



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO  
NACIONAL

Unidad de Genómica Avanzada  
Unidad Irapuato

Especiación del género *Urosaurus* en el Archipiélago de  
Revillagigedo

Tesis que presenta:

Biol. Juan Alfredo Gutiérrez Morales

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias

En Biología Integrativa

Director de Tesis:  
Dr Sean M. Rovito

Irapuato, Guanajuato

Diciembre, 2019

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Genómica y Biodiversidad de Vertebrados en la Unidad de Genómica Avanzada del CINVESTAV Irapuato bajo la dirección del Dr. Sean M. Rovito y con la asesoría de los doctores Angélica Cibrián Jaramillo y Rafael Montiel Duarte. Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de estudios de maestría número 619842 otorgada durante el periodo Marzo 2017 a Febrero 2019. Este trabajo fue financiado por un proyecto colaborativo de UC MEXUS-CONACyT (proyecto No. CN-17-100).

*"Según un viejo estereotipo, los ensayos sobre historia natural se limitan a describir las peculiaridades de los animales [...]. Pero cada organismo puede significar mucho más para nosotros. Cada uno de ellos nos instruye; su forma y comportamiento encarnan mensajes de índole general si tan solo somos capaces de aprender a interpretarlos. El lenguaje de esta lección es la teoría evolutiva."*

Stephen Jay Gould

## Agradecimientos

Este trabajo está dedicado a mi mamá (Irma), mi papá (Alfredo) y mis hermanos (Irma y Emmanuel), por su infinita paciencia y apoyado, ya que si ellos no habría podido alcanzar este logro. Ellos me enseñaron que con pasión y trabajo es posible alcanzar cualquier meta. También quiero agradecerle a Silvana por el tiempo que ha estado acompañándome y dándome ánimos en los momentos que más lo necesitaba.

Quiero agradecer a Sean, que con su pasión por la naturaleza y por su trabajo es una gran inspiración y un ejemplo a seguir. También quiero agradecerle el haberme dado la oportunidad de desarrollar este proyecto, que se ha convertido en la experiencia más enriquecedora de mi vida.

Quiero agradecer a Cori, Chris, Maye, Julio, Paul, Jorge, Jairo, Mari, Mizraim, Emanuel y Ariadna por su amistad, su ayuda, sus consejos y por el excelente ambiente que le dan al laboratorio.

Quiero agradecerle a la Dra. Laila Partida y al Dr. Octavio Martínez quienes formaron mi comité de evaluación para ingreso al posgrado, el haberme dado la oportunidad de ingresar al programa de Biología Integrativa, la cual es una experiencia que estoy seguro marcará un antes y un después en mi vida.

Quiero agradecer a mis asesores la Dra. Angélica Cibrián y al Dr. Rafael Montiel, quien también formó parte de mi comité de evaluación de ingreso al posgrado, por su tiempo, su ayuda y sobre todo por las observaciones a este proyecto. Sin sus observaciones habría dejado pasar muchos detalles importantes.

Y finalmente, quiero agradecer a al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría No. 619842 y al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV), Unidad Irapuato, por la infraestructura proporcionada.

## Resumen

El papel que juega la historia demográfica y la deriva genética en la formación de nuevas especies sigue siendo un tema de debate en biología evolutiva. El modelo de especiación peripátrica sugiere que los cambios genéticos, producto del cuello de botella fundador durante la colonización de un hábitat nuevo y distante por unos pocos individuos, puede llevar a la rápida divergencia y diferenciación de las poblaciones. Esto podría ocasionar aislamiento reproductivo dando origen a una nueva especie. Ya que la mayoría de los casos conocidos de especiación peripátrica son de islas, estas se encuentran entre los mejores modelos para estudiar el papel de la historia demográfica en la especiación. Debido a su origen volcánico, su nivel de aislamiento y su elevado número de endemismos, el Archipiélago de Revillagigedo en el Pacífico Mexicano representan un gran modelo para tratar de determinar la importancia de los cuellos de botella fundadores en el establecimiento y diferenciación de sus especies endémicas. Utilizando datos generados por ddRADseq se probaron distintas hipótesis demográficas para discriminar entre el efecto fundador y la deriva genética a largo plazo como el principal determinante del nivel de diversidad genética neutral observado en las lagartijas *Urosaurus auriculatus* y *Urosaurus clarionensis* endémicas a Isla Socorro e Isla Clarión en el Archipiélago de Revillagigedo, respectivamente, y para inferir el tiempo y orden de colonización de las mismas. Además, se comparó la diversidad genética de *U. auriculatus* y *U. clarionensis* respecto de *U. ornatus*, su especie continental más cercana filogenéticamente, para determinar el efecto que los cuellos de botella poblacionales pudieran haber tenido sobre

esta diversidad. Nuestros resultados indican que el nivel de diversidad genética neutral observada en *U. auriculatus* y *U. clarionensis* está determinado por la deriva genética a largo plazo a consecuencia de un histórico tamaño efectivo poblacional pequeño, aunque la dificultad de detectar cambios poblacionales severos pudo haber limitado nuestra capacidad de detectar los cambios asociados a un cuello de botella fundador. Nuestros resultados también sugieren que el establecimiento de estas especies está asociado a dos eventos de colonización independientes desde el continente, contrario a la hipótesis más aceptada en la actualidad que sugiere un evento de colonización desde el continente seguido de otro evento de colonización entre islas. Finalmente, identificamos a la población sureña de *U. ornatatus* como la población de la cual probablemente surgieron los individuos fundadores que dieron origen a *U. auriculatus* hace cerca de  $\sim 100,000$  años, mientras que la colonización de Isla Clarión se estimó en  $\sim 130,000$  años por el ancestro del clado formado por *U. auriculatus* y las poblaciones de *U. ornatatus* muestreadas.

## Abstract

The role of demographic history and random processes in speciation is still a subject of debate in evolutionary biology. The peripatric speciation model suggest that the genetic changes resulting from of a founder event, during the colonization of a new and distant habitat by few individuals, could lead to the rapid divergence and differentiation of the colonizing population. This could result in reproductive isolation, forming a new species. Because most of the known cases of peripatric speciation are from islands, these are among the best systems to study the role of population history in speciation. Because of its volcanic origin, isolation, and the high number of endemics, the Revillagigedo Archipelago in the Pacific Ocean of Mexico represents a good model to study the role of founding bottlenecks in the establishment and differentiation of its endemic species. In this study, we used Illumina-sequenced ddRAD loci to test demographic hypothesis and discriminate between a founder effect and gradual long-term genetic drift as the primary determinant of the level of genetic diversity in the insular species *Urosaurus auriculatus* and *U. clarionensis*, endemic to Socorro and Clarion Islands, respectively, in the Revillagigedo Archipelago, and to infer the order and time of colonization of these islands. We inferred also compared the genetic diversity of *U. auriculatus* and *U. clarionensis* to that of *U. ornatus*, their closest mainland relative, to determine the effect of founding bottlenecks on genetic diversity. Our result suggest that that gradual genetic drift, as a consequence of an historical small population size, rather than a strong founder effect, better explains the levels of neutral genetic diversity observed in



*U. auriculatus* and *U. clarionensis*, although the difficulty of detecting strong population size changes could affect our capacity to detect the changes associate with the founding bottlenecks. We also found that the establishment of *U. clarionensis* and *U. auriculatus* involved two independent colonization events, in contrast to the current hypothesis of a single colonization from the mainland followed by another colonization event between islands. Finally, we found evidence that the southern *U. ornatus* population were the most likely population of origin of the *U. auriculatus* founders around  $\sim 100,000$  years ago, while the colonization of Clarion Island was estimated to have occurred around  $\sim 130,000$  year ago from the ancestor of *U. auriculatus* and *U. ornatus*.

# Índice

Resumen	6
Abstract	8
Índice de figuras	12
Índice de cuadros	15
1. Antecedentes	16
1.1. Especiación alopátrica . . . . .	16
1.2. Modelos de especiación peripátrica . . . . .	18
1.3. Trabajos experimentales . . . . .	20
1.4. Trabajo en poblaciones naturales . . . . .	21
1.5. Las islas como modelo evolutivo . . . . .	27
1.6. Archipiélago de Revillagigedo . . . . .	30
1.7. Lagartijas del género <i>Urosaurus</i> . . . . .	33
2. Objetivos	37
2.1. Objetivo general . . . . .	37
2.2. Objetivos específicos . . . . .	37
3. Materiales y Métodos	37
3.1. Muestreo . . . . .	37
3.2. Preparación de librerías ddRAD y secuenciación . . . . .	38

3.3. Análisis bioinformáticos de los datos de secuenciación . . . . .	42
3.4. Estructura poblacional . . . . .	45
3.5. Diversidad nucleotídica y diferenciación poblacional . . . . .	46
3.6. Relaciones filogenéticas . . . . .	47
3.7. Inferencia demográfica . . . . .	48
4. Resultados . . . . .	51
4.1. Secuenciación y llamado de SNP . . . . .	51
4.2. Estructura y diferenciación poblacional . . . . .	51
4.3. Relación filogenética . . . . .	56
4.4. Modelado demográfico . . . . .	57
5. Discusión . . . . .	59
6. Conclusiones . . . . .	67
7. Perspectivas . . . . .	68
8. Material Suplementario . . . . .	81
9. Anexos . . . . .	90

## Índice de figuras

1. Ubicación geográfica del Archipiélago de Revillagigedo. En el rectángulo rojo se observan las cuatro islas que forman el archipiélago y los puntos blancos muestran la ubicación del puerto de Manzanillo, Colima y Cabos San Lucas, Baja California Sur en México continental. . . . 30
2. Estructura poblacional. A) Gráficas de Structure para 3 y 4 poblaciones ( $k=4$  y  $k=3$ ). Las barras horizontales representan individuos y los colores representan los grupos asignados. B) Sitios de muestreo de *U. ornatus* (puntos negros) y la ubicación de Isla Socorro (punto azul) e Isla Clarión (punto verde), donde se colectaron los ejemplares de *U. auriculatus* y *U. clarionensis*, respectivamente. Ecoregiones Selvas Calido-Secas (rojo) y Desiertos de Norte América (naranja). . . . . 53
3. Análisis de diferenciación poblacional ( $F_{ST}$ ) por sitios variables por par de poblaciones. Las líneas verticales negras representan el valor medio de  $F_{ST}$  estimado para cada par de poblaciones. A)  $F_{ST}$  entre las poblaciones continentales *U. ornatus* Norte (U.oN) y *U. ornatus* Sur (U.oS) y entre las poblaciones insulares de *U. auriculatus* (U.au) y *U. clarionensis* (U.cl). B) Diferenciación poblacional de las poblaciones insulares respecto a las continentales. . . . . 54
4. Diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) estimada para cada una de las poblaciones. . . . . 55

5.	Heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) para cada una de las poblaciones. Colores sólidos representan $H_e$ y los más tenues con franjas representan $H_o$ . . . . .	55
6.	Árbol consenso generado utilizando 935 SNP en el programa SNAPP. Sobre las ramas se puede observar la probabilidad posterior para cada clado. . . . .	56
7.	Criterio de información de Akaike para cada una de las hipótesis demográficas probadas para <i>U. clarionensis</i> respecto a <i>U. ornatus</i> Norte y Sur. El recuadro rojo muestra los mejores modelos. . . . .	58
8.	Criterio de información de Akaike para cada una de las hipótesis demográficas probadas para <i>U. auriculatus</i> respecto a <i>U. ornaus</i> Sur. El recuadro rojo muestra los mejores modelos. . . . .	59
S1.	Sitios de muestreo en el Archipiélago de Revillagigedo y en México continental. El color verde representa la localidad donde se colectaron los ejemplares de <i>U. clarionensis</i> , el azul donde se colecto <i>U. auriculatus</i> y el amarillo las localidades de <i>U. ornatus</i> . Los números corresponden al ID asignado a cada localidad en la Cuadro 1. . . . .	82
S2.	Hipótesis utilizadas para la inferencia demográficas. En número uno representa la población continental y el número dos la población insular. . . . .	87

S3. Resultados del modelado demográfico entre A) *U. auriculatus* y *U. ornatus* Sur, y B) *U. clarionensis* respecto a *U. ornatus* Norte y Sur. De forma gráfica se presenta el espectro de las frecuencias alélicas (AFS) simulado contra el obtenido de los datos reales y sus residuales, para cada par de poblaciones. . . . . 88

## Índice de cuadros

S1.	Localidad, especie y número de individuos colectados. .	81
S2.	Volumen final de ADN utilizado por muestra y los adaptadores que les fue asignados a cada una para la construcción de las librerías . . . . .	83
S3.	Secuencia de los oligos utilizados en la preparación de las librerías. . . . .	85
S4.	Estimaciones de tamaño efectivo poblacional ( $H_e$ ) y tiempo de divergencia (T) por par de poblaciones. . . .	89

# 1. Antecedentes

## 1.1. Especiación alopátrica

El aislamiento geográfico y la subsecuente ausencia de flujo genético entre poblaciones ha sido el evento inicial en la formación de muchas especies (Mayr, 1942; Slatkin, 1996). A este modelo de especiación geográfica se le conoce como especiación alopátrica y es el modelo de especiación más común entre vertebrados terrestres. El modelo alopátrico es comúnmente dividido en dos submodelos: vicariante y peripátrico. Si una barrera geográfica divide y aísla la población ancestral en poblaciones grandes se le conoce como modelo vicariante. En cambio, si una de las poblaciones es fundada por un grupo pequeño de individuos que colonizó un hábitat distante (evento fundador) entonces recibe el nombre de modelo peripátrico (Slatkin, 1996; Coyne y Orr, 2004).

