



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

FLUJO GÉNICO E HIBRIDACIÓN DE POBLACIONES DE *Sauromalus*
(IGUANIDAE) EN ISLA ALCATRAZ, SONORA, MÉXICO.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

NANCY GABRIELA SANTOS HERNÁNDEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. VÍCTOR HUGO REYNOSO ROSALES

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

DR. FRANCISCO ELIZANDRO MOLINA FREANER

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2015



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.

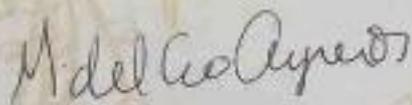
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permita informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 8 de junio de 2015, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **SANTOS HERNÁNDEZ NANCY GABRIELA** con número de cuenta **513023857** con la tesis titulada "**Flujo génico e hibridación de poblaciones de *Sauromalus* (Iguanidae) en isla Alcatraz, Sonora, México**", realizada bajo la dirección del **DR. VÍCTOR HUGO REYNOSO ROSALES**:

Presidente: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNZ
Vocal: M. EN C. JIMÉNEZ MARÍN ANDREA RUBÍ
Secretario: DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN
Suplente: DR. ANDRÉS GARCÍA AGUAYO
Suplente: DR. FRANCISCO ELIZANDRO MOLINA FREANER

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 21 de octubre de 2015.



DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



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

AGRADECIMIENTOS

Primeramente al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A CONACYT y al proyecto PAPIIT, UNAM, IN210315 “Las iguanas del Golfo de California y sus islas. Fase 2, filogeografía y genómica de poblaciones insulares de las iguanas del género *Sauromalus* mediante el uso de técnicas de secuenciación de nueva generación (RADseq)”.

Al Dr. Víctor Reynoso Rosales.

Al Dr. Juan Servando Núñez Farfán.

Al Dr. Francisco Elizandro Molina Frenaner.

Agradecimiento a título personal

A Nancy Leticia y Mariel por darme la vida y apoyarme en todo momento.

Al Dr. Víctor Hugo Reynoso por aceptarme como su alumna y darme la oportunidad de estudiar en una de las mejores universidades de América Latina. Por todo su apoyo y paciencia, muchas gracias.

A los Dr. Juan Núñez y Francisco Molina por toda su disposición para los tutorales y todas sus contribuciones para sacar este trabajo adelante.

A los miembros del jurado: Dr. Luis Eguiarte, Dr. Andrés Aguayo, M. en C. Andrea Jiménez, por todas sus recomendaciones para enriquecer este trabajo.

A Andrea Jimenez, por todo su apoyo en el laboratorio, me llevo un gran aprendizaje.

A mis compañeros de laboratorio: Omar, Canek, Beto (Fauno), Carmina, Gaby, Víctor, por su compañía duramente mi estancia en el Instituto y por todo el apoyo durante la última etapa, jamás terminaré de agradecerles.

A Christian, mi amiga, hermana, por todo su apoyo, compañía y amistad que durante este tiempo se ha fortalecido cada vez más. Sin ti no habría podido terminar a tiempo.

A José Antonio, por todo tu amor y apoyo incondicional, y principalmente por haberme dado el mejor regalo de mi vida.

DEDICATORIA

A Isabel

Que con tu existencia has iluminado mi vida

ÍNDICE

RESUMEN	9
ABSTRACT	11
INTRODUCCIÓN	13
OBJETIVOS	17
HIPÓTESIS	17
HIBRIDACIÓN EN REPTILES	19
GÉNERO <i>SAUROMALUS</i>	20
<i>SAUROMALUS VARIUS</i>	21
<i>SAUROMALUS HISPIDUS</i>	23
<i>SAUROMALUS ATER</i>	25
ESTUDIOS GENÉTICOS CON <i>SAUROMALUS</i>	28
MATERIALES Y MÉTODOS	30
ÁREA DE ESTUDIO	30
COLECTA Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS	32
EXTRACCIÓN DE ADN	33
VISUALIZACIÓN DE ADN	33
AMPLIFICACIÓN DE GENES MITOCONDRIALES Y MICROSATÉLITES	34
ANÁLISIS DEL GENOMA MITOCONDRIAL	36
<i>DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA</i>	36
ANÁLISIS DE MICROSATÉLITES	38
<i>DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA</i>	38
<i>HIBRIDACIÓN</i>	40
RESULTADOS	41
GENOMA MITOCONDRIAL	41
<i>DIVERSIDAD GENÉTICA</i>	41
<i>ESTRUCTURA GENÉTICA</i>	42
MICROSATÉLITES	52
<i>DIVERSIDAD GENÉTICA</i>	52
<i>ESTRUCTURA GENÉTICA</i>	55
<i>HIBRIDACIÓN</i>	60
DISCUSIÓN	62
<i>DIVERSIDAD GENÉTICA</i>	62
<i>ESTRUCTURA GENÉTICA</i>	64
<i>FLUJO GÉNICO E HIBRIDACIÓN</i>	67
CONCLUSIONES	70
REFERENCIAS	72
APÉNDICES	81

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Primers de los genes mitocondriales.

Tabla 2 Características de los microsatélites.

Tabla 3 Resumen de los estadísticos de diversidad genética con los genes mitocondriales.

Tabla 4 Valores pareados de F_{st} y G_{st} entre todas las poblaciones analizadas con el gen *cyt b*.

Tabla 5 Valores pareados de F_{st} y G_{st} entre todas las poblaciones analizadas con el gen ND4.

Tabla 6 Valores pareados de Nm calculados a partir de F_{st} .

Tabla 7 Comparación entre los valores de G_{st} vs N_{st} .

Tabla 8 Valores de P de los siete microsatélites indicando si se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 9 Resumen de los estadísticos de diversidad genética estimados con los microsatélites nucleares.

Tabla 10 Resumen de diversidad genética de otras iguanas.

Tabla 11 Valores pareados de F_{st} y R_{st} entre todas las poblaciones analizadas.

Tabla 12 Valores de Nm pareados obtenidos a partir de los estadísticos F_{st} .

Tabla 13 Valores estimados de N_e .

Tabla 14 Resultados de los análisis AMOVA.

Tabla 15 Valores Q de los individuos con ancestría mixta.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 *Sauromalus ater x hispidus x varius* de isla Alcatraz, Sonora.

Figura 2 *Sauromalus varius* de isla Roca Lobos, Baja California.

Figura 3 Mapa de distribución de las especies *Sauromalus varius* y *S. hispidus*.

Figura 4 *Sauromalus hispidus* de isla Ánimas, Baja California.

Figura 5 *Sauromalus obesus* de Bahía Kino, Sonora.

Figura 6 Mapa de distribución de *Sauromalus ater*.

Figura 7 Mapa de las islas de la parte media del mar de Cortés.

Figura 8 (a) Bahía Kino, (b) isla Alcatraz, (c) isla San Esteban, (d) isla San Lorenzo.

Figura 9 Extracción de muestras de isla Alcatraz en un gel de agarosa al 1%.

Figura 10 Amplificación del microsatélite 13B12 con 15 muestras de isla San Esteban visualizada en un gel de agarosa al 2%.

Figura 11 a) Red de haplotipos con *cyt b*; b) Mapa de distribución geográfica de los haplotipos.

Figura 12 a) Red de haplotipos con el gen *ND4*; b) Mapa de distribución geográfica de los haplotipos.

Figura 13 Red de haplotipos concatenada.

Figura 14 Correlación entre las distancias genéticas (F_{st}) y las distancias geográficas.

Figura 15 Árbol de inferencia bayesiana con el gen *cyt b*.

Figura 16 Árbol de inferencia bayesiana con el gen *ND4*.

Figura 17 Cronograma de las especies *S. ater*, *S. hispidus* y *S. varius* del Golfo de California.

Figura 18 Correlación entre las distancias genéticas F_{st} y R_{st} y las distancias geográficas.

Figura 19 Regresión lineal entre la heterocigosis y el área de cada población.

Figura 20 Gráfica de Delta K en donde se sugiere un valor de $K=3$.

Figura 21 Barplot de Structure en donde se observan los individuos que presentan ancestría mixta.

RESUMEN

La extrema variación morfológica y de color de las iguanas *Sauromalus* que habitan isla Alcatraz, Sonora, México, ha llevado a la hipótesis de que es una población híbrida conformada por tres especies (*S. varius*, *S. hispidus* y *S. ater*), producto de su translocación deliberada por los nativos Comcaac. La hipótesis maneja que la especie nativa de la isla era *S. ater*, por su cercanía con el continente. A la fecha esta hipótesis no se había probado mediante estudios genéticos. Para determinar introgresión entre tres especies de *Sauromalus* en la población de esta isla, se colectaron 30 individuos de isla Alcatraz, y 30 de cada una de tres localidades en donde se distribuyen cada una de las especies involucradas en la supuesta hibridación (*S. varius* en isla San Esteban, *S. hispidus* en isla San Lorenzo y *S. ater* en Bahía Kino). Se amplificaron dos marcadores mitocondriales (*cyt b* y *ND4*), además de siete microsátélites caracterizados para *S. varius* con el fin de analizar la diversidad y estructura genética de las poblaciones y corroborar mediante un análisis de asignación bayesiana de individuos a poblaciones los niveles de introgresión en la población de Alcatraz. En general, se encontraron niveles bajos de diversidad genética en todas las poblaciones, siendo la población de San Esteban la que mostró los niveles más bajos de heterocigosis ($H = 0.19$), número total de alelos (15) y número de alelos privados (2), le siguen Alcatraz y San Lorenzo con valores de heterocigosis de 0.28 y 0.31 respectivamente. Bahía Kino fue la población que presentó los valores más altos de diversidad genética ($H = 0.39$) con 29 alelos en total, 14 de ellos privados. La baja diversidad genética encontrada posiblemente sea resultado de tamaños efectivos pequeños y una escasa entrada de variación por flujo génico derivada de su aislamiento geográfico. Se encontraron tamaños efectivos pequeños principalmente en las poblaciones isleñas (Alcatraz = 2.6, San Lorenzo = 18.3, San Esteban = 8.7), encontrando el tamaño más grande en la población continental (Bahía Kino = 27.5). Se encontró una fuerte estructura genética ($G_{st} = 0.584$; $N_{st} = 0.922$), encontrando haplotipos mitocondriales únicos por población. No se detectó aislamiento por distancia con ninguno de los tipos de marcadores, pero sí se detectó señal filogeográfica con los marcadores mitocondriales. Los datos microsatelitales únicamente detectaron tres poblaciones, agrupando a los individuos de Alcatraz junto con los de San Esteban, sugiriendo que se trata de la misma especie, *S. varius*. En cuanto a los

análisis de hibridación, se detectaron sólo dos individuos con ancestría mixta en isla Alcatraz. También fue posible detectar individuos híbridos en el resto de las poblaciones pero de igual forma en baja frecuencia, lo que sugiere que podrían ser resultado de translocaciones fortuitas de las iguanas.

ABSTRACT

Extreme morphological and colour variation of the iguaine *Sauromalus* inhabiting Alcatraz island in Sonora, Mexico, lead to the hypothesis that this population is conformed by the interbreeding of three different chuckwalla species (*S. varius*, *S. hispidus* and *S. ater*) translocated by Comcaac natives, and that *S. ater* was the native species to the island, because of its proximity to the continent. To understand the genetics of the Alcatraz island *Sauromalus* population, we collected 30 samples of adult iguanas in the island. To compare we also collected an equal number of samples of each species from the closest distributional site: *S. varius* (San Esteban island), *S. hispidus* (San Lorenzo island), and *S. ater* (Bahía Kino mainland). We amplified two mitochondrial markers (*cyt b* and *ND4*), plus 7 microsatellites designed for *S. varius*, to study the genetic diversity and structure of all populations, and the hybridism in Alcatraz, through a population assignment Bayesian analysis. We found low levels of genetic diversity within island populations. San Esteban was the population that showed the lowest levels of genetic diversity ($H_o = 0.19$, total number of alleles = 15, private alleles = 2), followed by Alcatraz and San Lorenzo ($H_o = 0.28$ and $H_o = 0.31$, respectively). Bahía Kino was the population that showed the greatest levels of genetic diversity ($H_o = 0.39$) with 29 total alleles, 14 of them private. This levels of genetic diversity may be caused by small population sizes and poor genetic flow caused by the geographical isolation. We also found a strong genetic structure with unique mitochondrial haplotypes for each population. We found small effective population sizes, mainly in the island populations (Alcatraz = 2.6, San Lorenzo = 18.3, San Esteban = 8.7), finding the biggest size in the continental population (Bahía Kino = 27.5). We found a strong genetic structure ($G_{st} = 0.584$; $N_{st} = 0.922$) with unique haplotypes in each population. We did not detected isolation by distance with any of the two markers, but we did found phylogeographical signal with the mitochondrial genes. The microsatellites data suggest only three populations, grouping the individuals of Alcatraz and San Esteban together, indicating that there are no genetic differences between populations in both sites. Hybridization analysis showed only two individuals in Alcatraz with mixt ancestry. It was also posible to detect hybrid individuals in the other populations but in low frequency as

well, suggesting that they may be a result of random translocations. Our analysis refutes the idea that the *Sauromalus* population in Alcatraz island is hybrid and suggest that are *S. varius* individuals possibly translocated by the seris of San Esteban island.

INTRODUCCIÓN

La hibridación es un fenómeno común en muchos taxa (Huxel, 1999). Sin embargo, cuando se da por causas antropogénicas, como modificaciones del hábitat y/o introducciones de especies exóticas (Rhymer y Simberloff, 1996), resulta una gran amenaza a las poblaciones nativas (Jensen *et al.* 2005). Esta mezcla no natural de taxa históricamente aislados debida a actividades relacionadas con humanos ha incrementado dramáticamente en décadas recientes (Olden *et al.* 2004), provocando una “homogenización biótica” que pudiera tener implicaciones evolutivas y ecológicas dramáticas (Hu *et al.* 2003). La incorporación de tan sólo pequeñas cantidades de material genético no nativo en el genoma, puede incrementar el riesgo de extinción de una población nativa por medio de depresión exogámica (Marr *et al.* 2002; Gilk *et al.* 2004). La viabilidad y fecundación de la población puede verse disminuida debido a la introducción de alelos mal adaptados (Pasachnik *et al.* 2009), o bien, puede causar que la población sea reemplazada por una forma genética o fenotípica parecida a la forma no nativa (Huxel, 1999).

La introgresión es un fenómeno que se refiere a la introducción en una población de material genético de otras especies o subespecies, dando como resultado una hibridación entre dos formas previamente diferenciadas. Las poblaciones híbridas son de interés puesto que se encuentran en la frontera entre dos especies o están bajo un cambio genético rápido. Estas poblaciones son generalmente el resultado de apareamiento o de mezcla de dos o más poblaciones parentales por un largo periodo de tiempo (Hedrick, 2011).

La hibridación es más común en plantas que en animales. En el Reino Unido se tiene registrado que al menos el 25% de las especies de plantas y el 10% de las especies animales están involucradas en hibridación y potencial introgresión con otras especies (Mallet, 2005). Por esta razón, la hibridación en plantas no se ve tanto como un “ruido” evolutivo, sino mas bien como un posible mecanismo de especiación (Soltis y Soltis, 2009). Por el contrario, en el caso de animales, se asume casi automáticamente que la hibridación es un “error reproductivo” (Mallet, 2005) y es frecuentemente observado entre especies cercanamente relacionadas, ya sea en zonas híbridas geográficamente definidas o después

de introducciones de fauna mediadas por humanos (Barton y Hewitt, 1989; Goodman *et al.* 1999).

En animales se ha reportado hibridación e introgresión tanto en invertebrados como en vertebrados (Harper y Hart, 2007). En lo que respecta a organismos terrestres, muchos casos de hibridación se le han atribuido a los ciclos glaciares del Pleistoceno, aislando a los organismos en pequeños refugios y diferenciándose estos por vicarianza, y posteriormente produciéndose un contacto secundario al terminar el ciclo glacial (Avice *et al.* 1987; Harrison, 1993). Aunque en organismos marinos estos eventos de hibridación son menos entendidos debido a las diferentes barreras vicariantes en el mar, también se han reportado algunos ejemplos, siendo a veces tan comunes como en otros ambientes (Gardner, 1997; Harper y Hart, 2007).

En peces se han registrado y confirmado diversos casos de hibridación, muchos de ellos ocurridos en los Grandes Lagos del Este Africano, que son los ecosistemas de agua dulce más diversos en la Tierra, particularmente por su gran diversidad de peces cíclidos (Salzburger y Sturmbauer 2002). En estos casos particulares, se ha detectado que la hibridación es un proceso de especiación que ha dado origen a una parte de la gran diversidad ictiológica encontrada (Sturmbauer *et al.* 1997; Rüber *et al.* 2001), aunque algunos de los eventos de hibridación, provocados por introducciones humanas accidentales (Stauffer y Hert, 1992; Stauffer *et al.* 1996).

La hibridación es común entre especies de anfibios (Vences y Wake, 2007). Los sistemas de anfibios más ampliamente estudiados al respecto son las zonas híbridas entre los sapos *Bombina variegata* y *B. bombina* (Szymura y Barton, 1991; MacCallum *et al.* 1998). Entre los urodelos, sistemas bien estudiados incluyen la hibridación parcial de las especies de la salamandra *Ensatina* (Alexandrino *et al.* 2005), la zona de contacto entre *Triturus cristatus* y *T. marmoratus* en el oeste de Francia (Arntzen *et al.* 1991), así como el impacto de la salamandra tigre *Ambystoma tigrinum mavortium* en poblaciones nativas de *Ambystoma californiense* de California (Ryan *et al.* 2009), entre otros.

En aves es un fenómeno ampliamente conocido, aproximadamente el 10% de todas las especies han producido por lo menos un híbrido (Panov, 1989; Grant y Grant, 1992),

siendo más común en los órdenes Anseriformes, Galliformes y Trochiliformes (Randler, 2006). Desde un punto de vista ecológico y etológico, la hibridación en este grupo se da por una elección restringida de apareamientos (Randler, 2002), puesto que usualmente ocurre cuando una especie es rara o está ausente, lo que conlleva a que se produzcan apareamientos entre especies cercanamente relacionadas (principio de Hubb) (Randler, 2002). Sin embargo, el 25% de todos los apareamientos mezclados no pueden ser explicados por este principio, pues ocurre en aves muy comunes como del orden Passeriforme (Randler, 2006). Deben existir otros comportamientos que promuevan la hibridación, como la copulación extra-pareja (Martin, 1980).

Aunque el número de casos conocidos de hibridación natural en mamíferos no se conoce, este continúa creciendo desde 1970, como resultado de descubrimientos asociados con investigaciones citológicas en roedores (Shurtliff, 2013). Aún así, se ha estimado que la proporción de especies de mamíferos que hibridizan es menor que en otros grupos de vertebrados (Mallet, 2005) y se ha propuesto que esto puede deberse a que los mamíferos tienen características únicas que podrían reducir la producción de híbridos viables, como por ejemplo, sus altas tasas de rearreglo de genes comparada con otros vertebrados, que pudieron llevar a un rápido cambio en los patrones de expresión génica provocando que los mamíferos desarrollen incompatibilidades en híbridos (Zeh y Zeh, 2000; Shurtliff, 2013).

Aunque en varios de los casos la hibridación se ha detectado morfológicamente, existe muchos casos en los que esto puede ser difícil, pues algunas cruza heteroespecíficas pueden producir descendencia que se parezca más a un fenotipo que a otro de los padres (Byrne y Anderson, 1994), por lo que el uso de marcadores moleculares representa una buena opción para detectar este fenómeno. Análisis de marcadores genéticos independientes de caracteres morfológicos pueden revelar alelos o haplotipos compartidos que sean consistentes con una hibridación o introgresión (Addison y Hart, 2005).

El marcador genético ideal para la estimación de niveles de introgresión debe ser selectivamente neutro, biparental, heredado, codominante, diagnóstico entre los taxa de interés en múltiples loci, y que permita la obtención de muestras no letales (Pritchard *et al.*

2007). Por su parte, los marcadores moleculares mitocondriales (mtDNA) proporcionan información sobre eventos pasados y la diversidad genética de las especies (Riddle, 1996).

Uno de los principales objetivos de la genética de la conservación es ayudar a minimizar las extinciones evitando los problemas relacionados con tamaños efectivos pequeños, como es el efecto deletéreo de la endogamia, la pérdida de la diversidad y con esto de la habilidad para responder a cambios ambientales, y los efectos deletéreos de la cruce entre individuos muy distintos, que puede llevar a la reducción en la adecuación en la primera o futuras generaciones en las que se siga dando esta cruce (depresión por exogamia) (Rocha y Gasca, 2007).

Asimismo, con la genética también se pueden resolver problemas de tipo taxonómico y establecer especies prioritarias para la conservación, definir unidades evolutivamente significativas y unidades de manejo, así como también resolver incertidumbres taxonómicas (Moritz, 2002).

