



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Biología

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DEL COMPLEJO *Sceloporus*
aeneus (SQUAMATA: PHRYNOSOMATIDAE)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

(SISTEMÁTICA)

PRESENTA

RUBI NELSI MEZA LÁZARO

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

MÉXICO D.F.

FEBRERO, 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por la invaluable oportunidad de estudiar la maestría.

Agradezco al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y ala Dirección General de Estudios de Posgrado DGEP (UNAM) por el apoyo que me otorgaron durante el transcurso de la maestría a través de las Becas para Estudios de Posgrado.

Agradezco al proyecto PAPIIT (proyecto 213405) por el apoyo económico para el desarrollo de este trabajo de investigación.

Quiero agradecer a mi asesor, el Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz, por el apoyo incondicional que me brindó para llevar a buen término el presente trabajo de investigación, así como también por su confianza y amistad.

Agradezco a los miembros de mi comité tutorial por su valiosísima asesoría para el óptimo desarrollo de este trabajo: Dr. Adrián Nieto Montes de Oca y Dra. Virginia León Regagnòn.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente a los miembros del jurado por sus sugerencias y comentarios que sin duda contribuyeron a mejorar este trabajo: al Dr. Adrián Nieto Montes de Oca, a la Dra. Irene Goyenechea Meyer Goyenechea, al Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz, a la Dra. Blanca Hernández Baños y a la Dra. Virginia León Regagnòn.

Quiero dar las gracias a las personas que me ayudaron a recolectar lagartijas para el presente estudio, por su apoyo y por hacer de cada salida al campo una experiencia tan agradable; agradezco especialmente a Alejandro Castro Cabestany, Alejandro Castro Meza, Martha Calderón, Saúl López, Juan Carlos Barajas, Norberto Martínez, Fausto Méndez y Rafael Lara. También agradezco a Felipe Rodríguez por haberme proporcionado tejidos de lagartijas del Estado de México que me fueron de mucha utilidad.

Agradezco al Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología de la UNAM y en especial a la M. en C. Laura Márquez por su asesoría en el manejo de técnicas de laboratorio, pero también por su paciencia y calidez. También quiero agradecer por sus enseñanzas y ayuda en el trabajo de laboratorio a la Dra. Gabriela Parra, a la Dra. Martha Calderón y a la Dra. Norma Manríquez.

Quiero agradecer de manera muy especial a todas las personas que me ayudaron a analizar los datos, a salir de los mil y un enredos que surgieron y que con sus comentarios me ayudaron a construir este trabajo: Dr. Martha Calderón, Dra. Norma Manríquez, Dr. Norberto Martínez, Dr. Alejandro Zaldivar, Dr. Adrián Nieto.

Quiero agradecer de todo corazón a Martha Calderón porque sin su ayuda esta tesis no habría sido la misma, por sus conocimientos, por la paciencia y por todo el cariño y el apoyo. ¡Gracias!

También les doy las gracias a mis hermanas Lupita y Caro y a mi mami por todo lo que me apoyaron durante esta fase de mi desarrollo profesional y personal, gracias a su ayuda me fue más fácil ser mamá y estudiante de posgrado. Gracias por su alegría, cariño y ayuda.

Finalmente quiero agradecer a las dos personas que estuvieron todo el tiempo a mi lado, cuidándome, apoyándome y dándome su amor, confianza y comprensión. Gracias a Alejandro Castro Cabestany por estar cada día a mi lado, por apoyarme tanto y por todo el amor que me da. Gracias a Ale Castro Meza por ser el más hermoso de los motivos para ser mejor cada día.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Antecedentes	5
1. Sistemática del grupo <i>S. scalaris</i>	5
2. Sistemática del complejo <i>Sceloporus aeneus</i>	6
Objetivos	9
Métodos	10
1. Muestreo taxonómico	10
2. Protocolo de laboratorio	13
2.1 Extracción de ADN	13
2.2 Amplificación	13
3. Análisis filogenético	14
Resultados	18
1. Variación de las Secuencias	18
2. Relaciones filogenética	18
2.1 Clado <i>S. aeneus</i> - <i>.subniger</i>	24
2.2 Clado <i>S. aeneus</i> *- <i>S. subniger</i> del Este	24
2.3 Clado <i>S. subniger</i> del Oeste	25
2.4 Clado <i>S. bicanthalis</i>	31
Discusión	37
1. Relaciones filogenéticas	37
2. Límites de especie	38
2.1 <i>Sceloporus aeneus</i> y <i>Sceloporus subniger</i>	39
2.2 <i>Sceloporus bicanthalis</i>	42
3. Implicaciones taxonómicas	44
Conclusiones	48
Literatura citada	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1	Registros de localidades de <i>S. bicanthalis</i> , <i>S. a. aeneus</i> y <i>S. a. subniger</i> (Smith <i>et al.</i> , 1993).	8
Figura 2	Árbol de consenso estricto de 98100 árboles igualmente parsimoniosos que representa las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>S. aeneus</i> , basado en el análisis del fragmento del gen mitocondrial ND4 y tRNAs adyacentes. Los números sobre las ramas son valores bootstrap.	21
Figura 3	Inferencia bayesiana de las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>S. aeneus</i> , basada en el análisis del fragmento del gen mitocondrial ND4 y tRNAs adyacentes. Los números sobre las ramas son valores de probabilidad posterior.	23
Figura 4	Árbol de consenso estricto de 18 árboles más parsimoniosos que representa las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>S. aeneus</i> , basada en el análisis de los fragmentos de los genes mitocondriales ND4 y citocromo b. Los números sobre las ramas son valores bootstrap.	27
Figura 5	Inferencia bayesiana de las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>S. aeneus</i> , basada en el análisis de los fragmentos de los genes mitocondriales ND4 y citocromo b. Los números sobre las ramas son valores de probabilidad posterior.	29
Figura 6	Distribución de los Caldos <i>S. aeneus- subniger</i> , <i>S. aeneus*</i> <i>subniger</i> del Oeste y <i>S. subniger</i> del Este.	30
Figura 7	Árbol de consenso estricto de 30 árboles más parsimoniosos que representa las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>S. aeneus</i> , basada en el análisis del fragmento del gen mitocondrial citocromo b. Los números sobre las ramas son valores bootstrap.	33

Figura 8	Inferencia bayesiana de las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo <i>S. aeneus</i> , basada en el análisis del fragmento del gen mitocondrial citocromo b. Los números sobre las ramas son valores de probabilidad posterior.	35
Figura 9	Figura 9. Distribución de los clados de <i>S. bicanthalis</i> de acuerdo con la hipótesis derivada de los análisis del gen citocromo b. Hidalgo, Estado de México y Tlaxcala, Veracruz y Oaxaca.	36

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
Cuadro 1	Localidades de recolecta de <i>S. bicanthalis</i> , <i>S. subniger</i> y <i>S. aeneus</i> incluidas en los análisis. La localidad tipo de cada taxón está resaltada con negritas. * Smith <i>et al.</i> (1993) señalan que la identidad del taxón que se distribuye en Tlaxcala es incierta.	11
Cuadro 2	Modelos de substitución usando el criterio de información bayesiano (BIC). Las particiones sombreadas corresponden a la matriz combinada.	17
Cuadro 3	Cuadro 3. Distancias no corregidas entre los haplogrupos del complejo <i>S. aeneus</i> basada en la matriz de datos combinados.	19

RESUMEN

El grupo de especies *Sceloporus scalaris* está formado por dos complejos: el complejo *S. scalaris* y el complejo *S. aeneus*. Este último está formado por tres entidades cuyo estado taxonómico se encuentra aún en discusión: *Sceloporus aeneus*, *subniger* y *S. bicanthalis* *S.* (Smith, 1937; Poglayen y Smith, 1958). Por ello, el propósito de este estudio es inferir las relaciones filogenéticas entre las poblaciones que forman el complejo *S. aeneus*, mediante el uso de secuencias de DNA mitocondrial y usar esta hipótesis para reevaluar el estado taxonómico de *S. aeneus*, *S. subniger* y *S. bicanthalis*. Con este fin, fueron muestreadas 22 localidades y secuenciadas dos fragmentos de genes mitocondriales (ND4 y tRNAs tRNA^{His}, ^{Ser}, ^{Leu} y citocromo b). Los árboles filogenéticos fueron estimados usando métodos de Máxima Parsimonia y Bayesianos. Y fue realizado un análisis basado en el protocolo para delimitar especies, basado en árboles, con datos de DNA (Wiens y Penkrot, 2002). Los análisis de la matriz combinada (1707 pb) muestran que el complejo *Sceloporus aeneus* es monofilético y está formado por cuatro linajes cuyas relaciones no fueron resueltas contundentemente: 1. El primero de ellos está formado por poblaciones asignadas a *S. aeneus* y a *S. subniger* de Morelos, Distrito federal y Estado de México, este linaje debe conservar el nombre *Sceloporus aeneus*, aunque requiere de una redescripción. Mientras tanto, el nombre *Sceloporus subniger* no puede aplicarse a taxón alguno. 2. El clado *S. aeneus* - *subniger* del Este, está integrado por las poblaciones de Hidalgo, límites de Hidalgo y Puebla y Tlaxcala. 3. El clado *S. subniger* del Oeste está formado por las poblaciones de Michoacán. Si estos linajes constituyen especies distintas, entonces requieren de un nombre nuevo y de una descripción. 4. Clado *S. bicanthalis* que incluye a los haplotipos provenientes de las tierras altas de Veracruz, Oaxaca, Tlaxcala, Puebla, Hidalgo y Estado de México. *S. bicanthalis* se diferencia de los otros clados por la presencia de dos escamas cantales, barras gulares longitudinales, modo reproductor vivíparo y diferente patrón estacional de reproducción.

ABSTRACT

The *Sceloporus scalaris* group contains two complexes of species. The *scalaris* complex consists of *S. scalaris* and its subspecies and the *S. aeneus* complex, which comprises three taxa: *S. aeneus* Wiegmann, 1828, *S. subniger* Smith, 1958 and *S. bicanthalis* Smith, 1937. Their taxonomic status and phylogenetic relationships are not completely resolved. For this reason, I employed mitochondrial DNA sequences to reconstruct evolutionary relationships among the taxa of the *S. aeneus* complex, in order to re-evaluate their taxonomic status. For this, I obtained sequences of two mitochondrial DNA fragments (ND4 and tRNAs tRNA^{His, Ser, Leu} and citocromo b) from individuals of 22 localities of this species complex. I also included sequences of *S. aeneus*, *S. subniger*, *S. bicanthalis* and other species of the *S. scalaris* group downloaded from the Genbank. I employed Maximum parsimony and Bayesian criteria to analyze the data. Finally, I applied the tree-based species delimitation with DNA data (Wiens and Penkrot, 2002). The analysis of the combined matrix showed the *S. aeneus* complex is monophyletic. At least four evolutionary lineages constitute this complex although relationships among these clades are unresolved: the first is constituted by *S. aeneus* haplotypes, which are nested within a well supported clade that contains haplotypes of *S. subniger* from the central portion of the Mexican Transvolcanic Belt (Morelos, Distrito federal and State of México). Based on the priority principle in taxonomy, populations represented in this clade must be named *S. aeneus*. Type locality for *S. subniger* was included in the clade suggested as *S. aeneus*. Then, the name *S. subniger* can not be applied to other haplotypes of *S. subniger* that appear in two strongly supported clades with allopatric distribution from the 2. East (Hidalgo, Puebla, Tlaxacala) and 3. West (Michoacán) of the Mexican Transvolcanic Belt. If these two lineages correspond to new species, they require a new description and new taxon labels. 4. Haplotypes of *S. bicanthalis* constitute a single exclusive supported clade. Four diagnostic characteristics are recognized for this species: that is, barred gular pattern, two canthal scales, viviparous reproductive mode and a different seasonal pattern of reproduction.

INTRODUCCIÓN

El género *Sceloporus* fue propuesto por Wiegmann en 1828 (Bell *et al.*, 2003). Actualmente se admiten como válidas 91 especies ovíparas y vivíparas dentro de este género, asignadas a 23 grupos de especies (Bell *et al.*, 2003; Sites *et al.*, 1992) las cuales tienen una distribución que va desde el sur de Canadá hasta Panamá (Bell *et al.*, 2003; Wiens y Reeder, 1997; Sites *et al.*, 1992). El grupo monofilético de especies *S. scalaris* es el único del género que contiene especies ovíparas y vivíparas (Wiens y Reeder, 1997).

Las especies del grupo *S. scalaris* se dividen en dos complejos: el complejo *S. scalaris* y el complejo *S. aeneus*. Este último está formado por tres entidades cuyo estado taxonómico se encuentra aún en discusión. *Sceloporus subniger* y *S. bicanthalis* fueron originalmente propuestas como subespecies de *S. aeneus* (Smith, 1937; Poglayen y Smith, 1958). Posteriormente Guillette y Smith (1985) elevan a *S. bicanthalis* a nivel de especie, con base principalmente en las diferencias observadas en el modo de paridad y número de escamas cantales. Smith *et al.* (1993) apoyan esta conclusión y reconocen el estado subespecífico de *S. s. aeneus* y *S. s. subniger*. Más tarde, en un análisis filogenético basado en caracteres derivados de aloenzimas, se muestra la monofilia del complejo y de *S. bicanthalis*, más no la de *S. a. aeneus* ni la de *S. a. subniger* (Mink y Sites, 1996). Wiens y Reeder (1997), con base en un análisis filogenético del género *Sceloporus*, sugieren a *S. bicanthalis*, *S. aeneus* y *S. subniger* como especies distintas, las cuales no constituyen un grupo monofilético. Sin embargo, en este análisis se incluye información de secuencias de DNAm sólo para *S. bicanthalis*. La condición monofilética del complejo y el estado específico de *S. bicanthalis* se recupera en un análisis filogenético posterior (Benabib *et al.*, 1997); sin embargo, estos autores no intentan resolver las relaciones filogenéticas ni el estado taxonómico de las subespecies putativas de *S. aeneus*.