Comúnmente, poblaciones geográficamente aisladas acumulan mutaciones únicas y habitan sitios que imponen presiones selectivas distintas. Como consecuencia la deriva y la selección fijan alelos distintos en cada una de las poblaciones. A medida que estas diferencias se acumulan, la posibilidad de que se desarrolle aislamiento reproductivo aumenta. El aislamiento reproductivo da lugar a la formación de una nueva especie y permite que estas se mantengan aún cuando experimenten contacto secundario (Coyne y Orr, 2004). En el modelo vicariante estos cambios típicamente ocurren de forma lenta y gradual; en cambio, en el modelo peripátrico se espera que ocurran rápidamente (Clegg y cols., 2002).



En el modelo peripátrico la divergencia en las frecuencias alélicas es inmediata, debido a que los individuos fundadores cargan solo con una pequeña fracción de la diversidad genética de la población parental. Además, el pequeño tamaño efectivo poblacional (número de individuos que contribuyen con gametos a la siguiente generación;  $N_e$ ) hace de la deriva la fuerza dominante aún en presencia de la selección (Hamilton, 2011). Se ha propuesto que un crecimiento exponencial después del evento fundador podría dar lugar a la rápida aparición de nuevas variantes alélicas sobre las cuales podría actuar la selección (Carson, 1968). También se ha propuesto que un crecimiento exponencial podría aumentar rápidamente el número de copias de alelos de baja frecuencia. Si estos alelos son ligeramente ventajosos, su probabilidad de fijación aumentaría significativamente (Slatkin, 1996). En el modelo peripátrico, a la interacción entre deriva genética y selección se le conoce como “efecto fundador”, al que se le atribuye una rápida evolución y posiblemente especiación.

Numerosas poblaciones naturales, principalmente aquellas endémicas de islas oceánicas, sugieren que el efecto fundador podría estar teniendo un papel importante en la formación de nuevas especies; sin embargo, los trabajos experimentales han fallado en dar soporte a esta idea (Coyne y Orr, 2004). Mientras que el modelo vicariante es ampliamente aceptado, el modelo peripátrico y la importancia del efecto fundador en el proceso de especiación ha sido un tema controversial desde que fue propuesto por Ernst Mayr (1954).

## 1.2. Modelos de especiación peripátrica

La distribución de múltiples especies de martín pescador (*Tanysiptera hydrocharis-galatea*) en Nueva Guinea y en algunas de sus islas periféricas, es un caso que se repite en cientos de especies e inspiraron a Ernst Mayr a desarrollar su modelo de “efecto fundador” (1954). Nueva Guinea es la segunda isla más grande del mundo y en ella habitan tres subespecies de martín pescador *Tanysiptera galatea*. Aunque las condiciones ambientales en sus dos extremos son muy diferentes, uno extremadamente húmedo sin estaciones bien definidas y el otro con una estación lluviosa corta y seco el resto del año, las subespecies que habitan los dos extremos son prácticamente indistinguibles una de otra. En contraste, en las islas de Numfor, Biak, Kaffiao y Rossel, donde las condiciones climáticas son muy similares a las condiciones de su región más cerca de Nueva Guinea, cinco de seis poblaciones de este género han sido reconocidas como especies distintas por sus marcadas diferencias fenotípicas. Este patrón llevó a Mayr a concluir que la selección, por sí sola, no podía ser la responsable de las marcadas diferencias fenotípicas que se observan entre las subespecies de Nueva Guinea y aquellas de las islas periféricas, dado la similitud en sus condiciones ambientales.

Mayr (1954) creía que el proceso de especiación debía iniciar en completo aislamiento, pero que este por sí solo no sería capaz de llevar a la diferenciación en poblaciones grandes si las presiones selectivas a las que estaban sometidas eran las mismas. Por lo tanto, el proceso de especiación debía de involucrar un cambio genético rápido, independiente de aquel causado por las condiciones medio ambientales. Sugirió que el evento fundador podría causar una rápida pérdida de la varia-

ción genética, generando un nuevo ambiente genético. En este nuevo ambiente los genes que conferían una mayor adecuación al interactuar con genes heterocigotos dejarían de ser ventajosos y la selección favorecería a aquellos genes que incrementaran la adecuación al interactuar con genes homocigotos. Esto llevaría a una “revolución genética” y a la diferenciación de la población y en algunos casos, a la especiación.

Desde entonces se han propuesto modelos similares que involucran efectos fundadores en la especiación (Carson, 1968; Templeton, 1980). En su modelo “Founder-flush”, Carson (1968) imaginó una situación en la cual una nueva población era establecida por un evento fundador en un área sin competidores y con las condiciones ambientales y los recursos óptimos para que la población fundadora aumentara rápidamente de tamaño (expansión poblacional). El evento fundador reduciría la diversidad genética y relajaría de forma temporal la selección. Después, la expansión poblacional evitaría la subsecuente pérdida de diversidad genética por deriva. Carson argumentó que las condiciones que favorecen el crecimiento poblacional también relajarían la selección sobre aquellos genes en que la selección depende de la densidad poblacional y de la competencia. Si la epistasis produjo complejos coadaptados en estos genes, la relajación de la selección podría incrementar el número de combinaciones alélicas en estos complejos al no ser seleccionados en contra. Una vez sobrepasada la capacidad de carga del nuevo ambiente, la selección se restablecería y actuaría sobre un nuevo acervo genético producto de los cambios de las frecuencias alélicas, la recombinación y las nuevas mutaciones surgidas durante la expansión poblacional. Todo esto aumentaría la probabilidad de divergencia de la población ancestral.

Por su parte, Templeton (1980) en su modelo de “Transiliencia genética” incorpora elementos de los modelos de Mayr (1954) y Carson (1968). Al igual que Mayr, el modelo supone un evento fundador que altera el valor selectivo de los genes en un sistema epistático, con la diferencia que este solo afecta unos pocos loci en lugar de a todo el genoma. Similar a Carson, el modelo evoca una expansión poblacional que mantiene e incrementa el nivel de diversidad genética debido a las nuevas mutaciones surgidas durante la expansión. El modelo se centra en las condiciones necesarias para que la deriva y el cuello de botella inicial jueguen un papel importante al mismo tiempo que permiten mantener un nivel alto de variación genética para que actúe la selección.

A medida que el efecto fundador crecía en popularidad, el número de modelos ligeramente diferentes creció (Coyne y Orr, 2004). También aumentó el número de trabajos experimentales tratando de determinar la plausibilidad de la especiación promovida por el efecto fundador y de igual manera, pero en mucho menor medida, se incrementaron los trabajos que exploran la importancia del efecto fundador en la diferenciación y divergencia de poblaciones naturales. A pesar de todos estos esfuerzos, aún no existe un consenso sobre la importancia del efecto fundador en el proceso de especiación.

### 1.3. Trabajos experimentales

Coyne y Orr (2004) realizaron una extensa revisión del trabajo experimental que se ha realizado sobre especiación promovida por el efecto fundador. En la mayoría de estos trabajos se ha utilizado como modelo de estudio a distintas especies del género *Drosophila*. El enfo-

que general de estos trabajos consistió en hacer pasar poblaciones por uno o más cuellos de botella poblacionales, reduciendo el tamaño de las poblaciones en laboratorio, y determinar si se desarrolló algún nivel de aislamiento reproductivo. Como resultado general, pocas réplicas de estos experimentos desarrollaron algún nivel de aislamiento reproductivo de la población parental, y cuando lo hicieron, este fue de carácter temporal.

Coyne y Orr (2004) interpretan estos resultados como evidencia en contra de la especiación promovida por efecto fundador. Consideran que los datos experimentales han fallado en dar soporte a esta idea. Sin embargo, es importante resaltar que estos experimentos están principalmente enfocados en determinar si la deriva por sí sola, es capaz de desarrollar algún nivel de aislamiento reproductivo. En contraste los modelos propuestos por Mayr, Carson y Templeton hacen énfasis en cambios en el ambiente genético, promovidos por el efecto fundador, sobre los cuales actuaría la selección, lo que podría traer como consecuencia un aislamiento reproductivo entre poblaciones. A pesar del extenso trabajo que se ha realizado, aun existe desacuerdo en si los resultados de estos experimentos deben o no ser vistos como evidencia en contra de la especiación promovida por el efecto fundador (Futuyma y Kirkpatrick, 2011). La falta de resultados concluyentes no ha hecho más que aumentar la controversia en torno a la especiación peripatría.

#### 1.4. Trabajo en poblaciones naturales

Ya que rara vez es posible observar la colonización en islas de forma natural, la magnitud de los cambios producto de efecto funda-

dor y de la deriva deben ser inferidos una vez ocurrida la colonización (Kolbe y cols., 2012). Debido a esta dificultad, pocos estudios han tratado de determinar el papel del efecto fundador en la divergencia de poblaciones naturales (Grant, 2002). Una manera de determinar si el evento fundador juega un papel importante en el nivel de divergencia de poblaciones insulares respecto a su población ancestral, es determinar si los cambios genéticos neutrales ocurren de manera abrupta, a consecuencia del efecto fundador, o de una manera gradual, debido a la deriva genética a largo plazo (Clegg y cols., 2002). Si el efecto fundador es la fuerza predominante, eventos de colonización recientes y antiguos tendrían un nivel similar de divergencia respecto a su población ancestral. Por el contrario, si la deriva a largo plazo es más importante, la divergencia ocurrirá de forma gradual y estará relacionada con el tiempo de colonización de las islas.

En un intento por discriminar entre el efecto fundador y la deriva genética a largo plazo Clegg y cols. (2002) compararon la diversidad genética y el nivel de diferenciación entre seis poblaciones de la subespecie *Zosterops lateralis lateralis* (anteojitos dorsigrís), una especie de ave nativa de Australia, perteneciente al grupo de los Passeriformes. En los últimos 200 años *Z. l. lateralis* ha colonizado múltiples islas al suroeste del continente (colonizaciones recientes). La colonización de estas islas involucró un evento de colonización desde el continente seguido de múltiples eventos de colonización entre islas. Como consecuencia, algunas de estas poblaciones han experimentado más de un evento fundador. Los resultados del análisis de *Z. l. lateralis* fueron comparados con los valores estimados para *Z. tenuirostris* de la Isla Norfolk, *Z. tephropleurus* de la isla Lord Howe y de *Z. l. chlorocephalus* en la isla

Heron. Estas poblaciones representan eventos de colonización antiguos estimados entre millones de años, cientos de miles de años y de 4000 a 3000 mil años, respectivamente. Como grupo externo se analizó una población de *Zosterops lateralis* de la costa este de Australia, la cual se asumió representaba la población ancestral continental de las poblaciones en las islas. La diversidad genética y la diferenciación entre poblaciones se estimó utilizando seis marcadores microsatelitales para calcular la heterocigosidad, diversidad alélica e índice de diferenciación poblacional ( $F_{ST}$ ). El estudio se complementó con simulaciones demográficas, utilizando una aproximación Bayesiana, para inferir el número de individuos fundadores de cada población.

En el análisis de *Z. l. lateralis* no encontraron diferencias significativas en heterocigosidad, diversidad alélica e índice de diferenciación poblacional ( $F_{ST}$ ) entre eventos de colonización consecutivos. En contraste, todas las colonizaciones antiguas mostraron una pérdida significativa en el número de alelos y la heterocigosidad y un aumento de la diferenciación respecto a la población continental. Estos cambios estuvieron fuertemente asociados al tiempo de la colonización, siendo la población más antigua la que presentó los cambios más severos. En *Z. l. lateralis* se requirió de tres a cuatro eventos fundadores consecutivos para que una de las poblaciones alcanzara el nivel de diversidad y diferenciación similar al encontrado en *Z. l. chlorocephalus*, la más joven de las colonizaciones antiguas. Finalmente, las estimaciones del tamaño efectivo poblacional de los grupos fundadores fueron de entre 132 y 216 individuos para todas las poblaciones, a excepción de la isla Norfolk, para la cual se estimó un grupo fundador de 8 individuos. Determinan que un solo evento fundador no reduce la diversidad genética

de forma considerable ni causa la diferenciación inmediata entre poblaciones. Esto sugiere que la deriva genética a largo plazo es el principal determinante de los cambios genéticos observados en las poblaciones insulares respecto a la población continental y no el efecto fundador. Aunque también señalan que el efecto fundador en estas poblaciones pudo haber sido débil debido al gran tamaño de los grupos fundadores.