En este estudio se pretende analizar la estructura genética de la población de la iguana *Sauromalus* de isla Alcatraz y otras poblaciones aledañas mediante el uso de dos tipos de marcadores, uniparental (mtDNA) y biparental (microsatélites), además de las estimaciones de flujo génico para poder determinar la historia evolutiva y el grado de hibridación de dicha población mediante la comparación de los resultados arrojados por ambos marcadores.

OBJETIVOS

General:

Analizar la hipótesis de un posible origen híbrido en la población de *Sauromalus* de isla Alcatraz, Sonora, México.

Particulares:

- Estimar los niveles de diversidad y estructura genética para todas las poblaciones mediante marcadores mitocondriales y microsatélites.
- Determinar los niveles de introgresión genética en la población de Alcatraz y estimar los niveles de flujo génico.
- Identificar la procedencia de los genes parentales de la población de isla Alcatraz.

HIPÓTESIS

Debido a la distribución geográfica de las iguanas del Golfo, en donde la masa oceánica representa una barrera para su dispersión, manteniendo las poblaciones aisladas, se plantean las siguientes predicciones:

1. Se espera encontrar niveles bajos de flujo génico entre las poblaciones dando como resultado una fuerte estructura genética y niveles bajos de diversidad genética al no tener una entrada constante de variación.

En lo que respecta a la hibridación, pueden esperarse dos resultados:

2. La población de *Sauromalus* de isla Alcatraz es una población híbrida de *S. varius* x *S. hispidus* x *S. ater*, como se ha planteado desde 1972 en base a las características morfológicas de los individuos de la isla.

3. Los individuos de la población de isla Alcatraz tienen una mayor semejanza morfológica con *S. varius* por lo que no son individuos híbridos sino únicamente individuos translocados.

ANTECEDENTES

Hibridación en reptiles

En reptiles, al igual que en los otros grupos de vertebrados, la hibridación es un fenómeno común. Se han reportado diversos casos en lagartijas (Dessauer *et al.* 2000; Fu *et al.* 2000; Taylor *et al.* 2001; Manning *et al.* 2005; Pinho *et al.* 2009), cocodrilos y tortugas (Demas y Wachtel, 1991). En lagartijas, en muchos casos se ha propuesto la hibridación como el evento que dio origen a especies partenogénicas como las especies de los géneros *Cnemidophorus*, *Heteronotia* y *Darevskia* (Dessauer *et al.* 2000; Fu *et al.* 2000).

En iguanas también se encuentra documentado este fenómeno en numerosos casos. Uno de los primeros que se documentó fue el caso de las iguanas de las islas Galápagos entre la iguana terrestre *Conolophus subcristatus* y la iguana marina *Amblyrhynchus cristatus* (Rassman *et al.* 1997). Anteriormente se había reportado una población híbrida en la isla Plaza Sur basado en características morfológicas, y posteriormente confirmado mediante un análisis con fragmentos de restricción (RFLP) de ADN ribosomal nuclear. Secuencias de citocromo b (cyt b) de los híbridos revelaron que eran descendencia de hembras de la iguana terrestre y machos de la iguana marina (Rassman *et al.* 1997). Este evento de hibridación entre las dos especies ha seguido siendo reportado en trabajos más recientes (Tzika *et al.* 2008; Gentile *et al.* 2009).

Un género del que se conoce que varias de sus especies hibridizan es *Ctenosaura*. Pasachnik *et al.* (2009) reportaron bajos niveles de hibridación entre *Ctenosaura bakeri*, especie endémica de una isla de Honduras y *C. similis*, una especie con una distribución amplia. Aunque sí se encontraron evidencias genéticas de hibridación entre las dos especies los autores mencionan que ocurre a niveles muy bajos y que no representan una amenaza para *C. bakeri*. De este mismo género se han reportado otros casos de hibridación entre *C. pectinata* y *C. hemilopha* (Zarza *et al.* 2008; Zarza *et al.* 2009).

Género *Sauromalus*

En la región del Golfo de California se distribuyen cinco especies de *Sauromalus* (Iguanidae). Este género es uno de los grupos más conspicuos de escamados en los desiertos del suroeste de Estados Unidos y noroeste de México (Hollingsworth, 1998). Está compuesto por un grupo de animales de mediano a gran tamaño, terrestres o saxícolas. Tienen una dieta estrictamente vegetariana y se caracterizan principalmente por su peculiar comportamiento de escape, inflando sus cuerpos dentro de fisuras de rocas, lo que hace muy difícil removerlas (Grismer, 2002). De las cinco especies distribuidas en esta región, *Sauromalus ater* es principalmente continental, mientras que el resto son endémicas de las islas (Hollingsworth, 1998; Grismer, 2002).

En isla Alcatraz, está reportada una población híbrida introgresiva que involucra a tres de ellas: *Sauromalus varius*, *S. hispidus* y *S. ater* (Robinson, 1972; Case, 1982; Grismer, 1995). Este reporte está basado únicamente en observaciones morfológicas, como individuos que presentan los patrones de coloración de las tres especies (Hollingsworth, 1998; Grismer, 2002). Sin embargo, su identidad genética o posible hibridación no ha sido validada por estudios genéticos.



Figura 1 *Sauromalus ater x hispidus x varius* de isla Alcatraz, Sonora. Tomada de Grismer (2002).

Sauromalus varius

Esta especie se caracteriza por su cuerpo aplanado, amplio y obeso, con faldas de piel a los lados y un patrón de coloración moteado gris oscuro, amarillo o naranja (Grismer, 2002). Es una especie dimórfica con una longitud hocico-cloaca (LHC) máxima de 324 mm en machos y 314 mm en hembras (Case, 1982) Es la más grande de todas las especies de *Sauromalus*, llegando a medir hasta 600 mm de longitud (Wellehan *et al.* 2003). Su gran tamaño y su patrón de coloración son características que lo diferencian del resto de las especies del género (Lawler *et al.* 1995)



Figura 2 *Sauromalus varius* de isla Roca Lobos, Baja California. Fotografía: V. Reynoso, 2013.

Tienen la cabeza y el cuerpo muy deprimidos, siendo la parte posterior muy amplia. Su cabeza está cubierta por escamas suaves e irregulares, las cuales son más largas en las regiones frontal y parietal y se tornan tuberculares en la región posterior. Las escamas del cuerpo son cortas, tuberculares y subcónicas, débilmente espinosas, siendo menores en la región ventral, principalmente en el pecho. Los juveniles poseen bandas café transversales indistintas que desaparecen cuando son adultos (Lawler *et al.* 1995).

Distribución.- Es una especie nativa de isla **San Esteban (Sonora)** y enlistada como especie en peligro en CITES I y especie amenazada en la NOM-ECOL-059-2010. Actualmente también se puede encontrar en isla Roca Lobos (Baja California) de manera silvestre y una población en cautiverio en el Museo Desierto Arizona-Sonora en Tempe, Arizona (McAliley *et al.* 2006). También se dice que hay una población de recién introducción en Punta Sargento en Sonora (comp. pers.) (Figura 3).

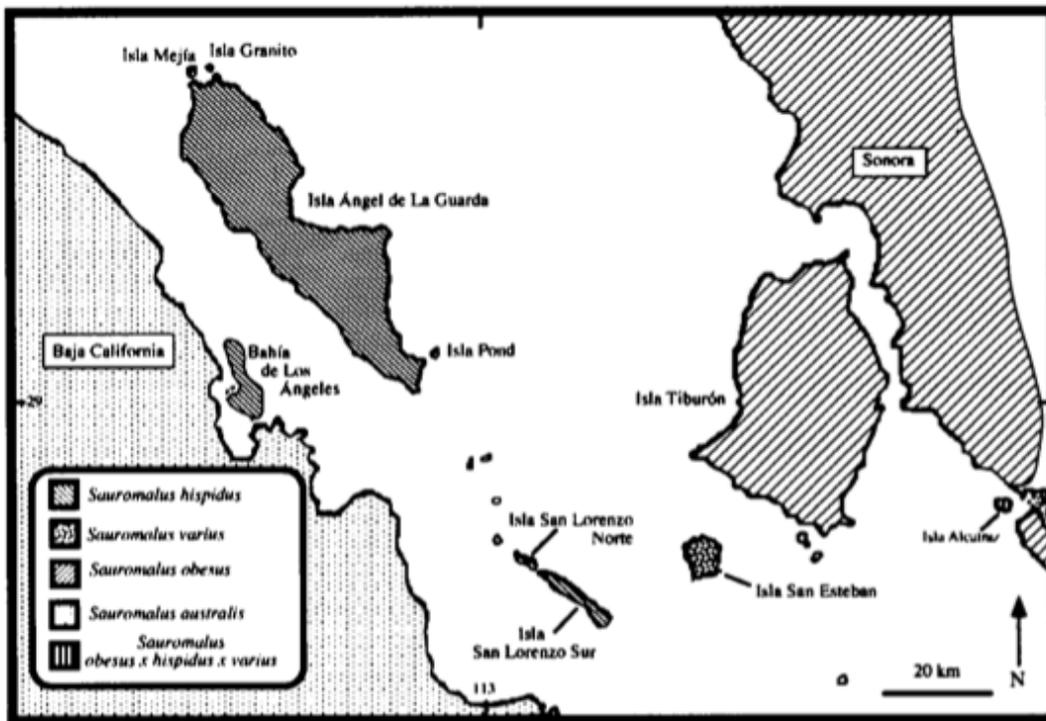


Figura 3 Mapa que muestra la distribución de las especies *Sauromalus ater* (*S. obesus*), *S. hispidus*, *S. varius* y la población híbrida de isla Alcatraz.

Ecología.- Tiene una dieta que consiste en 22 especies de plantas, dentro de las que destacan *Perityle emoryi* (Asteraceae n.c. manzanilla), *Olneya tesota* (Fabaceae n.c. palo fierro), *Atamisquea emarginata* (Capparidaceae n.c. atamisque), *Opuntia biglovii* (Cactaceae n.c. cholla), prefiriendo arbustos sobre hierbas, cactus, pastos y hojas sobre flores, frutos,

semillas o tallos (Sylber, 1988). En cuanto a su reproducción, se tiene reportado que se aparean en primavera y deposita los huevos a finales de la primavera y principios del verano, las crías emergen en septiembre y octubre (Case, 1982). Muestra actividad durante todo el año, siendo mínima durante los días cálidos de invierno. Durante los periodos fríos se refugian en fisuras entre las rocas. Emergen durante 1 o 2 horas cuando sale el sol colocándose debajo de parches de chollas. Dentro de sus depredadores se encuentran aves, como la aguililla cola roja (*Buteo jamaicensis*) y la iguana espinosa *Ctenosaura conspicuosa* (Grismer, 2002).

Hábitat.- La isla San Esteban tiene un clima caliente y árido, excepto durante el verano tardío y el otoño, cuando las lluvias fuertes son comunes. La flora está compuesta por especies xerófitas y tropicales deciduas. Durante la temporada de lluvias, el follaje es abundante y los pastos cubren los arroyos (Grismer, 2002).

Sauromalus hispidus

Sauromalus hispidus también posee un cuerpo amplio y obeso. Los adultos alcanzan a medir hasta 317 mm LHC, lo que la convierte en la segunda especie más grande del género (Grismer, 1995). Su cabeza es plana, relativamente pequeña y triangular desde una vista dorsal, siendo más grande en adultos machos (Grismer, 2002). Se diferencia de las otras especies por poseer escamas espinosas en la nuca tan grandes como las espinas preauriculares, sus escamas dorsales terminan de manera posterior en una espina obtusa y larga, cuentan en promedio con 16 filas de escamas dorsales, el número de filas de escamas ventrales, que van desde la papada gular hasta el ano, promedian 118, el número de escamas alrededor de la parte más gruesa de la cola promedia 50, y cuentan con 12 a 15 poros femorales (Stejneger, 1891). Otra característica que diferencia esta especie de las otras dos es su coloración, pues presenta un patrón oscuro (Grismer, 2002). Como las otras especies de *Sauromalus*, está catalogada como especie amenazada en la NOM-ECOL-059-2010.



Figura 4 *Sauromalus hispidus* de isla Ánimas, Baja California.
Fotografía: V. Reynoso, 2013.

Distribución.- Es endémica de las islas del Golfo de California, estando presente en Ángel de la Guarda, Cabeza de Caballo, Flecha, Granito, La Ventana, Mejía, Piojo, Ánimas, **San Lorenzo** y Smith (Hollingsworth, 1998; Grismer 2002) (Figura 3).

Hábitat.- Las islas en donde se distribuye se ubican en la región costera central. Son de clima árido y domina la vegetación espinosa arbustiva (Grismer, 2002).

Ecología.- Esta especie está bien representada en las islas. De acuerdo con Grismer (2002) los juveniles tienen preferencia por áreas rocosas, mientras que los adultos permanecen la mayor parte del tiempo en madrigueras profundas. Su dieta está compuesta por 35 especies de plantas entre las que destacan *Bursera microphylla* (Burseraceae n.c. Torote colorado), *Ambrosia ilicifolia* (Asteraceae) y *Viscainoa geniculata* (Zygophyllaceae). Al igual que *S. varius* es estrictamente herbívora prefiriendo arbustos sobre hierbas (Sylber, 1988). El apareamiento generalmente ocurre a principios de la primavera, la ovoposición a principios del verano y las crías emergen en otoño (Grismer, 2002). Se ha reportado que las hembras producen en promedio 19 huevos (Sylber, 1988); sin embargo, se han encontrado algunas con hasta 28 huevos bien desarrollados (Grismer, 2002). Dentro de sus

depredadores más comunes se encuentran la aguililla cola roja (*Buteo jamaicensis*) y el alcaudón verdugo (*Lanius ludovicianus*).

Sauromalus ater

Sauromalus ater (sn. *S. obesus*), al igual que las otras dos especies, también posee un cuerpo comprimido dorsoventralmente. Son de tamaño moderado, relativamente más pequeñas que las especies insulares, llegando a medir apenas 224 mm LHC cuando son adultos (Grismer, 2002). Su cabeza es aplanada, relativamente pequeña y triangular, ideal para refugiarse en grietas entre las rocas (Lappin *et al.* 2006). Es una especie sexualmente dimórfica en la que los machos presentan un cuerpo y una cabeza más grande que las hembras (Petren y Case, 1997). De acuerdo con algunos autores este patrón está correlacionado con aspectos de territorialidad (Kwiatkowski y Sullivan, 2002). De manera general, las crías, juveniles y hembras adultas poseen un color café grisáceo tenue y un patrón de bandeado más oscuro en el cuerpo y la cola. Sin embargo, esta especie posee una amplia variación de color a lo largo de toda su distribución (Grismer, 2002; Kwiatkowski y Sullivan, 2002), por lo que se reconocen varias clases.



Figura 5 *Sauromalus obesus* de Bahía Kino, Sonora.
Fotografía: V. Reynoso, 2013.

Distribución.- De las tres especies, *S. ater* es la que presenta la distribución más amplia, abarcando tanto localidades continentales como islas. Se distribuye en los desiertos de Sonora y Mojave, desde el este de California, sureste de Nevada y Utah hacia el sur por el oeste de Arizona y sur de California llegando al noreste de Sonora y Baja California. En este último se extiende por las áreas rocosas hasta aproximadamente 10 km al sur de La Paz, todo por la parte oeste de la península, encontrándose únicamente dos poblaciones aisladas del lado del Pacífico en Sierra Vizcaíno y Sierra Santa Clara (Grismer, 2002). También está presente en algunas islas del Golfo de California, como isla Ballena, Danzante, El Coyote, Espíritu Santo, Gallo, Pardo, Partida Sur, San Cosme, San Diego, San Francisco, San José, San Marcos, Santa Cruz, Tiburón y Willard (Hollingsworth, 1998; Grismer, 2002). Debido a su amplia distribución y diversidad morfológica se han manejado diferentes clasificaciones en subespecies. La más reciente reconoce cinco subespecies: *S. ater ater*, *S. ater shawi*, *S. ater multiforminatus*, *S. ater townsendi* y *S. ater tumidus*. De éstas, *S. ater townsendi* es la que se distribuye en el noroeste de Sonora e isla Tiburón (Figura 6).



Figura 6 Mapa de distribución de *Sauromalus ater* (IUCN, 2014).

Ecología.- Los machos alcanzan la madurez reproductiva a los 2 años de edad y 125 mm longitud hocico-cloaca (LHC). Las hembras por su parte alcanzan la madurez reproductiva al mismo tamaño que los machos y a los 2 o 3 años de edad, pero sólo cuando las condiciones ambientales son óptimas. El número de huevos producidos está altamente relacionado con el tamaño del cuerpo, siendo en promedio 7 huevos. Se ha registrado que los adultos de ambos sexos parecen ser más susceptibles a depredadores después de que alcanzan los 165 mm LHC, por lo que es difícil observarlos en el exterior. Asimismo se ha encontrado un tiempo generacional de 8.2 años y una expectativa de vida de alrededor de 15 años (Abts, 1987).

Dentro de sus depredadores naturales se han reportado aves como el halcón peregrino (*Falco peregrinus*) y el cernícalo americano (*Falco sparverius*), coyotes (*Canis latrans*) y serpientes como el crótalo diamante occidental (*Crotalus atrox*), la serpiente real común (*Lampropeltis getula*), la culebra lira cabeza negra (*Trimorphodon biscutatus*) y la serpiente de Gopher (*Pituophis catenifer*) (Prieto y Sorenson, 1975; Brodie *et al.* 2003).

La hipótesis manejada sobre la población híbrida de isla Alcatraz es que *S. ater* era la especie endémica de la isla, puesto que es común en las faldas rocosas de las montañas en Bahía Kino, y que por posibles introducciones de las otras dos especies por los indios Seri se produjo la introgresión (Grismer, 2002).

Estudios genéticos con *Sauromalus*

Existen diversos estudios sobre el género *Sauromalus*. Sin embargo, gran parte de ellos son sobre aspectos morfológicos (Case, 1976; Tracy, 1999; Lappin *et al.* 2006), ecológicos (Hansen, 1974; Abts, 1987; Sylber, 1988; Kwiatkowski y Sullivan, 2002a, 2002b; Brodie *et al.* 2003; Kwiatkowski, 2003, Tracy y Diamond, 2005), etológicos (Mayhew, 1963; Nagy, 1973; Smits, 1985; Deban *et al.* 1994), fisiológicos (Crawford y Kampe, 1971; Muchlinski *et al.* 1990), y de sistemática (Hollingsworth, 1998), y muy pocos son sobre aspectos genéticos.

El primer estudio genético que se realizó con el género fue para evaluar la diversidad cariotípica de nueve poblaciones isleñas representando a las especies *S. ater*, *hispidus* y *varius*. Se encontró que todas las poblaciones tienen un número diploide de 36 cromosomas y que no ha ocurrido ningún rearrreglo cromosómico durante la radiación y evolución del género (Robinson, 1974).

Existen otros dos estudios filogeográficos en el suroeste de Estados Unidos. En el primero de ellos analizaron 51 individuos de *S. obesus* de 25 localidades con sitios de restricción polimórficos de ADN mitocondrial generados con 20 endonucleasas, encontrando una fuerte estructura genética y niveles muy altos de diversidad genotípica (Lamb *et al.* 1992). El segundo se llevó a cabo en el sur de Nevada analizando secuencias de fragmentos mitocondriales (*cyt b* y región control) de 105 individuos de 25 localidades vecinas, encontrando en este caso niveles muy bajos de diversidad genética dentro de las poblaciones, siendo mayor la diferencia entre poblaciones (Brodie *et al.* 2003).

Por último, se encuentra un análisis filogenético de la evolución del tamaño del cuerpo y biogeografía del género *Sauromalus* y otras iguanas utilizando secuencias mitocondriales del gen *cyt b*. Para probar las hipótesis evolutivas del tamaño del cuerpo se utilizaron muestras de *S. hispidus* y *S. varius*, puesto que son hasta cinco veces más grandes que otras especies de iguanas continentales. La reconstrucción del tamaño del cuerpo como carácter continuo reveló que los ancestros de *Sauromalus* eran de gran tamaño. Se infirieron dos principales cambios en el tamaño del cuerpo después de la divergencia de *Sauromalus* del ancestro común con *Iguana iguana*, su especie más cercana. El primer

cambio, de grande a pequeño, ocurrió antes de cualquier diversificación en el género *Sauromalus*. Durante la especiación, el tamaño permaneció pequeño. El segundo cambio, de regreso a grande, ocurrió en el ancestro de las especies gigantes y se mantuvo durante la divergencia de *S. hispidus* y *S. varius* (Petren y Case, 1997).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El Mar de Cortés, también conocido como el Golfo de California, es un cuerpo de agua que separa la península de California de la parte continental de México (Lindsay y Engstrand, 2002) (Figura 6). Se extiende en dirección noroeste en una longitud de 1,500 km, con anchuras variables de 92 a 222 km, en latitudes extremas de 20°30' y 31° Norte, y longitudes de 107° y 115°. Aquí se localizan aproximadamente 900 islas o islotes (SEMARNAT, 2012), siendo la mayoría de estas vestigios geológicos de la separación de la península del continente, un proceso continuo que empezó hace aproximadamente 4 millones de años (Lindsay y Engstrand, 2002).