Si bien la condición monofilética del complejo y el estado específico de *S. bicanthalis* parecen estar fuertemente apoyados, no es claro cuál es el estado taxonómico de las entidades reconocidas al interior de *S. aeneus*, ni su relación con *S. bicanthalis*.

Por ello, el objetivo de este estudio es reevaluar la relaciones filogenéticas entre las poblaciones de *S. aeneus*, *S. subniger* y *S. bicanthalis* y aportar evidencia que permita evaluar su estado taxonómico.

Además, establecer la relación filogenética entre las poblaciones ovíparas y vivíparas del complejo resulta relevante para interpretar en el contexto evolutivo los caracteres asociados al origen del modo reproductor vivíparo.

ANTECEDENTES

1. SISTEMÁTICA DEL GRUPO *scalaris*

El grupo *scalaris* se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta el centro de Oaxaca (Figura 1). Está formado por ocho especies actualmente válidas (*sensu* Bell *et al.*, 2003): Las especies ovíparas *S. aeneus* (Wiegmann, 1828), *S. subniger* (Poglayen y Smith, 1958), *S. chaneyi* (Liner y Dixon, 1992), *S. scalaris* (Wiegmann, 1828), *S. slevini* (Smith, 1937) y *S. samcolemani* (Smith y Hall, 1974) y las vivíparas *S. bicanthalis* (Smith, 1937) y *S. goldmani* (Smith, 1937).

El grupo *Sceloporus scalaris* fue propuesto inicialmente por Smith (1937) y estaba compuesto por *S. aeneus aeneus*, *S. a. bicanthalis*, *S. goldmani*, *S. jalapae*, *S. scalaris scalaris*, *S. s. unicanthalis*, *S. s. slevini*. Posteriormente, con base en datos merísticos, morfométricos y cariológicos (Thomas y Dixon, 1976; Cole, 1978) *S. jalapae* fue excluido del grupo *scalaris* y colocado en otro grupo junto con *S. ochoteranae*.

Smith (1937) reconoció dos complejos dentro del grupo *S. scalaris*: el complejo *S. scalaris* (*S. scalaris scalaris*, *S. s. unicanthalis* y *S. s. slevini*) que ocupa el centro y norte del intervalo de distribución del grupo y el complejo *S. aeneus* (*S. a. aeneus*, *S. a. bicanthalis*) distribuido hacia el sur. Mientras tanto *S. goldmani* era considerada una especie con una mezcla de caracteres de ambos complejos.

Más tarde, debido a su coloración y cariotipo *S. goldmani* fue considerada una especie más relacionada con *S. scalaris* (Thomas y Dixon, 1976; Cole, 1978). Actualmente el complejo *S. scalaris* está formado por *S. scalaris* (*S. s. scalaris*, Wiegmann, 1828; *S. s. brownorum*, Smith *et al.*, 1997; *S. s. unicanthalis*, Smith, 1937), *S. slevini* (Smith, 1937), *S. samcolemani* (Smith y Hall, 1974), *S. chaneyi* (Liner y Dixon 1992) y *S. goldmani* (Smith, 1937). Mientras que el complejo *S. aeneus* quedó conformado por *S. bicanthalis* y *S. aeneus*.

De este modo las dos especies vivíparas del grupo (*S. goldmani* y *S. bicanthalis*) son ubicadas en complejos distintos, ambos formados por especies ovíparas y vivíparas, por lo que se ha propuesto que la viviparidad en el grupo *scalaris* se ha originado al menos dos veces. Los análisis basados en enzimas nucleares de restricción y secuencias de DNA mitocondrial apoyan dicha hipótesis (Mink y Sites, 1996; Creer *et al.*, 1997; Benabib *et al.*, 1997).

2. SISTEMÁTICA DEL COMPLEJO *Sceloporus aeneus*

En 1928 Arend Friedrich August Wiegmann (1802-1841) describió la especie *Sceloporus aeneus* y ubicó su localidad tipo en Tres Cumbres, estado de Morelos. Más de un siglo después, en 1937, Hobart M. Smith describió la subespecie *Sceloporus aeneus bicanthalis*, cuya localidad tipo se localiza en la falda Este del Cofre de Perote en el estado de Veracruz. Por último, en 1958, Poglayen y Smith describieron la subespecie *Sceloporus aeneus subniger*; su localidad tipo se localiza a 63Km. al Noroeste de Toluca, en el Estado de México.

De este modo, el complejo *S. aeneus* quedó constituido por tres subespecies, *S. a. aeneus*, *S. a. bicanthalis* y *S. a. subniger*. Posteriormente, considerando que *S. a. bicanthalis* difiere de las otras subespecies en el modo reproductor (vivíparo), en su morfología, hábitat y ciclo reproductor, Guillette y Smith (1985) la elevaron a la categoría de especie y separándola de *S. aeneus*, mientras que la separación entre *S. a. aeneus* y *S. a. subniger* permaneció en duda.

Smith *et al.* (1993) abordaron el problema del estado taxonómico de *S. aeneus*, *S. subniger* y *S. bicanthalis* desde una perspectiva morfológica, a través de un estudio que consistió en la revisión de ejemplares provenientes de diversas localidades del complejo *S. aeneus*. Estos autores consideran a *S. bicanthalis* una especie distinta de *S. aeneus*, debido básicamente a la presencia de dos escamas cantales (una en *S. aeneus*) y al patrón gular (presencia de barras negras longitudinales bien definidas que se extienden sobre el pecho, el abdomen y la superficie ventral, incluyendo las extremidades). La distribución de *S. bicanthalis*

abarca las altas elevaciones del Estado de México, Puebla, Hidalgo, Veracruz, Tlaxcala y Oaxaca.

De acuerdo con Smith *et al.* (1993) *S. a. aeneus* y *S. a. subniger* presentan una sola escama cantal. Estas dos subespecies difieren entre sí en el patrón de la gula y el abdomen. Los ejemplares de *S. a. aeneus* presentan pigmentación ventral gris homogénea y la región gular nunca es barrada ni moteada. En los machos de *S. a. aeneus* el abdomen está pigmentado homogéneamente sin parches bien definidos. Los machos de *S. subniger* tienen barras gulares marcadas, aunque en algunos machos adultos no se distinguen, ya que tienden a mecanizarse, mientras que las hembras presentan pigmentación difusa o con un patrón pobremente definido. En *S. subniger* los parches abdominales están más definidos que en *S. aeneus*.

Anteriormente, la distribución de *S. a. subniger* solía restringirse a las faldas del Nevado de Toluca (Sites *et al.*, 1992), mientras que *S. a. aeneus* ocupaba el resto del intervalo geográfico de la especie. Sin embargo, Smith *et al.* (1993) concluyeron que *S. subniger* habita desde el oeste del estado de Michoacán, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, el Estado de México, hasta Hidalgo, dejando a *S. a. aeneus* restringida al norte del Estado de Morelos, sureste del Estado de México, Distrito Federal, y tal vez centro de Puebla y Tlaxcala (Figura 1).

Los intervalos de distribución latitudinal de *S. aeneus* y *S. bicanthalis* se traslapan considerablemente. Sin embargo existe una separación altitudinal entre las poblaciones de estas especies con poca ó nula superposición. Las poblaciones de *S. bicanthalis* se restringen al intervalo vertical comprendido entre los 3000 y 4500 msnm, mientras que las poblaciones ovíparas habitan entre los 2000 y los 3200 msnm.

Actualmente sabemos por estudios realizados con datos de DNA mitocondrial, aloenzimas y morfología (Benabib *et al.*, 1997; Creer *et al.*, 1997) que el clado formado por *S. aeneus* y *S. bicanthalis* es monofilético y que las

poblaciones de *S. bicanthalis* forman un linaje monofilético que se encuentra anidado dentro de *S. aeneus*, sin embargo, en estos estudios no fueron examinados ni el estado taxonómico ni las relaciones entre *S. a. aeneus* y *S. a. subniger*.

Últimamente, *S. subniger* ha sido tratada como una especie (Wiens y Reeder, 1997; Bell *et al.*, 2003) o como una subespecie de *S. aeneus* (Smith *et al.*, 1993; Benabib *et al.*, 1997). Otros autores la consideran una especie válida, pero reconocen la necesidad de estudios posteriores que resuelvan esta cuestión (Flores-Villela y Canseco-Márquez, 2004; Bell *et al.*, 2003; Creer *et al.*, 1997). Por razones prácticas, en adelante, *S. subniger* será tratada como una especie distinta de *S. aeneus*, aunque por supuesto, ésta es una cuestión que se discutirá a la luz de los resultados de este estudio.

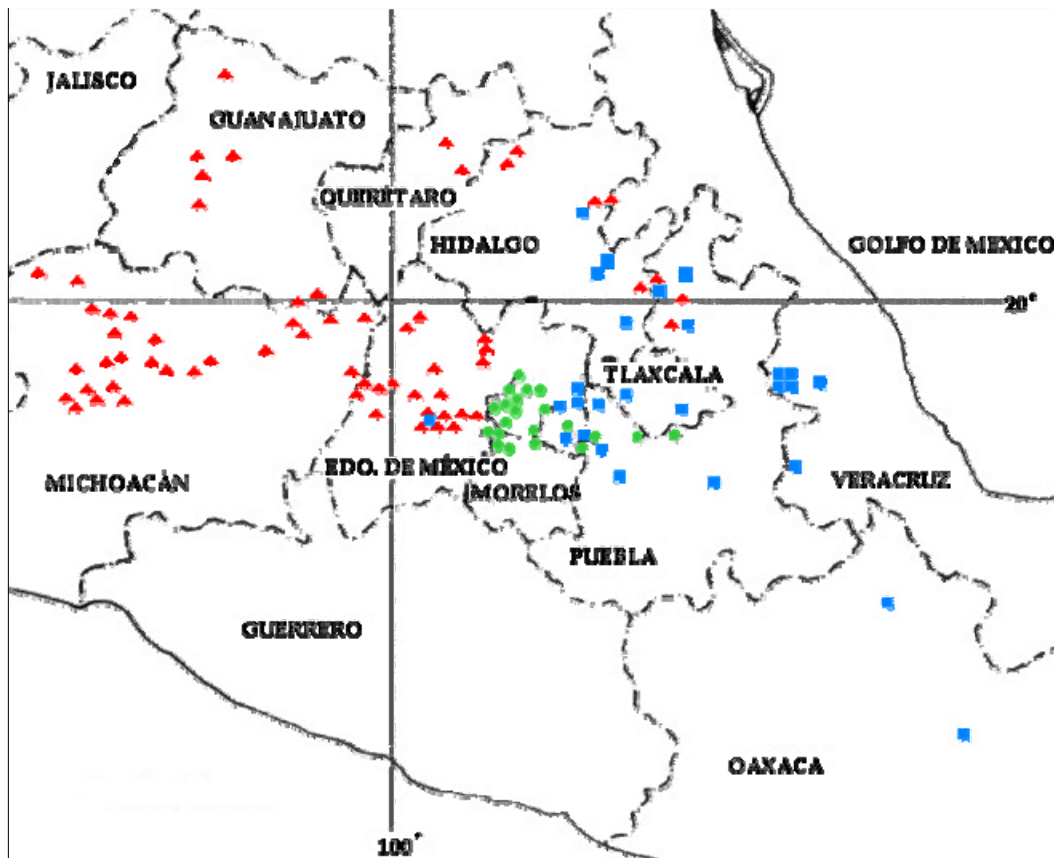


Figura 1. Registros de localidades de ■ *S. bicanthalis*, ● *S. a. aeneus* y ▲ *S. a. subniger* (Smith *et al.*, 1993).

OBJETIVOS

Inferir las relaciones filogenéticas entre las poblaciones que forman el complejo *Sceloporus aeneus*, mediante el uso de secuencias de DNA mitocondrial y usar esta hipótesis filogenética para reevaluar el estado taxonómico de *S. aeneus*, *S. subniger* y *S. bicanthalis*.

Objetivos particulares:

- Proponer hipótesis de relaciones evolutivas entre los haplotipos de ejemplares provenientes de las poblaciones el complejo *S. aeneus* mediante el uso de secuencias de DNA mitocondrial.
- Poner a prueba la monofilia del complejo y de los taxones que lo forman.
- Delimitar especies usando el método basado en árboles con datos de DNA (Wiens y Penkrot, 2002).
- Reevaluar el estado taxonómico de *S. aeneus*, *S. subniger* y *S. bicanthalis*.

MÉTODO

1. MUESTREO TAXONÓMICO

En este estudio se obtuvieron muestras de ejemplares de 22 localidades (Cuadro 1), a lo largo de la distribución de *S. bicanthalis*, *S. aeneus* y *S. subniger* incluyendo individuos de las localidades tipo de cada taxón (Cuadro 1). Los ejemplares fueron asignados a alguna de las tres especies nominales de acuerdo con su procedencia geográfica en conformidad con la distribución propuesta por Smith *et al.*, (1993). También se consideró la distribución altitudinal y la morfología (número de cantales y patrón de la superficie ventral), para determinar los ejemplares de *S. bicanthalis*.