Grant (2002) hace la observación de que si bien es cierto que el trabajo de Clegg y cols. (2002) indica que la diversidad alélica se reduce poco en cada evento de colonización, esta reducción se acumula de forma gradual con cada nuevo evento. Desde el primer evento de colonización hasta el último, la diversidad alélica se reduce cerca del 50 %. Si consideramos que el último evento de colonización representa la población más joven, entonces la reducción de la diversidad alélica no puede ser atribuida a la deriva a largo plazo. Además, Mayr señaló que no todas las poblaciones establecidas por unos cuantos individuos fundadores sufren cambios drásticos o experimentan una revolución genética que lleve a la especiación, sino que la reorganización del genoma es mucho más probable en poblaciones fundadas por pocos individuos que en cualquier otra clase de población (Mayr, 1982).

Además de los cambios genéticos, otra característica de las poblaciones insulares es su elevado nivel de divergencia fenotípica respecto a su especie más cercana. Esta diferenciación puede ser atribuida al efecto fundador o a que el ambiente entre islas es tan distinto que puede llevar a la diferenciación por selección (Kolbe y cols., 2012). Cuando en septiembre de 2004 el huracán Francés eliminó de forma natural las poblaciones de lagartijas del género *Anolis* de varias islas en el Caribe, Kolbe y cols. (2012) tuvieron la oportunidad de evaluar la importan-



cia relativa entre el efecto fundador y la selección en la diferenciación fenotípica en poblaciones insulares.

En las lagartijas *Anolis* es bien sabido que existe una fuerte relación entre el largo de las extremidades traseras y el diámetro de percha (Losos y Sinervo, 1989). Lagartijas de extremidades anchas tienen ventaja en superficies anchas, mientras que lagartijas de patas cortas se desplazan mejor en superficies más estrechas. En islas con árboles de talla grande, las poblaciones de *Anolis* presentan extremidades traseras más largas que las poblaciones que habitan islas con árboles de menor tamaño. Utilizando parejas de lagartijas, un macho y una hembra de la isla Iron Cay en las Bahamas, donde la vegetación tiene en promedio una altura de 3.84 m, un diámetro de 11.1 cm y ocupa un área mayor a 150,000 m<sup>2</sup>, Kolbe y cols. (2012) fundaron siete nuevas poblaciones en islas de mucho menor tamaño (35 a 175 m<sup>2</sup>) y con una vegetación de menor talla (62 a 107 cm de altura y 1.5 a 5.4 cm de diámetro). De esta forma simularon eventos fundadores y cambios en el régimen adaptativo debido a la diferencia tan marcada en la estructura de la vegetación.

Si la selección natural determina el nivel de divergencia fenotípica, la tendencia sería que todas las poblaciones experimentales desarrollen extremidades más cortas en respuesta a un tamaño de percha menor. En cambio, si la deriva es la fuerza dominante, en algunas poblaciones el tamaño de las patas aumentaría mientras que otras disminuirían, y esta variación no estaría relacionada con las diferencias en la vegetación entre islas. Durante cinco años consecutivos tomaron medidas morfológicas y monitorearon los cambios en el tamaño poblacional. También se realizó una caracterización detallada del ambiente

de las islas y se midió la diversidad alélica y nivel de diferenciación de las poblaciones ( $F_{ST}$ ) utilizando seis marcadores microsatelitales.

El efecto fundador fue evidente desde el primer momento. Un año después de la introducción, se registró una disminución promedio del 46 % de la diversidad alélica y un 23 % de heterocigosidad en las poblaciones experimentales con respecto a la población fuente. Además, se observó una diferenciación significativa de las frecuencias alélicas entre todos los pares de poblaciones. Durante los dos primeros años del experimento, las poblaciones recién fundadas experimentaron una rápida expansión poblacional. Esto detuvo la pérdida de diversidad genética a consecuencia de la deriva y mantuvo estable la diversidad alélica y el nivel de divergencia por los siguientes tres años del experimento. El efecto fundador también fue evidente en las características morfológicas. Durante el primer año el largo de las patas no mostró relación alguna con el diámetro de las perchas. En cambio, en los siguientes años, como estaba predicho, se observó una marcada reducción en el largo de las patas traseras en las siete poblaciones experimentales. El crecimiento exponencial de las poblaciones experimentales durante los primeros dos años del experimento pudo haber creado condiciones favorables para la evolución por selección natural. La magnitud del cambio fue tal, que los valores medios registrados en el primer año no se solaparon con los valores obtenidos en el último año del experimento. Aún en presencia de la selección, la huella del efecto fundador persistió a lo largo del experimento. La adaptación a un nuevo ambiente no logró explicar por sí sola la variación en el largo de las patas entre las distintas islas. Esta variación fue explicada mejor por los fenotipos de los individuos fundadores que por las diferencias en la vegetación de

las islas, con lo que concluyen que el efecto fundador puede jugar un papel importante en la divergencia de poblaciones insulares, aún en la presencia de adaptación al medio.

El trabajo de Clegg y cols. (2002) sugiere que la deriva genética a largo plazo es la que determina el nivel de diversidad genética y de divergencia en poblaciones insulares. Mientras que el trabajo de Kolbe y cols. (2012) indica que el efecto fundador puede jugar un papel importante en la divergencia de poblaciones insulares, aún en la presencia de adaptación al medio. Pese al extenso trabajo experimental que se ha desarrollado en el tema, la evidencia empírica de poblaciones naturales sigue siendo escasa (Butlin et al., 2012). Es importante seguir profundizando en el conocimiento que se tiene del efecto fundador en poblaciones naturales para determinar su importancia en el proceso de especiación y debido a la relevancia que podría tener en la conservación de poblaciones pequeñas (Grant, 2002).

### 1.5. Las islas como modelo evolutivo

Desde que Darwin y Wallace (1858) propusieron la teoría de la evolución por medio de la selección natural, las islas han jugado un papel fundamental en el desarrollo de la teoría evolutiva gracias a que su relativa simplicidad facilita observar e interpretar patrones evolutivos (Soja, 1992; Losos y Ricklefs, 2009; Triantis y cols., 2016). El estudio de sus poblaciones ha permitido calcular tasas de especiación, tendencias en la radiación adaptativa de sus especies endémicas y mecanismos de dispersión. Además, han contribuido a documentar la importancia del aislamiento en el proceso de especiación y como un factor que contribu-

ye a la aparición de novedades evolutivas (Soja, 1992; Losos y Ricklefs, 2009).

Las islas pueden ser clasificadas según su origen. Islas que en algún momento de su historia formaron parte del continente reciben el nombre de islas continentales. En cambio, las islas que nunca ha estado en contacto con el continente reciben el nombre de islas oceánicas y estas pueden ser de origen volcánico, tectónico o de origen coralino. Las islas oceánicas son geográficamente bien definidas y presentan gran variación en cuanto a tamaño, nivel de aislamiento, edad, clima y contexto biogeográfico (Triantis y cols., 2016). Sus comunidades representan réplicas a pequeña escala y de menor complejidad que las comunidades continentales. Además, múltiples islas proveen réplicas ecológicas y evolutivas naturales, lo que hace de ellas un gran modelo de estudio (Warren y cols., 2015). Entre las islas oceánicas, aquellas de origen volcánico como las islas Galápagos, Hawái, Canarias, Sociedad, Australes, Madeira, Mascareñas y Golfo de Guinea, ocupan un lugar excepcional en biogeografía, evolución y ecología (Triantis y cols., 2016).

Las islas ocupan el 3.6 % de la superficie terrestre del planeta, sin embargo, contribuyen de una manera desproporcionada a la diversidad biológica del planeta. A pesar de que las comunidades insulares son menos diversas que las comunidades continentales, estas poseen una elevada riqueza de endemismos. Muchas especies endémicas limitan su distribución solo a regiones biogeográficas formadas por islas y no se comparten con ninguna otra región. Se estima que el 26.4 % de las plantas vasculares, 20.6 % de los anfibios, 26 % de reptiles, 23.2 % de las aves y 21.5 % de los mamíferos del planeta son endémicas de islas (Kier y cols., 2009). Archipiélagos volcánicos como Canarias y Hawái

son buenos ejemplos de radiaciones adaptativas rápidas y recientes que ha resultado en muchos nuevos taxones endémicos (Kier y cols., 2009). Todo esto ha llevado a sugerir que el proceso de especiación en islas podría ocurrir más rápido de lo que se pensaba con anterioridad (Chen y He, 2009).

Por ejemplo, para Hawái se han descrito cerca de 500 especies de *Drosophila*, se conocen aproximadamente 350 especies más aún sin describir, y se estima el número total de especies podría alcanzar las 1000 (Kaneshiro y cols., 1995; Coyne y Orr, 2004). A pesar de que Hawái representa una minúscula parte del rango de distribución total del género *Drosophila*, cerca de un cuarto de todas sus especies son endémicas de estas islas (Templeton, 2008). En Hawái la mayoría de las especies de *Drosophila* son endémicas de una sola isla, y en la mayoría de los casos su especie hermana se ubica en alguna isla vecina. Esto sugiere que el establecimiento en estas especies está asociado a eventos de colonización entre islas, probablemente por unos pocos individuos (Carson y Templeton, 1984; Coyne y Orr, 2004) por lo que el efecto fundador pudo haber tenido un papel importante en el establecimiento de estas especies. Por esta razón, los archipiélagos volcánicos y sus especies endémicas son vistas como prueba de especiación peripátrica (Coyne y Orr, 2004) lo que hace de ellas un excelente modelo de estudio para determinar la importancia del efecto fundador en la aparición de sus especies endémicas.

## 1.6. Archipiélago de Revillagigedo

El Archipiélago de Revillagigedo (Figura 1) está formado por cuatro islas volcánicas y su territorio marino. El archipiélago se ubica en el Océano Pacífico Oriental a 386 km al sur de la costa de Cabo San Lucas, Baja California Sur, y a 720 km al oeste de la costa de Manzanillo, Colima. El archipiélago inició su formación hace cerca 3.5 millones de años. Cada una de las islas tuvo un origen independiente a lo largo de la Zona de Fractura Clarión y nunca han estado en contacto con el continente (Brattstrom, 1990; Aguirre-Muñoz y cols., 2015). De este a oeste y de la más joven a la más antigua, las islas que forman el archipiélago son: San Benedicto (6 km<sup>2</sup>), Isla Socorro (132 km<sup>2</sup>), Roca Partida (0.014 km<sup>2</sup>) e Isla Clarión (20 km<sup>2</sup>).

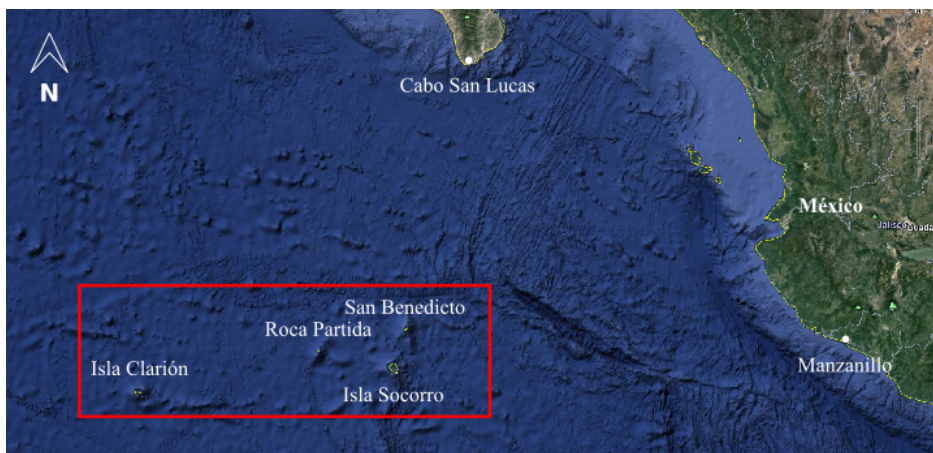


Figura 1: Ubicación geográfica del Archipiélago de Revillagigedo. En el rectángulo rojo se observan las cuatro islas que forman el archipiélago y los puntos blancos muestran la ubicación del puerto de Manzanillo, Colima y Cabos San Lucas, Baja California Sur en México continental.

De las cerca de 4000 islas con las que cuenta México, el Archipiélago de Revillagigedo posee el mayor número de especies terrestre endémicas (Aguirre-Muñoz y cols., 2015). Todas estas con una gran afinidad al área de Sonora-Sinaloa en México continental (Brattstrom, 1990). El archipiélago es hogar de al menos 94 especies y subespecies endémicas: 54 plantas, cuatro reptiles, 16 aves, dos hongos, un molusco, dos cnidarios, tres crustáceos, un insecto y 11 peces marinos. De estas especies, 18 están protegidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y 33 están en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN). La colonización y evolución de la flora y fauna del Archipiélago de Revillagigedo es el resultado de su historia geológica única, la cual se ha visto influenciada por la formación del Golfo de California, la emergencia de istmo del Panamá y el ascenso de volcanes que formaron el archipiélago (Aguirre-Muñoz y cols., 2015).