Los climas regionales varían desde las lluvias de invierno tipo mediterráneo a las lluvias de verano tipo monzón. Las temperaturas pueden variar desde los grados de congelamiento hasta los 48°C en el verano del Desierto de Sonora, aunque de manera general se considera un clima cálido-seco. Cuenta con una gran diversidad escénica que consiste en desiertos, bosques secos bajos, dunas, islas, deltas, playas arenosas, arrecifes de coral y de roca, así como vientos hidrotermales y humedales costeros (Luque y Robles, 2006).



Figura 7 Mapa de las islas de la parte media del mar de Cortés. Mapa de Cathy Moser Marlett (Wilder *et al.* 2008).

a. Bahía Kino

Es un área continental de 60 km de litoral situada en la costa del Mar de Cortés en el estado de Sonora. Abarca desde Punta Chueca (29° 00' 53" N, 112° 09' 37" W), frente a isla Tiburón, hasta punta San Nicolás (28° 43' 07" N, 111° 55' 10" W). La región cuenta principalmente con climas secos y semisecos con una temperatura media anual de 21.5 °C, llegando a alcanzar hasta los 49.5 °C (DIGAOHM, 2012) (Figura 8a).

b. Isla Alcatraz

Es una pequeña isla de 1.44 km², que se encuentra aproximadamente a 1.5 km de la costa de la comunidad Bahía Kino Viejo, Sonora (28° 49' N, 111° 55' W) (Galván, 2007). Comprende cuatro hábitats básicos: playa arenosa, playa rocosa, salitrales y riscos rocosos. La vegetación es halófila con arbustos de yodo (*Allenrolfea occidentalis*: Amaranthaceae) y salicijos (*Lycium* spp.: Solanaceae) que crecen en el valle salado, mientras que el cardón (*Pachycereus pringlei*: Cactaceae) se puede encontrar en altitudes más elevadas (Galván, 2007; DIGAOHM, 2012) (Figura 8b).

c. Isla San Esteban

Es una isla rocosa y árida con una longitud de 7.4 km en dirección N-S y aproximadamente 5.55 km de ancho, 531 m de altura y 41 km² (Wilder *et al.* 2008; DIGAOHM, 2012). Se encuentra aproximadamente en medio de la parte continental de México y la península de Baja California, a una latitud de 28° 40' N. Es el centro conector de una cadena de islas a lo largo del Golfo, encontrándose ligeramente más cerca de isla Tiburón, 11 km al sur, que a San Lorenzo del lado de Baja California (Banks, 1969). Está compuesta de rocas volcánicas calcoalcalinas, andesitas orogénicas y dacitas (Desonie, 1992). Un aspecto importante de esta isla es que es de origen volcánico surgiendo en medio del golfo, por lo que nunca ha estado en contacto con el continente (Wilder *et al.* 2008) (Figura 8c)

d. Isla San Lorenzo

San Lorenzo tiene una longitud de 16 km y aproximadamente 2 km de ancho y está localizada 34 km al sur de isla Ángel de la Guarda. Sus rocas más antiguas consisten en

metasedimentos, que se encuentran principalmente en la parte central de la isla (Rossetter, 1973) (Figura 8d).

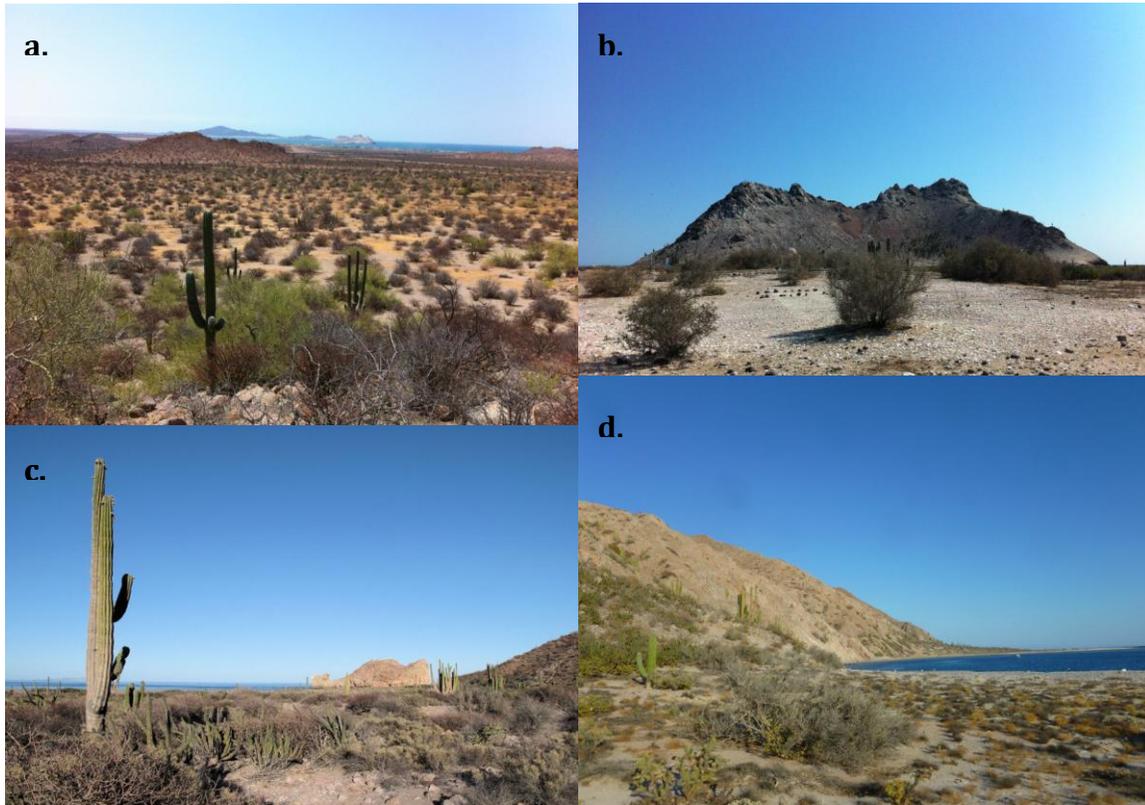


Figura 8 (a) Bahía Kino, (b) isla Alcatraz, (c) isla San Esteban, (d) isla San Lorenzo.
Fotografías: (a) y (b) G. Santos, 2013; (c) MapasMexico.net, 2013; (d) V. Reynoso, 2013.

Colecta y obtención de muestras

Para obtener las muestras se llevaron a cabo dos salidas de campo con una duración de 30 y 15 días cada una. Se colectaron 90 individuos pertenecientes a isla Alcatraz (30), isla San Lorenzo (30) y Bahía Kino (30). Con 30 individuos de isla San Esteban colectados en el 2011, se tienen representantes de las tres especies de interés con un total de 120 muestras.

Para la colecta se hicieron recorridos por las partes rocosas de las islas buscando los individuos en los orificios entre las rocas principalmente. Una vez observado el individuo se procedía a capturarlo de manera directa o bien con ayuda de un lazo de perro para

evitar las espinas de los cactus. Los ejemplares colectados fueron mantenidos en sacos de manta para la obtención de las muestras al finalizar la jornada, cuya duración promedio fue de 8 horas, desde el inicio de los recorridos hasta la obtención de las muestras.

Para la obtención de las muestras se extrajo 1 ml de sangre de la vena caudal de todos los ejemplares colectados (Esra *et al.* 1975), en total 115. Las otras cinco muestras son de tejido de algún dedo, porque no fue posible extraer sangre puesto que los individuos ya estaban muertos. Todas las muestras fueron preservadas en etanol 96% y transportadas a la Colección Nacional de Anfibios y Reptiles del Instituto de Biología, UNAM.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó utilizando un protocolo modificado de Sunnucks y Hales (1996) y Aljanabi y Martínez (1997), el cual consiste en colocar 25 μ l de tejido sanguíneo en 300 μ l de buffer TEN (10 mM TrisHCl pH 8, 100 mM EDTA y 100 mM NaCl) + SDS 2%, agregando 12 μ l de proteinasa K y dejando incubar toda la noche a 56 °C. Al día siguiente se añaden 100 μ l de NaCl 5M, se vortexean las muestras durante 30 segundos y se centrifugan durante 7 min 30 seg a 14,000 rpm a 4 °C. Posteriormente se transfiere el sobrenadante a tubos nuevos con 800 μ l de etanol absoluto frío y se dejan toda la noche a -20 °C. El tercer día se centrifugan las muestras durante 20 min 30 seg a 14,000 rpm a 4 °C, se decanta el exceso de alcohol y se añaden 800 μ l de etanol 70% frío. Se centrifuga nuevamente durante 7 min 30 seg a la misma velocidad, se decanta el exceso de alcohol y se secan a temperatura ambiente durante toda la noche. Una vez secas se les añaden 150 μ l de agua destilada estéril y las muestras se consideran listas para ser visualizadas.

Visualización de ADN

Se llevó a cabo la visualización de todas las muestras mediante la técnica de electroforesis en geles de agarosa al 1% (Figura 9). El tampón de carga constó de 1 μ l de Buffer de carga 10X adicionado con el colorante Red Gel, y 5 μ l de muestra de ADN.

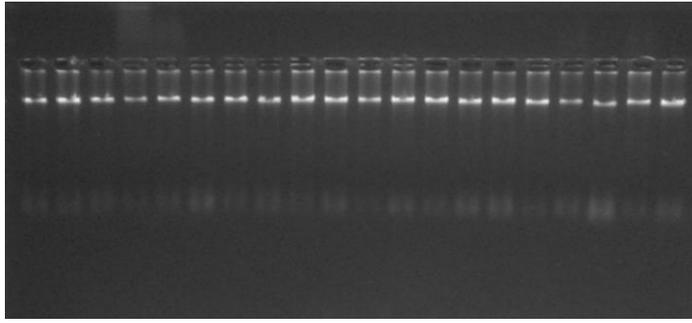


Figura 9 Extracción de muestras de isla Alcatraz en un gel de agarosa al 1%.

Amplificación de genes mitocondriales y microsatélites

Mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Mullis *et al.* 1986) se amplificaron dos genes mitocondriales (Kocher *et al.* 1989; Arévalo *et al.* 1994) (Tabla 1) y siete microsatélites aislados y caracterizados para *Sauromalus varius* (Tabla 2) (McAiley *et al.* 2006). Para la amplificación de los genes mitocondriales se implementó un protocolo diferente al reportado (Apéndice 1a), mientras que para la amplificación de los microsatélites se siguió el protocolo de McAiley *et al.* (2006) (Apéndice 1b).

Tabla 1 Primers de los genes mitocondriales.

<i>Primer</i>	<i>Secuencia</i>	<i>Referencia</i>
L14841	5'-	
<i>Cyt b</i>	(F) AAAAAAGCTTTCCAACATCTCAGCATGATGAAA	Kocher <i>et al.</i> (1989)
H15149	5'-AAACTGCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA	
	(R)	
<i>ND4</i>	ND4 (F) 5'-CACCTATGACTACCAAAAGCTCATGTA	Arévalo <i>et al.</i> (1994)
	LEU (R) 5'-CATTACTTTTACTTGGATTTGCACCA	

Tabla 2 Características de los siete microsátélites diseñados para *Sauromalus varius* (McAliley *et al.* 2006)

<i>Locus</i>	<i>Repeat motif</i>	<i>Secuencia</i>	<i>Tamaño de alelos</i>
Sauro 2A5	(GT)15	F: TCGGACACTGCCTTAAATTAGA [°] R: TGGAGGAATTTCTTGATGGTTACA	152-162
Sauro 7A9	(AC)12 (AG)2	F: GTGCCCTGTGAAATGTATTC* R: TTCAGGAAAGCTCTATTACAC	161-197
Sauro 10H2	(CA)11	F: GAAGAGGGGAAGAGTCCTAGA* R: CCCACCTTTGACACTGGACTTA	180-198
Sauro 2F5	(AC)10	F: CCCAAGAACTAGACTGCCTGTAA [°] R: TGGAATATGTGGCAGGTTTT	152-158
Sauro 13B12	(CA)11	F:CTTTGACACTGGACTTATAGACTAA [°] R: GCAAAGATTCAAGGTGTCTACT	144-160
Sauro 9B10	(CACA)3 (CAGA)3	F: AGGCACCCTGTTCTCCTCATC* R: GAGTACATCTGACCGTCCACATT	142-146
Sauro 18A4	(AT)4 (GT)12	F: GGTTGGCCCATTCTATT [°] R: AAATGAAGGGAGGTTAGAA	143-161

* Primer marcado con HEX en 5'

[°] Primer marcado con FAM en 5'

Las reacciones para la amplificación se prepararon con un volumen final de 15 µl para los genes mitocondriales y de 25 µl para los microsátélites, con las siguientes concentraciones: 1.0 U de Taq polimerasa (Invitrogen y Bionline), 3mM de MgCl₂, 100 µM de cada primer, 1X de buffer PCR, 0.5 - 1 µl de ADN, y agua destilada estéril para completar el volumen. Se visualizaron en geles de agarosa al 2% con un tampón de carga de 1µl de Buffer de carga adicionado con Red Gel y 4 µl de muestra.

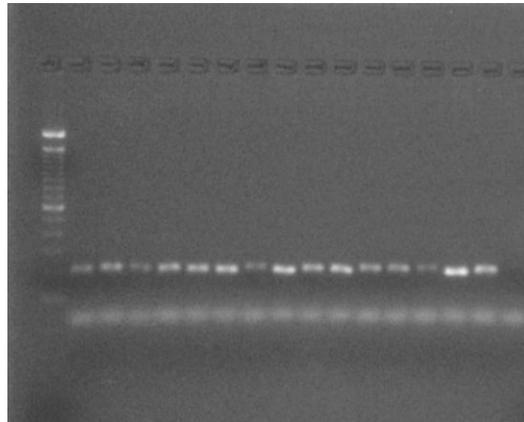


Figura 10 Amplificación del microsátélite 13B12 con 15 muestras de isla San Esteban visualizada en un gel de agarosa al 2%.

Las amplificaciones fueron secuenciadas y genotipificadas en un secuenciador ABI 3500 xL (Applied Biosystems) del Laboratorio de Secuenciación del Instituto de Biología, UNAM. Para los microsatélites se utilizó el tamaño estándar GeneScan™ 500 Rox™ (Applied Biosystems) para su lectura.

Análisis del genoma mitocondrial

Las secuencias mitocondriales fueron visualizadas y editadas utilizando los programas FinchTV (Geospiza, 2013) y MEGA 5 (Tamura *et al.* 2011). Con este último también se realizó el alineamiento de las mismas utilizando el criterio CLUSTAL.

Diversidad y estructura genética

Se obtuvieron valores de diversidad genética, como número de sitios polimórficos (s), número de haplotipos (h), diversidad haplotípica (H_d) y diversidad nucleotídica (π), tanto de forma general como por población, con el programa DnaSP v5 (Librado y Rozas, 2009) para ambos genes mitocondriales (*cyt b* y *ND4*). Para obtener la estructura genética, con este mismo programa se calcularon los valores de F_{st} pareados entre todas las poblaciones. Por medio de este estadístico se calculó el número de migrantes efectivos (Nm) con la siguiente fórmula:

$$Nm = \frac{1 - F_{st}}{2F_{st}}$$

Asimismo, también se calcularon los estadísticos G_{st} y N_{st} . G_{st} es conocido como coeficiente de diferenciación genética. Este estimador se utiliza principalmente en secuencias nucleares y mitocondriales y se basa en las fórmulas propuestas por Nei (1987). Funciona de la misma manera que F_{st} pues depende la cantidad de variación genética encontrada. N_{st} también es similar a F_{st} , pero N_{st} utiliza la corrección de Jukes y Cantor (1969). Con los valores de N_{st} se analiza la relación entre el promedio de la distancia genética entre distintas poblaciones con relación a la población total. Una de las principales diferencias entre estos dos estadísticos es que G_{st} utiliza únicamente las frecuencias alélicas para medir diferenciación entre población, mientras que N_{st} también toma en cuenta las

similitudes entre los haplotipos (Pons y Petit, 1996). Por esta razón, una comparación entre estos dos estadísticos puede ser indicador de señal filogeográfica.

Para detectar si existe señal filogeográfica se utilizó el programa SPADS 1.0 (Dellicour y Mardulyn (2014), en el cual la prueba estadística para evaluar la significancia en la diferencia entre N_{st} y G_{st} está basada en permutaciones aleatorias de haplotipos (Hardy y Vekemans, 2002).

Con el programa Network 4.612 (Bandelt *et al.* 1999) se construyeron dos redes de haplotipos, una por cada gen, utilizando el criterio Median-Joining. También, se elaboró un mapa en donde se presenta la distribución geográfica de los haplotipos encontrados, con el programa ArcGIS 10.2. Adicionalmente, con el programa Mesquite v 3.04 (Maddison *et al.* 2015) se concatenaron las secuencias de ambos genes mitocondriales y se construyó una red de haplotipos bajo los mismos criterios mencionados anteriormente.

Se realizó un análisis de aislamiento por distancia con el programa IBD (Jensen *et al.* 2005). La principal utilidad de este tipo de análisis es determinar si la distancia geográfica está relacionada con las distancias genéticas encontradas en las poblaciones, es decir, si a mayor distancia geográfica, se encuentra una mayor diferenciación genética (Bohonak, 2002). Para esto se realizó una prueba de Mantel, la cual analiza la significancia en la correlación de matrices de distancias genéticas y distancias geográficas. La matriz de distancias genéticas se realizó con los valores pareados de F_{st} . Las distancias geográficas se obtuvieron de Google Earth.

Para los análisis de inferencia bayesiana, se utilizó el programa jModelTest v.0.1.1 (Posada, 2008) para buscar el modelo de sustitución que mejor se ajusta a los datos de los genes *cyt b* y *ND4*. Para ambos genes se escogió el modelo GTR. Asimismo, se obtuvieron secuencias en GenBank de las especies *Iguana iguana*, *Ctenosaura hemilopha*, *C. similis* y *Conolophus subcristatus* para ser utilizadas como grupos externos (Apéndice 2). Con esta información se generaron dos árboles de inferencia bayesiana con el programa BEAST v.1.8.0 (Drummond *et al.* 2007) utilizando 100,000,000 cadenas de Markov.

Se estimaron los tiempos de divergencia de las tres especies de *Sauromalus* analizadas en este trabajo, *S. ater*, *S. hispidus* y *S. ater*. Para esto se obtuvieron secuencias en GenBank de las especies *Ctenosaura pectinata*, *C. hemilopha* e *I. iguana* para ser utilizadas como grupos externos (Apéndice 2). Se trabajó con el modelo de reloj relajado y una edad media de divergencia de 9.24 Ma (SD = 2.47 Ma) estimada por Zarza *et al.* (2008) para *C. pectinata* y *C. hemilopha*. Se corrieron 500,000,000 generaciones de cadenas de Montecarlo.

Posteriormente se evaluaron ambos resultados con el programa Tracer v.1.6.0 (Rambaut *et al.* 2014). Se generaron los árboles en el programa TreeAnnotator v.1.8.0 (Drummond *et al.* 2007) utilizando un *burn in* de 1,000, y 5,000 para los árboles de inferencia bayesiana y el reloj molecular, respectivamente. Los árboles se visualizaron en el programa FigTree v.1.4.2 (Rambaut 2007).

Análisis de microsatélites

Se visualizaron los picos de los microsatélites con los programas GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems, 2005) y GeneMarker (SoftGenetics, 2004). Adicionalmente los alelos encontrados fueron verificados con el programa Micro-checker (van Oosterhout *et al.* 2004), evaluando también combinaciones de loci donde alelos nulos pudieran estar presentes. Se tomó como presencia de alelos nulos cuando Micro-checker lo sugirió y se observaron individuos no amplificados.

Diversidad y estructura genética

Para determinar los niveles de diversidad genética de las poblaciones se estimaron los parámetros de heterocigosis observada y esperada, riqueza alélica, equilibrio de Hardy-Weinberg y la frecuencia de alelos nulos, todo esto mediante los programas GENEPOP 4.2 (Rousset, 2008) y Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).

Para obtener los niveles de flujo génico y diferenciación genética se calcularon los estadísticos F (F_{is} , F_{it} y F_{st}), además del equivalente estadístico de diferenciación utilizado para microsatélites (R_{st}). Asimismo, se calculó el número de migrantes efectivos para las poblaciones en total, así como entre poblaciones, este último mediante la fórmula:

$$Nm = \frac{1 - F_{st}}{4F_{st}}$$

utilizando GENEPOP 4.2 (Rousset, 2008) y Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).

Se efectuó la prueba de comparación entre F_{st} y R_{st} desarrollada por Hardy *et al.* (2003) conocida como Prueba de permutaciones alélicas, esto con el programa SPAGeDI (Hardy y Vekemans, 2002). La prueba compara el valor observado de R_{st} con el valor esperado después de las permutaciones (pR_{st}) cuando las diferencias en los tamaños alélicos no contribuyen a la diferenciación genética, bajo el supuesto de que el procedimiento no debe afectar los valores de R_{st} , pero si los tamaños alélicos contribuyen a la diferenciación genética, pR_{st} dependerá sólo de la identidad y tendrá un valor menor a R_{st} . Cabe resaltar que pR_{st} tiene un valor igual al F_{st} observado de los datos. Esta comparación puede responder a la pregunta de si los alelos más relacionados están dentro de cada población o en poblaciones distintas, es decir, si existe alguna señal filogeográfica dentro de las poblaciones (Hardy y Vekemans, 2002).