En el caso de *S. aeneus* y *S. subniger* se le concedió menor peso al criterio morfológico debido a que el carácter diagnóstico que las separa (patrón de la superficie ventral) está relacionado al sexo y ontogenia de los ejemplares (Smith *et al.*, 1993), presentando una amplia variación al interior de cada población, incluso en los machos, además de que no es muy clara la separación entre los estados de carácter (este estudio). Por otra parte, no en todos los casos fue posible recolectar machos adultos.

De cada ejemplar fue obtenido tejido hepático o fragmentos de la cola, que fueron almacenados en alcohol absoluto hasta su procesamiento en laboratorio para la obtención de las secuencias nucleotídicas. Algunas secuencias del grupo *S. scalaris*, provienen del gen bank (números de acceso U88255-U88292), así como también las que se utilizaron como grupo externo (*S. jalapae*, U88293; *S. occidentalis*, AB079242; *Phrynosoma braconnieri*, AY141096) (Benabib *et al.*, 1997).

Cuadro 1. Localidades de recolecta de *S. bicanthalis*, *S. subniger* y *S. aeneus* incluidas en los análisis. La localidad tipo de cada taxón está resaltada con negritas. * Smith *et al.* (1993) señalan que la identidad del taxón que se distribuye en Tlaxcala es incierta.

Estado	No.	Localidad	N	Longitud	Latitud	Fuente
<i>Sceloporus bicanthalis</i>						
Veracruz	1	Cofre de Perote , Carretera México-Jalapa, desviación Los Altos.	4	-97.305	19.4775	Este estudio
	2	Los Conejos, al sureste de Perote	3	-97.229	19.5405	Este estudio
	3	Km. 125 de la carretera 140, 2 Km. al este de Las Vigas	5	-97.0807	19.0695	Benabib <i>et al.</i> , 1997
Hidalgo	4	Nopalillo	4	-98.5801	20.0765	Este estudio/ Benabib
	5	0.5 Km. noreste de la intersección a Tianguistengo	1	-98.6333	20.7166	Benabib <i>et al.</i> , 1997
Tlaxcala	6	Volcán La Malinche	3	-98.059	19.2941	Este estudio/ Benabib
Oaxaca	7	Cuicatlán, Peña Verde	2	-96.7942	17.844	Este estudio
	8	La Cumbre, Cerro Corral de Piedra	5	-96.6495	17.1726	Este estudio
Estado de México	9	Parque Nacional Zoquiapan	1	-98.6275	19.2194	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	10	Paso de Cortés	1	-98.6647	19.1247	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	11	Nevado de Toluca	2	-99.7458	19.119	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	12	Albergue Los Venados, Nevado de Toluca	2			Este estudio
	13	Laguna de Sol, Nevado de Toluca	2	-99.7708	19.125	Este estudio
<i>Sceloporus subniger</i>						
Estado de México	14	63Km NO de Toluca, Carretera Toluca	6	-100.1101	19.2796	Este estudio
	15	El Mapa	2	-99.8461	19.1971	Este estudio
	16	Cahuacán	3	-99.4243	19.6372	Este estudio/ Benabib
	17	Valle de Bravo	2	-100.058	19.305	Este estudio
	18	Zaragoza	1	-99.644	19.1302	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	19	San Cayetano	1	-100.0991	19.375	Este estudio
Michoacán	20	Pátzcuaro	2	-101.6	19.45	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	21	Zirahuén	1	-101.7269	19.4639	Este estudio

Estado	No.	Localidad	N	Longitud	Latitud	Fuente
	22	Angahuán	1	-102.1628	19.5117	Este estudio
Hidalgo	23	Palo Gacho	1	-98.2862	20.2862	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	24	Campestre Las Truchas	1	-98.0367	20.207	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	25	Autódromo	2	-98.4687	20.0186	Este estudio/Benabib
<i>Sceloporus aeneus*</i>						
Tlaxcala	26	Españita	2	-98.415	19.4876	Benabib <i>et al.</i> , 1997
	27	San José Teacalco	2	-98.0589	19.3344	Este estudio
<i>Sceloporus aeneus</i>						
	28	Tres Mariás	3			Este estudio
Morelos	29	Tezontle	7	-99.2597	19.053	Este estudio
Distrito Federal	30	Ajusco (La Cantimplora)	2	-99.2131	19.2323	Este estudio
	31	Ajusco Km 10	3	-99.21	19.2166	Este estudio/Benabib
<i>Sceloporus scalaris</i>						
Coahuila	32	14.4Km E de San Antonio de las Alazanas				Benabib <i>et al.</i> , 1997
Nuevo León	33	1.2 Km NO de Mimbres				Benabib <i>et al.</i> , 1997
Arizona	34	Cochise				Benabib <i>et al.</i> , 1997
	35	Santa Cruz				Benabib <i>et al.</i> , 1997
Chihuahua	36	11 Km S de San Juanito				Benabib <i>et al.</i> , 1997
	37	Sanachique				Benabib <i>et al.</i> , 1997
<i>Sceloporus chaneyi</i>						
Nuevo León	38	San Antonio Peña Nevada				Benabib <i>et al.</i> , 1997
<i>Sceloporus goldmani</i>						
Coahuila	39	Intersección de la Carretera a San Antonio de las Alazanas con la				Benabib <i>et al.</i> , 1997

2. PROTOCOLO DE LABORATORIO

2.1 EXTRACCIÓN DE ADN

El DNA genómico total fue extraído utilizando el método estándar de extracción fenol-cloroformo-isoamil (Hillis *et al.*, 1996), a partir de los fragmentos de cola o hígado almacenados en etanol absoluto. A partir de dichas extracciones fueron amplificados dos fragmentos de DNA mitocondrial.

Un fragmento del gen codificante de proteína ND4 y los genes adyacentes que codifican los tRNAs de histidina serina y parte del de leucina fueron obtenidos usando iniciadores diseñados por Arévalo *et al.* (1994): (L12931) 5' CCC AAA AGC CCA CGT AGA GGC 3', y (L13827) 5' TRC TTT TAC TTG GAT TTG CAC CA 3'. El fragmento del gen codificante citocromo b fue obtenido usando los primers Mt-A (L14995) 5' CTC CCA GCC CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AAC TTC G 3' y Mt-F (H16065) 5' AGG GTG GAG TCT TCT GTT TTT GGT TTA CAA GAC CAA TG 3' (Wink, 1995).

2.2 AMPLIFICACIÓN

El programa de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usado para la amplificación del fragmento del gen ND4 es el que sigue: desnaturalización inicial a 94° C por 4', seguida por 35 ciclos de 94° C por 1', 50-55° C por 1' y 72° C por 1' y por último 4' de extensión final a 72 ° C. Para la amplificación del gen de citocromo b se usó el siguiente protocolo: desnaturalización inicial a 94° C por 4', 35 ciclos a 93° C por 1', 52° C por 1'y 72° C por 3' y para concluir 4' de extensión final 72 ° C. Los productos de PCR fueron purificados con el kit estándar de purificación de Qiaquick y secuenciados con el terminador BigDye v3.1 cycle sequencing kit y el secuenciador automático ABI 3100 Genetic Analyzer Sequencer.

3. ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Las secuencias fueron editadas y ensambladas usando el programa Sequencher™ v. 4.1 (Gene Codes Corporation, 2000). El alineamiento se realizó con Clustal W usando el programa Bioedit versión 7.0.5, y fue ajustado manualmente usando MacClade v. 4.0 PPC (Maddison y Maddison, 2005). Además, para confirmar el alineamiento de los fragmentos codificantes de proteína, éstos fueron traducidos a aminoácidos utilizando este mismo programa. La frecuencia de las bases y las distancias genéticas no corregidas fueron estimadas con MEGA v. 2.1 (Kumar *et al.*, 2001).

Una vez alineados ambos genes, fueron construidas dos matrices de datos moleculares. La primera de ellas incluye haplotipos del fragmento de ND4 + tRNA^{His, Ser, Leu} de 75 individuos de *S. bicanthalis*, *S. aeneus* y *S. subniger*, provenientes de 31 localidades y 12 haplotipos de otras especies del grupo *scalaris*. Cincuenta de estas secuencias son resultado del trabajo de laboratorio conducido para este estudio y 25 fueron obtenidas del gen bank.

La segunda matriz combina el fragmento de ND4 y tRNA^{His, Ser, Leu} y el fragmento del gen mitocondrial de citocromo b. El fragmento del gen citocromo b fue secuenciado para menos individuos por localidad que el fragmento de ND4, y no hay secuencias de este gen en el Genbank para los algunos de los ejemplares incluidos en la matriz anterior. Por estas razones la matriz combinada cuenta con menos muestras: 31 que provienen de 22 localidades. Aun así, en la matriz combinada están representadas geográficamente las tres especies nominales del complejo *S. aeneus*, así como los clados más inclusivos recuperados en el análisis de la primera matriz. También fueron realizados análisis separados de los fragmentos que forman la matriz combinada (citocromo b y ND4 y los tRNA^{His, Ser, Leu}).

Los árboles filogenéticos fueron estimados usando Máxima Parsimonia (MP) e Inferencia Bayesiana (IB). Los gaps fueron tratados como datos faltantes y como grupos externos fueron usados *S. jalapae* y *S. occidentalis*, en la primera matriz y *S. jalapae* y *Phrynosoma braconnieri* en la matriz combinada (ND4 y citocromo b).

Los análisis de Máxima Parsimonia fueron realizados usando PAUP versión 4.0b (Swofford, 2002) a través de una búsqueda heurística con intercambio de ramas por bisección y reconexión de árboles (TBR) y 10000 réplicas de adición de secuencias al azar, eliminando los sitios no informativos. Para evaluar el soporte de los nodos individuales se calcularon 1000 réplicas de bootstrap no paramétrico (Felsenstein, 1985) que consistieron cada uno en búsquedas heurísticas con 100 réplicas de adiciones de taxones al azar y el intercambio de ramas por TBR. Los clados con valores de bootstrap mayores al 70% fueron considerados como significativamente apoyados (Hillis y Bull, 1993).

Los análisis bayesianos de los datos fueron realizados usando MrBayes 3.1 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001), a través de dos análisis simultáneos (Nruns=2) cada uno de 5,000,000 de generaciones, con cuatro cadenas (una fría y dos calentadas), distribución uniforme de las probabilidades previas y el muestreo de árboles cada 100 generaciones. Los modelos de sustitución que mejor se ajustan a los datos bajo el criterio bayesiano y utilizados en estos análisis (Cuadro 2), fueron estimados usando Modeltest 3.7 (Posada y Crandall, 1998). El fragmento del gen de ND4 y tRNA^{His, Ser, Leu} fue dividido en cuatro particiones, las tres posiciones del codón de la región codificante y la cuarta partición formada los tRNA^{His, Ser, Leu}. Del mismo modo, el fragmento de citocromo b, fue dividida en tres particiones que corresponden a las posiciones del codón.

La etapa de *burn-in* fue estimada visualmente y validado a través del diagnóstico de convergencia PSRF (*Potencial scale reduction factor*), según el cual

cuando ya se cuenta con una buena muestra de la distribución de la probabilidad posterior su valor debe tender a 1.0 (Gelman y Rubin, 1992). Los árboles del *burn-in* fueron descartados y los árboles restantes fueron utilizados para estimar las probabilidades posteriores bayesianas. La frecuencia con que aparecen los clados en el conjunto de árboles fue interpretada como su probabilidad posterior; los clados presentes en al menos el 95% de las muestras se consideran significativamente apoyados (Wilcox *et al.*, 2002; Alfaro *et al.*, 2003; Erixon *et al.*, 2003; Huelsenbeck y Rannala, 2004). Las hipótesis filogenéticas obtenidas de los análisis de MP e IB fueron comparadas visualmente, concediendo mayor credibilidad a los nodos apoyados por los valores de *bootstraps* y de probabilidad posterior.

Por último, fue realizado un análisis siguiendo el protocolo para delimitar especies basado en árboles con datos de DNA (Wiens y Penkrot, 2002). Este protocolo requiere una filogenia de haplotipos de DNA no recombinante de localidades conocidas y con designación taxonómica. Este método asume que si los haplotipos de una localidad no se reúnen en un clado o bien existe discordancia entre el árbol de haplotipos y la distribución geográfica, entonces hay evidencia potencial de flujo génico con otras poblaciones, y por lo tanto evidencia de que forman parte un mismo linaje o especie. Dos aspectos del diseño de la muestra son críticos para esta aproximación: incluir especies cercanamente relacionadas con la especie focal, para poder probar la exclusividad de la especie focal e incluir tantos individuos de una misma localidad como sea posible.

En este estudio fueron evaluadas tres especies focales (*S. aeneus*, *S. bicanthalis* y *S. subniger*) empleando las hipótesis filogenéticas derivadas de los análisis conducidos en este estudio y evidencia adicional que proviene de la revisión de algunos caracteres de la morfología externa. Los caracteres diagnósticos para las especies que forman el complejo *S. aeneus* son el número de

cantales y el patrón de barrado de la gula. Por ello fue realizada una revisión de ambos caracteres en los ejemplares colectados para este estudio y ejemplares del complejo depositados en la Colección Nacional de Herpetología del Instituto de Biología de la UNAM.

Cuadro 2. Modelos de sustitución usando el criterio de información bayesiano (BIC). Las particiones sombreadas corresponden a la matriz combinada.