San Benedicto es la más joven de las islas y su fauna consiste solo en aves marinas. En 1952, con el nacimiento del volcán Bárcena, la isla perdió su vegetación y su fauna nativa entre la que se encontraba una especie endémica de chivirín saltarroca (*Salpinctes obsoletus ssp. exsul*; Richards, 1959; Brattstrom, 1990) que se considera extinta desde entonces. Con el pasar de los años la flora se ha ido recuperando y ya en 1994 se registraron 12 especies, nueve de las cuales son endémicas del archipiélago y tres solo de San Benedicto (Aguirre-Muñoz y cols., 2015).

Isla Socorro es la isla de mayor tamaño y la más diversa biológica y topográficamente. El relieve es predominantemente montañoso, alcanzando los 1050 msnm en la cima del volcán Evermann. Su activi-

dad volcánica más explosiva ocurrió entre hace 540 y 370 mil años y el periodo eruptivo más reciente sucedió hace aproximadamente 180 mil años. Isla Socorro cuenta con 118 especies de plantas nativas, de las cuales el 32 % son endémicas (CONANP, 2004). Además, se tiene registro de 10 taxones endémicos de aves terrestres: pedrete corona clara (*Nyctanassa violacea gravirostris*), aguililla cola roja (*Buteo jamaicensis socorroensis*), tórtola coquita (*Columbina passerina socorroensis*), periquito de Socorro (*Psittacara brevipes*), saltapared de Isla Socorro (*Troglodytes sissonii*), zenzontle de Isla Socorro (*Mimus graysoni*), parula tropical (*Setophaga pitiayumi graysoni*) y toquí pinto de Isla Socorro (*Pipilo maculatus socorroensis*). La paloma de Socorro (*Zenaida graysoni*) y el tecolote enano (*Micrathene whitneyi graysoni*) se consideran extintas en su medio silvestre (Rodríguez-Estrella y cols., 1996; Naturalista, 2019). Solo se conoce una especie de reptil endémica a esta isla (*Urosaurus auriculatus*).

Roca Partida, la más pequeña de las islas, no tiene flora y la fauna consiste solo en aves marinas. Es la cima de un estratovolcán submarino con origen en el pleistoceno tardío. Es más joven que Isla Clarión pero más antigua que San Benedicto e Isla Socorro (Brattstrom, 1990; Aguirre-Muñoz y cols., 2015).

Isla Clarión es la isla más antigua y la más aislada. Se formó con material de erupciones volcánicas del Mioceno al Eoceno y alcanza una elevación máxima de 335 msnm. Su vegetación es de tipo xerófila, con arbustos que no sobrepasan los cuatro metros de altura, plantas anuales y abundantes cactáceas en la zona sur de la isla. La herpetofauna de esta isla está constituida por tres especies endémicas: la lagartija de árbol de Isla Clarión (*Urosaurus clarionensis*), culebra chirriadora de



Isla Clarión (*Masticophis anthonyi*) y la recientemente redescubierta serpiente nocturna (*Hypsiglena unaocularis*; Mulcahy y cols., 2014). También se tiene registro de tres aves terrestres endémicas a la isla: el tecolote llanero (*Athene conicularia rostrata*), el cuervo común de Isla Clarión (*Corvus corax clarionensis*) y la paloma huilota (*Zenaida macroura clarionensis*; Aguirre-Muñoz y cols., 2015).

El Archipiélago de Revillagigedo ofrece grandes oportunidades para el desarrollo de investigación básica sobre biodiversidad, biogeografía y evolución (CONANP, 2004). Dadas sus características insulares, su origen geológico y su nivel de aislamiento, sus comunidades representan un gran modelo para el estudio de procesos de colonización, dispersión, adaptación y especiación. Específicamente, el archipiélago nos brinda la oportunidad de estudiar del papel que ha jugado el efecto fundador en el establecimiento y la diferenciación de las lagartijas *U. clarionensis* y de *U. auriculatus*, especies endémicas de Isla Clarión e Isla Socorro, respectivamente.

## 1.7. Lagartijas del género *Urosaurus*

Las lagartijas arbóreas del género *Urosaurus* son un clado pequeño formado por nueve especies, perteneciente a la familia Phrynosomatidae (Wiens, 1993). Debido a las marcadas diferencias fenotípicas y de comportamiento entre sus especies, el género ha servido como modelo para explorar preguntas ecológicas y evolutivas (Feldman y cols., 2011). Estas lagartijas son pequeñas, diurnas y como su nombre lo indica pasan la mayor parte de tiempo en árboles o rocas (Wiens, 1993). Siete de estas especies tienen una distribución continental, desde el suroeste de

los Estados Unidos hasta el Istmo de Tehuantepec en Oaxaca: cachora de árbol cola negra (*U. nigricaudis*), lagarto de escamas pequeñas (*U. microscutatus*), lagartija de árbol de Baja California (*U. lahtelai*), lagartija de árbol del Noroeste (*U. graciosus*), lagartija de árbol nortea (*U. ornatus*), lagartija de árbol de Michoacán (*U. gadovi*) y la lagartija de árbol del Pacífico (*U. bicarinatus*). Las dos especies restantes, *U. clarionensis* y *U. auriculatus*, son endémicas al Archipiélago Revillagigedo y se distribuyen en Isla Cara Socorro, respectivamente (Wiens, 1993; Feldman y cols., 2011). Ya que estas islas jamás estuvieron en contacto con el continente, se ha propuesto que la colonización de las islas se dio por unos pocos individuos fundadores arrastrados en balsas de material vegetal desde el continente (Brattstrom, 1955).

A la fecha existen tres trabajos que exploran la relación entre las especies de género *Urosaurus*. Con base en características morfológicas y patrones de escamación, Mittleman (1942) identificó ocho de las nueve especies de *Urosaurus* que hoy conocemos, aunque clasificó a *U. graciosus* como subespecie de *U. ornatus* (*U. ornatus graciosus*) y omitió a *U. lahtelai*, especie que fue descrita hasta 1977 (Rau y Loomis, 1977). Mittleman reconoció tres grandes grupos dentro del género: el grupo ornatus formado por *U. ornatus*, *U. graciosus* y *U. clarionensis*; el grupo nigricaudis donde incluyó a *U. nigricaudis*, *U. microscutatus* y *U. gadovi*; y finalmente el complejo de especies bicarinatus que contiene a *U. bicarinatus* y *U. auriculatus*. Señaló que *U. clarionensis*, endémico de Isla Clarión, muestra una mayor similitud a *U. ornatus* en el continente que a su vecino *U. auriculatus* en Isla Socorro, el cual agrupó con *U. bicarinatus* que se distribuye más al sur por la costa del Pacífico debido a sus similitudes. Propuso que la colonización del Archipiélago

de Revillagigedo se dio por dos eventos de colonización independientes desde la costa del Pacífico en México (Mittleman, 1942).

Por su parte, Wiens (1993), utilizando la frecuencia de 33 características morfológicas agrupó a *U. clarionensis* y a *U. auriculatus* como especies hermanas, en base a tres sinapomorfías: la proyección de los tubérculos esfeno-occipitales, la coloración dorsal azul y verde brillante, y la ausencia del parche azul en el vientre. Además, identificó a *U. ornatus* como la especie más cercana a este clado.

Utilizando datos moleculares, Feldman y cols. (2011) realizaron un análisis filogenético con dos metodologías distintas, máxima parsimonia e inferencia Bayesiana, para esclarecer las relaciones evolutivas del género. De forma adicional, realizaron una búsqueda coalescente del árbol de especies utilizando también una aproximación Bayesiana. Para esto utilizaron de manera separada la secuencia concatenada de tres marcadores nucleares y tres mitocondriales, y la combinación de ambas. Su muestra consistió en veinte especímenes: 13 individuos representantes de las nueve especies del género *Urosaurus*, dos individuos de dos especies distintas del género *Uta*, tres especímenes de dos especies del género *Petrosaurus*, un representante del género *Sceloporus* y uno del género *Phrynosoma*, todos pertenecientes a la familia Phrynosomatidae. Su muestreo se centró principalmente en la península de Baja California y sur de los Estados Unidos, a excepción de los individuos representantes de las Islas Revillagigedo (*U. auriculatus* y *U. clarionensis*) y las especies endémicas al sur de México *U. bicarinatus* y *U. gadovi*. Al igual que Wiens (1993) encontraron que *U. auriculatus* y *U. clarionensis*, endémicas al archipiélago del Revillagigedo, eran especies hermanas y a *U. ornatus* como la especie más cercana a este

clado. Además, proponen que el escenario biogeográfico más probable para el establecimiento de las especies endémicas al Archipiélago de Revillagigedo es un evento de colonización desde la costa del pacífico en México continental seguido de otro evento de colonización entre islas. Esta idea sugiere que una de las especies del archipiélago ha pasado por dos cuellos de botella consecutivos lo cual pudo haber tenido severas consecuencias en su diversidad genética.

Los avances en las técnicas de secuenciación han transformado el estudio ecológico y evolutivo de organismos no modelo, especialmente aquellas que permiten secuenciar una representación reducida del genoma, particularmente RADseq (*restriction site-associated DNA sequencing*, por sus siglas en inglés). Esta técnica ha sido especialmente útil midiendo el nivel de divergencia entre especies cercanamente relacionadas y modelando su historia demográfica (Cooper y Uy, 2017; Gottscho y cols., 2017; Charles y cols., 2018). Tomando ventaja de estas nuevas tecnologías queremos observar las consecuencias de los eventos fundadores en el nivel de diferenciación y diversidad genética de *U. auriculatus* y *U. clarionensis*, especies endémicas del Archipiélago de Revillagigedo, con respecto a su especie continental más cercana *U. ornatus*. Adicionalmente, pretendemos inferir el probable lugar de origen en el continente de los individuos fundadores y el tiempo y orden de los eventos de colonización en las islas.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo general

Estimar el tiempo y orden de colonización de Isla Socorro e Isla Clarión por las lagartijas del género *Urosaurus* y determinar la importancia del efecto fundador en su nivel de diversidad genética y diferenciación respecto a *U. ornatus*, su especie más cercana en el continente.

### 2.2. Objetivos específicos

- 1) Caracterizar la variación genética de *U. auriculatus*, *U. clarionensis* y *U. ornatus* utilizando datos generados por ddRADseq.
- 2) Probar modelos demográficos para discriminar entre el efecto fundador y la diversidad genética a largo plazo como el principal determinante del nivel de diversidad genética neutral de *U. auriculatus* y *U. clarionensis*.
- 3) Inferir el orden de colonización de Isla Clarión e Isla Socorro por el género *Urosaurus*.

## 3. Materiales y Métodos

### 3.1. Muestreo

Se capturaron de 3 a 5 lagartijas de *U. ornatus* en siete localidades distribuidas entre Topolobampo, Sinaloa y Carbó, Sonora, en

el mes de noviembre de 2017. Para la colecta de *U. clarionensis* y *U. auriculatus* se realizó un viaje de 10 días al Archipiélago de Revillagigedo en octubre de 2018. En Isla Socorro se capturaron 7 ejemplares de *U. auriculatus* y en Isla Clarión 10 de *U. clarionensis* (Figura S1; Cuadro S1). Todos los ejemplares de *U. ornatus* fueron sacrificados y fijados. El hígado, baso e intestino fueron removidos y se almacenaron y transportaron en RNAlater para la posterior extracción de ADN en el laboratorio. Este mismo procedimiento se realizó solo a tres individuos de *U. auriculatus* y tres de *U. clarionensis*, como estaba especificado en el permiso de colecta. Al resto de los ejemplares insulares, se les amputó una porción de cola para obtener tejido para la extracción de ADN y fueron liberados. Los ejemplares fijados fueron etiquetados y se encuentra en la colección del Laboratorio de Genómica y Biodiversidad de Vertebrados en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO).