Asimismo, se hizo un análisis de aislamiento por distancia mediante una prueba de Mantel para determinar si existe una relación entre las matrices de distancias genéticas y distancias geográficas de las poblaciones. Para las matrices de distancias genéticas se utilizaron los estadísticos de diferenciación genética F_{st} y R_{st} . Adicionalmente, se realizó un análisis de regresión lineal entre los niveles de heterocigosis encontrados y el área total donde se distribuye cada población.

Se estimaron los tamaños efectivos (N_e) de las poblaciones con el programa NeEstimator (Do *et al.* 2014) utilizando el método de desequilibrio de ligamiento para estimarlos.

Se comparó la estructura poblacional mediante dos análisis de varianza (AMOVA) en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). El primer análisis se hizo con dos grupos, un grupo constituido por la población continental, y el otro por todas las poblaciones isleñas. En el segundo análisis se formaron tres grupos, uno con la población

continental, otro, la población de San Lorenzo, y el tercero las poblaciones de Alcatraz y San Esteban.

Por último, se realizó un análisis bayesiano de asignación de individuos a grupos con el programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.* 2000). Para el obtener el número de grupos (clusters k) se utilizaron los métodos de Evanno y Delta K (Evanno *et al.* 2005).

Hibridación

Se utilizó el programa Structure 2.3.2 (Pritchard *et al.* 2000) para identificar individuos con ancestría mixta y obtener su probabilidad de asignación a poblaciones. Este programa utiliza datos genotípicos multilocus para estimar de manera probabilística la pertenencia de un individuo a un determinado cluster (K) basado en un modelo Bayesiano de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), generando estimaciones de la proporción de mezcla de cada individuo conocido como el valor Q , el cual puede ser utilizado para identificar individuos híbridos (Pritchard, 2000).

Para obtener el número de poblaciones (K) más probable se utilizaron los siguientes parámetros en el programa: un *burn in* de 50,000 con 500,000 MCMC, un modelo de ancestría “admixed” con frecuencias alélicas correlacionadas y un set de K de 1 a 7 con 10 repeticiones cada uno. La carpeta de resultados arrojada por el programa se analizó utilizando el sitio web Structure Harvester (Earl y vonHoldt, 2012) para obtener el número de clusters más probable, que está asociado al número más alto de ΔK (Evanno *et al.* 2005). Una vez identificado el número de clusters se obtuvo el valor Q promedio de las 10 corridas de cada individuo tomando el mínimo de las poblaciones de San Esteban, San Lorenzo y Bahía Kino como límite para considerar un individuo como puro (Smith *et al.* 2013).

RESULTADOS

Genoma mitocondrial

Diversidad genética

Con el gen *cyt b* se analizaron 41 secuencias de 293 pb, encontrando de manera general una baja diversidad genética, con 19 sitios polimórficos y una diversidad nucleotídica total (π) de 0.0205. En total se encontraron 10 haplotipos y una diversidad haplotípica (H_d) de 0.878. La población que presentó los niveles más bajos de diversidad fue San Esteban (*S. varius*), mientras que San Lorenzo (*S. hispidus*) y Bahía Kino (*S. ater*) fueron las que presentaron los niveles más altos (Tabla 3).

Tabla 3 Resumen de los estadísticos de diversidad genética de la mitocondria de las especies *S. varius* (San Esteban), *S. hispidus* (San Lorenzo) y *S. ater* (Bahía Kino), y la supuesta población híbrida de Alcatraz. *s*, número de sitios polimórficos; *h*, número de haplotipos; H_d , diversidad haplotípica; π , diversidad nucleotídica; *k*, número promedio de diferencias nucleotídicas. Arriba son los valores para *cyt b*, abajo los valores para *ND4*.

<i>Población</i>	<i>s</i>	<i>h</i>	H_d	π	<i>k</i>
Alcatraz	3	3	0.4727	0.0029	0.6909
San Lorenzo	3	4	0.7778	0.0044	1.0222
San Esteban	1	2	0.3889	0.0017	0.3889
Bahía Kino	2	2	0.4667	0.004	0.9333
Alcatraz	0	1	0.00	0.00	0.00
San Lorenzo	5	3	0.5556	0.0022	1.2778
San Esteban	0	1	0.00	0.00	0.00
Bahía Kino	4	3	0.3455	0.0013	0.7273

Con el gen *ND4* se analizaron 42 secuencias de 595 pb, en donde se encontraron valores similares de diversidad nucleotídica (π) y haplotípica (H_d) que con *cyt b*, siendo 0.025 y 0.7991 los valores totales, respectivamente. Sin embargo, se encontró un mayor

número de sitios polimórficos, 40 en total, pero un menor número de haplotipos, únicamente siete, repartidos entre sólo dos poblaciones, San Lorenzo y Bahía Kino. Las poblaciones de Alcatraz y San Esteban no presentaron sitios polimórficos, y por lo tanto, sólo presentaron un haplotipo (Tabla 3).

Estructura genética

Los valores de F_{st} encontrados con *cyt b* son elevados para todas las combinaciones de poblaciones, encontrándose la menor diferenciación genética entre la población de Alcatraz y San Lorenzo, y la mayor entre San Esteban y Bahía Kino (Tabla 4).

Tabla 4 Valores pareados de F_{st} , G_{st} y N_{st} entre las poblaciones de Alcatraz, San Lorenzo (*S. hispidus*), San Esteban (*S. varius*) y Bahía Kino (*S. ater*) con el gen *cyt b*.

Poblaciones		F_{st}	G_{st}	N_{st}
<i>Alcatraz</i>	<i>San Lorenzo</i>	0.5143	0.1961	0.5153
<i>San Lorenzo</i>	<i>San Esteban</i>	0.8537	0.2594	0.8552
<i>San Esteban</i>	<i>Bahía Kino</i>	0.9327	0.3990	0.9343
<i>Bahía Kino</i>	<i>Alcatraz</i>	0.9094	0.3603	0.9113
<i>Alcatraz</i>	<i>San Esteban</i>	0.9034	0.3933	0.9045
<i>San Lorenzo</i>	<i>Bahía Kino</i>	0.8808	0.2329	0.8831

Con *ND4*, la mayor diferenciación se obtuvo entre Alcatraz y San Esteban, con un valor de 1.0, y el valor más bajo fue entre Alcatraz y San Lorenzo. Sin embargo, todos los valores son altos (Tabla 5). En ambos casos, los valores de G_{st} son menores, pues no se encontraron múltiples alelos en las poblaciones; sin embargo, presenta el mismo patrón de diferenciación que los estadísticos F_{st} y N_{st} .

Tabla 5 Valores pareados de F_{st} , G_{st} y N_{st} entre las poblaciones de Alcatraz, San Lorenzo (*S. hispidus*), San Esteban (*S. varius*) y Bahía Kino (*S. ater*) analizadas con el gen *ND4*.

Poblaciones		F_{st}	G_{st}	N_{st}
<i>Alcatraz</i>	<i>San Lorenzo</i>	0.8309	0.5476	0.8310
<i>San Lorenzo</i>	<i>San Esteban</i>	0.8973	0.5886	0.8976
<i>San Esteban</i>	<i>Bahía Kino</i>	0.9880	0.7054	0.9884
<i>Bahía Kino</i>	<i>Alcatraz</i>	0.9880	0.7054	0.9884
<i>Alcatraz</i>	<i>San Esteban</i>	1.00	1.00	1.00
<i>San Lorenzo</i>	<i>Bahía Kino</i>	0.9706	0.3822	0.9717

Con los valores de F_{st} se estimaron los valores de flujo génico en el equilibrio entre las poblaciones con el estimador Nm . Debido a que los valores de F_{st} encontrados fueron muy elevados, como consecuencia, los valores de Nm resultan muy bajos, es decir, el flujo génico entre las poblaciones es muy escaso, salvo entre Alcatraz y San Lorenzo, en donde se obtuvo un valor mayor (Tabla 6).

Tabla 6 Valores pareados de Nm calculados a partir de F_{st} entre las poblaciones de Alcatraz, San Lorenzo (*S. hispidus*), San Esteban (*S. varius*) y Bahía Kino (*S. ater*)..

	<i>Alcatraz</i>	<i>San Lorenzo</i>	<i>San Esteban</i>
<i>Alcatraz</i>	-		
<i>San Lorenzo</i>	0.4722	-	
<i>San Esteban</i>	0.0535	0.0857	-
<i>Bahía Kino</i>	0.0498	0.0677	0.0361

Con el programa SPADS se encontró que $G_{st} = 0.584$ ($p < 0.05$) y $N_{st} = 0.922$ ($p < 0.05$), dando como resultado una diferencia de $N_{st} - G_{st} = 0.338$ ($p < 0.05$), lo que se traduce como una señal filogeográfica presente en las poblaciones (Tabla 7).

Tabla 7 Valores de G_{st} , N_{st} y $G_{st} - N_{st}$ encontrados para cada gen mitocondrial (*cyt b* y *ND4*) y totales tomando en cuenta las cuatro poblaciones analizadas (Alcatraz, San Lorenzo, San Esteban y Bahía Kino). $p < 0.05$, valor significativo*

<i>Locus</i>	G_{st}	N_{st}	$G_{st} - N_{st}$
<i>Cyt b</i>	0.407*	0.853*	0.447*
<i>ND4</i>	0.762*	0.972*	0.209*
<i>Total</i>	0.584*	0.922*	0.338*

Las redes de haplotipos muestran una estructura muy marcada y concordante con la distribución geográfica. Con el gen *cyt b* únicamente se encuentra un haplotipo compartido por la población de Alcatraz y San Lorenzo, el resto son exclusivos de alguna de las poblaciones (Figura 11a y 11b).

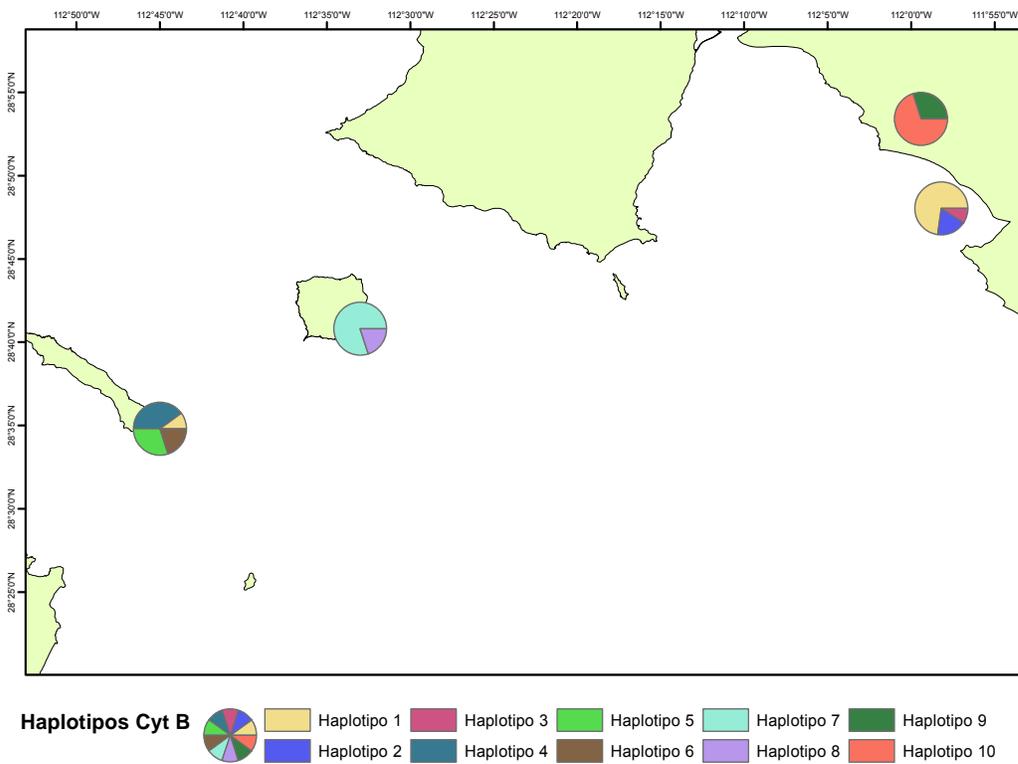
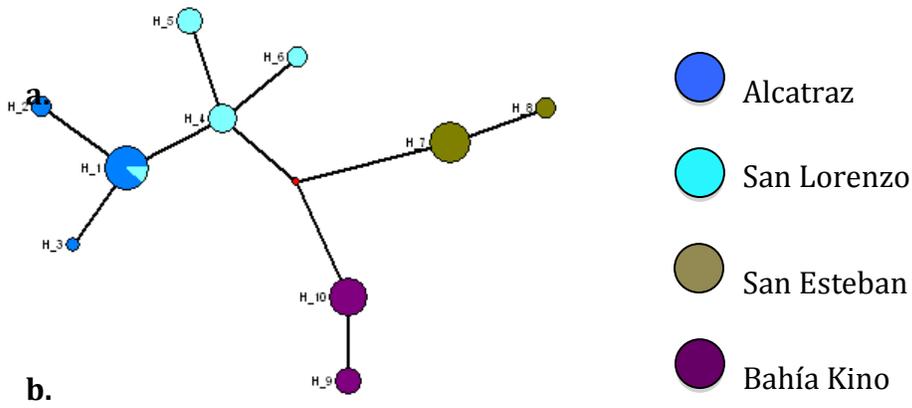


Figura 11 a) Red de haplotipos con *cyt b*; b) Mapa de distribución geográfica en la región central del Golfo de California de los haplotipos encontrados en las poblaciones de Alcatraz, San Lorenzo (*S. hispidus*), San Esteban (*S. varius*) y Bahía Kino (*S. ater*).

Por su parte, con el gen *ND4* también se encontró una fuerte estructura sólo con un haplotipo compartido entre Alcatraz y San Lorenzo, el resto son exclusivos para alguna población (Figura 12a y 12b).

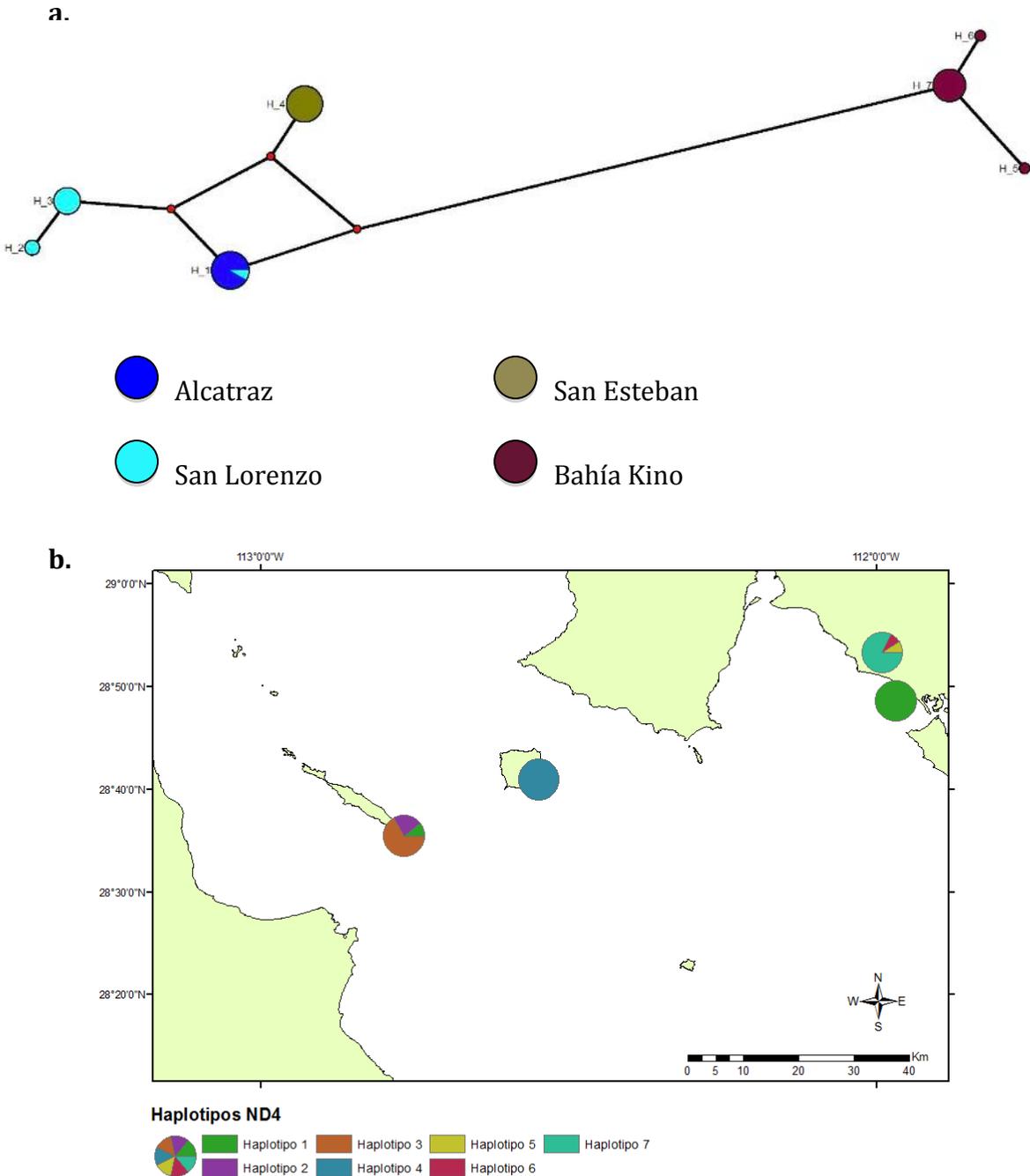


Figura 12 a) Red de haplotipos con el gen *ND4*; b) Mapa de distribución geográfica en la región central del Golfo de California de los haplotipos encontrados en las poblaciones de Alcatraz, San Lorenzo (*S. hispidus*), San Esteban (*S. varius*) y Bahía Kino (*S. ater*).

En la red de haplotipos estimada con las secuencias concatenadas se encontraron 13 haplotipos, de los cuales 12 son exclusivos para alguna población y únicamente el haplotipo 1 se encuentra compartido en las poblaciones de Alcatraz y San Lorenzo (Figura 13).

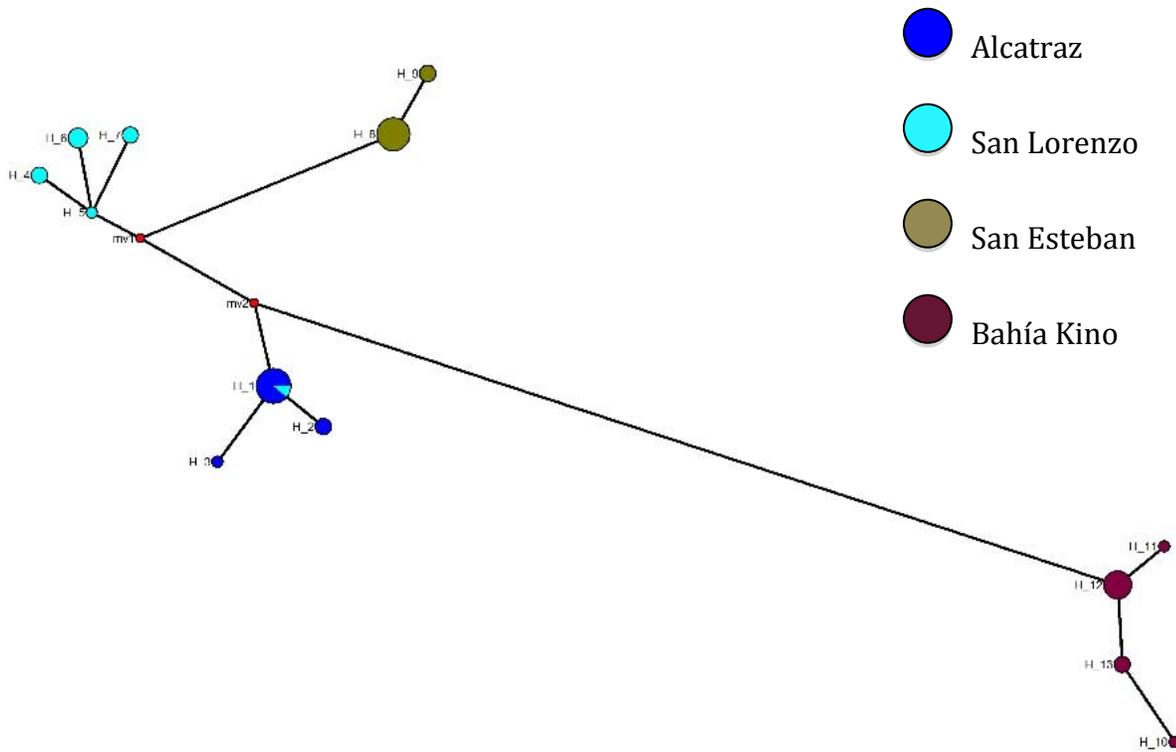


Figura 13 Red de haplotipos estimada con las secuencias concatenadas de los genes mitocondriales *cyt b* y *ND4*.