Particiones	BIC	Particiones	BIC	Particiones	BIC
1posNd4	HKY+G	1posCytb	K80+G	1posNd4	HKY+G
2posNd4	TrN+G	2posCytb	HKY+I	2posNd4	F81+I
3posND4	TrN+G	3posCytb	GTR+I	3posND4	TrN+G
tRNA ^{His, Ser, Leu}	HKY+G			tRNA ^{His, Ser, Leu}	K80+I+G

RESULTADOS

1. VARIACIÓN DE LAS SECUENCIAS

La longitud de las secuencias de la mayoría de los haplotipos obtenidos de ND4 y los tRNAs adyacentes usados en la primera matriz es de 630 pares de bases (pb) y la de los tRNA adyacentes 159 pb, haciendo un total de 789 pb. De estos sitios 213 fueron parsimoniosamente informativos. El fragmento secuenciado presenta una composición nucleotídica que corresponde a los genes mitocondriales, con una proporción de guaninas sesgada negativamente (T = 27.9, C = 26.7, A = 33.6, G = 11.8). A partir de las secuencias obtenidas de este marcador se identificaron 60 haplotipos distintos que representan a 31 poblaciones del complejo *S. aeneus*.

La longitud del fragmento de ND4 y de los tRNAs adyacentes de la segunda matriz es de 669 y 151 pb respectivamente, 820 pb en total. Las secuencias del fragmento de citocromo b obtenidas tienen en promedio 887 pb. La proporción de guaninas de esta región también está sesgada negativamente (T = 30.5, C = 26.7, A = 28.9, G = 13.9). La matriz combinada tiene 1707 pb en total, con 369 sitios parsimoniosamente informativos. Los 31 haplotipos que forman esta matriz son distintos.

Las secuencias de las regiones codificantes fueron alineadas sin ambigüedad, debido a que no presentaron indels. Los tRNA^{His, Ser, Leu} también fueron alineados sin dificultad excepto por una región cuya alineación requirió de dos inserciones.

2. RELACIONES FILOGENÉTICAS

De acuerdo con las hipótesis derivadas de los análisis bayesianos y de máxima parsimonia de la matriz basada en el fragmento de ND4 y tRNAs adyacentes, el complejo *S. aeneus* constituye un grupo exclusivo con respecto a otras especies del grupo *scalaris* (Figs. 2 y 3). Los análisis de ambas matrices (ND4 y combinada) no generan hipótesis totalmente congruentes. Sin embargo, las inconsistencias se presentan únicamente en relación con *S. bicanthalis*; los clados formados por los haplotipos

asignados a *S. aeneus* y *S. subniger* aparecen de forma constante en los distintos análisis (Figs. 2 – 5, 7 y 8).

La descripción de las relaciones filogenéticas al interior del complejo está fundamentada en la hipótesis obtenida a partir del análisis bayesiano de la matriz combinada (Figura 5). Esta hipótesis es totalmente congruente con la generada a partir del análisis de máxima parsimonia (Figura 4). Las inconsistencias entre estas hipótesis y las derivada del análisis de la matriz construida con secuencias del fragmento ND4 serán mencionadas con detalle cuando se describan las relaciones filogenéticas entre los haplotipos de *Sceloporus bicanthalis*.

De acuerdo con la hipótesis obtenida con el análisis bayesiano de evidencia total, el complejo *S. aeneus* está constituido por cuatro clados principales (clado *Sceloporus aeneus-subniger*, clado *aeneus*-subniger* del Este, clado *subniger* del Oeste y clado *S. bicanthalis*). Cada uno de estos clados aparece fuertemente apoyado (la mayoría de los nodos presentan valores de bootstrap y de probabilidad posterior del 100%; Figuras 4 y 5). La distancia genética entre estos clados oscila entre 8.5 y 10.4 %, y entre ellos y el grupo externo van de 17.3 a 18.02% (Cuadro 3).

Cuadro 3. Distancias no corregidas entre los haplogrupos del complejo *S. aeneus* basada en la matriz de datos combinados.

		1	2	3	4	5	6	Distancia promedio al interior de cada clado
1	<i>S. bicanthalis</i>	-	-	-	-	-	-	3.7
2	<i>S. aeneus</i>	9.2	-	-	-	-	-	0.4
3	<i>S. subniger</i> 15-16	8.8	2.1	-	-	-	-	1.7
4	<i>S. subniger</i> 14-17	9.6	3.5	3.4	-	-	-	0.9
5	<i>S. subniger</i> 19	8.7	6.8	6.7	7.0	-	-	-
6	<i>S. subniger</i> Oeste	9.8	10.3	10.1	10.4	9.2	-	1.9
7	<i>S. aeneus*-subniger</i> Este	9.1	8.6	8.5	8.7	8.7	9.7	0.5

Figura 2. Árbol de consenso estricto de 98100 árboles igualmente parsimoniosos que representa las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *S. aeneus*, basada en el análisis del fragmento del gen mitocondrial ND4 y tRNAs adyacentes. Los números sobre las ramas son valores bootstraps.

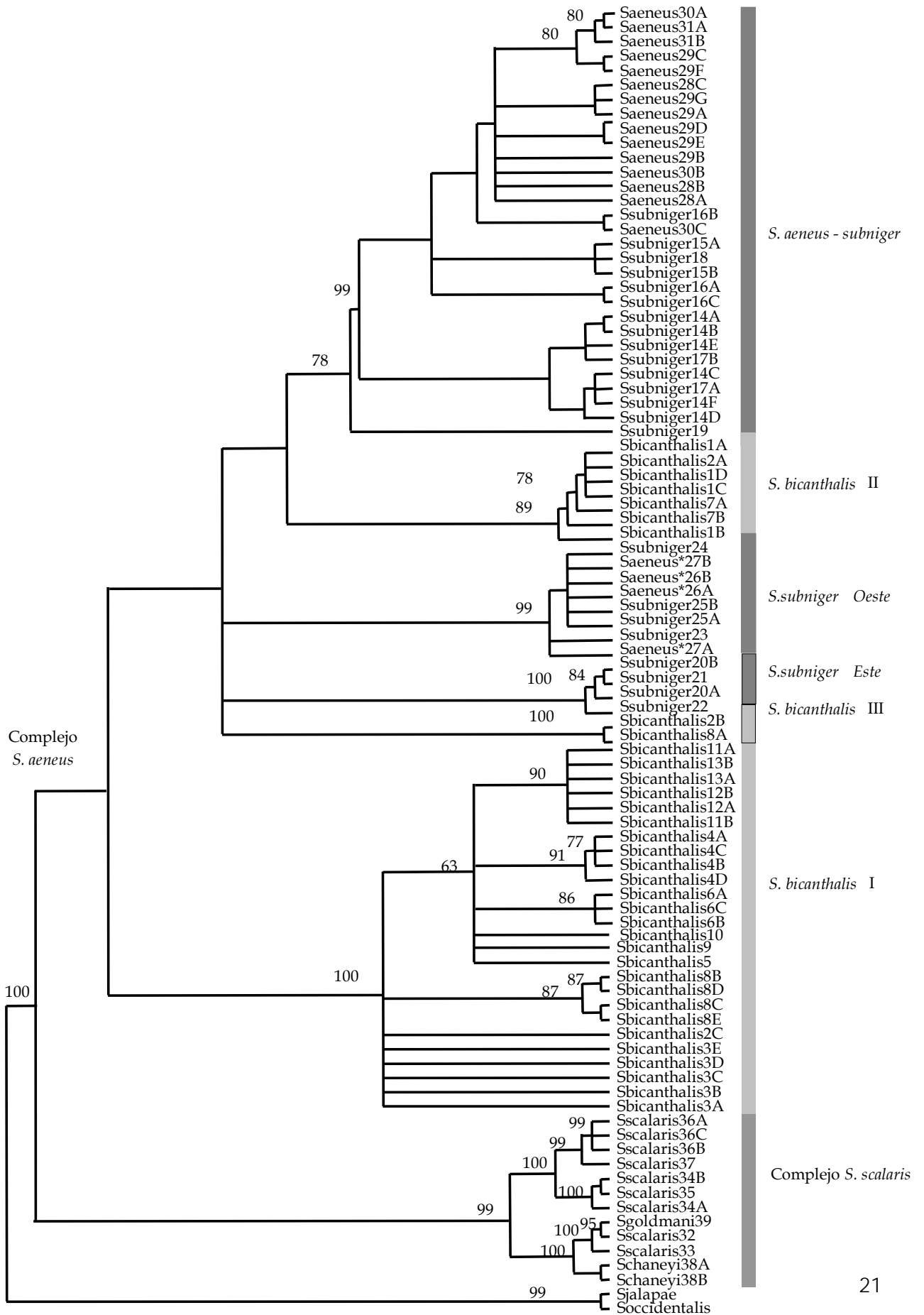
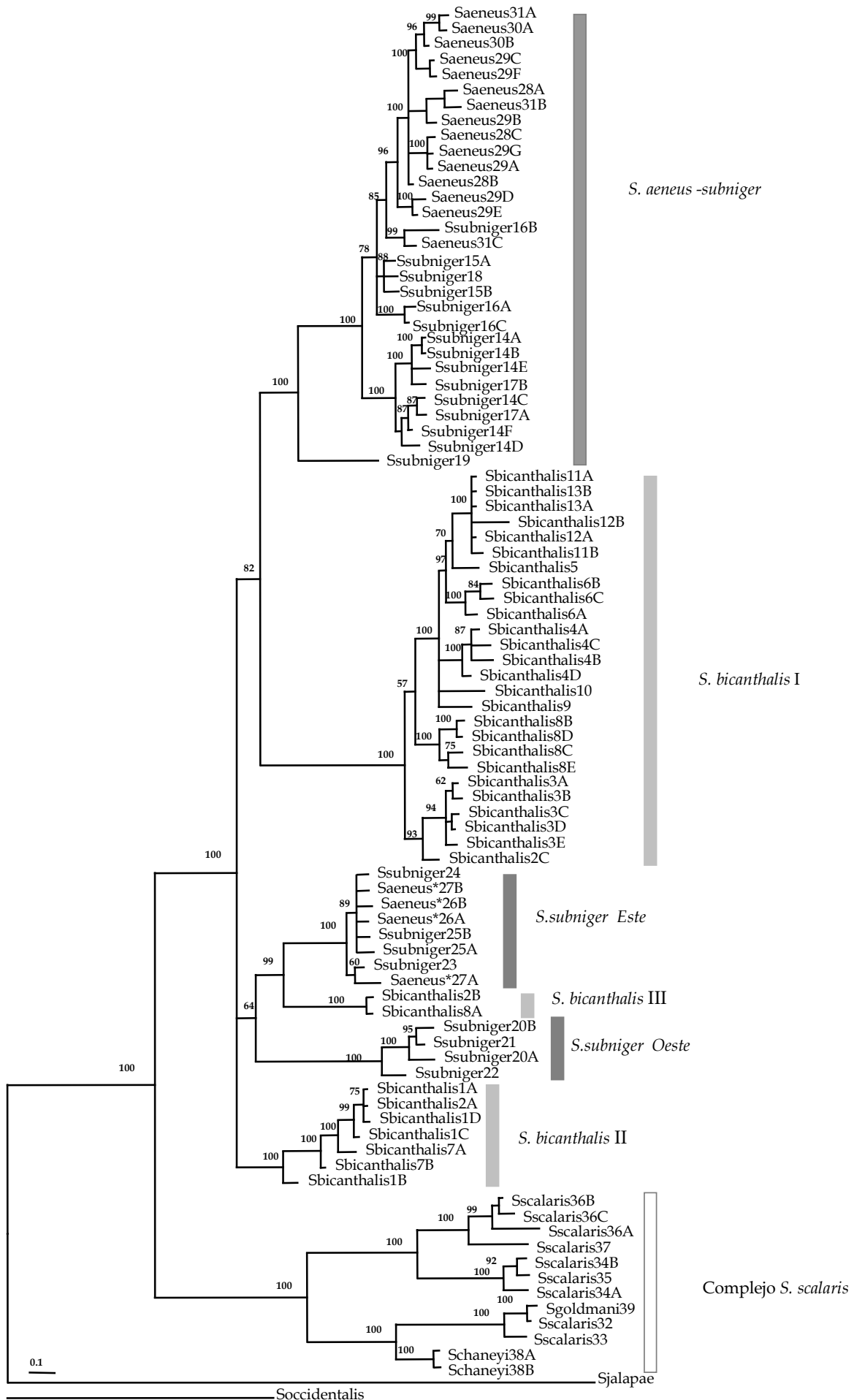


Figura 3. Inferencia bayesiana de las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *S. aeneus*, basada en el análisis del fragmento del gen mitocondrial ND4 y tRNAs adyacentes. Los números sobre las ramas son valores de probabilidad posterior.



Las relaciones entre estos clados están resueltas, aunque de manera contradictoria entre los distintos análisis y los valores de apoyo no son muy altos (Fig 2-5, 7 y 8). Los valores de apoyo más altos (ligeramente menores del 95% de probabilidad posterior) son los que se obtienen en la inferencia bayesiana de las relaciones, basada en el análisis de los fragmentos de los genes mitocondriales ND4 y citocromo b (Fig. 5). Esta hipótesis muestra que *S. bicanthalis* forma un clado con *Sceloporus aeneus-subniger*. Este clado se reúne a su vez con *S. aeneus*-subniger* del Este. Mientras que el clado *subniger* del Oeste es el que divergió basalmente.