### 3.2. Preparación de librerías ddRAD y secuenciación

La extracción y la purificación de ADN se realizó en el Laboratorio de Genómica y Biodiversidad de Vertebrados en LANGEBIO. Para la extracción de ADN se utilizaron 100 mg de tejido por muestra y el procedimiento consistió en: 1) colocar 100 mg de tejido en un tubo Eppendorf de 1.5 mL, adicionar 410  $\mu$ L de buffer de extracción (4.1  $\mu$ L Tris-Base-HCl 10 mM, 8.2  $\mu$ L NaCl 100 mM, 8.2  $\mu$ L EDTA 10 mM y 389.5  $\mu$ L de agua mili-Q), 80  $\mu$ L de SDS al 10 %, 15  $\mu$ L de Proteínasa K (Promega) e incubar a 55 °C por 16 horas con agitación continua. 2) Centrifugar las muestras a 14 000 rpm durante 5 minutos y transferir el

sobrenadante a un nuevo tubo Eppendorf. 3) Agregar 180  $\mu\text{L}$  de NaCl 5 M a cada tubo, mezclar en vortex por 20 segundos. Centrifugar a 14 000 rpm por 20 minutos y transferir el sobrenadante a un nuevo tubo Eppendorf. 4) Adicionar 500  $\mu\text{L}$  de isopropanol absoluto frío, mezclar y dejar reposar a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  toda la noche. 5) Centrifugar a 14 000 rpm por 10 minutos y eliminar el sobrenadante por decantación. 6) Agregar 500  $\mu\text{L}$  de alcohol etílico al 80 % sin mezclar, deja enfriar a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos. Centrifuga una vez más a 14 000 rpm por 10 minutos y retirar el sobrenadante con mucho cuidado para evitar el desprendimiento de la pastilla de ADN. 7) Secar las muestras por 20 minutos a  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta eliminar trazas (olor) de alcohol y resuspender en 50  $\mu\text{L}$  de TE . Todas las extracciones fueron almacenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su uso posterior.

Para identificar polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), se utilizó la técnica *double digest Restriction Associated DNA sequencing* (ddRADseq por sus siglas en inglés; Peterson y cols., 2012) que permite la secuenciación de una porción reducida del genoma. Es una técnica menos costosa y rápida, que requiere poco material genético (100 ng de ADN) y no necesita de un genoma de referencia para su análisis. Esto la ha convertido en una técnica muy popular para trabajar con grupos de reciente especiación que no cuentan con un genoma de referencia (Peterson y cols., 2012; Leache y cols., 2015). La técnica consiste en la digestión enzimática del ADN utilizando dos enzimas de restricción y posterior selección y secuenciación de fragmentos de cierto rango de longitud (Leache y cols., 2015). El número de fragmentos (RAD loci) potencialmente útiles para el análisis dependerá del número de sitios de restricción conservados en el genoma. Se espera que el número de sitios compartidos entre especies disminuya al aumentar el tiempo de

divergencia de las especies de estudio (Cariou y cols., 2013). Aunque aún no es una técnica ampliamente utilizada en análisis demográficos, la posibilidad de generar miles de loci, cada uno con una historia evolutiva independiente, la convierte en una opción prometedora (Shafer y cols., 2017).

La preparación de las librerías se realizó en el Laboratorio de Genética Evolutiva del Museo de Vertebrados de la Universidad de California, Berkeley siguiendo el protocolo de Peterson y cols. (2012) modificado por C. Wang y L. Smith (comunic. pers., 2018). Las concentraciones de ADN utilizadas para la construcción de las librerías fueron medidas utilizando un Qubit 2.0 Fluorometer (Life Technologies, Grand Island, NY) y la integridad del mismo fue inspeccionada utilizando geles de agarosa al 2%. La construcción de las librerías consistió de tres pasos principales: 1) La doble digestión del ADN, 2) ligación de adaptadores y 3) el enriquecimiento por PCR de cada una de las librerías.

Se realizó la doble digestión enzimática de 500 ng de ADN por muestra en una sola reacción, utilizando 10 unidades por enzima durante 4 horas a 37 °C (Leache y cols., 2015) en un volumen de reacción de 45  $\mu$ L. Se utilizó la enzima *SbfI* (la cual es una de las más usadas en los estudios de RAD-seq, debido a que reconoce un sitio de 8 pb rico en CG los cuales son raros en el genoma y maximiza la cobertura de cada loci; Cariou y cols., 2013) y la enzima de corte común *MspI*. Los productos de digestión fueron purificados utilizando perlas magnéticas (Sera-Mag) utilizando dos volúmenes de perlas por volumen de muestra (2X).

Para minimizar la variación de la cobertura de secuenciación,



los productos de digestión fueron normalizados a una concentración de entre 150 y 300 ng. Muestras de igual concentración fueron asignadas juntas a librerías de tres a cinco individuos. A cada individuo dentro de la librería se le asignó un adaptador P1 único. La ligación de adaptadores se realizó utilizando el termociclador bajo las siguientes condiciones: 37 °C por 30 min, 65 °C por 10 min, seguido de un descenso de la temperatura de 3 °C cada minuto hasta alcanzar una temperatura de 20 °C. Cada reacción consistió en: 150–300 ng de ADN, 2 µL de adaptador P1 (10 mM), 2 µL de adaptador P2 (10 mM), 0.5 µL de T4 ligase (1,000 U/µL), 4 µL de 10X T4 buffer de ligación y agua doble destilada hasta alcanzar un volumen de 40 µL. Una vez ligados los adaptadores, los individuos pertenecientes a la misma librería fueron agrupados y limpiados de adaptadores no ligados con perlas magnéticas utilizando un volumen de 1.5X de perlas por volumen de muestra.

A cada librería le fue asignado un *primer* Illumina P5 y P7 único y se le realizaron 15 ciclos de enriquecimiento. Cada reacción consistió en: 2 µL de producto de ligación, 0.2 µL de dNTPs (25 mM), 5 µL de 5X Phusion HF buffer (NEB), 0.2 µL de Phusion Taq polimeraza (2U/µL; NEB), 2 µL del adaptador P5 (10mM), 2 µL de adaptador P7 (10 mM) y agua doble destilada hasta alcanzar un volumen de 25 µL. Las condiciones de reacción fueron 98 °C por 30 s seguido de 15 ciclos a 98 °C por 30 s, 60 °C por 30 s y 72 °C por un minuto, y finalizando con cinco minutos a 72 °C. Las librerías fueron verificadas de forma visual utilizando un gel de agarosa al 2%. A cada librería se le realizaron dos limpiezas consecutivas con perlas (1.2X de perlas por volumen de reacción) para remover *primers* no ligados y fragmentos menores a 150pb. El arreglo final de las librerías y la secuencia de los

adaptadores e índices de Illumina utilizados se pueden encontrar en el material suplementario (Cuadro S2 y S3).

Las librerías fueron analizadas por medio de qPCR para determinar la concentración final de cada una de ellas y armar un solo pool final donde todas estuvieran igualmente representadas. Se seleccionaron fragmentos de entre 480 y 560 pb en la librería final con el Pippin Prep (Sage Science, Beverly, MA). La secuenciación se realizó en la plataforma Illumina Hiseq 4000 generando lecturas asociadas a uno de los extremos con una longitud de 150 pb, en el centro QB3 en la Universidad de California, Berkeley.

### 3.3. Análisis bioinformáticos de los datos de secuenciación

Los procedimientos de laboratorio, la secuenciación paralela y las propiedades específicas del genoma de cada especie contribuyen a generar error, lo que produce variación en 1) el número de lecturas por individuo, 2) el número de loci recuperados en cada individuo, 3) el número de lecturas por locus y 4) el número de lecturas en los alelos derivados en loci polimórficos (Mastretta-Yanes y cols., 2015). Por ello, la correcta limpieza y procesamiento de los datos es un paso esencial en el desarrollo de cualquier proyecto.

Mientras que los estadísticos de resumen ( $\pi$ , heterocigosidad y  $F_{ST}$ ) muestran poca sensibilidad al programa bioinformático utilizado para el procesamiento de datos ddRAD, el espectro de las frecuencias alélicas (AFS, por sus siglas en inglés) y las reconstrucciones demográficas presentan una alta sensibilidad a estos (Shafer y cols., 2017). Entre los distintos programas existentes para el procesamiento de datos

ddRAD (J. Catchen y cols., 2013; Eaton, 2014), los datos generados a partir de programas que utilizan un genoma de referencia generan resultados consistentes cuando son utilizados en inferencias demográficas. En contraste, cuando los modelos son alimentados por datos generados por programas que realizan un ensamblaje de novo, los resultados muestran una gran variación. Debido a la falta de un genoma de referencia, el procesamiento de nuestros datos de secuenciación se realizó utilizando STACKS 2.3e (J. Catchen y cols., 2013), ya que los parámetros calculados a partir del AFS generado por STACKS son más consistentes y similares a los calculados por programas que utilizan un genoma de referencia (Shafer y cols., 2017).

La calidad de las lecturas ddRADseq fue inspeccionada en FastQC 0.11.8 (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Para tener una idea general del error de secuenciación y el número de secuencias repetidas se generó la distribución de la abundancia de kmers para los datos crudos utilizando el paquete *kmer\_filter* de STACKS. Cada lectura fue kmerizada utilizando un tamaño de kmer de 15 pb y se calculó la frecuencia de cada kmer de manera individual. Las lecturas con kmers de baja y alta frecuencia (dos desviaciones estándar a cada lado de la distribución) fueron cortadas, o removidas en caso de contar con más de 80 % de estos kmers para remover errores de secuenciación y posibles parálogos. Con el módulo *process\_radtags* de STACKS, se cortaron las lecturas a una longitud 100 pb y se removieron aquellas de baja calidad o con bases no llamadas (utilizando las banderas -q y -c, respectivamente). Las lecturas de baja calidad se identificaron utilizando una ventana del 15 % de la longitud de la lectura a la cual se le calculó la calidad media. Si la calidad de la ventana

fue menor a 10 phred la lectura se descartó.

Para la construcción de loci *de novo* se utilizó el módulo *denovo\_map.pl* de STACKS. Los principales parámetros de STACKS son: “m” que determina el número mínimo de lecturas idénticas que se requieren para generar alelos putativos, “M” el número de pares de bases distintas que separan a los alelos de un mismo locus en cada individuo y “n” el número de diferencias entre loci ortólogos de distintos individuos. El valor seleccionado para cada parámetro (m3, M2, n2) se determinó a través de un proceso de optimización siguiendo la metodología de Paris y cols. (2017). La optimización consistió en fijar los parámetros m, M y n a un valor cercano a los utilizados por defecto (m3, M2 y n0) y realizar múltiples corridas del paquete *denovo\_map.pl* variando el valor de solo uno de los parámetros. El propósito de este procedimiento es elegir para cada uno de los parámetros aquel valor que maximiza el número de loci y el número de SNP recuperados. Para los parámetros m y M se probaron valores del 1 al 7 en incrementos de uno (m1–m7 y M1–M7). Antes de seleccionar un valor para “n” se seleccionó un valor de datos faltantes del 30%. Este valor se determinó examinando distintos valores, lo cuales fueron de 0 a 50% en incrementos de 10% (Portik y cols., 2017). Para n se probaron los valores  $n = M - 1$ ,  $n = M$  y  $n = M + 1$ , con valor fijo de 30% de datos faltantes. Los tres individuos de menor cobertura fueron retirados del análisis, lo que permitió recuperar un mayor número de SNP. Todos los análisis se realizaron utilizando solo SNP bialélicos con una frecuencia mayor a 0.05 (Cooper y Uy, 2017; Charles y cols., 2018) ya que STACKS solo permite la correcta identificación de sitios con frecuencias de altas a moderadas (J. M. Catchen y cols., 2011).

El paquete *populations* de STACKS se utilizó para generar tres sets de datos. 1) El primero se utilizó para detectar estructura poblacional con ayuda del programa STRUCTURE entre y al interior de cada especie. Para ello se seleccionó de forma aleatoria un solo SNP de aquellos loci presentes en al menos el 70 % de los individuos de cada especie. 2) El segundo set de datos se utilizó para calcular los estadísticos de resumen, diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y heterocigosidad observada ( $H_o$ ), y para determinar el nivel de diferenciación entre poblaciones, utilizando el estadístico  $F_{ST}$ . Para esto se incluyeron todos los SNP de aquellos loci presentes en al menos el 70 % de los individuos de cada población descubierta en el análisis de STRUCTURE. 3) El último set de datos se utilizó para inferir la relación filogenética entre las poblaciones y realizar el modelado demográfico. Se seleccionó de forma aleatoria un SNP por locus de aquellos loci presentes en al menos el 70 % de los individuos de cada población.

### 3.4. Estructura poblacional

Para determinar el número de poblaciones se utilizó un enfoque paramétrico sin hipótesis previa de asignación de individuos en STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard y cols., 2000; Falush y cols., 2003) utilizando 1905 SNP. STRUCTURE utiliza un enfoque de agrupamiento Bayesiano aplicando una estimación por cadena de Markov Monte Carlo (MCMC). El proceso comienza asignando los individuos de forma aleatoria a un número predeterminado de grupos (representado por el parámetro  $k$ ) y estimando las frecuencias alélicas para cada uno de ellos. Una vez hecho esto se determina la desviación de las frecuencias geno-

típicas de aquellas esperadas bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg. Los individuos son reasignados y el proceso se repite. STRUCTURE busca la agrupación que minimice la desviación de las frecuencias genotípicas de aquellas esperadas bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg. A la vez STRUCTURE estima la probabilidad de cada individuo de pertenecer a cada uno de los grupos (Pritchard y cols., 2000; Porras-Hurtado y cols., 2013). Lambda, un parámetro que cuantifica el nivel de independencia entre marcadores con base en la distribución de su frecuencia, se calculó estimando la verosimilitud de una población ( $k=1$ ) y permitiendo que el parámetro convergiera. Utilizando el modelo de admixture y un valor de lambda fijo (valor estimado) se realizaron cinco corridas independientes por cada valor de  $k$ , desde uno hasta un máximo de siete poblaciones ( $k=1-7$ ), con un burn-in de 10,000 pasos seguido de 100,000 repeticiones de MCMC (Manthey y cols., 2016). El valor optimo de  $k$  se seleccionó utilizando la metodología propuesta por Evanno (2005) y se visualizó utilizando CLUMPP (Jakobsson y Rosenberg, 2007).

