teratoscincus* produced by the Indian collision: a molecular phylogenetic perspectiva and ana rea cladogram for Central Asia. *Mol. Phylogenet. Evol.* 12: 320-332.
- Maldonado-Koerdell, M. 1964. Geohistory and paleogeography of Middle America. Pp. 3-32, *in* Handbook of Middle American Indians. Natural environment and early cultures (eds. R. Wauchope y R. C. West). Universidad de Texas, Austin 1: 1-570.
- Manel, S. Schwartz, M. L., Luikart G., Taberlet, P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 189-197.
- Manni, F., Leonardi, P., Barakat, A., Rouba, H. Heyer, E., Klintschar, M., McElreavey, K., Quintana-Murci, L. 2002. Y-chromosome analysis in Egypt

- suggest a genetic regional continuity in northeastern Africa. *Human Biology* 74: 645-658.
- Mantel, N. 1967. The detection of diseases clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Marjoram, P. y P. Donnelly. 1994. Parwise comparasions of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implications for early human evolution. *Genetics* 136: 673-683.
- Martínez-Méndez, N. y Méndez-de la Cruz. 2007. Molecualr phylogeny of the *Sceloporus torquatus* species-group (Squamata: Phrynosomatidae). *Zootaxa* 1609: 53-68.
- Masta, S. E., N. M. Laurent, E. J. Routman. 2003. Population genetic structure of the toad *Bufo woodhousii*: an empirical assessment of the effects of haplotype extinction on nested cladistic analysis. *Molecular Ecology* 12: 1541-1554.
- McDonald, J. H. y M. Kreitman. 1991. Adaptive protein evolution at the Adh locus in *Drosophila*. *Nature* 54: 1218-1233.
- Miller, M. P. 2005. Alleles in Space: Computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *Journal of Heredity* 96: 722-724.
- Monmonier, M. 1973. Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. *Geog. Anal.* 3: 245-261.
- Nielsen, R. 2001. Statistical tests of selective neutrality in the age of genomics. *Heredity* 86: 641-647.
- Olson , R. E. 1987. Taxonomic revision of the lizards *Sceloporus serrifer* and *cyanogenys* of the Gulf Coastal Plain. *Bull. Maryland Herp. Soc.* 23(4): 158-167.
- Panchal, M. y M. A. Beaumont. 2007. The automation and evaluation of nested clade phylogeographic analysis. *Evolution* 61: 1466-1480.
- Petit, R. J. 2007. The coup de grace for the nested clade phylogeographic analysis?. *Molecular Ecology News and views*.
- Petit, R. J. y D. Grivet. 2002. Optimal randomization strategies when testing the existence of a phylogeographic structure. *Genetics* 161: 469-471.

- Pfenninger, M. y D. Posada. 2002 Phylogeographic history of the land snail *Candidula unifasciata* (Helicelline, Stylommatophora): fragmentation, corridor migration, and secondary contact. *Evolution* 56: 1776-1788.
- Posada, D. y K. A. Crandall. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Posada, D., K. A. Crandall y A. R. Templeton. 2000. GEODIS: a program for the nested cladistic analysis of the geographic distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology* 9: 487-488.
- Tamura, K. y M. Nei. 1993. Estimation of number of nucleotide substitutions in control region of mitochondrial DNA in human and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 10: 512-526.
- Templeton, A.R. 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Mol. Ecol.* 7: 381-397.
- Templeton, A.R. 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology*, 13: 789-809.
- Templeton, A. R., K.A. Crandall y C.F. Sing. 1992. A cladistic analysis of phenotype associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619-633.
- Templeton, A.R., E. Routman y C.A. Phillips. 1995. Separating population structure from population history: A cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140: 767-782.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. y Higgins, D.G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24:4876-4882.
- Thorpe, R. S., Leadbeater, D. L., y Pook, C. E. 2005. Molecular clocks and geological dates: cytochrome b of *Anolis extremus* substantially contradicts dating of Barbados emergence. *Molecular Ecology* 14: 2087-2096.
- Posada, D., K.A. Crandall y A.R. Templeton. 2000. GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Mol. Ecol.* 9: 487-488.
- Rambaut, A., y A. Drummond. 2005. Tracer v1.2.1 2003- MCMC Trace File Analyser