A continuación se describe la relación entre los haplotipos al interior de cada uno de estos clados:

2.1. Clado *Sceloporus aeneus-subniger*

Este clado contiene haplotipos de ejemplares asignados a *S. aeneus* y *S. subniger*, distribuidos en tres subclados. Los haplotipos de *S. aeneus* de ejemplares provenientes de Morelos y del Distrito Federal, aparecen exclusivos respecto a los de *S. subniger*, los cuales a su vez se reparten en clados distintos. Esta asociación filogenética corresponde con la distribución geográfica, pues los haplotipos más cercanamente relacionados son en general los distribuidos en localidades cercanas. Las excepciones las constituyen los haplotipos asignados a *S. subniger* que provienen de las localidades 19, 14 y 17 (Ver detalle de los números de localidades en la Cuadro 1). El haplotipo del ejemplar de San Cayetano (localidad 19) resultó divergente de estos otros haplotipos [7% de distancia genética], mientras que la divergencia genética entre los otros haplotipos del clado es de 0.18-1.19% (Cuadro 3). El clado aquí referido como *S. aeneus-subniger* ocupa la porción central del Eje volcánico transversal (Figura 6).

2.2. Clado *Sceloporus aeneus*- subniger* del Este.

Este clado reúne a los haplotipos de ejemplares asignados tentativamente a *S. aeneus** provenientes de Tlaxcala (localidades 26 y 27) y de ejemplares de *Sceloporus subniger*

provenientes de Hidalgo y límite entre Puebla e Hidalgo (localidades 23, 24 y 25; Figuras 2 - 6). La distancia genética entre los haplotipos al interior de este clado es de 0.5%. Mientras que la distancia genética entre estos haplotipos y los otros haplotipos de *S. subniger* y *S. aeneus* oscila entre 8.5 -9.7% (Cuadro 3).

2.3 Clado *S. subniger* del Oeste

Este clado contiene los haplotipos de ejemplares asignados a *S. subniger* provenientes de Michoacán (localidades 21 y 22 Figuras 2-6). La distancia genética entre los haplotipos que forman este clado es de 1.9%. Los haplotipos de este clado presentan una divergencia genética de 9.12% con los haplotipos del clado *S. aeneus**-*subniger* del Este y 9.62% con los haplotipos del clado *S. aeneus*-*subniger* (Cuadro 3).

Figura 4. Árbol de consenso estricto de 18 árboles más parsimoniosos que representa las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *S. aeneus*, basada en el análisis de los fragmentos de los genes mitocondriales ND4 y citocromo b. Los números sobre las ramas son valores bootstraps.

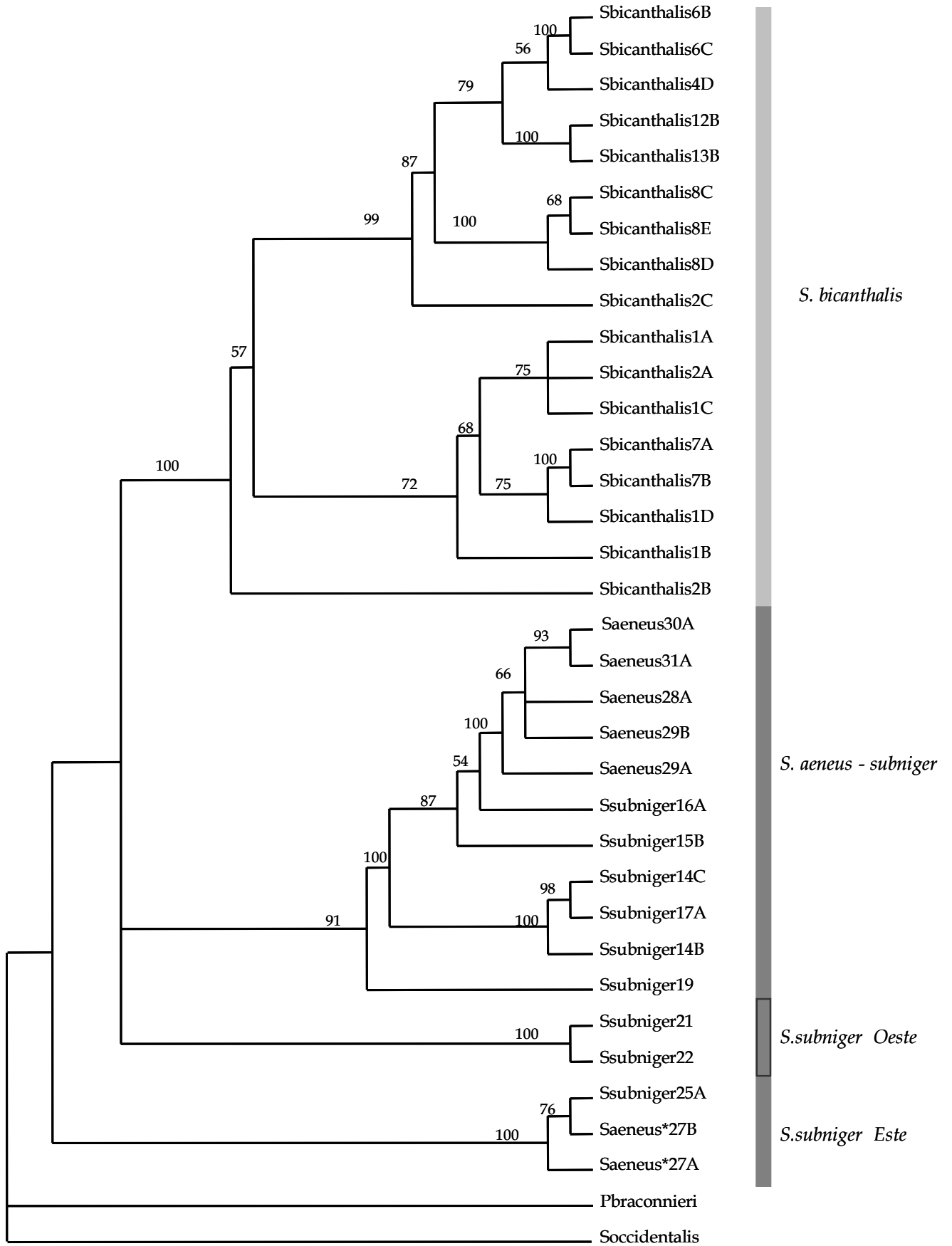


Figura 5. Inferencia bayesiana de las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *S. aeneus*, basada en el análisis de los fragmentos de los genes mitocondriales ND4 y citocromo b. Los números sobre las ramas son valores de probabilidad posterior.

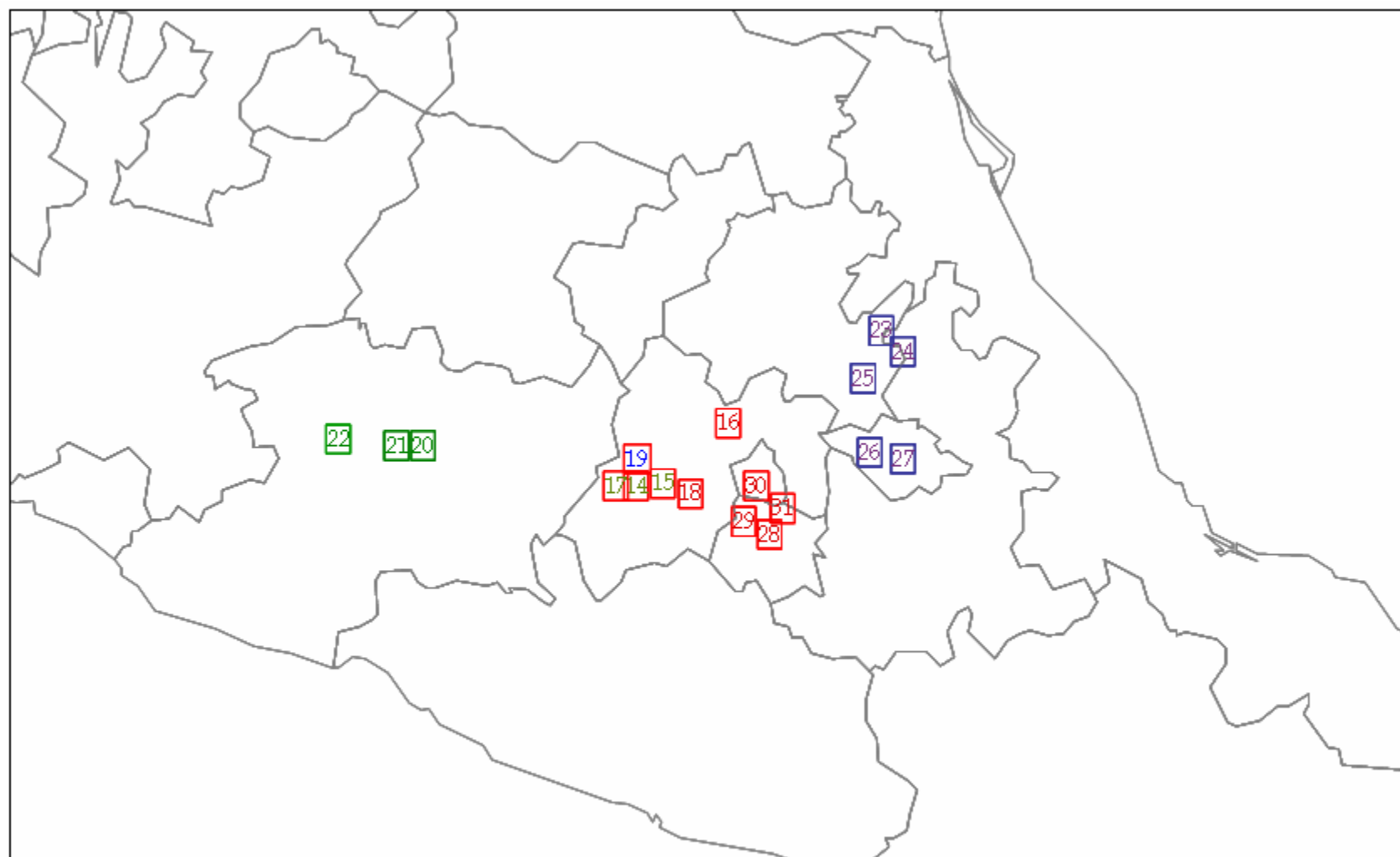


Figura 6. Distribución de los clados ■ *S. aeneus-subniger*, ■ *S. aeneus*-subniger* Este y ■ *S. subniger* Oeste.

2.4 Clado *Sceloporus bicanthalis*

La hipótesis obtenida a partir del análisis de evidencia total recupera la monofilia de esta especie, con alto soporte tanto de bootstrap [99] como de probabilidad posterior [100] (Fig. 4 y 5). Sin embargo, los haplotipos asignados a este taxón no se reúnen en un clado monofilético en los análisis de la matriz construida solamente a partir del fragmento de ND4 y los tRNA adyacentes. En todos los análisis se recuperan tres subclados o haplogrupos bien apoyados de *S. bicanthalis* (*S. bicanthalis I, II y III*; Figuras 2 y 3). El subclado *S. bicanthalis I* incluye los haplotipos de la mayoría de las localidades donde se colectó esta especie. Algunos haplotipos de Oaxaca y Veracruz aparecen en dos subclados diferentes (*S. bicanthalis II y III*) (Figuras 3-5). Los haplotipos provenientes de las localidades 1 y 2, las cuales son las más cercanas a la localidad tipo de *S. bicanthalis*, se ubican en el subclado *S. bicanthalis II*. Estos subclados no presentan congruencia con su distribución geográfica, pues haplotipos de la misma localidad o de localidades próximas se reúnen con haplotipos de localidades distintas, como en el caso de Oaxaca y Veracruz. Si bien el análisis de ambos genes incluye menos haplotipos de *S. bicanthalis*, cabe mencionar que en esta matriz de datos las localidades incluidas describen las mismas zonas geográficas que las representadas en la matriz construida con ND4. Por último, los análisis realizados usando solo el fragmento de citocromo b generan una hipótesis de las relaciones entre los haplotipos de *S. bicanthalis* más congruente con la geografía. Los haplotipos de *S. bicanthalis* forman un clado monofilético que se divide en tres subclados formando una politomía. Un clado está formado por haplotipos del Estado de México e Hidalgo y un haplotipo de Veracruz; un segundo haplogrupo está formado por el resto de los haplotipos provenientes de Veracruz y un tercero por los de Oaxaca (Fig. 7-9).

Figura 7. Árbol de consenso estricto de 30 árboles más parsimoniosos que representa las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *S. aeneus*, basada en el análisis del fragmento del gen mitocondrial citocromo b. Los números sobre las ramas son valores bootstraps.