### 3.5. Diversidad nucleotídica y diferenciación poblacional

La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y la heterocigosidad observada ( $H_o$ ) se calcularon utilizando sitios variables y no variables. Para determinar si un parentesco cercano entre muestras pudiera estar afectando nuestras estimaciones de  $H_e$  y  $H_o$ , estos parámetros también se calcularon tomando solo un individuo por localidad para cada una de las poblaciones. Para el índice de diferenciación poblacional  $F_{ST}$  se utilizaron solo los sitios variables por par de poblaciones (los sitios variables pueden variar para cada par de po-

blaciones). Los estadísticos de resumen y  $F_{ST}$  fueron calculados con el paquete *populations* de STACKS.  $F_{ST}$  mide la diferencia entre la diversidad genética de toda la población y la diversidad genética promedio de las subpoblaciones. Cuando existen dos o más subpoblaciones, la deriva y la selección pueden llevar a la divergencia de las frecuencias alélicas entre poblaciones y finalmente a la fijación de distintos alelos. Esto reduce de forma significativa la diversidad genética al interior de cada subpoblación, pero no la diversidad genética total de la población. A mayor divergencia entre poblaciones mayor será el valor estimado de  $F_{ST}$ . Un valor de  $F_{ST}$  cercano a 0, indica que existe poca variación en las frecuencias alélicas entre poblaciones; mientras que un valor de 1 indica que cada una de las poblaciones ha fijado un alelo distinto por lo que la diversidad genética se encuentra distribuida entre las poblaciones y no al interior de estas (Holsinger y Weir, 2009).

### 3.6. Relaciones filogenéticas

Para inferir la relación evolutiva entre poblaciones se utilizó un método bayesiano utilizando el paquete SNAPP v1.3 (Bryant y cols., 2012) de BEAST2 v2.4 (R. Bouckaert y cols., 2014). SNAPP (SNP and AFLP Phylogenies) es un método basado en coalescencia que permite inferir el mejor el árbol de especies sin la necesidad de tener que estimar un árbol individual para cada uno de los marcadores. El programa asume marcadores bialélicos que no se encuentran bajo desequilibrio de ligamiento y que el modelo de mutación en la raíz del árbol es el mismo a lo largo de las ramas. Para reducir el tiempo de corrida se utilizó una submuestra de tres individuos por población (utilizando aquellos de

mayor cobertura) para un total de 12 individuos y 955 SNP. La tasa de mutación y substitución se estimó directamente de los datos. Utilizando los parámetros de defecto (Yule prior para la reconstrucción del árbol y la estimación del largo de las ramas; distribución gamma para estimar el valor de theta ancestral) se realizaron dos corridas independientes con una cadena de Markov por un millón de generaciones y un burn-in de 100,000 pasos, muestreando cada 1000 generaciones. La convergencia de las cadenas se analizó utilizando el programa TRACER 1.6 (Rambaut y cols., 2014). El árbol consenso fue generado utilizando TREEAN-NOTATOR (Rambaut y Drummond, 2012) y la distribución posterior de los árboles se visualizó utilizando DENSITREE (R. R. Bouckaert, 2010).

### 3.7. Inferencia demográfica

Para discriminar entre el efecto fundador y la diversidad genética a largo plazo como el principal determinante del nivel de diversidad genética neutral de *U. auriculatus* y *U. clarionensis* se probaron hipótesis demográficas de evento fundador y vicarianza utilizando el programa DaDi (*Diffusion Approximations for Demographic Inference*; R. N. Gutenkunst y cols., 2009). DaDi simula el espectro de frecuencias alélicas (AFS) dado un modelo demográfico y lo compara con el AFS obtenido de los datos reales. A mayor similitud entre los AFS, mayor la verosimilitud del modelo.

El AFS consiste en el conteo del número de SNP bialélicos a una frecuencia dada en una población. Esta distribución de las frecuencias alélicas es en gran medida determinada por su historia demográfica



(R. Gutenkunst y cols., 2010). Debido a que no contamos con información que nos permita distinguir entre el alelo ancestral y el derivado, se utilizó un AFS doblado. En el espectro de las frecuencias alélicas doblado, el alelo derivado y el ancestral quedan registrados en una misma categoría que solo considera la distribución de los alelos “raros”. También se redujo el número de categorías de frecuencia por población para reducir la cantidad de datos faltantes y maximizar el número de sitios segregantes, lo que resultó en: 8 (Socorro), 14 (Clarión), 20 (*U. ornatus* Sur) y 24 (*U. ornatus* Norte) categorías.

Con base en las relaciones filogenéticas detectadas en el análisis de SNAPP, se propusieron hipótesis demográficas de dos poblaciones. Exploramos la historia demográfica conjunta del clado formado por *U. auriculatus* y *U. ornatus* Sur. Y para *U. clarionensis* se investigó su historia demográfica respecto a *U. ornatus* Sur y a *U. ornatus* Norte por separado. Se probaron los modelos demográficos de vicarianza y evento fundador, escritos por Charles y cols. (Figura S2; 2018). El modelo de vicarianza asume que la población insular empieza con una fracción del tamaño poblacional ancestral y que ha mantenido un tamaño constante desde el tiempo de la divergencia hasta el presente. El modelo de evento fundador asume un evento fundador seguido de un crecimiento exponencial desde el tiempo de la colonización hasta el presente. Ambos modelos se probaron con y sin eventos de migración.

Para cada modelo se calcularon los parámetros con mayor verosimilitud utilizando el método de Nelder–Mead (`optimize_log_fmin`). El primer ciclo de optimización consistió en 20 réplicas donde los valores iniciales fueron determinados al azar, para posteriormente ser perturbados y optimizado de forma aleatoria con incrementos o decrementos

de tres veces el valor inicial repitiendo esto en cinco ocasiones para cada parámetro. Para cada set de parámetros se genera un AFS de dos dimensiones y se calcula su verosimilitud. Los parámetros de la réplica con la mejor verosimilitud son utilizados como valores iniciales en el segundo ciclo de optimización el cual fue de 50 réplicas e incrementos de dos veces el valor inicial. Los parámetros de la mejor réplica son utilizados para realizar el tercer y último ciclo de optimización donde se realizan 100 réplicas con incremento de los valores iniciales de un orden de magnitud. Se realizaron 10 réplicas independientes por modelo para determinar su convergencia.

Para determinar el mejor modelo, se calculó la media del Criterio de Información de Akaike (AIC, por sus siglas en inglés) de las 10 réplicas de cada modelo. El AIC toma en consideración el número de parámetros de cada modelo y su verosimilitud. El mejor modelo fue aquel con la media más baja en el AIC. Para los mejores modelos se tradujeron los parámetros inferidos a unidades biológicas utilizando la relación  $\theta = 4N_e\mu L$  y  $T = 2N_e g$ .  $L$  se calculó como el producto de la longitud media, el número total de loci utilizados para generar el AFS y la fracción de los SNP utilizados en la simulación (Cooper y Uy, 2017). Para inferir el tiempo de colonización de las islas se utilizó una tasa de substitución de  $7.57 \times 10^{-9}$  substitución por sitio por año (Gottscho y cols., 2017) y un tiempo generacional ( $g$ ) de un año (Dunham, 1982).

## 4. Resultados

### 4.1. Secuenciación y llamado de SNP

Se generaron un total de  $\sim 265$  millones de lecturas de las cuales solo aproximadamente  $\sim 180$  millones pasaron el filtrado por kmer. Una vez filtradas las lecturas de baja calidad y aquellas con códigos de barra ambiguos, se obtuvieron en promedio  $\sim 600$  mil lecturas por individuo, con una cobertura de 30 a 198X. Una vez hecho el filtrado para datos faltantes (solo se permitió 30% de datos faltantes) y una frecuencia mínima de 0.05 se recuperaron 4,598 loci ddRADseq consenso y 6,099 SNP.

### 4.2. Estructura y diferenciación poblacional

Con base en los patrones de agrupamiento de 1905 SNP en STRUCTURE (Figura 2), el estadístico  $\Delta k$  (Evanno y cols., 2005) encontró al modelo de tres poblaciones ( $k=3$ ) como el óptimo. Bajo el supuesto de tres poblaciones ( $k=3$ ) *U. clarionensis* de Isla Clarión forma su propio grupo mientras que *U. ornatus* de distribución continental forma dos grupos bien diferenciados a los cuales nos referimos como *Urosaurus ornatus* Norte y *Urosaurus ornatus* Sur. El grupo *Urosaurus ornatus* Norte incluye a las localidades Playa Piedras Pintas, Hermosillo y Carbó en Sonora (las tres localidades más al norte) y el grupo *U. ornatus* Sur agrupa a las localidades de Cerro Prieto y Pueblo Mayo en Sonora, Topolobampo en Sinaloa e inesperadamente *U. auriculatus* de Isla Socorro que también se incluye dentro de este grupo. Bajo un modelo de cuatro poblaciones ( $k=4$ ) cada una de las especies insulares

forma su propio grupo, mientras que *U. ornatus* se mantiene como dos poblaciones distintas. De acuerdo a la variación en las frecuencias alélicas entre poblaciones (Figura 3), la cual se calculó utilizando 6,099 SNP, el valor medio de  $F_{ST}$  fue mayor entre las poblaciones insulares (U.au-U.cl = 0.58) que entre las poblaciones continentales (U.oS-U.oN = 0.18). Además, ambas especies insulares, *U. clarionensis* y *U. auriculatus*, muestran mayor similitud a la población sur de *U. ornatus* (U.oS-U.au= 0.20, U.oS-U.cl=0.27) que a la población norte (U.oN-U.au= 0.30, U.oN-U.cl= 0.37).

La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) estimada (Figura 4) para *Urosaurus ornatus* Norte y *Urosaurus ornatus* Sur fue muy similar (U.oN= 0.0057 y U.oS= 0.0055) aunque ligeramente mayor en la población norte. Como se esperaba, la reducción de  $\pi$  en las especies insulares respecto a las poblaciones continentales es muy marcada. *Urosaurus auriculatus* tiene una disminución de cerca al 65 % de su diversidad nucleotídica ( $\pi = 0.0019$ ) y *U. clarionensis* tiene una pérdida cercana al 80 % ( $\pi = 0.0011$ ). La disminución de la heterocigosidad observada respecto a la esperada (Figura 5) fue de casi el 50 % en las poblaciones continentales (U.oS  $H_e = 0.0052$ ,  $H_o = 0.0022$  y U.oN  $H_e = 0.0054$ ,  $H_o = 0.0025$ ). En contraste, en *U. clarionensis* y *U. auriculatus* la diferencia es solo del 20 % (U.cl  $H_e = 0.001$ ,  $H_o = 0.00084$  y U.au  $H_e = 0.0016$ ,  $H_o = 0.0012$ ).