La prueba de Mantel mostró una relación negativa entre las distancias genéticas y las distancias geográficas para ambos genes mitocondriales (*cyt b* y *ND4*), pero esta relación no fue significativa ($r = -0.4407$, $p = 0.8380$; $r = -0.2450$, $p = 0.6900$, respectivamente) (Figura 14).

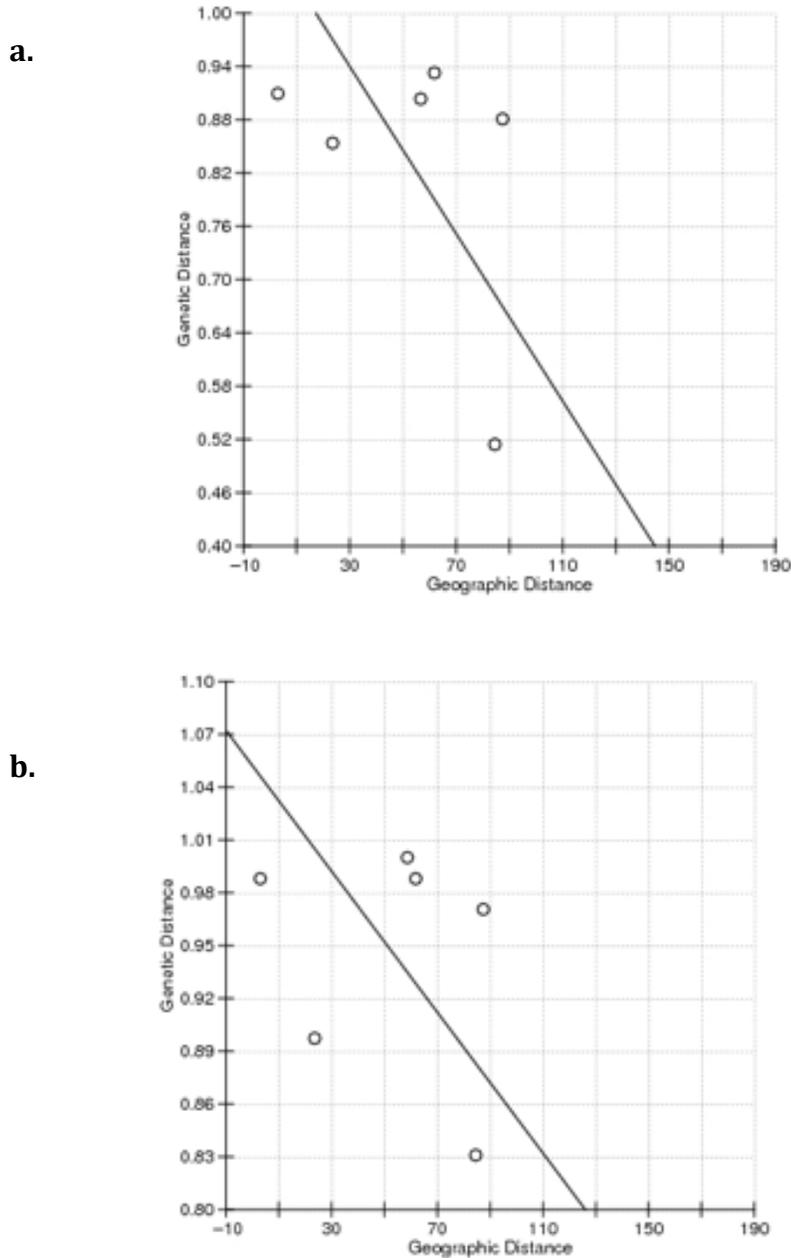


Figura 14 Correlación entre las distancias genéticas (F_{st}) y las distancias geográficas de las cuatro poblaciones (a) para el gen *cyt b*, y (b) para el gen *ND4*.

Los árboles de inferencia bayesiana, para cada uno de los genes mitocondriales muestran una fuerte estructura poblacional (Figura 15 y 16), pues se observa que las poblaciones se separan claramente en diferentes clados, siendo la población de Alcatraz la más derivada. Únicamente se detectó un individuo de San Lorenzo que con ambos genes se encuentra en el mismo clado que los individuos de la población de Alcatraz, aunque morfológicamente no es diferente a los individuos de San Lorenzo.

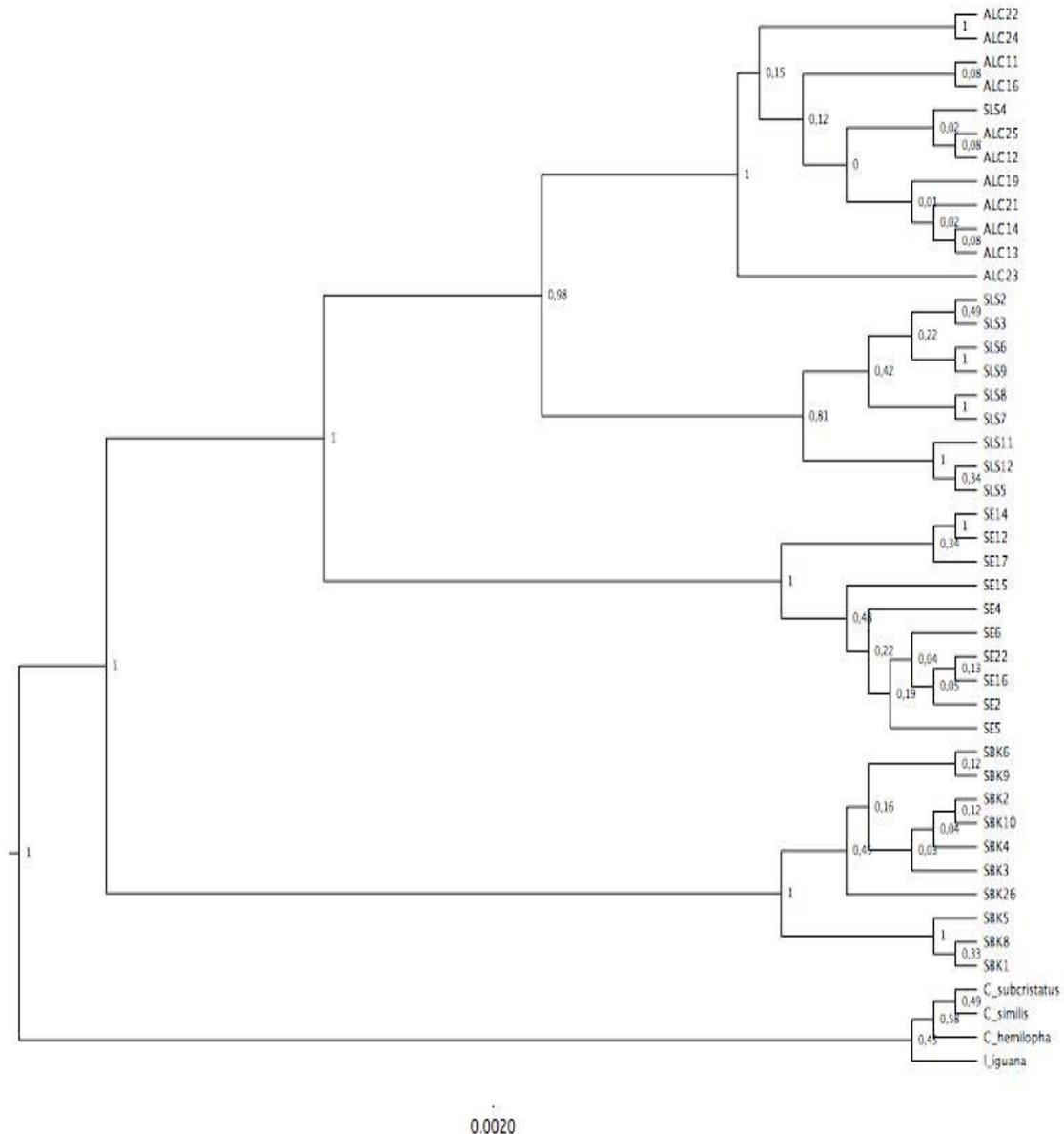


Figura 15 Árbol de inferencia bayesiana con el gen *cyt b*.

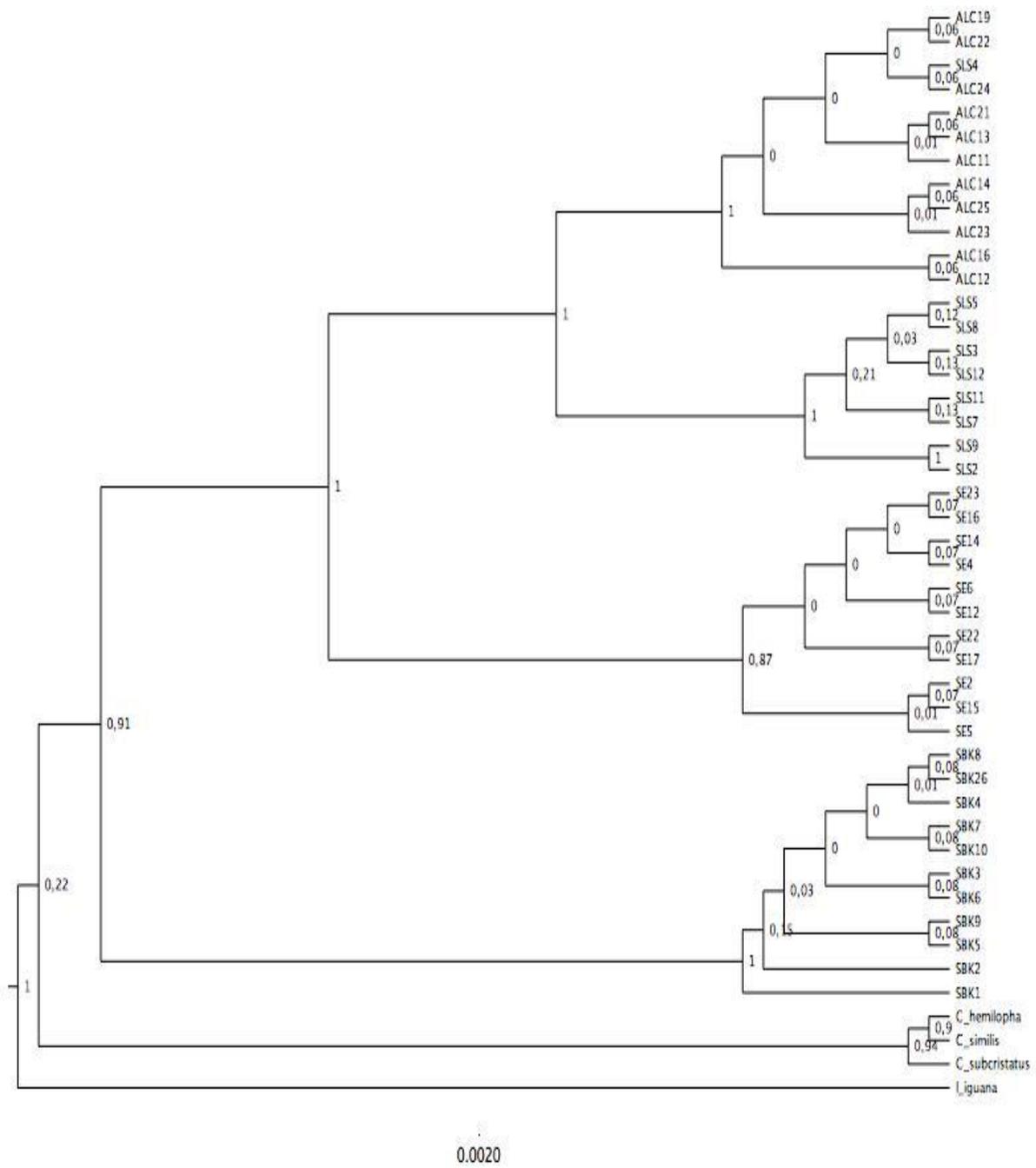


Figura 16 Árbol de inferencia bayesiana con el gen *ND4*.

El reloj molecular arrojó un tiempo de divergencia estimado del género *Sauromalus* de aproximadamente 8.93 Ma. Dentro del género, *S. ater* se separó del resto de las especies hace aproximadamente 4.05 Ma. Las otras especies divergieron más recientemente. Se estimó que hace 1.84 Ma *S. varius* de isla San Esteban divergió de *S. hispidus* y de la población de isla Alcatraz. Por último, se encontró que *S. hispidus* y la población de isla Alcatraz son las más cercanas con un tiempo estimado de divergencia aproximado de 1.07 Ma (Figura 17).

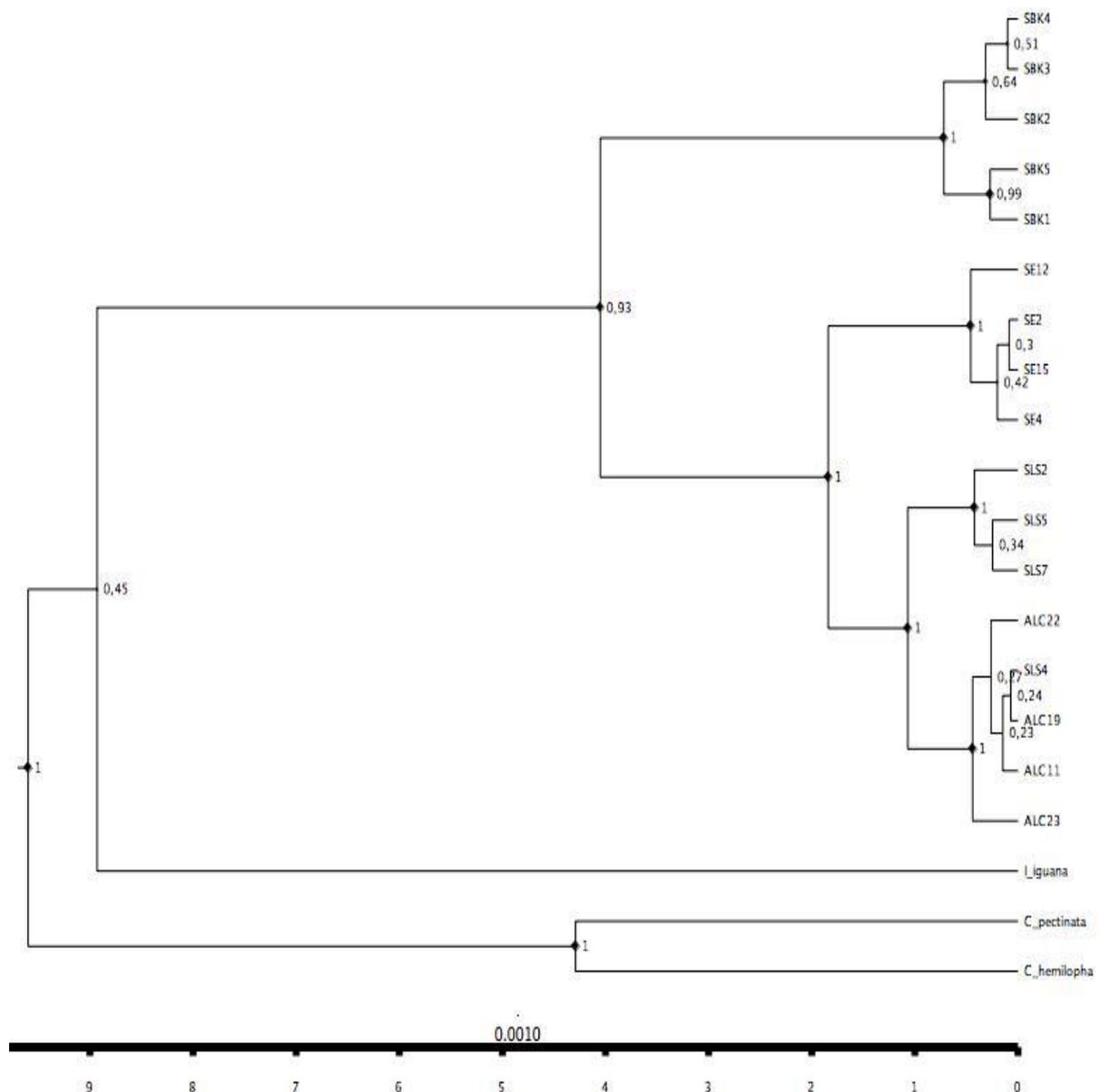


Figura 17 Cronograma de las especies *Sauromalus ater*, *S. varius*, *S. hispidus* y la población de Alcatraz. Los valores en los nodos indican la probabilidad posterior de cada clado.

Microsatélites

Diversidad genética

El análisis en Micro-checker sugirió presencia de alelos nulos en todos los loci debido a la alta proporción de homócigos encontrados. Esta alta proporción de homócigos es esperada en poblaciones insulares debido a factores como el efecto fundador y la endogamia. Únicamente se encontraron dos loci en equilibrio de Hardy-Weinberg en todas las poblaciones, el resto de ellos se encontraron fuera del equilibrio en al menos una población (Tabla 8).

En cuanto a los resultados globales en relación al equilibrio de Hardy-Weinberg se encontró que las poblaciones de Alcatraz ($P=0.014^*$), San Esteban ($P=0.0063^*$) y Bahía Kino ($P=0.00^*$) se encuentran fuera del equilibrio por exceso de homócigos en los loci Sauro 18A4 en Alcatraz y San Esteban, y por exceso de heterócigos en San Lorenzo. Los loci Sauro 2A5, Sauro 13B12, Sauro 7A9, y Sauro 9B10 también se encontraron fuera del equilibrio por exceso de homócigos en las poblaciones de Alcatraz, San Esteban y Bahía Kino.

Se detectó desequilibrio de ligamiento significativo entre Sauro 2A5 y 7A9 ($P=0.059^*$) y entre Sauro 13B12 y 10H2 ($P=$ altamente significativo), lo que sugiere que están asociados estos dos pares de loci. Esto como resultado del efecto de la deriva génica en poblaciones insulares donde los tamaños poblaciones no pueden ser muy grandes, o bien a que estos dos pares de loci están cercanos en el cromosoma.

Tabla 8 Valores de P de los siete microsatélites indicando si se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. $P<0.05$ valor significativo *.

	<i>Alcatraz</i>	<i>San Lorenzo</i>	<i>San Esteban</i>	<i>Bahía Kino</i>
<i>Sauro 18A4</i>	0.032*	0.005*	0.0329*	0.0797
<i>Sauro 2F5</i>	0.1691	1.00	-	0.6271
<i>Sauro 2A5</i>	0.1198	0.2198	0.0003*	0.2434
<i>Sauro 13B12</i>	1.00	1.00	1.00	0.018*
<i>Sauro 7A9</i>	0.8547	0.6246	0.198	0.00*
<i>Sauro 9B10</i>	0.015*	-	-	0.00*
<i>Sauro 10H2</i>	1.00	1.00	1.00	0.6992

En general se encontraron niveles bajos de diversidad genética (Tabla 9), comparado con otras iguanas (Tabla 10), siendo la población continental (Bahía Kino) la que presenta los valores más altos.

Tabla 9 Resumen de los estadísticos de diversidad genética para *S. varius*, *S. hispidus* y *S. obesus*. *N*, número de muestras; *A*, número promedio de alelos; *AR*, riqueza alélica esperada para 27 individuos; *AP*, número de alelos privados; *Ho*, heterocigosis observada; *He*, heterocigosis esperada; *Fis*, medida de desviación de las proporciones H-W en una subpoblación (endogamia); *P*, valor de significancia ($P < 0.05^*$); \pm , desviación estándar.

<i>Población</i>	<i>N</i>	<i>A</i>	<i>AR</i>	<i>AP</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis (P)</i>
Alcatraz	30	3.0 \pm 0.816	2.94 \pm 0.848	0	0.2814 \pm 0.2563	0.2619 \pm 0.1893	-0.026 (0.517)
San Lorenzo	30	2.83 \pm 1.33	2.54 \pm 1.443	2	0.3115 \pm 0.3281	0.2757 \pm 0.2687	-0.066 (0.566)
San Esteban	30	3.0 \pm 0.707	2.4 \pm 1.103	2	0.1963 \pm 0.077	0.2771 \pm 0.143	0.124 (0.098)
Bahía Kino	30	4.143 \pm 1.069	4.1 \pm 1.058	14	0.399 \pm 0.2597	0.5448 \pm 0.1641	-0.115 (0.878)

Tres de las poblaciones presentaron alelos privados. Bahía Kino presentó la mayor cantidad de alelos privados, lo que indica una mayor diversidad en esta población con flujo génico limitado. La población de Alcatraz es la única que carece de alelos privados.

En lo que respecta al estadístico F_{is} , se encontraron valores negativos en tres de las poblaciones, lo que indicaría un exceso de heterócigos. Por el contrario, la población de San Esteban mostró un valor positivo, indicando un exceso de homócigos. Sin embargo, ninguno de los valores fue significativo ($p > 0.05$).