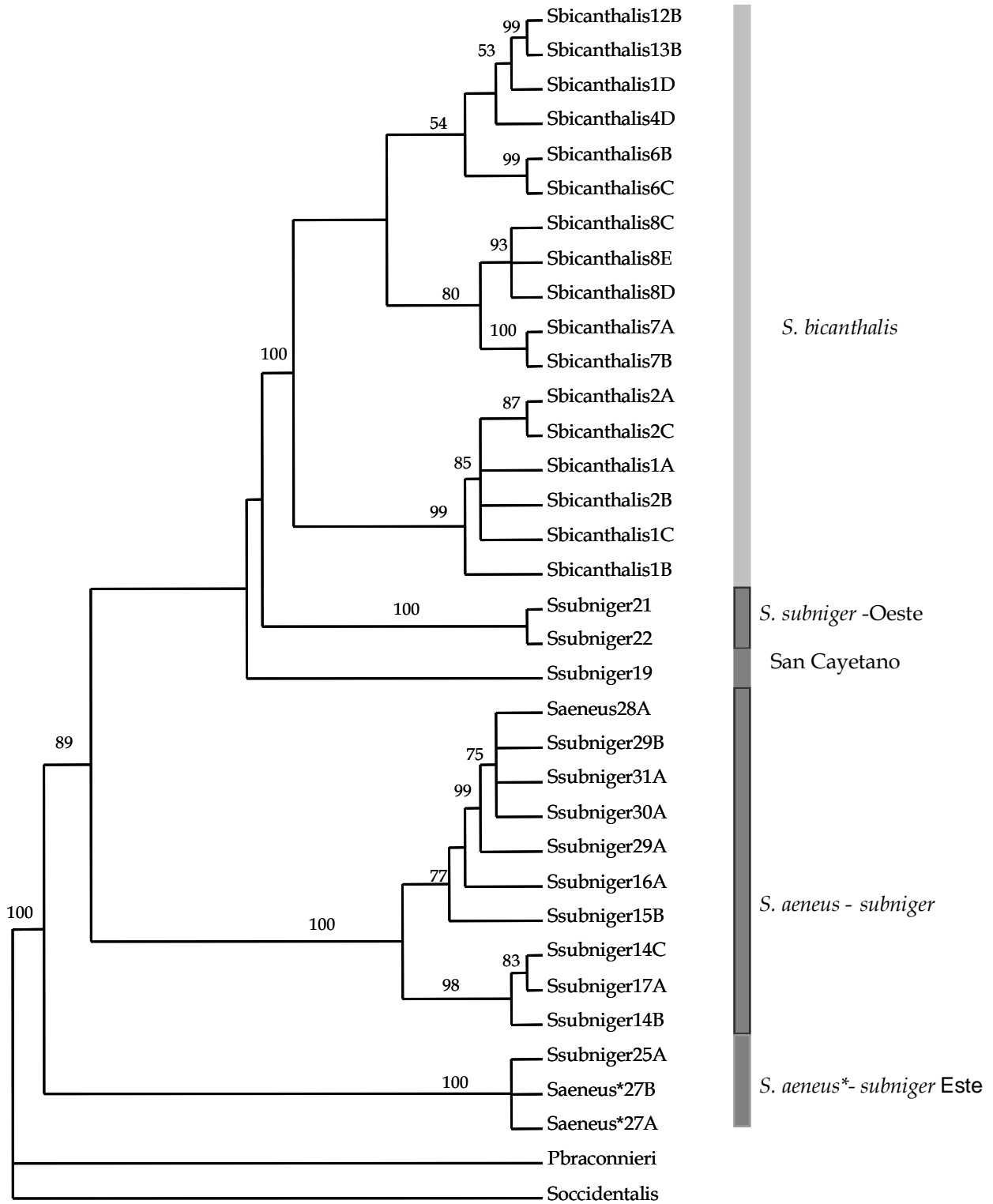
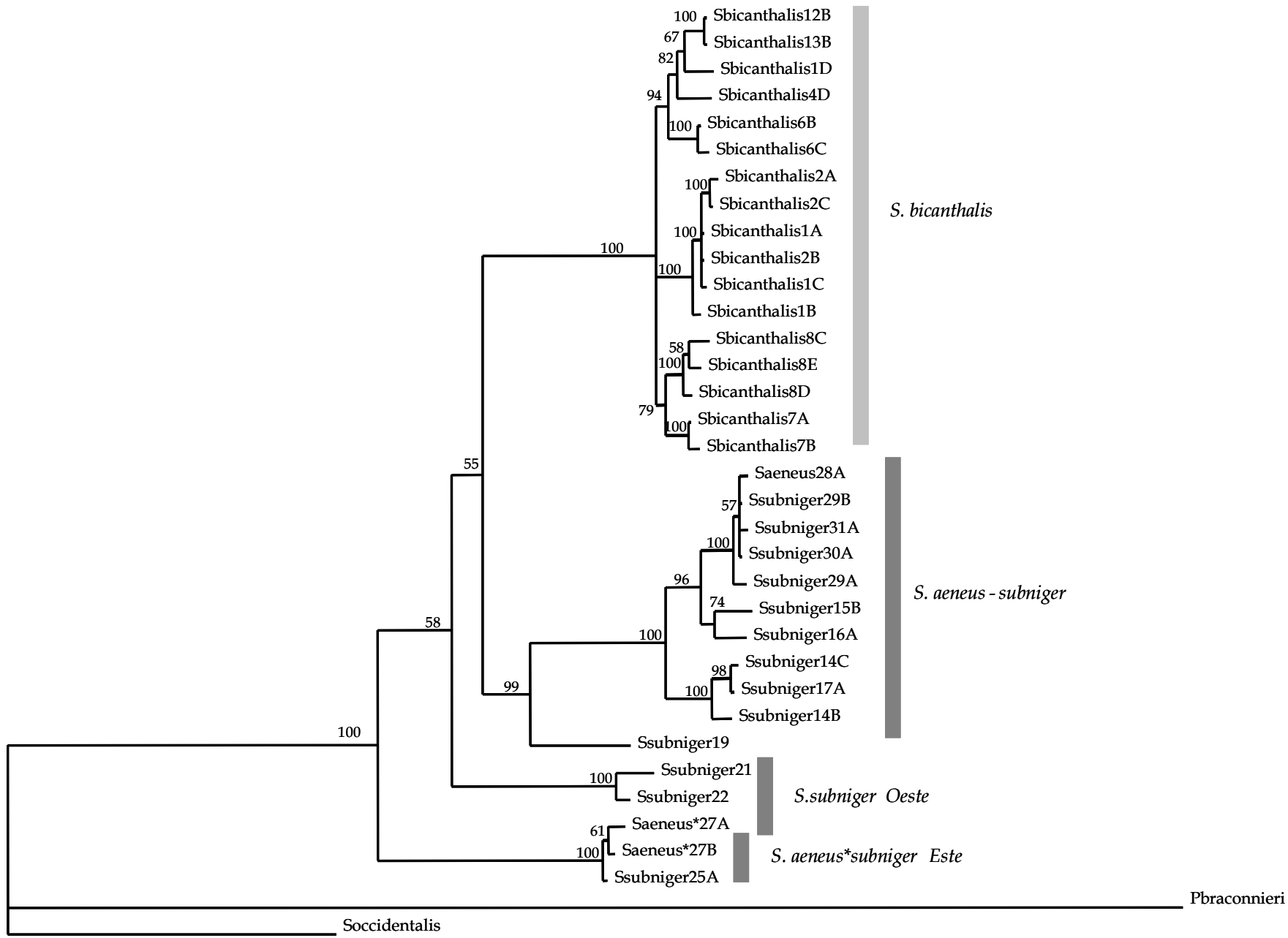


Figura 8. Inferencia bayesiana de las relaciones filogenéticas entre las poblaciones del complejo *S. aeneus*, basada en el análisis del fragmento del gen mitocondrial citocromo b. Los números sobre las ramas son valores de probabilidad posterior.



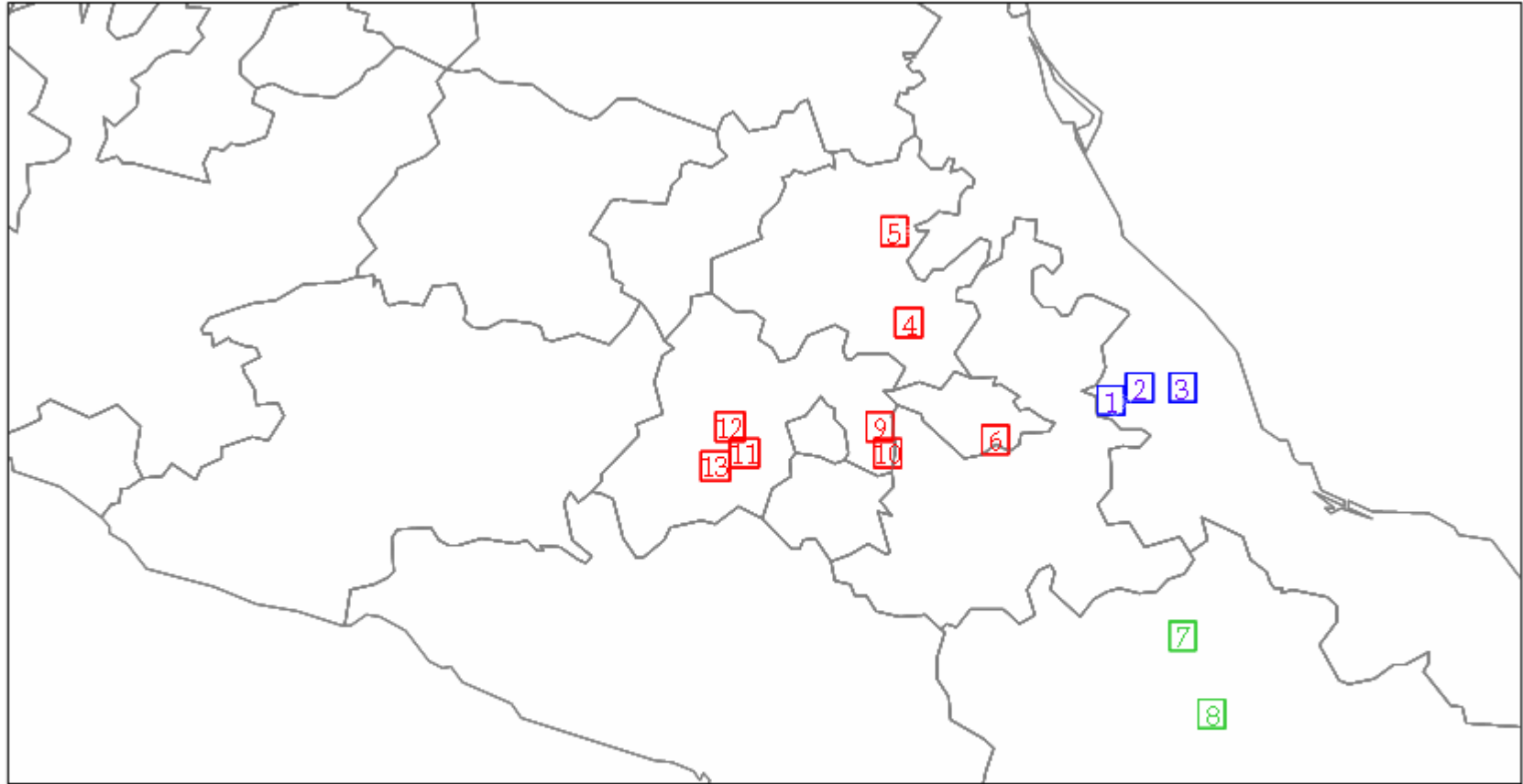


Figura 9. Distribución de los clados de *S. bicantalis* de acuerdo con la hipótesis derivada de los análisis del gen citocromo b. □ Hidalgo, Estado de México y Tlaxcala, □ Veracruz □ Oaxaca.

DISCUSIÓN

1. RELACIONES FILOGENÉTICAS

El presente estudio recupera al complejo *Sceloporus aeneus* como monofilético, esto concuerda con otros estudios (Smith, 1937; Benabib *et al.*, 1997; Mink y Sites, 1996) y contradice la hipótesis propuesta por Wiens y Reeder (1997), quienes hayan a este taxón polifilético, ya que *S. bicanthalis* aparece formando un clado con *S. goldmani*. Este análisis (Wiens y Reeder, 1997) apoya un único origen de la viviparidad en el grupo de especies *S. scalaris*. Dicho análisis está basado en caracteres moleculares, osteológicos, cariológicos y en el modo reproductor, sin embargo estos autores no incluyeron datos moleculares para *S. aeneus* y *S. subniger* ni datos cariológicos de *S. subniger*.

Dentro del clado monofilético formado por las poblaciones del complejo *S. aeneus* pueden reconocerse cuatro clados (análisis de la matriz combinada y citocromo b), uno de ellos reúne a todos los haplotipos asignados a *S. bicanthalis*, es decir, concuerda con la taxonomía previa. Sin embargo, los otros clados recuperados en este análisis no se ajustan a la descripción y distribución de los taxones *S. aeneus* y *S. subniger*.

Las distancias genéticas al interior de los cuatro clados (0.4 - 3.7%) se encuentran dentro del intervalo de las distancias intraespecíficas reportadas para otros grupos de lagartijas, mientras que las distancias entre ellos (8.5 - 10.4%) son similares a las distancias entre especies distintas (Scott y Keogh, 2000; Zaldivar - Riverón *et al.*, 2005; Calderón - Espinosa, 2006)

Por otra parte, aunque los clados más importantes se recuperan consistentemente en los distintos análisis con valores de apoyo significativos, las relaciones entre los cuatro linajes no son claras aún. Entender las relaciones evolutivas entre los cuatro linajes sería de gran interés en la interpretación de la evolución de los caracteres que se asocian a la evolución de la viviparidad, así

como los factores que la han conducido al interior del grupo *S. scalaris*. Para resolver las relaciones entre los cuatro linajes será necesaria la inclusión de marcadores moleculares no ligados a los genes mitocondriales: genes nucleares, podría fortalecer la hipótesis filogenética planteada en este trabajo. Además, para poder recuperar las relaciones entre los cuatro linajes sería aconsejable utilizar un marcador con tasas de sustitución más lentas y que por tanto tuvieran menor probabilidad de homoplasia que los marcadores utilizados en este estudio.

2. LÍMITES DE ESPECIE

El DNA mitocondrial ofrece una fuente de marcadores moleculares para los análisis filogenéticos, especialmente valiosa para el estudio de taxones cercanamente relacionados (Funk y Omland, 2003), debido a su falta de recombinación (Smith y Smith, 2002), herencia materna, estructura genética simple, tasa rápida de mutación y reducido tamaño efectivo de la población N_e (Avise *et al.*, 1987).