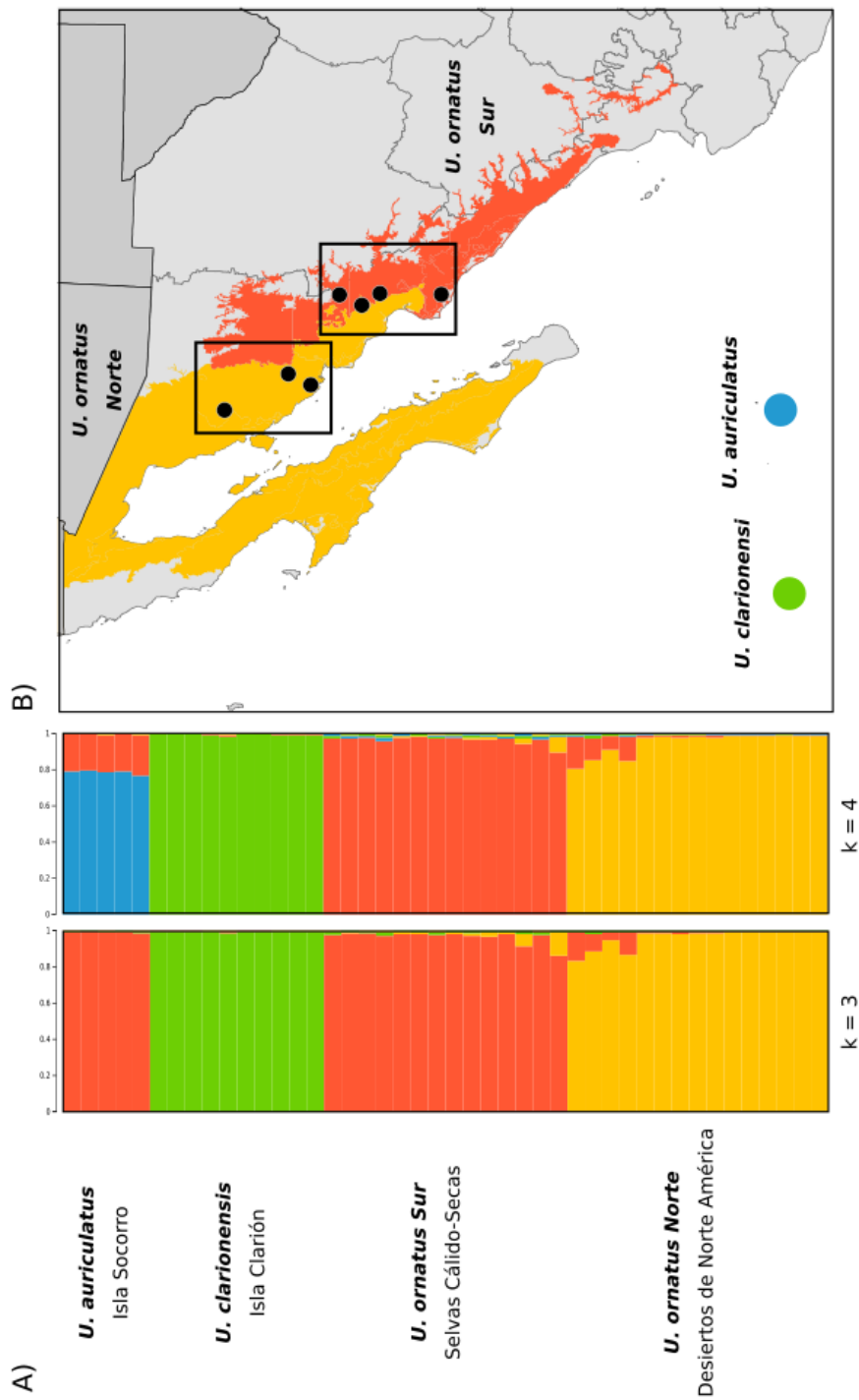


Figura 2: Estructura poblacional. A) Gráficas de Structure para 3 y 4 poblaciones ( $k=4$  y  $k=3$ ). Las barras horizontales representan individuos y los colores representan los grupos asignados. B) Sitios de muestreo de *U. ornatus* (puntos negros) y la ubicación de Isla Socorro (punto azul) e Isla Clarión (punto verde), donde se colectaron los ejemplares de *U. auriculatus* y *U. clarionensis*, respectivamente. Ecoregiones Selvas Calido-Secas (rojo) y Desiertos de Norte América (naranja).

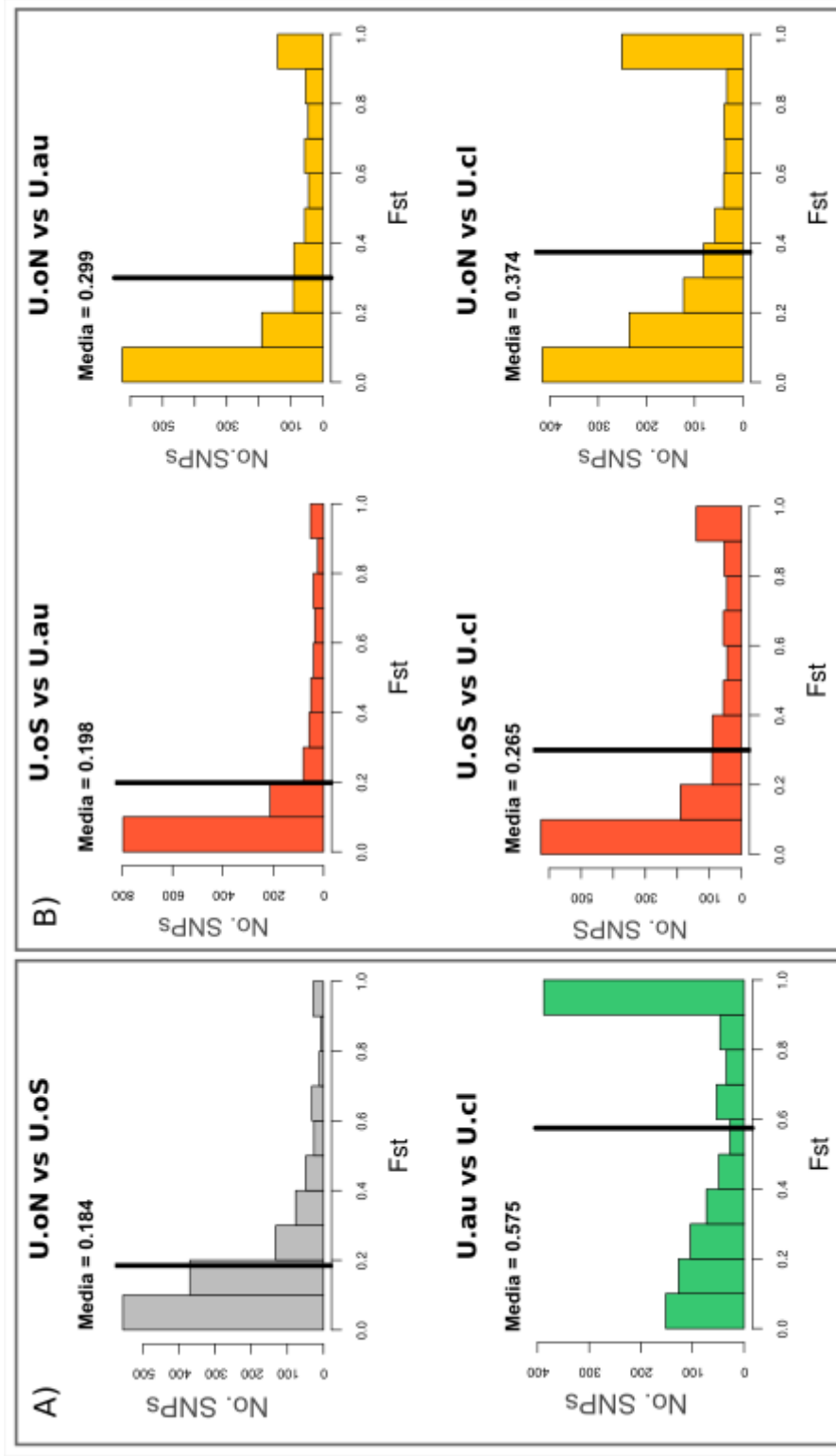


Figura 3: Análisis de diferenciación poblacional ( $F_{ST}$ ) por sitios variables por par de poblaciones. Las líneas verticales negras representan el valor medio de  $F_{ST}$  estimado para cada par de poblaciones. A)  $F_{ST}$  entre las poblaciones continentales *U. ornatus* Norte (U.oN) y *U. ornatus* Sur (U.oS) y entre las poblaciones insulares de *U. auriculatus* (U.au) y *U. clarionensis* (U.cl). B) Diferenciación poblacional de las poblaciones insulares respecto a las continentales.

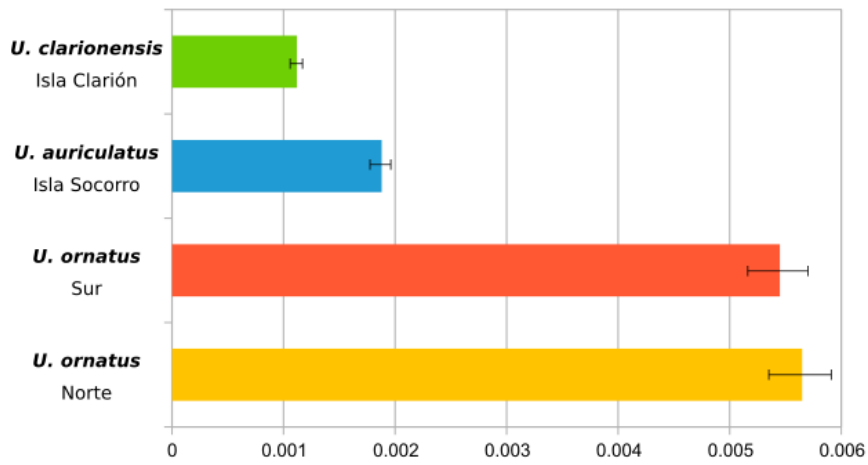


Figura 4: Diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) estimada para cada una de las poblaciones.

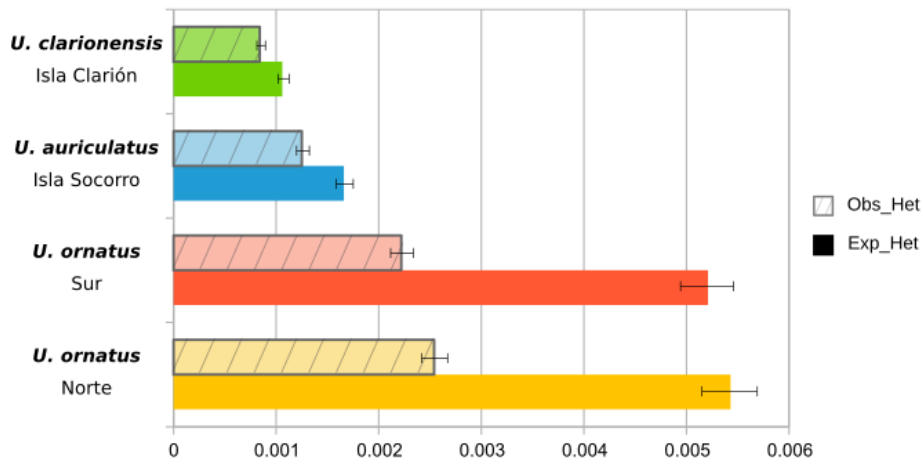


Figura 5: Heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) para cada una de las poblaciones. Colores sólidos representan  $H_e$  y los más tenues con franjas representan  $H_o$ .

### 4.3. Relación filogenética

El árbol consenso generado en el análisis de SNAPP (Figura 6), para el cual se utilizaron 935 SNP, tiene un buen soporte y coloca a *U. clarionensis* como el taxón hermano de todas las demás poblaciones. *Urosaurus ornatus* Sur y *U. auriculatus* son taxones hermanos (prob. posterior = 0.98) y *U. ornatus* Norte aparece como grupo hermano de este clado (prob. posterior = 1.0).

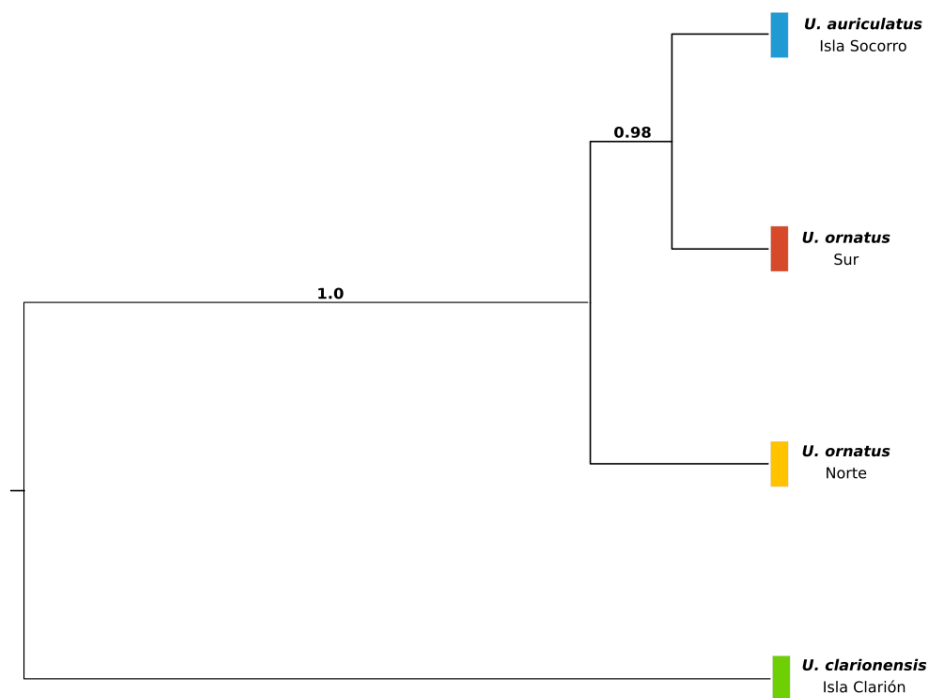


Figura 6: Árbol consenso generado utilizando 935 SNP en el programa SNAPP. Sobre las ramas se puede observar la probabilidad posterior para cada clado.