Tabla 10 Niveles de diversidad genética en otras iguanas. *Ho*, heterocigosis observada; *He*, heterocigosis esperada; *AR*, riqueza alélica; *D*, índice normal de Shannon-Weaver de diversidad genética; π , diversidad nucleotídica; *G*, diversidad genotípica.

<i>Especie</i>	<i>Diversidad genética</i>	<i>Tamaño de muestra Poblaciones individuos totales</i>	<i>Marcador molecular utilizado</i>	<i>Referencia</i>
<i>Amblyrhynchus cristatus</i>	<i>Ho</i> = 0.37 – 0.87	22 228	SSRs	Rassman <i>et al.</i> 1997
<i>Conolophus subcristatus</i>	<i>Ho</i> = 0.47 <i>AR</i> = 7.64 <i>He</i> = 0.77	6 702	SSRs	Tzika <i>et al.</i> 2008
<i>C. subcristatus</i> (amarilla)	<i>Ho</i> = 0.67 <i>AR</i> = 6.29 (\pm 2.46)	2 42	SSRs	Gentile <i>et al.</i> 2009
<i>C. subcristatus</i> (rosada)	<i>Ho</i> = 0.38 <i>AR</i> = 3.78 (\pm 2.22)	1 15	SSRs	Gentile <i>et al.</i> 2009
<i>Dipsosaurus dorsalis</i>	<i>G</i> = 0.950	37 13	Enzimas de restricción (mtDNA)	Lamb <i>et al.</i> 1992
<i>Sauromalus ater</i>	<i>G</i> = 0.976	51 25	Enzimas de restricción (mtDNA)	Lamb <i>et al.</i> 1992
<i>Ctenosaura pectinata</i>	<i>Ho</i> = 0.757 <i>He</i> = 0.633	1 20	SSRs	Santos – Hernández (datos no publicados)
<i>C. similis</i>	<i>Ho</i> = 0.83 <i>He</i> = 0.626	1 20	SSRs	Santos – Hernández (datos no publicados)
<i>C. oxacana</i>	<i>Ho</i> = 0.45 <i>He</i> = 0.409	1 20	SSRs	Santos – Hernández (datos no publicados)

Estructura genética

Los valores de F_{st} y R_{st} son concordantes y muestran que existe una diferencia significativa entre las poblaciones, siendo mayor entre la población de Alcatraz y San Lorenzo. Por el contrario, el valor es muy bajo entre la población de Alcatraz y San Esteban. Aunque también muestra diferencias significativas, este valor tan bajo podría indicar que ambas poblaciones representan una misma especie (Tabla 11).

Tabla 11 Valores pareados de F_{st} y R_{st} entre todas las poblaciones analizadas. Los valores de F_{st} se muestran por debajo de la diagonal y los valores de R_{st} por arriba de la diagonal. * Valores significativos ($P < 0.05$).

	<i>Alcatraz</i>	<i>San Lorenzo</i>	<i>San Esteban</i>	<i>Bahía Kino</i>
<i>Alcatraz</i>	-	0.733*	0.064*	0.529*
<i>San Lorenzo</i>	0.607*	-	0.789*	0.472*
<i>San Esteban</i>	0.085*	0.619*	-	0.597*
<i>Bahía Kino</i>	0.556*	0.588*	0.589*	-

Se encontró un número de migrantes efectivos de 0.155 después de la corrección de tamaño realizada por Genepop tomando en cuenta todas las poblaciones, lo que indica un flujo génico muy bajo. En el caso de los resultados del flujo génico (Nm) entre poblaciones también se encontraron valores bajos para todos los casos, excepto entre Alcatraz y San Esteban, en donde se encontraron valores superiores a la unidad utilizando los estadísticos F_{st} y R_{st} de diferenciación genética para estimarlo. Debido a que se trata de poblaciones aisladas, los valores altos encontrados no indican que exista un flujo génico entre ellas en la actualidad, sino que una población podría ser derivada de la otra (Tabla 12).

Tabla 12 Valores de Nm pareados obtenidos a partir de los estadísticos F_{st} (debajo de la diagonal) y R_{st} (arriba de la diagonal).

	<i>Alcatraz</i>	<i>San Lorenzo</i>	<i>San Esteban</i>	<i>Bahía Kino</i>
<i>Alcatraz</i>	-	0.0909	3.6563	0.2228
<i>San Lorenzo</i>	0.1619	-	0.0669	0.2802
<i>San Esteban</i>	2.6912	0.1539	-	0.1688
<i>Bahía Kino</i>	0.1996	0.1752	0.1744	-

Con el programa SPAGeDi se encontró que $R_{st} = 0.626 > F_{st} = 0.531$ ($p = 0.125$), lo que indica que los tamaños alélicos no están contribuyendo a la diferenciación genética en las poblaciones, y por lo tanto no se detecta una señal filogeográfica con estos marcadores.

La prueba de Mantel con ambos estadísticos (F_{st} y R_{st}) mostró una relación negativa débil pero no significativa entre las distancias genéticas y las distancias geográficas ($r = -0.0421$, $p = 0.3710$; $r = -0.0964$, $p = 0.3820$, respectivamente) (Figura 18).

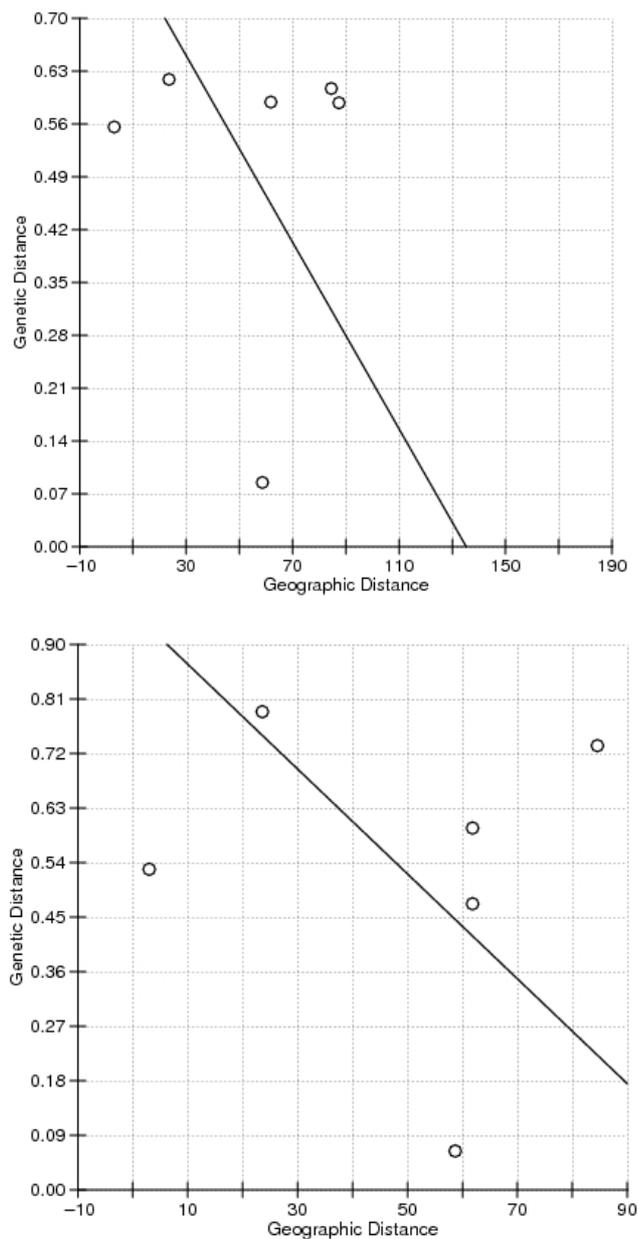


Figura 18 Correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas de las cuatro poblaciones (a) con el estadístico F_{st} y, (b) con el estadístico R_{st} .

De igual forma, se realizó una regresión lineal entre la heterocigosis encontrada en cada población y el tamaño del área donde habitan para ver si existe una relación entre estas dos variables (Figura 19). Se obtuvo una pendiente de la recta ($y = 0.0012x$) y un coeficiente de correlación (R^2) de 0.104, lo que indica que no existe una relación directa entre los niveles de heterocigosis y el tamaño del área donde habitan las poblaciones estudiadas.

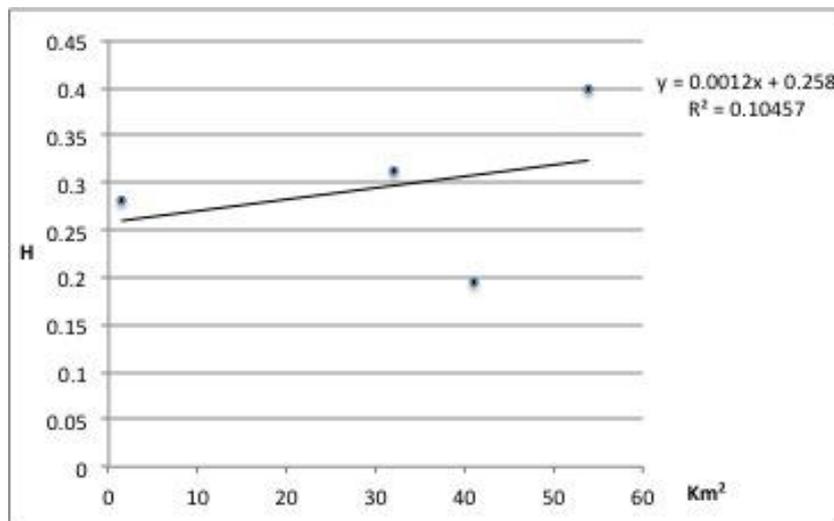


Figura 19 Regresión lineal entre la heterocigosis encontrada en cada población analizada y la superficie total de cada isla (Alcatraz = 1.44 Km², San Lorenzo = 32 Km² y San Esteban = 41 Km²) y de un polígono en Bahía Kino, Sonora (53.92 Km²).

Se estimaron los tamaños efectivos (N_e) por población obteniendo el tamaño más pequeño en la población de Alcatraz y el tamaño más grande en Bahía Kino (Tabla 13).

Tabla 13 Tamaños efectivos (N_e) estimados para las poblaciones de Alcatraz, San Lorenzo (*S. hispidus*), San Esteban (*S. varius*) y Bahía Kino (*S. ater*) mediante el método de desequilibrio de ligamiento. Los valores máximos y mínimos se calcularon con el método paramétrico del 95 % de intervalos de confianza. ∞ , tamaño infinito.

	<i>Alcatraz</i>	<i>San Lorenzo</i>	<i>San Esteban</i>	<i>Bahía Kino</i>
<i>Ne estimado</i>	2.6	18.3	8.7	27.5
<i>Valor máximo</i>	6.5	∞	45.9	131.1
<i>Valor mínimo</i>	1.6	3.6	2.1	12.4

De acuerdo con los resultados de los análisis AMOVA el mayor porcentaje de variación (61.04% entre grupos) se explica cuando se agrupan las poblaciones de Alcatraz y San Esteban, quedando independientes San Lorenzo y Bahía Kino. Por el contrario, cuando se agrupan las poblaciones isleñas y se separan de la población continental, este porcentaje de variación entre grupos disminuye a un 30.34% y la variación se reparte con porcentajes similares en variación dentro de los individuos (33.73%) y entre poblaciones dentro de los grupos (33.83%). Estos resultados indican que existe una estructura poblacional en la cual las poblaciones de Bahía Kino y San Lorenzo son independientes, mientras que Alcatraz y San Esteban se mantienen unidas por flujo génico (Tabla 14).

Tabla 14 Resultados de los análisis AMOVA cuando (a) se agrupan todas las islas y Bahía Kino queda independiente, y (b) se agrupan Alcatraz y San Esteban; Bahía Kino y San Lorenzo independientes. En negritas se resaltan los valores de variación más altos.

<i>Fuente de variación</i>	<i>Entre grupos</i>	<i>Entre poblaciones dentro de los grupos</i>	<i>Entre individuos dentro de las poblaciones</i>	<i>Dentro de los individuos</i>
<i>Suma de cuadrados</i>	4202.799	3621.922	3852.483	3545.500
(a) <i>Componentes de variación</i>	26.576	29.629	1.833	29.546
<i>Variación (%)</i>	30.34	33.83	2.09	33.73
<i>Suma de cuadrados</i>	7807.61	82.322	3930.269	3545.500
(b) <i>Componentes de variación</i>	51.479	0.797	2.229	29.834
<i>Variación (%)</i>	61.038	0.945	2.643	35.374

Por último, en los análisis de *Structure* se encontró un valor ΔK que sugiere un número de clusters = 3 (Figura 13a), agrupando en un mismo cluster a los individuos de Alcatraz y San Esteban, otro cluster compuesto por los individuos de San Lorenzo, y el último por Bahía Kino (Figura 20).

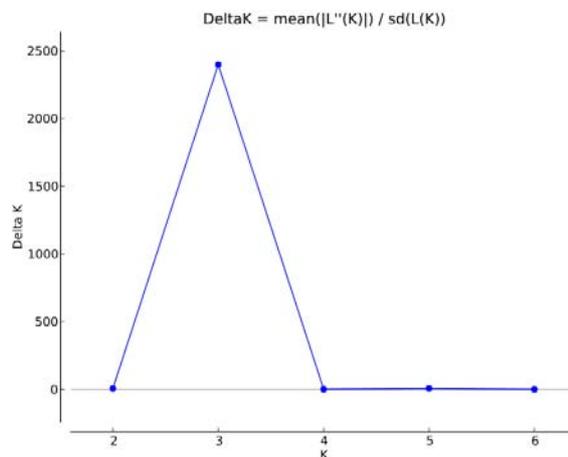


Figura 20 Gráfica de Delta K en donde se sugiere un valor de K=3

Hibridación

Se obtuvieron los promedios de los valores Q de las poblaciones de San Esteban, San Lorenzo y Bahía Kino tomando el valor más pequeño como límite para considerar un individuo como puro en la población de Alcatraz. Tomando esto como base, se lograron identificar dos individuos con ancestría mixta en Alcatraz (ALC9 y ALC19) (Apéndices 2a y 2b), dos individuos en San Lorenzo (SLS20 y SLS21) (Apéndices 2d y 2e), cuatro individuos en San Esteban (SE1, SE5, SE16 y SE18) (Apéndices 2f, 2g, 2h y 2i) y un individuo en Bahía Kino (SBK26) (Apéndice 2j), todos con valores Q menores a los promedios previamente obtenidos (Figura 21) (Tabla 15).

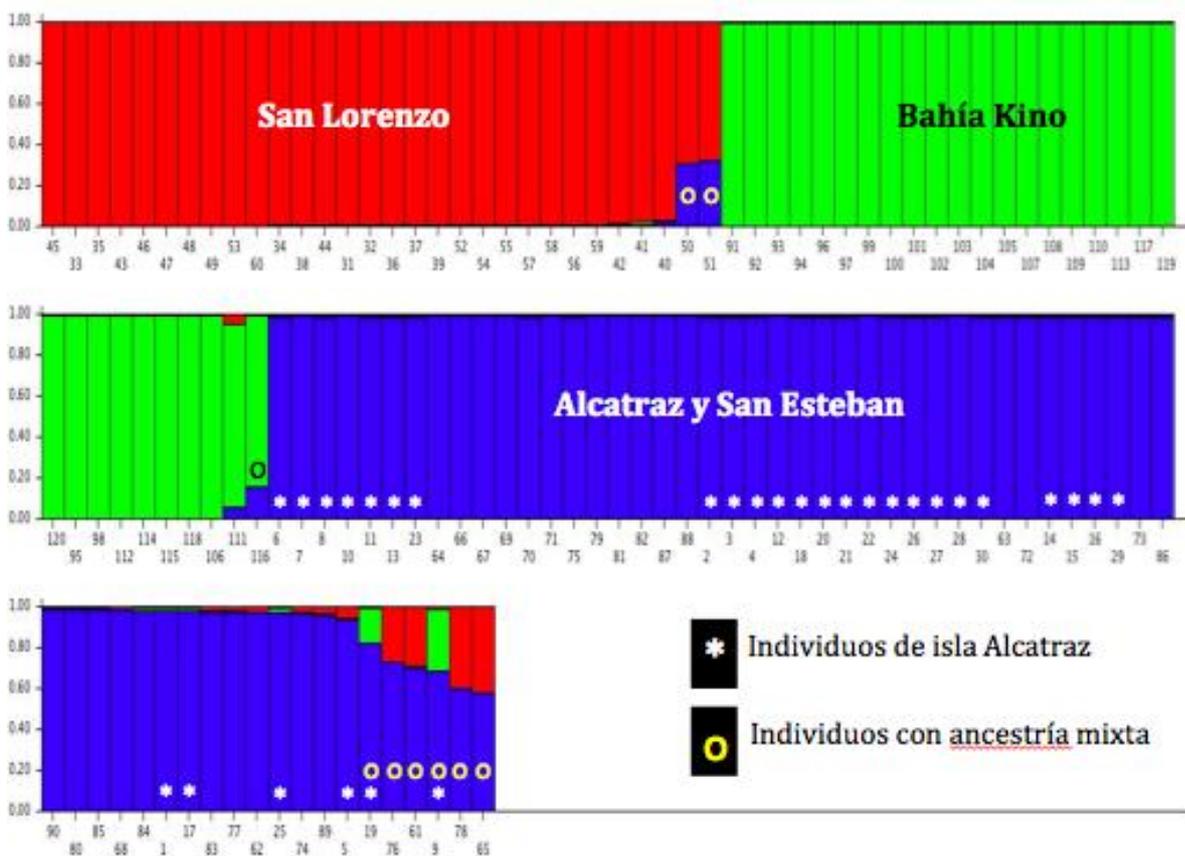


Figura 21 Barplot de Structure en donde se observa que los individuos de isla Alcatraz y San Esteban se agrupan en un mismo cluster, separados de los individuos de San Lorenzo y Bahía Kino. También se observan los individuos que presentan ancestría mixta.

Los individuos detectados de la población de Alcatraz muestran ancestría mixta de *S. ater* y *S. varius*, los individuos de San Lorenzo y San Esteban de *S. hispidus* y *S. varius*, mientras que el individuo detectado en Bahía Kino la muestra entre *S. ater* y *S. varius*.

Tabla 15 Valores Q de los individuos con ancestría mixta.

<i>Individuo</i>	<i>Valor Q</i>		
	<i>Cluster 1</i> <i>(S. hispidus)</i>	<i>Cluster 2</i> <i>(S. ater)</i>	<i>Cluster 3</i> <i>(S. varius)</i>
ALC9	-	0.3	0.693
ALC19	-	0.17	0.826
SLS20	0.689	-	0.308
SLS21	0.672	-	0.325
SE1	0.29	-	0.706
SE5	0.417	-	0.58
SE16	0.266	-	0.731
SE18	0.394	-	0.602
SBK26	-	0.837	0.160

DISCUSIÓN

La variación genética es el material necesario para que se dé un cambio evolutivo, pues es la variación la que permite que las poblaciones puedan responder ante cualquier cambio ambiental y puedan adaptarse (Frankham, 1997). Las poblaciones de *Sauromalus*, al ser especies endémicas de islas, son más susceptibles a cualquier evento estocástico que pueda modificar todo su entorno, por lo que es importante analizar sus niveles de variación genética para poder determinar su capacidad de respuesta.

Diversidad genética

En general, tanto los genes mitocondriales como los microsatélites mostraron bajos niveles de diversidad genética, comparada con valores encontrados en otras poblaciones de iguanas. Esta baja diversidad encontrada coincide con la baja diversidad microsatelital reportada por McAliley *et al.* (2006) para una población de *S. varius* en cautiverio del Museo del Desierto de Arizona-Sonora, con valores de H_o de 0.07 para Sauro 7A9 hasta 0.30 para Sauro 18A4. Sin embargo, en algunos loci se encontraron más alelos de los reportados (Apéndice 3) Asimismo, Brodie *et al.* (2003) encontraron niveles muy bajos de diversidad mitocondrial a nivel intrapoblacional en un estudio realizado con *S. ater* en Nevada, mencionando que encontraron una diferencia no mayor a tres pares de bases (pb) en los genes mitocondriales *cyt b* y región control, dentro de las poblaciones.