El reducido tamaño efectivo de la población del DNA mitocondrial causa que los haplotipos de una especie dada lleguen a formar un grupo monofilético (coalescen) cuatro veces más rápido que lo que lo harían los marcadores nucleares. Esta propiedad es importante en la delimitación de especies porque las especies recientemente formadas podrían distinguirse mediante la filogenia de sus haplotipos de DNAm, mucho antes que en las basadas en marcadores nucleares (Wiens y Penkrot, 2002).

El método para establecer límites entre especies basado en árboles (Baum y Donaghe, 1995) usando filogenias de haplotipos de DNA (Wiens y Penkrot, 2002) asume que si los haplotipos de una misma localidad no se reúnen o bien si existe discordancia entre el árbol de haplotipos y la distribución geográfica, entonces hay evidencia potencial de flujo génico con otras poblaciones. Muchos conceptos que coinciden en que las especies son linajes, que el caso de los

organismos sexuales, están unidas a través del proceso de flujo génico (de Queiroz, 1998).

En este estudio evalué tres especies focales (*S. aeneus*, *S. bicanthalis* y *S. subniger*) a través del análisis de cada una siguiendo la clave dicotómica de Wiens y Penkrot (2002). Para esto empleé principalmente la hipótesis de filogenia obtenida a partir del análisis de la matriz combinada de datos (ND4 y Citb), aunque me apoyé también en las hipótesis derivadas de los análisis separados.

A continuación discuto la situación de cada taxón en el contexto de la hipótesis de filogenia obtenida, los resultados derivados del protocolo de Wiens y Penkrot (2002) y evidencia adicional que proviene de la revisión de algunos caracteres de la morfología externa empleados previamente para diagnosticarlas.

2.1 *Sceloporus aeneus* y *Sceloporus subniger*

Los caracteres diagnósticos usados para separar a *S. aeneus* de *S. subniger* son y el patrón de coloración de la gula y el abdomen. Sin embargo, en este trabajo se presentaron múltiples dificultades para determinar por morfología a los ejemplares de *S. aeneus* y *S. subniger* debido a que los caracteres diagnósticos que las separan están relacionados con el sexo y la ontogenia de los ejemplares. Además, se presenta una amplia variación en estos caracteres al interior de cada población, incluso entre los machos adultos, en los cuales según Smith *et al.* (1993) deberían apreciarse más claramente las diferencias entre los dos taxones.

Aunado a esto, la definición del carácter patrón gular es problemática, pues algunos machos presentan la garganta negra, otros presentan unas cuantas máculas blancas y en otros las máculas blancas pueden formar patrones que podrían interpretarse como barras. Esta variación aparentemente no se había documentado en estudios previos en los que se realiza una revisión morfológica de estos taxones.

Los ejemplares provenientes de Tlaxcala (26 y 27) fueron considerados *S. aeneus** en este estudio, de acuerdo con la distribución de este taxón propuesta por Smith *et al.* (1993). Sin embargo, estos autores señalan su incertidumbre con respecto a las poblaciones del complejo *S. aeneus* que se distribuye en Tlaxcala y el centro de Puebla, puesto que estos registros fueron obtenidos de la literatura.

De hecho, los haplotipos de ejemplares que provienen de Tlaxcala no se agrupan con otros haplotipos de *S. aeneus* y se hallan más relacionados con haplotipos de Hidalgo, por lo que se sugiere que los ejemplares recolectados en Tlaxcala no pertenecen a *S. aeneus*. Por esta razón la discusión de este taxón se hará solo considerando las localidades de Morelos y el Distrito Federal.

Los haplotipos de *S. aeneus* forman un grupo exclusivo distribuido en Morelos y Distrito Federal, cuyo grupo hermano está formado por haplotipos de ejemplares del Estado de México asignados a *S. subniger* (Figura 4 y 5). Sin embargo, hay evidencia de flujo génico entre estos dos grupos, que proviene de los análisis de la matriz construida solo con ND4 y tRNAs adyacentes, ya que un haplotipo de un ejemplar asignado a *S. subniger*, proveniente del Estado de México y que no fue incluido en el análisis de la matriz combinada, se anida en el clado formado por los haplotipos de *S. aeneus* (Figuras 2 y 3). En este estudio se incluyeron secuencias de ejemplares de dos localidades que concuerdan con la descripción de la localidad tipo de *S. subniger* (14 y 19), las cuales son geográficamente muy próximas entre sí (8 kilómetros) (Figura 6). Los haplotipos de la localidad 14 aparecen cercanamente relacionadas con los otros haplotipos de *S. aeneus* y *S. subniger* incluidos en este clado (3% de divergencia genética).

Por otra parte, el haplotipo del ejemplar asignado a *S. subniger*, proveniente de la localidad de San Cayetano (19), diverge basalmente de los otros haplotipos que constituyen el clado *S. aeneus* - *subniger*. De este modo los

haplotipos de ejemplares provenientes de las localidades tipo de *Sceloporus aeneus* y *Sceloporus subniger* quedan incluidas en un mismo clado.

Por esta razón, y considerando la proximidad geográfica entre las localidades y la escasa diferenciación genética entre la mayoría de los haplotipos de *S. aeneus* y *S. subniger* de este clado (0.29- 3.47%), propongo que estas localidades del Estado de México forman parte del área de distribución de *S. aeneus*.

Además, como se ha mencionado antes, los caracteres diagnósticos empleados para diferenciar a *S. aeneus* y *S. subniger* presentan una amplia variación al interior de cada población. Debido a esta situación, se concluye que, al menos estos caracteres no permiten diagnosticar al clado exclusivo de *S. aeneus* y al grupo parafilético *S. subniger*. Por lo tanto, dada la ausencia de caracteres diagnósticos, la proximidad geográfica entre las poblaciones que componen el clado *S. aeneus* - *subniger* y la escasa distancia genética entre los clados que lo conforman, se sugiere que las poblaciones representadas por los haplotipos de este clado constituyen un solo linaje.

Tomando en cuenta el principio de prioridad, este linaje conserva el nombre de *Sceloporus aeneus* Wiegmann 1928 y su área de distribución abarca el Norte del estado de Morelos, el Distrito federal y el Estado de México. Esta unidad evolutiva puede separarse morfológicamente de *S. bicanthalis* por el patrón gular y el patrón de coloración ventral, pero no de los otros linajes que forman el complejo (*S. aeneus**-*subniger* del Este y *S. subniger* del Oeste). Por esta razón y por la variación observada en los caracteres diagnósticos en cada población, es necesario modificar la descripción morfológica de esta especie.

Por otra parte, el nombre *S. subniger* no puede aplicarse a taxón alguno, excepto por la posibilidad de encontrar que la población de San Cayetano (localidad 19), probable localidad tipo de esta especie, es un linaje independiente.

Esta observación se fundamenta en la marcada divergencia (7%) entre el haplotipo de San Cayetano y el resto de haplotipos del clado *S. aeneus - subniger*.

Un segundo linaje estaría constituido por los haplotipos de ejemplares asignados a *S. subniger*, provenientes de Hidalgo y de los ejemplares identificados como *S. aeneus** de Tlaxcala. Estos haplotipos constituyen un clado exclusivo (ausencia de flujo génico), divergente (9.12%) y alopátrido de los haplotipos de ejemplares asignados a *S. subniger* de Michoacán, los cuales constituirían un tercer linaje.

Estos dos linajes también se recuperan en un estudio previo en el que usaron aloenzimas para reconstruir la filogenia del grupo *S. scalaris* (Mink y Sites, 1996). Según estas observaciones los clados de *S. aeneus*- subniger* del Este y *S. subniger* del Oeste corresponden a dos especies que requieren una descripción.

Aunque estos linajes son alopátridos y genéticamente divergentes, no se conocen caracteres morfológicos que los diagnostiquen y podrían haber poblaciones intermedias entre ellos. Por esta razón se sugiere ampliar el muestreo en áreas en las que pudieran haber poblaciones intermedias, especialmente entre los clados *S. aeneus- subniger*, *S. aeneus*- subniger* del Este. Además es recomendable realizar una revisión morfológica exhaustiva de series grandes de ejemplares representantes de estos clados. Por otra parte, también se pueden explorar otro tipo de caracteres, como el modo de paridad y la fenología reproductora. Estas características han sido ampliamente estudiadas en algunas poblaciones; no obstante el modo reproductor de la mayoría de las poblaciones ha sido inferido a partir de la cercanía geográfica o filogenética con las poblaciones de las que se conoce con certeza el modo de paridad.

2.2 *Sceloporus bicanthalis*

La hipótesis filogenética preferida resultado del análisis de la matriz combinada recupera la exclusividad de *S. bicanthalis*, ya que los haplotipos

asignados a dicha especie se reúnen en un sólo clado bien apoyado. *Sceloporus bicanthalis* es el cuarto linaje recuperado al interior del complejo. Éste se distribuye en tierras más altas que los linajes ovíparos, por lo que aunque su distribución latitudinal se traslapa con la distribución de dos de ellos (*S. aeneus-subniger* y *S. aeneus*-subniger* del Este), no hay registros confiables de simpatría.

A pesar de que se observa estructura geográfica (figuras 9 y 10) al interior del *S. bicanthalis*, considero que debe considerarse un solo linaje, ya que se cuentan con evidencia de flujo genético entre el clado por las poblaciones de Veracruz y el que está constituido por las poblaciones de Hidalgo, Estado de México, Tlaxcala y Puebla. Además, las distancias genéticas entre los haplotipos al interior de *S. bicanthalis* son bajas (3.45%). Y por último, los ejemplares de *S. bicanthalis* presentan cuatro caracteres que las distinguen de los otros linajes del complejo *S. aeneus*: 1. Presencia de barras gulares longitudinales que en los machos adultos se extienden por toda la superficie ventral, incluso en las extremidades; 2. Dos escamas cantales (una en el resto de los linajes del complejo); 3. Modo reproductor vivíparo y 4. Patrón estacional de reproducción distinto.

La monofilia de esta especie también se recuperó en análisis filogenéticos previos (Mink y Sites, 1996; Benabib *et al.*, 1997). Sin embargo, *Sceloporus bicanthalis* ha sido la especie más compleja en este estudio debido a que las hipótesis generadas por el análisis de la matriz construida usando sólo ND4 y RNAs de transferencia presentan tres clados divergentes formados por haplotipos de *S. bicanthalis* que se hallan más relacionados a otros clados formados por haplotipos asignados a *S. subniger*.

La polifilia de *S. bicanthalis* a nivel de especie podría ser resultado de la desviación del árbol de genes del árbol de especies, que puede ser originada por varios fenómenos como paralogía, transferencia lateral de genes o retención del

polimorfismo ancestral (Funk y Omland, 2003). En este caso la polifilia de *S. bicanthalis* recuperada con el gen ND4 y tRNAs adyacentes se debe seguramente a la debilidad de la señal filogenética de los datos para resolver en particular la relación entre los haplotipos de esta especie.

Ciertos alelos en una especie pueden aparecer más cercanamente relacionados a alelos de otras especies si un gen está evolucionando muy lentamente en relación a las tasas de especiación o si el fragmento del gen es muy pequeño, los datos obtenidos podrían proveer de pocas sinapomorfías para recuperar robustamente el árbol de genes (Funk y Omland, 2003). El DNA mitocondrial evoluciona rápidamente y es menos propenso a presentar información inadecuada que otros *loci*, pero aun así, puede presentar variación insuficiente para reconstruir eficazmente las radiaciones filogenéticas muy recientes (Funk y Omland, 2003), como puede ocurrir en este caso. Por el contrario, según estos autores, las secuencias de genes podrían haber evolucionado muy rápido en relación con las tasas de especiación y estar saturadas. Por lo que podrían producir árboles inexactos de genes, debido a los altos niveles de homoplasia. De este modo, aun si todas las especies del estudio fueran recuperadas como monofiléticas con citocromo b, el árbol de genes derivado de ND4 podría presentar agrupaciones que no representan la historia de los alelos o de las especies de interés.

3. IMPLICACIONES TAXONÓMICAS

El complejo *Sceloporus aeneus* incluye formas ovíparas y vivíparas cercanamente relacionadas, por esta razón ha sido objeto de interés de múltiples autores y ha sido estudiado desde diversas aproximaciones (Gillette, 1982; Camarillo 1990, Manriquez-Morán, 1995; Hernández-Gallegos, 1995; Benabib *et al.*, 1997). Estos estudios han hecho evidente que las relaciones entre las poblaciones y la asignación taxonómica no son triviales, circunstancia que le ha valido a *S. aeneus* ser considerado un complejo.

Uno de los caracteres que mas peso ha tenido en la clasificación de estos organismos es el modo de paridad, que es hoy una fuente de información invaluable, pero que también ha sido causa de desconcierto, ya que ha sido asociado con distintas poblaciones y con distintos caracteres morfológicos a lo largo de la historia de la taxonomía de este complejo. También se han generado confusiones porque la distribución latitudinal de *S. bicanthalis* (vivíparas), como ya se ha mencionado, se traslapa con parte de la distribución de lo que solía considerarse, *S. subniger* (ovíparas).

El presente estudio ha mostrado que las poblaciones que forman al complejo *S. aeneus* forman cuatro clados, uno de ellos corresponde con la especie *S. bicanthalis* Smith, 1937, en su descripción y distribución (Smith *et al.*, 1993). En otras palabras este estudio corrobora que *S. bicanthalis* es una especie que se distribuye en tierras altas de los estados de Oaxaca, Veracruz, Tlaxcala, Puebla, Hidalgo y Estado de México, caracterizada por la presencia de barras gulares longitudinales y de dos escamas cantales a cada lado (Smith *et al.*, 1993), el modo reproductor vivíparo y por un patrón de reproducción estacional distinto al de las poblaciones ovíparas (único en el género; Méndez de la Cruz *et al.*, 1998).