- University of Oxford. Disponible gratis en: <http://evolve.zoo.ox.ac.uk/beast/0>
- Rand, D. M. (1996). Neutrality tests of molecular markers and connections between DNA polymorphism, demography, and conservation biology. *Conserv. Biol.* 10: 665-671.
- Roe, B. A., Ma, D.-P., R. K. Wilson, J. F.-H. Wong. 1985. The complete nucleotide sequence of *Xenopus laevis* mitochondrial genome. *J. Biol. Chem.* 260: 9759-9774.
- Rogers, A. R. y H. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9: 552-569.
- Rohlf, R. J. 1993. NTSYS-PC. Numerical Taxonomy and Multivariate Analyses System, Version 1.8. Setauket, New York.
- Rozas, J y R. Rozas. 1999. DNASP, Version 3. An integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics* 15: 174-175.
- Rzedowski, J. 1981. Vegetación de México. Editorial Limusa. México. 432 pp.
- Saiki, R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, K.B. Mullis y H.A. Erlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- Savage, J. M. 2002. The amphibians and reptiles of Costa Rica. A herpetofauna between two continents, between two seas. Chicago and London. Univ. Chicago Press, 934 pp.
- Schnider, S. J.M. Kueffer, D. Rossetti y L. Excoffier. 2000. Arlequin ver. 2.000: A software for population genetic data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, Universidad of Geneva, Switzerland.
- Shine, R. 1985. A new hypothesis for evolution of viviparity in reptiles. *Am. Nat.* 145: 809-823.
- Shine, R. 2005. Life-history evolution in reptiles. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 36: 23-46.
- Slatkin, M. 1991. Inbreeding coefficients and coalescence time. *Genet. Res.* 58: 167-175.
- Smith, H. M. 1936. The lizards of the torquatus group of the genus *Sceloporus* Wiegmann 1828. *Univ. Kansas Sci. Bull.* 24: 539-674.

- Smith, H. M. 1942. Mexican herpetological miscellany. Proc. U.S. Nat. Mus. 92: 349-395.
- Stuart, L. C. 1970. A brief review of the races of *Sceloporus serrifer* Cope with especial reference to *Sceloporus serrifer prezygus*. Herpetologica 26 (1): 141-149.

Capítulo IV

Conclusiones generales

En la primera parte del trabajo determinamos que las subespecies de *Sceloporus serrifer* no son monofiléticas, ya que *S. s. plioporus* de los estados norteños de Tamaulipas y Nuevo León no guarda una relación filogenética directa con las poblaciones del sureste de México y Guatemala, mientras que estas dos últimas si se recuperan como especies hermanas. Aunado a este trabajo se pudieron determinar las relaciones filogenéticas de las demás especies del grupo *S. torquatus* y propusimos cambios nomenclaturales acordes con lo encontrado en el estudio sistemático. Un aspecto importante que se puede derivar de la primera parte de este trabajo es que los caracteres morfológicos tradicionales utilizados para delimitar especies del grupo *torquatus* no son adecuados en especial el número de escamas y los patrones de coloración. Nuestros datos sugieren que el número de escamas dorsales puede estar influenciado por factores ambientales en particular la humedad ambiental, siendo el caso más evidente el de las subespecies de *S. ornatus* que habita en áreas desérticas y que no forman un grupo monofilético, pero presentan un número mayor de escamas dorsales en comparación con sus especies hermanas que habitan áreas más húmedas y templadas. El fenómeno anterior parece ser un patrón que se repite en todo el grupo y deja abierto el camino para un posterior trabajo que explore en mayor profundidad las relaciones entre distintos caracteres morfológicos y las condiciones ambientales.

En la segunda parte del trabajo analizamos con más detalle las relaciones filogenéticas entre las subespecies de *S. serrifer* del sureste de México y Guatemala, además de los patrones geográficos e históricos de la variabilidad genéticas de las distintas poblaciones. Pensamos que el mayor aporte de esta sección se interpreta en el contexto de la principal teoría sobre la aparición de la viviparidad en lacertilios que indica que la viviparidad evolucionó en poblaciones de zonas altas y frías y que predice que las poblaciones de lagartijas vivíparas en zonas cálidas se derivan de las poblaciones de zonas altas (Shine, 1985). Nuestra evidencia nos indica que es muy probable que las lagartijas de la zonas tropicales se derivaran de poblaciones

de altitudes intermedias o altas lo cual confirma la primera hipótesis planteada sobre el origen secundario de las poblaciones de la península de Yucatán, sin embargo también existen poblaciones de montaña como en los Cuchumatanes (Guatemala) que se poblaron más recientemente y quizá derivadas de poblaciones de alturas intermedias.