La baja diversidad encontrada en las poblaciones isleñas es de esperarse, pues éstas tienden a tener una pérdida de variación genética por el efecto fundador, además de que, después de fundarse, se espera que su tamaño poblacional se mantenga relativamente pequeño en áreas pequeñas, en comparación con el de una población continental (Frankham, 1997). Sin embargo, en comparación con otras iguanas isleñas, los valores de diversidad genética de las poblaciones de *Sauromalus* son bajos. Rassmann *et al.* (1997), también analizando microsatélites, encontraron niveles de heterocigosis muy superiores en poblaciones de la iguana marina *Amblyrhynchus cristatus* que habita en las islas Galápagos, siendo la menor de 0.37 ± 0.03 , hasta 0.87 ± 0.07 . Asimismo, Tzika *et al.* (2008) encontraron niveles ligeramente superiores a los de *Sauromalus* en las iguanas del género *Conolophus* de las islas Galápagos. Una de sus poblaciones mostró niveles bajos de heterocigosis con 0.13, y otras de hasta 0.70. Los

niveles más altos de diversidad genética en *A. cristatus* podrían atribuirse a que, al ser una iguana marina, tiene una mayor posibilidad de movimiento y flujo génico entre las distintas poblaciones, lo que ayudaría a aumentar sus niveles de diversidad genética al introducirse alelos nuevos de manera constante (Hedrick, 2011). Además estas iguanas tienen tamaños poblacionales que van desde los 5,000 a los 10,000 individuos, llegando hasta 20,000 en algunas poblaciones (Rassman *et al.* 1997). Por su parte, la alta diversidad genética encontrada en las iguanas del género *Conolophus* en algunas islas se debe a que en el caso de isla Fernandina, esta no ha sido expuesta a niveles significativos de depredación, como otras islas en donde incluso han llegado a la extinción y por lo que se han tenido que implementar programas de reintroducción. En el caso de isla Isabela, se menciona que se debe a que posiblemente exista una estructura poblacional no detectada (Tzika *et al.* 2008).

En cuanto al efecto del tamaño de área en la diversidad genética, se espera que áreas más grandes, alberguen un mayor número de individuos y por lo tanto, la diversidad genética sea mayor. Aunque el tamaño de las islas aquí estudiadas varía considerablemente, siendo Alcatraz la más pequeña con 1.44 km², y San Esteban (41 km²) y San Lorenzo (32 km²) más grandes, estos tamaños siguen siendo pequeños, lo que podría favorecer la baja diversidad genética al no albergar tantos individuos, aún cuando el tamaño poblacional no se conoce. El análisis de regresión lineal entre la heterocigosis encontrada y el área de las islas muestra que la variación no está directamente relacionada con el tamaño de las islas, puesto que San Esteban, aunque es la isla más grande, mostró los niveles de variación genética más bajos. Por el contrario, Rassman *et al.* (1997) encontraron niveles superiores de variación genética en islas con menor área, pero miles de individuos de la iguana marina *A. cristatus*, por lo que se puede concluir que más que el tamaño del área, lo que influye directamente en la diversidad genética son los tamaños poblacionales.

Para las iguanas *Sauromalus* las áreas de distribución pequeñas y tamaños poblacionales reducidos pueden ser la causa de la baja diversidad encontrada. Sin embargo, también se encontró una baja diversidad en la población continental de *S. ater*. Esto pudiera sugerir que aunado a estos dos factores, las características de historia de vida, como una madurez retrasada, alta tasa de supervivencia de los adultos y una baja tasa anual de reproducción (Brodie *et al.* 2003) también pudieran estar influyendo.

Además, estas iguanas tienen baja movilidad, lo que limita el flujo génico entre poblaciones. Por último, mecanismos y fuerzas evolutivas como el efecto fundador y la deriva génica también podrían estar actuando sobre estas poblaciones favoreciendo su baja diversidad, pues se encontraron loci monomórficos en algunas de las poblaciones, es decir, que hay poblaciones con alelos fijados posiblemente producto de estos mecanismos. También es importante mencionar que, aunque los niveles de diversidad genética encontrados fueron bajos, no se detectó endogamia en las poblaciones, pues ninguno de los valores del estadístico F_{is} fue significativo. Sin embargo, al no existir una fuente de variación externa mediante flujo génico entre las poblaciones, es muy probable que éstas empiecen a tener señales de endogamia en poco tiempo.

Estructura genética

Tanto los estadísticos F_{st} , G_{st} y N_{st} calculados con los genes mitocondriales, como F_{st} y R_{st} calculados con los microsatélites muestran una gran diferenciación genética entre las poblaciones, aunque difieren en cuanto a las poblaciones con mayor y menor diferenciación. En el caso de los genes mitocondriales, estos muestran que la menor diferenciación se encuentra entre las poblaciones de Alcatraz y San Lorenzo, contrastando con lo arrojado por los microsatélites en donde la menor diferenciación se encuentra entre Alcatraz y San Esteban. En el caso de Alcatraz y San Esteban, en donde se presentó el valor más alto de diferenciación genética posible con *ND4*, se explica debido a que ambas poblaciones no presentaron variación genética y todos los individuos representantes resultaron ser de un haplotipo exclusivo y diferente para cada población. Esta baja variación encontrada con los genes mitocondriales puede deberse a que el ADN mitocondrial es cuatro veces más sensible a cambios estocásticos en la demografía poblacional (DeSalle *et al.* 1987), por lo que, por ser de herencia uniparental, fluctuaciones en los tamaños poblacionales de hembras, como el efecto fundador durante la colonización de nuevas islas, pueden influir en la evolución del pool genético mitocondrial con mayor fuerza que el nuclear (Rassman *et al.* 1997). La mitocondria tiene funciones celulares vitales para los animales, por lo que se esperaría que fuera muy conservada. Sin embargo, se ha encontrado que el ADN mitocondrial presenta tasas de evolución inusualmente rápidas. Pares de especies que muestran poca

divergencia en secuencias nucleares, muestran una alta divergencia en secuencias mitocondriales (Brown *et al.* 1979). Lo que podría explicar que se hayan encontrado haplotipos exclusivos para cada población analizada, y específicamente, haplotipos diferentes en San Esteban e isla Alcatraz.

Con ambos marcadores mitocondriales, tanto las redes de haplotipos como los árboles de inferencia bayesiana muestran una fuerte estructura en las poblaciones, lo que es de esperarse, pues se trata de especies distintas. En las redes se puede observar que casi todos los haplotipos mitocondriales son exclusivos de alguna de las poblaciones, esto como consecuencia del aislamiento geográfico, compartiendo sólo un haplotipo la población de Alcatraz con San Lorenzo. En los árboles también se observa que cada población está agrupada en un clado diferente, contrario a los resultados arrojados por los microsátélites, en donde se observa claramente que la población de Alcatraz y San Esteban corresponden a la misma población, de acuerdo a los análisis de asignación de individuos. Esto puede deberse a que la molécula de ADN mitocondrial puede mostrar diferencias poblacionales en tiempos relativamente cortos, consecuencia del tamaño efecto de los genomas mitocondriales que es menor al nuclear, ocasionando que los genes deriven de manera más rápida (Kocher *et al.* 1989).

Con el análisis de aislamiento por distancia se encontró que los genes más parecidos no son los más cercanos geográficamente, por lo que las diferencias encontradas en las poblaciones se deba a que el flujo génico es limitado así como por efecto de la deriva génica, la cual también puede ser la causa de la fijación de los haplotipos mitocondriales en las distintas poblaciones. Aunado a esto, el reloj molecular mostró un tiempo estimado de divergencia entre las especies mayor a 1 Ma, tiempo suficiente para que el ADN mitocondrial pueda evolucionar de manera independiente en cada población.

Aunque no se encontró relación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas, sí se detectó señal filogeográfica al comparar los valores G_{st} y N_{st} . El estimado G_{st} utiliza únicamente las frecuencias alélicas para medir diferenciación entre poblaciones, mientras que N_{st} también toma en cuenta las similitudes entre los haplotipos, por lo que al encontrarse un valor mayor de N_{st} es un indicador de una estructura filogeográfica en las poblaciones. Sin embargo, esta diferenciación entre los

estimados también puede deberse a diferente efecto de las tasas de mutación o a artefactos del muestreo (Pons y Petit, 1996).

En lo que respecta a los datos microsatelitales nucleares, también se observa una fuerte estructura. Los resultados de los análisis de varianza y de asignación de individuos muestran que los individuos se agrupan claramente en tres poblaciones: San Lorenzo, Bahía Kino y Alcatraz-San Esteban. Los microsatélites, al ser marcadores nucleares, son de herencia biparental, y al tener altas tasas de mutación, puede dar información sobre la historia reciente de las poblaciones. Cuando se encuentran altos valores de flujo génico sugiere un intercambio genético reciente entre las poblaciones (Rassmant *et al.* 1989). En este caso, el hecho de agruparse juntas las poblaciones de Alcatraz y San Esteban, sugiere que la población de San Esteban proviene de Alcatraz, puesto que en Alcatraz es donde se encontró más variación, contrario a la hipótesis planteada por Grismer (2002), en donde propone que por la cercanía geográfica de Alcatraz con Bahía Kino, la especie fundadora de esta isla es *S. ater*. Tanto los marcadores mitocondriales como los microsatélites rechazan esta hipótesis al encontrarse diferencias y distancias genéticas significativas entre la población de Bahía Kino y Alcatraz. El hecho de que las dos poblaciones no compartan haplotipos mitocondriales, puede sugerir que la población fue fundada por pocas hembras, lo cual en conjunto con las características de la molécula mitocondrial antes mencionadas derivó en un solo haplotipo diferente al de la población fuente, sumado al efecto de la deriva génica, el cual en poblaciones pequeñas es más fuerte.

Con los microsatélites nucleares tampoco se detectó aislamiento por distancia ni señal filogeográfica, pues la comparación entre los estadísticos F_{st} y R_{st} no fueron diferentes significativamente, lo que indica que los alelos más relacionados no se encuentran dentro de cada población y que los tamaños alélicos no están contribuyendo a la diferenciación genética (Hardy y Vekemans, 2002).

Un factor principal responsable de la tasa de pérdida de diversidad genética, así como la tasa de incremento de endogamia y deriva génica en una población biológica es el tamaño efectivo de una población (N_e), por lo que recientemente su estimación se ha convertido en un parámetro en los estudios de genética de poblaciones de especies amenazadas (Charlesworth, 2009). En isla Alcatraz se encontró el tamaño efectivo más

pequeño, mientras que en Bahía Kino se encontró el tamaño efectivo más grande, concordante con los niveles de variación genética encontrados en ambas poblaciones.

Flujo génico e hibridación

Como lo sugieren los altos niveles de diferenciación genética entre las poblaciones, el flujo génico calculado entre estas es mínimo. Con los genes mitocondriales el valor más alto de flujo génico se obtuvo entre Alcatraz y San Lorenzo, sin embargo, no es tan elevado como el encontrado con los microsatélites entre Alcatraz y San Esteban. Estos valores tan bajos encontrados sugieren que las poblaciones han evolucionado de manera aislada, manteniendo mínimo contacto posiblemente producto de translocaciones deliberadas, práctica común de los Comcaác (Seris) quienes translocaban deliberadamente iguanas y otras especies de reptiles para su consumo (Nabhan, 2002; Murphy y Aguirre-León, 2002, Davy *et al.* 2011).

Se encontró un número bajo de individuos híbridos en la población de Alcatraz, opuesto a la hipótesis planteada desde 1972 (Robinson, 1972; Hollingsworth, 1998; Grismer, 2002), que sugiere que toda la población es híbrida. En Alcatraz se detectaron dos individuos con ancestría mixta de *S. ater* y *S. varius*. Estos individuos pueden ser resultado de las translocaciones deliberadas por los Seris o de translocaciones recientes por pescadores, aunque su baja frecuencia y debido a la cercanía geográfica de isla Alcatraz con Bahía Kino y con isla Tiburón, localidades en donde se distribuye *S. ater*, los individuos detectados podrían ser producto de translocaciones fortuitas. Recientemente se ha observado que cuando hay tormentas, las iguanas llegan a viajar en troncos translocándose de una localidad a otra (Jesús Ventura, CONANP, pers. com.)

También se detectaron individuos con ancestría mixta en las otras tres poblaciones, dos en San Lorenzo, uno en Bahía Kino, y cuatro en San Esteban. Los híbridos encontrados en San Lorenzo y San Esteban muestran ancestría mixta de *S. hispidus* y *S. varius*, mientras que el individuo detectado en Bahía Kino involucra a *S. ater* y *S. varius*. En todas las poblaciones la frecuencia de este tipo de individuos es baja, lo que sugiere que son producto de las translocaciones fortuitas antes mencionadas.

Con los marcadores mitocondriales se detectó un haplotipo de San Lorenzo fuera de su rango de distribución, en isla Alcatraz. Aunque con los análisis microsatelitales no se detectó ese individuo como híbrido, ambos genes mitocondriales muestran el mismo

patrón, lo que se interpreta como una señal de hibridación (Franch *et al.* 2000). Sin embargo, morfológicamente no difiere de *S. hispidus* puros (Apéndice 2c).

La dirección de la hibridación puede ser inferida por la presencia o frecuencia de individuos híbridos con genotipos más similares a una de las especies parentales (Smith *et al.* 2013). Cuando los individuos muestran una proporción genética mayor de una especie, generalmente más parecidos a la especie más abundante en la zona, que de otra, se consideran como híbridos de última generación y retrocruzamientos. En este caso, de acuerdo con los valores de Q encontrados es posible observar que casi todos los individuos presentan este patrón, pues muestran una proporción genética mayor de la especie más abundante en su zona (Apéndice 2). Sólo un individuo de San Lorenzo (Apéndice 2e) muestra proporciones genéticas similares de las dos especies involucradas, lo que sugiere que es un híbrido de primera generación (Smith *et al.* 2013).

Debido a la herencia materna de la mitocondria, al hacer uso de marcadores mitocondriales, es posible explorar si la hibridación involucra combinaciones particulares de género en las especies (Hoskin *et al.* 2005). Analizando qué haplotipo mitocondrial tienen los individuos híbridos, el haplotipo encontrado sugiere que las hembras de esa especie son las madres de los híbridos (Smith *et al.* 2013). De los individuos híbridos detectados con microsatélites que pudieron ser analizados con los marcadores mitocondriales se encontró que la madre es la especie más abundante en la zona en donde se encuentran. En el caso de Alcatraz y San Esteban, las madres son hembras de *S. varius*. En el caso del individuo de Bahía Kino, la madre es una hembra *S. ater*. Únicamente el individuo híbrido detectado con los marcadores mitocondriales (SLS4) sugiere que la madre es una hembra *S. varius*, especie no distribuida en San Lorenzo, aunque los datos microsatelitales no sugieren ningún tipo de introgresión (Apéndice 2c).

Por último, en lo que respecta a las características morfológicas de los individuos híbridos se observó que ninguno muestra signos evidentes de hibridación, pues casi todos son morfológicamente similares a la especie más abundante de la zona (Apéndice 2).. Sólo un individuo de San Lorenzo mostró un patrón de coloración diferente al del resto (Apéndice 2c). El resto muestran las características morfológicas de la especie de

la que presentan la mayor proporción genética. Por esta razón es importante evaluar este fenómeno con marcadores genéticos, pues nos permiten detectar introgresión en poblaciones en donde la morfología no lo sugiere.

CONCLUSIONES

- Las poblaciones de *Sauromalus* analizadas mostraron niveles bajos de diversidad genética con ambos marcadores genéticos, siendo las poblaciones con los valores más altos San Lorenzo y Bahía Kino.
- Tanto los marcadores mitocondriales como los microsatélites nucleares mostraron una estructura genética definida, resultado del aislamiento geográfico en el que se encuentran.
- Los análisis de inferencia bayesiana con los genes mitocondriales soportan la estructura genética encontrada, separando a las cuatro poblaciones con su propio pool genético mitocondrial.
- El reloj molecular sugiere que las especies *S. ater*, *S. varius* y *S. hispidus* divergieron hace aproximadamente 4 Ma.
- Los análisis de estructura poblacional microsatelital (AMOVA) y de asignación bayesiana de individuos reconocen únicamente tres poblaciones, sugiriendo que los individuos de Alcatraz corresponden a la misma especie de San Esteban, es decir, *S. varius*.
- Se detectó una fuerte señal filogeográfica con los marcadores mitocondriales, pero no así con los marcadores nucleares.
- Los valores Q arrojados por el análisis de *Structure* detectaron únicamente dos individuos con ancestría mixta en la población de Alcatraz, involucrando a las especies *S. varius* y *S. ater*. Los resultados sugieren que el resto de la población está compuesta principalmente por la especie *S. varius*.
- Con los datos microsatelitales se detectaron individuos con ancestría mixta en el resto de las poblaciones analizadas, encontrándose el mayor número, cuatro, en San Esteban, dos en San Lorenzo y uno en Bahía Kino.

- La mayoría de los individuos híbridos detectados presentaron una mayor proporción genética de una de las especies parentales, lo que sugiere que son híbridos de última generación o producto de retrocruzamientos.
- Sólo un individuo de San Lorenzo presentó proporciones genéticas similares de las dos especies parentales, sugiriendo que es un híbrido de primera generación.
- Con los marcadores mitocondriales se detectó un haplotipo de San Lorenzo fuera de su rango de distribución, lo que sugiere que se trata de un individuo híbrido, aunque los datos microsatelitales no detectaron introgresión nuclear en este individuo.
- Los haplotipos mitocondriales encontrados en los individuos híbridos sugieren que las madres son hembras que corresponden a la especie más abundante de su zona.
- La baja frecuencia de individuos híbridos detectados sugiere que son resultado de translocaciones fortuitas de las iguanas, y los datos mitocondriales sugieren que estas translocaciones son únicamente de individuos machos.
- El Golfo de California, al ser una zona sujeta a conservación, requiere de la implementación de programas orientado a la conservación de las especies que habitan ahí. Sin embargo, es necesario que dichos programas estén orientados a la restauración del hábitat procurando minimizar el impacto de actividades antropogénicas.

REFERENCIAS

- Addison JA, Hart MW (2005) Colonization, dispersal, and hybridization influence phylogeography of North Atlantic sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Evolution*, **59**, 532-543.
- Alexandrino J, Baird SJE, Lawon L, Macey JR, Moritz C, Wake DB (2005) Strong selection against hybrids at a hybrid zone in the *Ensatina* ring species complex and its evolutionary implications. *Evolution*, **59**, 1334-1347.
- Aljanabi SM y Martínez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, **25**, 4692-4693.
- Arntzen JW, Wallis GP (1991) Restricted gene flow in a moving hybrid zone of the newts *Triturus cristatus* and *T. marmoratus* in western France. *Evolution*, **45**, 805-826.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, **18**, 489-522.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **16**, 37-48.
- Banks RC (1969) Relationships of the Avifauna of San Esteban Island, Sonora. *The Condor*, **71(2)**, 88-93.
- Barton NH, Hewitt GM (1989) Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature*, **341**, 497-503.
- Brown WM, George MJ, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, **74(4)**, 1967-1971.
- Byrne M, Anderson MJ (1994) Hybridization of sympatric *Patirella* species (Echinodermata: Asteroidea) in New South Wales. *Evolution*, **48**, 564-576.
- Case TJ (1982) Ecology and evolution of the insular gigantic chuckwalla, *Sauromalus hispidus* and *Sauromalus varius*, p. 184-212. En Burghardt GM y Rand AS (eds) *Iguanas of the world: their behavior, ecology, and conservation*. Noyes Publ., Park Ridge, New Jersey.
- Charlesworth B (2009) Fundamental concepts in genetics: effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nature Reviews Genetics*, **10**, 195-205.

- Davy CM, Méndez de la Cruz FR, Lathrop A, Murphy RW (2011) Seri Indian traditional knowledge and molecular biology agree: no express train for island-hopping spiny-tailed iguanas in the Sea of Cortés. *Journal of Biogeography*, **38**, 272-284.
- Demas S, Wachtel, S (1991) DNA fingerprinting in reptiles: Bkm hybridization patterns in Crocodylia and Chelonia. *Genome*, **34(3)**, 472-476.
- DeSalle R, Templeton A, Mori I, Pletscher S, Johnston JS (1987) Temporal and spatial heterogeneity of mtDNA polymorphisms in natural populations of *Drosophila mercatorum*, *Genetics*, **116**, 215-223.
- Desonie, DL (1992) Geologic and geochemical reconnaissance of Isla San Esteban: post-subduction orogenic volcanism in the Gulf of California. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, **52**, 123-140.
- Dessauer HC, Cole CJ, Townsend CR (2000) Hybridization among western whiptail lizards (*Cnemidophorus tigris*) in southwestern New Mexico: Population genetics, morphology, and ecology in three contact zones. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **246**, 1-148.
- Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrología y Meteorología (2012) Bahía Kino, Sonora. En:
<http://digaohm.semar.gob.mx/derrotero/cuestionarios/cnarioBahiakino.pdf>
- Do, C., R. S. Waples, D. Peel, G. M. Macbeth, B. J. Tillett y R. Ovenden (2014) NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, **14**, 209-214.
- Drummond, A. J. Ho, S. Y. W. Philips, M. J. y A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 214-221.
- Earl, DA y vonHoldt, BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, **4(2)**, 359-361.
- Esra GN, Benirschke K, Griner LA (1975) Blood collecting technique in lizards. *J. Am. Vet. Med. Assn.*, **167**, 555-556.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, **14**, 2611-2620.