Aunque el estado específico de *S. bicanthalis* coincide con la taxonomía previa, no ocurre lo mismo con los otros taxones: *S. aeneus* y *S. subniger*. Los haplotipos de las poblaciones de *S. aeneus* se hallan anidados en un clado que contiene haplotipos de las poblaciones de *S. subniger* del Estado de México, incluso de su localidad tipo. Este clado que contiene a las localidades tipo de *S. subniger* y *aeneus* debe conservar, de acuerdo con el principio de prioridad taxonómica, el nombre *Sceloporus aeneus* Wiegmann, 1928; mientras que el nombre *Sceloporus subniger* no puede aplicarse a taxón alguno.

Por ello aunque el binomio *Sceloporus aeneus* sigue reuniendo a las poblaciones del Estado de Morelos y Distrito Federal, la distribución de este

taxón debe ser ampliada de manera que incluya también a las poblaciones ovíparas del Estado de México. La inclusión de en estas poblaciones y la variación intrapoblacional en los caracteres diagnósticos, causan que la descripción morfológica anterior (Smith *et al.*, 1993) de *Sceloporus aeneus* ya no represente adecuadamente a todas las poblaciones que contiene.

S. aeneus se distribuye entonces en Morelos, Distrito Federal y Estado de México entre los 2000 y los 3200 msnm; se diferencia de *S. bicanthalis* por el patrón de pigmentación ventral (patrón distinto de barrado o bien ausencia de barrado), por la presencia de una sola escama cantal (Smith *et al.*, 1993), por el modo reproductor ovíparo y por presentar el patrón estacional de reproducción típico de las formas ovíparas del género (Méndez de la Cruz, *et al.*, 1998). Aunque estas características distinguen a *S. aeneus* de *S. bicanthalis*, no ayudan a diferenciar a *S. aeneus* de los otros dos linajes ovíparos referidos en este estudio (*S. aeneus**-*subniger* del Oeste y *S. subniger* del Este).

*S. aeneus**-*subniger* del Oeste es un linaje alopátrido con respecto a *S. aeneus* y *S. subniger* del Este, cuya distribución se traslapa con *S. bicanthalis* (aunque ocupan distintas altitudes); se distribuye en Hidalgo, Límites de Puebla e Hidalgo, y en el estado de Tlaxcala. Las poblaciones del complejo *S. aeneus* geográficamente intermedias entre *S. aeneus**-*subniger* del Oeste y *S. aeneus* son poblaciones de *S. bicanthalis*. El linaje *S. aeneus**-*subniger* del Oeste comparte con *S. aeneus* los caracteres que lo distinguen de *S. bicanthalis* y no se conocen caracteres que lo diferencien de *S. aeneus* y *S. subniger* del Este. Las diferencias entre este linaje y los otros linajes ovíparos no necesariamente son morfológicas, podrían ser de otra naturaleza (por ejemplo fisiológicas, etológicas o ecológicas). *S. aeneus**-*subniger* del Oeste es una especie críptica (morfológicamente indistinguible), que requiere de establecer un holotipo, un nombre nuevo y una descripción.

El linaje que está formado por poblaciones del estado de Michoacán puede como *S. aeneus**-*subniger* del Oeste diferenciarse de *S. bicanthalis* pero no de *S. aeneus*. Los análisis sugieren que también es una especie críptica, pero a diferencia de *S. aeneus**-*subniger* del Oeste, aun es necesario muestrear en áreas que pudieran presentar poblaciones intermedias entre *S. subniger* del Este y *S. aeneus*.

Estas modificaciones a la taxonomía del complejo se derivan de los análisis de dos genes ligados, ya que el genoma mitocondrial se comporta en generalmente como un solo locus. Por lo cual está sujeta aun a lo que pudiera hallarse tras la inclusión de marcadores nucleares.

CONCLUSIONES

1. El complejo de especies *Sceloporus aeneus* es monofilético y está formado por cuatro linajes :
2. Clado *S. aeneus*- *subniger* de Morelos, Distrito federal y Estado de México, que obedeciendo al principio de prioridad, debe conservar el nombre de *Sceloporus aeneus* (esta especie requiere de una redescipción). Mientras que el binomio *Sceloporus subniger* no puede aplicarse a taxón alguno, a menos que el haplotipo de San Cayetano (que corresponde a la descripción de la localidad tipo de *S. subniger*) represente a un taxón distinto.
3. Clado *S. aeneus**-*subniger* del Este, que se distribuye en Hidalgo, límites de Hidalgo y Puebla y Tlaxcala. Si este linaje constituye una especie distinta, entonces requiere de un nombre nuevo y de una descripción.
4. Clado *S. aeneus* del Oeste formado por las poblaciones de Michoacán. Al igual que el anterior, si este linaje constituye una especie distinta, entonces requiere de un nombre nuevo y de una descripción.
5. Clado *S. bicanthalis* que incluye a los haplotipos proveniente de las tierras altas de Veracruz, Oaxaca, Tlaxcala, Puebla, Hidalgo y Estado de México. *S. bicanthalis* se diferencia de los tres clados arriba mencionados por la presencia de dos escamas cantales a cada lado de la cabeza y de barras gulares longitudinales que en los machos adultos se extienden por toda la superficie ventral, incluso en las extremidades.
6. Los datos analizados en esta investigación no permiten resolver con certeza las relaciones entre estos clados.

LITERATURA CITADA

- Alfaro, M. E., S. Zoller, and F. Lutzoni. 2003. Bayes or bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov chain Monte Carlo sampling and bootstrapping in assessing phylogenetic confidence. *Molecular Biology and Evolution* 20:255-266.
- Arévalo E, Davis SK, Sites J (1994) Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in Central Mexico. *Systematic Biology* 43, 387-418.
- Avise, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb, and N.C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *annual review of ecology and systematics* 18: 489-522.
- Bell, E.L., H.M. Smith y D. Chiszar. 2003. An annotated list of the species-group names applied to the lizard genus *Sceloporus*. *Acta Zoológica Mexicana* 90: 103-174.
- Camarillo, J.L. 1990. Relationship between reproductive modalito and elevational distribution of the *Sceloporus aeneus* complex (Sauria: Iguanidae) in the state of Mexico, México. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 26: 39-50.
- Collins F.H. y S.M. Paskewitz. 1996. A review of the use of ribosomal DNA (rDNA) to differentiate among cryptic *Anopheles* species. *Insect Molecular Biology* 5(1): 1-9.
- Benabib, M., K.M. Kjer y J.W. Sites. 1997. Mitochondrial DNA sequence-based phylogeny and the evolution of viviparity in the *Sceloporus scalaris* group (Reptilia: Squamata). *Evolution* 51(4): 1262-1275.

- Calderón-Espinosa, M.L. 2006. Filogenia molecular del grupo *Sceloporus spinosus* (Squamata: Phrynosomatidae) y evolución de la retención uterina de los huevos: evaluación de factores relacionados con el surgimiento de la viviparidad. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cole, C.J. 1978. Karyotypes and systematics of the lizards in the *variabilis*, *jalapae* and *scalaris* species groups of the genus *Sceloporus*. American Museum Novitates 2653: 1-13.
- Creer, D.A., K.M. Kjer, D.L. Simmons y J.W. Sites. 1997. Phylogenetic relationships of the *Sceloporus scalaris* species group (Squamata). Journal of Herpetology 31: 353 - 364.
- De Queiroz, K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: A conceptual unification and terminological recommendations. Pp. 57-75 (Chapter 5) in Endless Forms: Species and Speciation, D. J. Howard and S. H. Berlocher (eds.). Oxford University Press, Oxford, England.
- Excoffier, L. y P. Smouse. 1994. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene genealogies within species. Molecular Variance Parsimony. Genetics 131: 479-491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Flores-Villela, O. 1998. Herpetofauna de México: distribución y endemismo. En: Diversidad biológica de México: orígenes y distribución, Ramamoorthy, Bye, Lot y Fa (eds). Instituto de Biología, UNAM. Pp 251-278.

- Flores-Villela, O. y L. Canseco Márquez. 2004. Nuevas especies y cambios taxonómicos para la herpetofauna de México. *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie) 20(002): 115-144.
- Funk, D.J. y K.E. Omland. 2003. Species-level paraphyly and poliphly: frequency, causes and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 34: 397-423.
- Gelman, A. y D. Rubin. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences, *Statistical Science* 7: 457-511.
- Guillette, L.J. Jr. 1982. The evolution of viviparity and placentation in the high elevation, Mexican lizard *Sceloporus aeneus*. *Herpetologica* 38: 94-103.
- Guillette, L.J. Jr y H.M. Smith. 1985. Cryptic species in the Mexican lizard complex, *Sceloporus aeneus*. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 21:1-15.
- Hernández- Gallegos, O. 1995. Estudio comparativo del patrón reproductor de los machos de dos especies de lagartijas emparentadas, con distinto modo reproductor: *Sceloporus aeneus* y *S. bicanthalis*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hillis, D. M., and J. J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42:182-192.
- Hillis, D.M., B.K. Mable, A. Larson, S.K. Davis, E. A. Zimmer. 1996. Nucleic acids IV: sequencing and cloning. *In*: Hillis, D.M., B.K. Mable, C. Moritz (Eds.), *Molecular Systematics*, segunda edición. Sinauer, Sunderland, MA, pp. 321-381.

- Huelsenbeck, J.P., y Rannala, B., 2004. Frequentist properties of Bayesian posterior probabilities. *Systematic Biology* 53: 904-913.
- Huelsenbeck, J.P., y Ronquist, F.P., 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I.B, y Nei, M., 2001. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.
- Liner E. A. y J.R. Dixon. 1992. A new species of *Sceloporus scalaris* group from Cerro Peña Nevada, Nuevo Leon, Mexico (Sauria: Iguanidae). *Texas Journal of Sciences* 44: 421-427.
- Maddison D.R. y W.P. Maddison. 2005. MacClade 4.07 for OS X. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.
- Manriquez-Morán, N. 1995. Estrategias reproductoras de dos especies hermanas de lacertilios: *Sceloporus aeneus* y *S. bicanthalis*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Méndez de la Cruz, F.R., M. Villagrán-Santa Cruz y R.M. Andrews. 1998. Evolution of viviparity in the lizard genus *Sceloporus*. *Herpetologica* 54(4):521-532.
- Mink, D.G. y J.W. Sites Jr. 1996. Species limits, phylogenetic relationships and origins of viviparity in *scalaris* complex of the lizard genus *Sceloporus* (Phrynosomatidae: Sauria). *Herpetologica* 52:551-571.
- Poglayen, I. y H.M. Smith. 1958. Noteworthy herptiles from Mexico. *Herpetologica* 14: 11-15.

- Posada D. y K.A. Crandall.1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14 (9): 817-818.
- Ronquist y Huelsenbeck.2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19 (12): 1572-1574.
- Scott, I.A.W. y J.S. Keogh. 2000. Conservation genetics of the endangered grassland earless dragon *Tympanocryptis pinguicolla* (Reptilia: Agamidae) in Southeastern Australia. *Conservation Genetics* 1: 357-363
- Sites, J.W. Jr., J.W. Archie, C.J. Cole y O. Flores - Villela. 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, H.M. 1937. A synopsis of the scalaris group of the lizard genus *Sceloporus*. *Occ. Papers of the Musseum of Zoology of the University of Michigan* 361:1-8.
- Smith, H.M., J.L. Camarillo-R y D. Chiszar. 1993. The status of the members of the *Sceloporus aeneus* complex (Reptilia: Sauria) of México. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 29(3): 130-139.
- Smith, H.M. y W.P. Hall. 1974. Contributions to the reproductive cycles and the systematics of the *scalaris* group of the lizards of the genus *Sceloporus*. *Great Basin Naturalists* 34: 97-104.
- Smith, M. y N.H. Smith. 2002. Recombination in Animal Mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* 19(12): 2330-2332.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, EUA.

- Tamura, K. y M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10: 512-526.
- Thomas, R.A. y J.R. Dixon. 1976. A re-evaluation of the *Sceloporus scalaris* group (Sauria: Iguanidae). *Southwestern Naturalist* 20: 523-536.
- Wiegmann, A.F.A. 1828. Beytrage zur Amphibienkunde. *Isis von Oken* 21: 364-383.
- Wiens, J. y T.A. Penkrot. 2002. Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology* 51(1): 69-91.
- Wiens, J. y T.W. Reeder. 1997. Phylogeny of the spiny lizards (*Sceloporus*) based on molecular and morphological evidence. *Herpetological Monographs* 11: 1-101.
- Wilcox, T. P., Zwickl, D. J., Heath, T. A., y Hillis, D. M., 2002. Phylogenetic relationships of the dwarf boas and a comparison of Bayesian and bootstrap measures of phylogenetic support. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25: 361-371.
- Wink, M. 1995. Phylogeny of old and new world vultures (Aves: Accipitridae and Cathartidae) inferred from nucleotide sequences of the mitochondrial cytochrome b gene. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung* 50: 868-882.
- Zaldivar - Riverón, A., A. Nieto-Montes de Oca y J.P. Lacleste. 2005. Phylogeny and evolution of dorsal pattern in the Mexican endemic lizard genus *Barisia* (Anguidae: Gerrhonotinae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 43: 243-257.