Otro aspecto que nos interesaba resolver es que si por su condición de lagartijas vivíparas que probablemente evolucionaron en zonas frías, esto les pudiera conferir un tipo de ventaja que les permitiera sobrevivir e incluso aumentar sus tamaños poblacionales durante los periodos geológicos más fríos como en las glaciaciones. Nuestra evidencia apunta hacia que las condiciones más frías no favorecieron a las poblaciones en las zonas bajas e incluso las afectaron gravemente. Lo cual refuta la segunda hipótesis planteada, pues se esperaba que las condiciones más frías favorecieran demográficamente a las poblaciones de las zonas bajas por derivar de poblaciones adaptadas a zonas templadas o frías.

Asimismo la evidencia alterna recabada sobre las condiciones ambientales y ecológicas predominantes durante las dos últimas glaciaciones nos apuntan a pensar que las posibles adaptaciones a climas fríos de estos lacertilios no han determinado o por lo menos no totalmente su ubicación geográfica actual y crecimiento poblacional histórico, sino que en mayor medida pudiera ser la disponibilidad de refugios adecuados como rocas o ciertas especies de árboles con huecos y oquedades adecuadas el factor determinante.

Esto último también tiene importancia bajo la luz de la teoría del conservadurismo ecológico del nicho que es la tendencia de las especies a retener características ecológicas ancestrales (Peterson *et al.*, 1999; Wiens y Graham, 2005), ya que es evidente que las condiciones ecológicas entre las zonas montañosas y la península de Yucatán son muy distintas. Sin embargo parece ser que para estos organismos es más importante el tipo de refugio que pueden obtener, ya que en estos pueden encontrar microambientes que pueden amortiguar de cierta manera las condiciones del exterior. Esto lo podemos afirmar al observar que los periodos de actividad en las

zonas de la península de Yucatán es distinto al de las zonas montañosas. En la península de Yucatán la actividad comienza muy temprano (7:30 hrs.) y se detiene al medio día evitando así las horas de más insolación, tiempo en el cual permanecen en sus refugios, para después continuar un nuevo periodo de actividad (16:00 hrs.) hasta que se oculta el sol, mientras que en las zonas altas el periodo de actividad comienza más tarde (8-9 hrs.) y puede continuar todo el día con periodos cortos de refugio al medio día en especial en verano, sin embargo ambas poblaciones presentan temperaturas preferidas similares (Martínez-Méndez y Méndez-de la Cruz, en preparación). Es decir parece ser que para pequeños lacertilios es más importante la disponibilidad de refugios que las condiciones climáticas externas, ya que sus requerimientos térmicos pueden ser compensados fácilmente de manera conductual si tienen a su disposición sitios con microhabitats adecuados.

Literatura citada

- Martínez-Méndez, N. y F. Méndez-de la Cruz. Conservadurismo del nicho térmico en poblaciones de *S. serrifer* en los Altos de Chiapas y la península de Yucatán. En preparación.
- Peterson, A. T., J. Soberón y V. Sánchez-Cordero. 1999. Conservatism of Ecological niches in evolutionary Time. *Science* 285: 1265-1267.
- Shine, R. 1985. A new hypothesis for evolution of viviparity in reptiles. *Am. Nat.* 145: 809-823.
- Wiens, J. J. y C. H. Graham. 2005. Niche Conservatism: Integrating Evolution, Ecology, and Conservation Biology. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 519-539.

APENDICE A

Pruebas de neutralidad por ventanas para las principales poblaciones muestreadas. El tamaño de las ventanas es de 10 nucleótidos con un solapamiento cada 5 nucleótidos. Se presentan las pruebas de Fu y Li (F) y las de Tajima (D). Los valores estadísticamente significativos en los casos en que se presentaron se indican en las gráficas.