- Excoffier L y HE Lischer (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 564-567.
- Frankham R (1997) Do islands populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity*, **78**, 311-327.
- Fu J, MacCulloch RD, Murphy RW, Darevsky IS, Tuniyev BS (2000) Allozyme variation patterns and multiple hybridization origins: clonal variation among four sibling parthenogenetic Caucasian rock lizards. *Genetica*, **108**, 107-112.
- Galván, JP (2007) California Brown Pelican Nesting on isla Alcatraz, Sonora, México. *Western Birds*, **38**, 296-298.
- Gardner JPA (1997) Hybridization in the sea. *Advances in Marine Biology*, **31**, 1-78.
- Gentile G, Fabiani A, Márquez C, Snell HL, Snell HM, Tapia W, Sbordoni V (2009) An overlooked pink species of land iguana in the Galápagos. *PNAS*, **106(2)**, 507-511.
- Gilk SE, Wang IA, Hoover CL, Smoker WW, Taylor SG, Gray AK, Gharrett AJ (2004) Outbreeding depression in hybrids between spatially separated pink salmon, *Oncorhynchus gorboscha*, populations: marine survival, homing ability, and variability in family size. *Environmental Biology of Fishes*, **69**, 287-297.
- Goodman SJ, Barton NH, Swanson G, Abernethy K, Pemberton J (1999) Introgression through rare hybridization: a genetic study of a hybrid zone between Red and Sika Deer (Genus *Cervus*) in Argyll, Scotland. *Genetics*, **152**, 355-371.
- Goudet J (2002) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (2.9.3). Disponible en: www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm
- Grant PR, Grant RB (1992) Hybridization of bird species. *Science*, **256**, 193-197.
- Hardy O. y Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, **2**, 618-620.
- Harrison RG (1993) Hybrid zones and the Evolutionary Process. Oxford University Press, New York, NY. 364pp.
- Hedrick PW (2011) Genetics of populations. Jones and Barlett Publishers. 675 pp.
- Hoskin CJ, Higgie M, McDonald KR, Moritz C (2005) Reinforcement drives rapid allopatric speciation, *Nature*, **437**, 1353-1356.
- Hu XS, Zeng W, Li BL (2003) Impacts of one-way gene flow on genetic variance components in a natural population. *Silvae Genetica*, **52**: 18-24.

- Huxel GR (1999) Rapid displacement of native species by invasive species: effect of hybridization. *Biological Conservation*, **89**:143-152.
- Jensen AB, Palmer, KA, Boomsma JJ, Pedersen BV (2005) Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe. *Molecular Ecology*, **14**, 93-106.
- Jensen JL, Bohonak AJ, Kelley ST (2005) Isolation by distance, web service. BMC Genetics 6:13 v. 3.23 <http://ibdws.sdsu.edu/>
- Kocher, TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Pääbo S, Villablanca FX, Wilson AC (1989) Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **86**, 6196-6200.
- Kwiatkowski MA, Sullivan BK (2002a) Geographic variation in sexual selection among populations of an iguanid lizard, *Sauromalus obesus* (=ater). *Evolution*, **56(10)**, 2039-2051.
- Kwiatkowski MA, Sullivan BK (2002b) Mating system structure and population density in a polygynous lizard *Sauromalus obesus* (=ater). *Behavioral Ecology*, **13(2)**, 201-208.
- Lappin AK, Hamilton PS, Sullivan BK (2006) Bite-force performance and head shape in a sexually dimorphic crevice-dwelling lizard, the common chuckwalla *Sauromalus ater* (=obesus). *Biological Journal of the Linnean Society*, **88**, 215-222.
- Librado P y J Rozas (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451-1452.
- Lindsay GE, Engstrand TH (2002) History of Scientific Exploration in the Sea of Cortés. En: Case TD, Cody ML, Ezcurra E (eds) *A new Island Biogeography of the Sea of Cortés*. Oxford University Press. 3-13 pp.
- Luque D, Robles A (2006) *Naturalezas, saberes y territorios comcáac (seri)*. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT), México.
- MacCallum CJ, Nurnberger B, Barton NH, Szymura JM (1998) Habitat preference in the *Bombina* hybrid zone in Croatia. *Evolution*, **52**, 227-239.
- MacLeod, A., A. Rodríguez, M. Vences, P. Orozco-terWengel, C. García, F. Trillmich, G. Gentile, A. Caccone, G. Quezada, S. Steinfartz (2015) Hybridization masks speciation in the evolutionary history of the Galápagos marine iguana. *Proc. Royal Society*, **282**, 20150425. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2015.0425>

- Maddison WP y DR Maddison (2015) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.04.
- Mallet J (2005) Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology and Evolution*, **20(5)**, 229-237.
- Manning GL, Cole CJ, Dessauer HC, Walker JM (2005) Hybridization Between Parthenogenetic Lizards (*Aspidoscelis neomexicana*) and Gonochoristic Lizards (*Aspidoscelis sexlineata viridis*) in New Mexico: Ecological, Morphological, Cytological, and Molecular Context. *American Museum Novitates*, **3492**, 56 pp.
- Marr AB, Keller LF, Arcese P (2002) Heterosis and outbreeding depression in descendants of natural immigrants to an inbred population of song sparrows (*Melospiza melodia*). *Evolution*, **56**:131-142.
- Martin RF (1980) Analysis of hybridization between the hirundinid genera *Hirundo* and *Petrochelidon* in Texas. *Auk*, **97**, 148-159.
- Mullis K, Faloan F, Scharf S, Horn G, Erlich H (1986) Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 263-273.
- Murphy RW y Aguirre-León G (2002) The nonavian reptiles: origins and evolution. *A new island biogeography of the Sea of Cortés* (ed. By T.J. Case, M.L. Cody y E. Ezcurra), pp. 447-464. Oxford University Press, New York.
- Nabhan GP (2002) Cultural dispersal of plants and reptiles. *A new island biogeography of the Sea of Cortés* (ed. By T.J. Case, M.L. Cody y E. Ezcurra), pp. 407-416. Oxford University Press, New York.
- Naccarato A. M., J. B. DeJarnette, P. Allman (2015) Successful Establishment of a Non-Native Species after an Apparent Single Introduction Event: Investigating ND4 Variability in Introduced Black Spiny-Tailed Iguanas (*Ctenosaura similis*) in Southwestern Florida. *Journal of Herpetology*, **49(2)**, 230-236.
- Olden JD, LeRoy Poff N, Douglas MR, Douglas ME, Fausch KD (2004) Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends in Ecology and Evolution*, **19**:18-24.
- Pasachnik SA, Fitzpatrick BJ, Near TJ, Echternacht AC (2009) Gene flow between an endangered endemic iguana, and its wide spread relative, on the island of Utila, Honduras: when is hybridization a threat? *Conservation Genetics*, **10**, 1247-1254.
- Panov E (1989) Natural hybridization and ethological isolation in birds. Nauka, Moscow.

- Petren, K. y T. J. Case (1997) A phylogenetic analysis of body size evolution and biogeography in chuckwallas (*Sauromalus*) and other iguanines. *Evolution*, 51(1), 206-219.
- Pons O. y R. J. Petit 1996) Measuring and Testing Genetic Differentiation With Ordered Versus Unordered Alleles. *Genetics*, **144**, 1237-1245.
- Prieto AA y MW Sorenson (1975) Predator-prey relationships of the Arizona Chuckwalla (*Sauromalus obesus timidus*). *Bulletin of the New Jersey Academy of Science*, **20**, 12.13.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- Pritchard VL, Jones K, Cowley DE (2007) Estimation of introgression in cutthroat trout populations using microsatellites. *Conservation Genetics*, **8**:1311-1329.
- Posada, D. 2008. JmodelTest: Phylogenetic Model Avering. *Molecular Biology and Evolution*, 25: 1253-1256.
- Rambaut A (2007) TreeAnnotator v.1.8.0, Disponible en <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D & Drummond AJ (2014) Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Randler C (2002) Hybridization, mixed pairing and females choice. *Animal Behaviour*, **63**, 103-119.
- Randler C (2006) Extrapair paternity and hybridization in birds. *Journal of Avian Biology*, **37**, 1-5.
- Rassman K, Trillmich F, Tautz D (1997) Hybridization between the Galápagos land and marine iguana (*Conolophus subcristatus* and *Amblyrhynchus cristatus*) on Plaza Sur. *Journal of Zoology*, **242**, 729-739.
- Rhymer JM, Simberloff D (1996) Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **27**, 83-109.
- Rodriguez-Robles JA, De Jesús-Escobar JM (1999) Molecular systematics of New World lampropeltine snakes (Colubridae): Implications for biogeography and evolution of food habits. *Biological Journal of the Linnean Society*, **68**, 355-385.
- Rossetter, RJ (1973) Geology of the San Luis and San Lorenzo island groups, Gulf of California. Tesis de Maestría. Universidad del Estado de California, San Diego. 92 pp.

- Rousset, F (2008) Genepop'007: a complete reimplementaion of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, **8**, 103-106.
- Ryan ME, Johnson JR, Fitzpatrick BM (2009) Invasive hybrid tiger salamander genotypes impact native amphibians. *PNAS*, **106(27)**, 11166-11171.
- Rüber L, Meyer A, Sturmbauer C, Verheyen E (2001) Population structure in two sympatric species of the Lake Tanganyika cichlid tribe Eretmodini: evidence for introgression. *Molecular Ecology*, **10**, 1207-1225.
- Salzburger W, Baric S, Sturmbauer C (2002) Speciation via introgressive hybridization in East African cichlids? *Molecular Ecology*, **11**, 619-625.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2012) *Ordenamiento Ecológico Marino del Golfo de California*. SERMARNAT, México.
- Shurtliff QR (2013) Mammalian hybrid zones: a review. *Mammal Review*, **43**, 1-21.
- Sites, J. W., S. K. Davis, T. Guerra, J. B. Iverson, H. L. Snell (1996) Character Congruence and Phylogenetic Signal in Molecular and Morphological Data Sets: A Case Study in the Living Iguanas (Squamata, Iguanidae). *Mol Biol Evol*, **13(8)**, 1087-1105.
- Smith KL, Hale JM, Kearney MR, Austin JJ, Melville J (2013) Molecular patterns of introgression in a classic hybrid zone between the Australian tree frogs, *Litoria ewingii* and *L. paraewingii*: evidence of a tension zone. *Molecular Ecology*, **22**, 1869-1883.
- Soltis PS, Soltis DE (2009) The Role of Hybridization in Plant Speciation. *Annual Reviews of Plant Biology*, **60**, 561-88.
- Stauffer JR, Bowers NJ, Kocher TD, McKaye KR (1996) Evidence of hybridization between *Cyanotilapia afra* and *Pseudotropheus zebra* (Teleostei: Cichlidae) following an intralacustrine translocation in Lake Malawi. *Copeia*, **1996**, 203-208.
- Stauffer JRJ, Hert E (1992) *Pseudotropheus callainos* a new species of *mbuna* (Cichlidae), with analyses of changes associated with to intra-lacustrine transplantations in Lake Malawi, Africa. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **3**, 523-564.
- Stephen, C. L., V. H. Reynoso, W. S. Collett, C. R. Hasbun, J. W. Breinholt (2013) Geographical structure and cryptic lineages within common green iguanas, *Iguana iguana*. *Journal of Biogeography*, **40**, 50-62.
- Sturmbauer C, Verheyen E, Rüber L, Meyer A (1997) Phylogeographic patterns in populations of cichlid fishes from rocky habitats in Lake Tanganyika. In: *Molecular*

- Systematics of Fishes* (eds Kocher TD, Stepien CA), pp. 97-111. Academic Press, San Diego.
- Sunnucks P, Hales D (1996) Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome-oxidase I-II in aphids of the genus *Sitobion* (Hemiptera, Aphididae). *Molecular Biology and Evolution*, **13**,510-524.
- Szymura JM, Barton NH (1991) The genetic structure of the hybrid zone between the fire-bellied toads *Bombina bombina* and *B. variegata*: comparison between transects and between loci. *Evolution*, **45**, 237-261.
- Taylor HL, Cole CJ, Hardy LM, Dessauer HC, Townsend CR, Walker JM, Cordes JE (2001) Natural Hybridization Between the Teiid Lizards *Cnemidophorus tesselatus* (Parthenogenetic) and *C. tigris marmoratus* (Bisexual): Assessment of Evolutionary Alternatives. *American Museum Novitates*, **3345**, 65 pp.
- Tzika AC, Rosa SFP, Fabiani A, Snell HL, Márquez C, Tapia W, Rassmann K, Gentile G, Milinkovitch MC (2008) Population genetics of Galápagos land iguana (genus *Conolophus*) remnant population. *Molecular Ecology*, **17**, 4943-4952.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, **4**, 535-538.
- Vences M, Wake DB (2007) Speciation, species boundaries and phylogeography of amphibians. In: *Amphibian biology, systematics*, **6**, 2613-2669. Heatwole HH, Tyler M (eds). Chipping Norton: Surrey, Beatty & Sons.
- Vitousek PM, D'antonio CM, Loope LL, Rejmánek M, Westbrooks R (1997) Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology*, **21(1)**, 1-16.
- Wilder BT, Felger RS, Romero-Morales, H (2008) Succulent plant diversity of the Sonoran islands, Gulf of California, México. *Haseltonia*, **14**, 127-160.
- Zarza E, Pereyra RT, Reynoso VH, BC Emerson (2009) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in the black spiny tailed iguana (*Ctenosaura pectinata*) and their cross-utility in other *Ctenosaura*. *Molecular Ecology Resources*, **9**, 117-119.
- Zarza E, Reynoso VH, Emerson BC (2008) Diversification in the northern neotropics: mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of the iguana *Ctenosaura pectinata* and related species, *Molecular Ecology*, **17**, 3259-3275.

Zarza, E., V. H. Reynoso, B. C. Emerson (2011) Discordant patterns of geographic variation between mitochondrial and microsatellite markers in the Mexican black iguana (*Ctenosaura pectinata*) in a contact zone. *Journal of Biogeography*. doi:10.1111/j.1365-2699.2011.02485.x

Zeh DW, Zeh JA (2000) Reproductive mode and speciation: the viviparity-driven conflict hypothesis. *Bioessays*, **22**, 938-946.

|

APÉNDICES

Apéndice 1a Protocolo de amplificación de los genes mitocondriales.

	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Número de ciclos</i>
<i>Incubación</i>	95°	30 seg	
<i>Desnaturalización</i>	95°	1 min	
<i>Temperatura de alineamiento</i>	58° (cyt b) 53° (ND4)	1 min	32
<i>Extensión</i>	72°	1 min	
<i>Extensión final</i>	72°	5 min	

Apéndice 1b Protocolo de amplificación de los microsatélites.

	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Número de ciclos</i>
<i>Incubación</i>	95°	30 seg	
<i>Desnaturalización</i>	95°	15 seg	
<i>Temperatura de alineamiento</i>	57° (Sauro 2A5 y 7A9) 58° (Sauro 10H2 y 2F5) 60° (Sauro 13B12) 63° (Sauro 9B10) 54° y 49° (Sauro 18A4)	30 seg	30
<i>Extensión</i>	72°	50 seg	
<i>Extensión final</i>	72°	19 min	

Apéndice 2 Números de acceso y referencias de las secuencias obtenidas de GenBank.

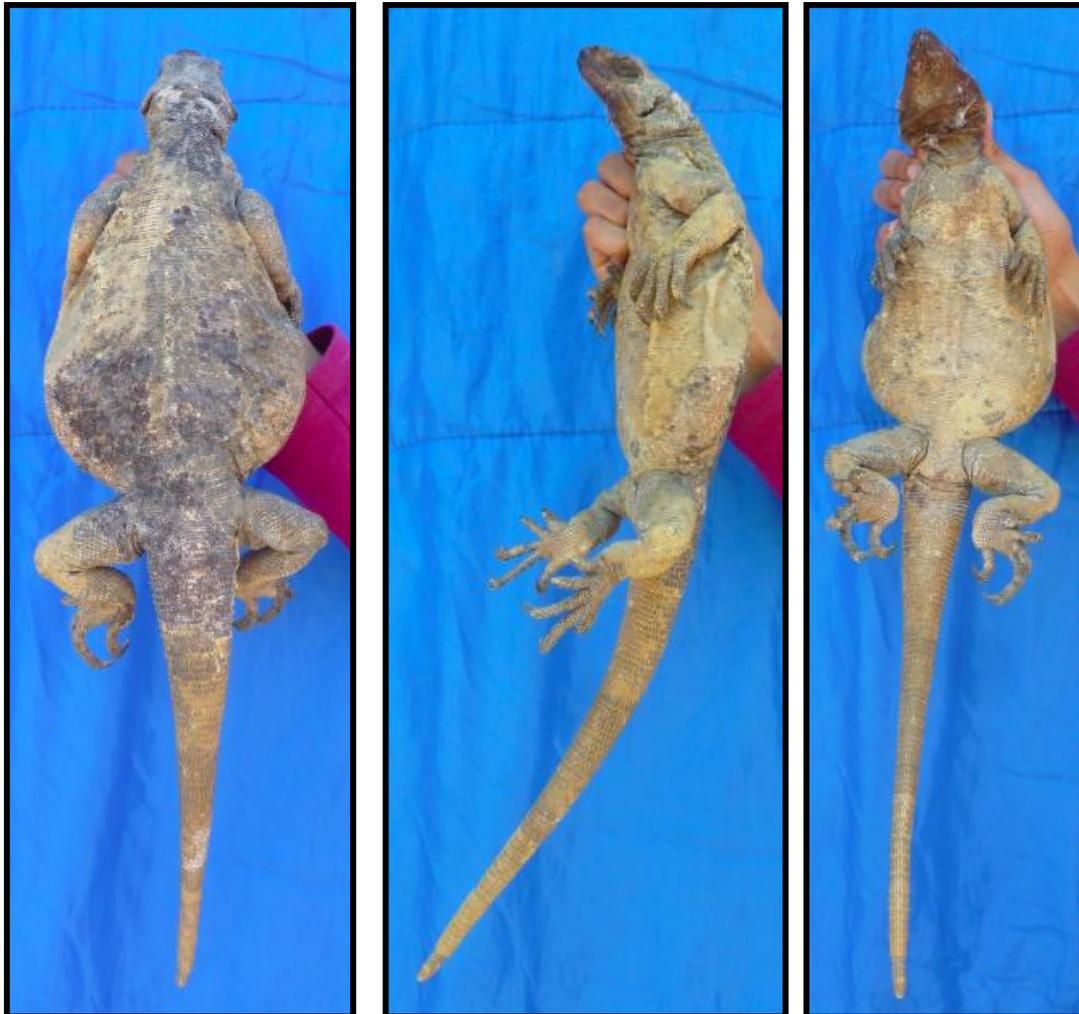
<i>Especie</i>	<i>Locus</i>	<i>No. Acceso</i>	<i>Referencia</i>
<i>Conolophus</i>	<i>cyt b</i>	KR350773.1	MacLeod <i>et al.</i> 2015
<i>subcristatus</i>	<i>ND4</i>	KR305726	MacLeod <i>et al.</i> 2015
<i>Ctenosaura</i>	<i>cyt b</i>	HQ141270.1	Davy <i>et al.</i> 2011
<i>pectinata</i>	<i>ND4</i>	FJ715728.1	Zarza <i>et al.</i> 2011
<i>Ctenosaura</i>	<i>cyt b</i>	AF020252.1	Petren y Case, 1997
<i>similis</i>	<i>ND4</i>	KJ629171	Naccarato <i>et al.</i> 2015
<i>Ctenosaura</i>	<i>cyt b</i>	HQ141251.1	Davy <i>et al.</i> 2011
<i>hemilopha</i>	<i>ND4</i>	U66227.1	Sites <i>et al.</i> 1996
<i>Iguana</i>	<i>cyt b</i>	AF020251.1	Petren y Case, 1997
<i>iguana</i>	<i>ND4</i>	JQ340914.1	Stephen <i>et al.</i> 2013

Apéndice 3 Tabla de comparación del número de alelos reportados para tres poblaciones de *S. varius*, una población silvestre (n = 13) de 1991, y dos poblaciones en cautiverio (n = 63 y n = 25) del Museo Desierto de Arizona – Sonora de 1993 y 2004 respectivamente (McAliley *et al.* 2006) con los alelos encontrados en este estudio para todos los loci en las cuatro poblaciones analizadas.

	<i>Alelos reportados (McAliley et al. 2006)</i>	<i>Alelos encontrados</i>
Sauro 18A4	7	7
Sauro 2F5	3	6
Sauro 2A5	3	3
Sauro 13B12	5	7
Sauro 7A9	6	10
Sauro 9B10	2	4
Sauro 10H2	8	7

Apéndice 4 Fotografías de los individuos con ancestría mixta.

4a Individuo ALC9



ALC10 Alcatraz puro (*S. varius*)

Fotografías: V. Reynoso

4b *Individuo ALC19*



Fotografías: V. Reynoso

4c Individuo SLS4



SLS5 San Lorenzo puro (*S. hispidus*)

Fotografías: V. Reynoso

4d *Individuo SLS20*



Fotografías: V. Reynoso

4e *Individuo SLS21*



Fotografías: V. Reynoso

4f Individuo SE1



SE2 San Esteban puro (*S. varius*)

Fotografías: V. Reynoso

4g Individuo SE5



Fotografías: V. Reynoso

4h *Individuo SE16*



Fotografías: V. Reynoso

4i *Individuo SE18*



Fotografías: V. Reynoso

4j Individuo SBK26



SBK13 Bahía Kino puro (*S. ater*)

Fotografías: V. Reynoso