#### 4.4. Modelado demográfico

Contrario a lo esperado, para todos los pares de poblaciones el modelo de vicarianza sin migración tuvo el mejor valor del AIC y fue la mejor explicación para el nivel de diversidad genética neutral observado en *U. auriculatus* y *U. clarionensis* (Figura 7 y 8). La estimación del tiempo de divergencia entre *U. auriculatus* y *U. ornatus* Sur fue de  $\sim 110,000$  años y la estimación para el tamaño efectivo poblacional fue de  $\sim 109,000$  individuos para *U. ornatus* Sur y  $\sim 23,000$  para *U. auriculatus* (Mean AIC=491.5, SD=7.27; Figura x). Para *U. clarionensis* las estimaciones del tiempo de divergencias y tamaños poblaciones fueron muy similares respecto *Urosaurus ornatus* Norte y a *U. ornatus* Sur. Se estimó un tiempo de divergencia entre *U. clarionensis* y *U. ornatus* Norte de  $\sim 130,000$  años y un tamaño efectivo poblacional de  $\sim 51,000$  y  $\sim 14,000$  individuos, respectivamente (Cuadro S4).

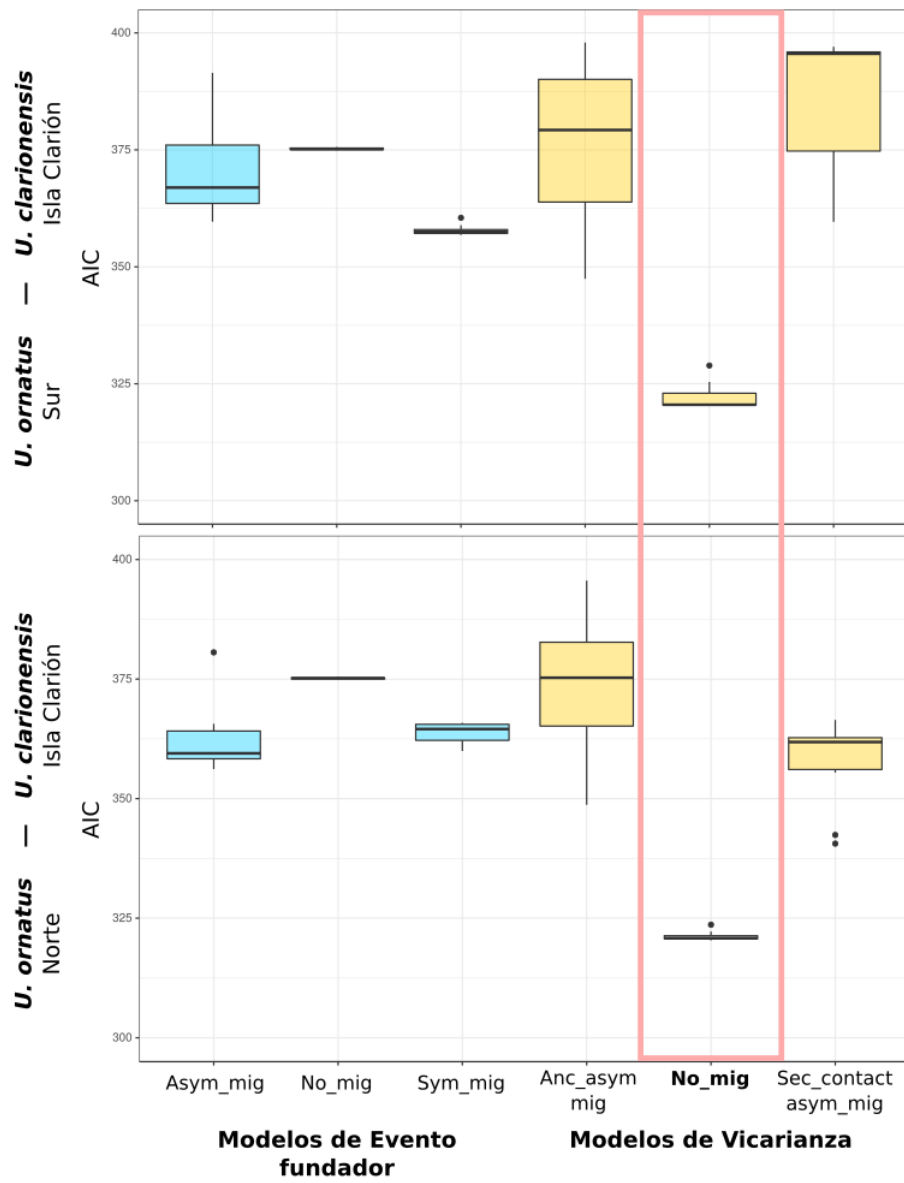


Figura 7: Criterio de información de Akaike para cada una de las hipótesis demográficas probadas para *U. clarionensis* respecto a *U. ornatus* Norte y Sur. El recuadro rojo muestra los mejores modelos.

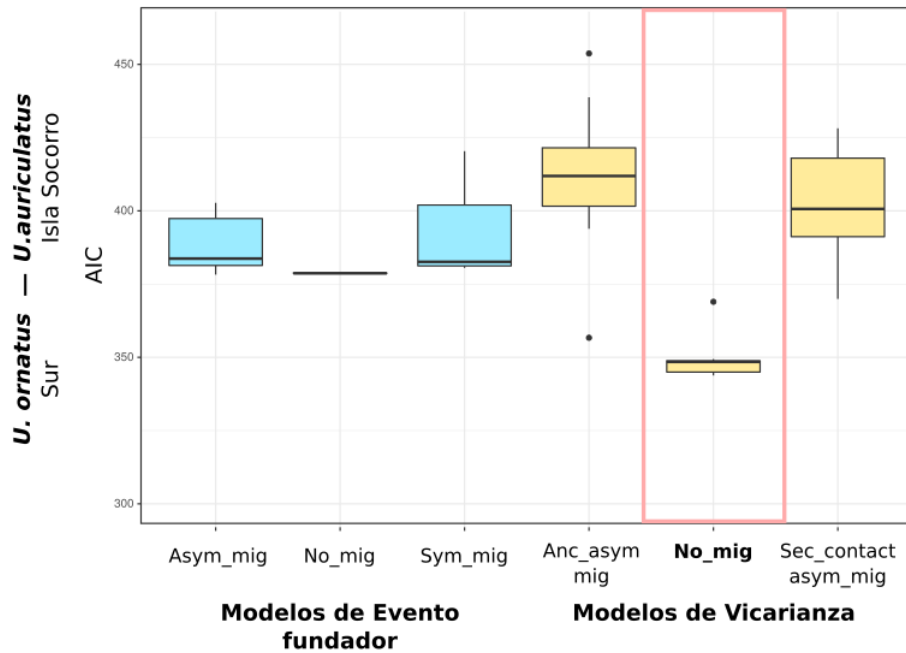


Figura 8: Criterio de información de Akaike para cada una de las hipótesis demográficas probadas para *U. auriculatus* respecto a *U. ornaus* Sur. El recuadro rojo muestra los mejores modelos.

## 5. Discusión

Actualmente *U. clarionensis*, endémica de Isla Clarión, y *U. auriculatus*, endémica de Isla Socorro, son consideradas especies hermanas, lo que sugiere que su establecimiento en el Archipiélago de Revillagigedo está asociado a un evento de colonización desde el continente seguido de otro entre estas islas (Wiens, 1993; Feldman y cols., 2011). Sin embargo, el pequeño tamaño de las islas y los cerca de 200 km que las separan, hacen de la colonización entre islas un evento poco probable (Feldman y cols., 2011). Nuestros resultados indican que

*U. clarionensis* y *U. auriculatus* representan dos eventos de colonización independientes en la que cada evento de colonización dio origen a una nueva especie. Mittleman (1942) fue el primero en proponer este escenario, al señalar que *U. clarionensis* muestra mayor similitud a *U. ornatus* en el continente que con su vecino *U. auriculatus* de Isla Socorro, aunque equivocadamente coloca a *U. bicarinatus* como la especie continental más cercana a *U. auriculatus*. La evidencia clásica de una colonización independiente es que el par de especies en las islas muestran mayor similitud con su especie más cercana en el continente que entre ellas (Coyne y Orr, 2004). Además, nuestras estimaciones del tiempo de divergencia de *U. auriculatus* y *U. clarionensis* sugieren que estos eventos de colonización están asociados a la edad de las islas, algo bastante común en archipiélagos volcánicos (Coyne y Orr, 2004). *Urosaurus clarionensis* en Isla Clarión, la más antigua de las islas, representa el evento de colonización más antiguo y *U. auriculatus* en Isla Socorro el más reciente. Estimaciones del tiempo de divergencia de *Zenaida graysoni* (paloma de Socorro; 0.58-0.88 Ma) y *Mimus graysoni* (zenzontle de Isla Socorro; 0.45 Ma) indican una rápida colonización de Isla Socorro después de su formación (Barber y cols., 2004; Lovette y cols., 2012; Evans III y cols., 2015). Esto se pudo ver facilitado por la gran capacidad de dispersión de estas especies. En cambio, para los otros reptiles endémicos del archipiélago (*Hypsiglena unaocularis* y *Masticophis anthonyi*) no se tienen estimaciones del tiempo de colonización.

La similitud de *U. auriculatus* con *U. ornatus* Sur, sugiere una reciente colonización de Isla Socorro desde la parte sur de la distribución de *U. ornatus*. Esto concuerda con trabajos previos que ubican a

las poblaciones continentales más cercanas filogenéticamente a las serpientes *Hypsiglena unaocularis* y *Masticophis anthonyi*, endémicas a Isla Clarión, en la región de Álamos cerca de la frontera entre Sinaloa y Sonora (Mulcahy y cols., 2014; Myers y cols., 2017). Álamos es una región de gran importancia biológica, ya que es el lugar de transición entre las ecorregiones Desiertos de Norte América y Selvas Cálido Secas, con las cuales parecen corresponderse *U. ornatus* Norte y *U. ornatus* Sur, y el sitio de desembocadura del Río Fuerte que fluye hacia el Golfo de California desde la Sierra Madre Occidental. La similitud entre los reptiles endémicos del Archipiélago de Revillagigedo y las poblaciones en el área de Álamos, sugiere que el Río Fuerte pudo haber teniendo un papel importante en la dispersión de estas especies hacia las islas, al arrastrar balsas de material vegetal desde el continente hasta el mar.

A pesar de que *U. auriculatus* se agrupa en una sola población con *U. ornatus* Sur, ambas poblaciones difieren dramáticamente en su coloración. Lo mismo sucede con *U. clarionensis* respecto a *U. ornatus*. Sin embargo, en reptiles y en aves se ha observado que una dramática diferenciación fenotípica puede ser el resultado de la diferenciación de unos pocos genes aún en presencia de flujo genético (King, 2003; Toews y cols., 2016; Cooper y Uy, 2017). En *U. ornatus* la coloración es un carácter altamente polimórfico entre los machos. La zona ventral puede presentar una coloración azul o amarillo-naranja, mientras que en la garganta se conocen al menos nueve combinaciones distintas de color. En cambio, *U. auriculatus* y *U. clarionensis* tienen un color dorsal azul y verde-azul brillante, respectivamente, únicos en el género y no presentan coloración en la garganta (Feldman y cols., 2011). Estas peculiaridades agruparon a *U. ariculatus* y *U. clarionensis* como especies

hermanas en la filogenia propuesta por Wiens (1993). No obstante, en lagartijas, la coloración dorsal es una característica que se puede ver afectada por la insularidad. Esto ha sido atribuido al menor número de depredadores en islas, lo que podría estar disminuyendo las presiones selectivas para un color críptico con el ambiente (Feldman y cols., 2011; Runemark y cols., 2014). Esto podría explicar la coloración dorsal azul y verde-azul brillante de *U. auriculatus* y *U. clarionensis* en el Archipiélago de Revillagigedo y la falta de este carácter en las especies continentales del género. Además, las poblaciones continentales de *U. ornatus* que son monomórficas para el color de la garganta siempre fijan el color azul o verde-azul brillante (Smith y Zucker, 1997; Moore y cols., 1998). La fijación de un color dorsal distinto en *U. auriculatus* y *U. clarionensis*, puede ser una evidencia adicional e independiente de dos eventos de colonización independientes. Ya que en el caso de una colonización serial, si la primera población fundada desde el continente hubiera fijado un color antes del segundo evento de colonización, entonces en la segunda población un nuevo color solo habría podido aparecer como consecuencia de una nueva mutación que convergiera a los fenotipos ya observados en el continente, lo que parece poco probable.

Además de la aparente correspondencia entre los sitios de muestreo de *U. ornatus* Sur y *U. ornatus* Norte con las ecorregiones Desiertos de Norte América y Selvas Cálido Secas, otra característica de los sitios de muestreo de *U. ornatus* Sur es que se corresponden con sitios donde *U. ornatus* vive en simpatría con *U. bicarinatus*. Se ha reportado que cuando esto sucede, se da una separación ecológica entre estas especies. *Urosaurus ornatus* habita zonas de vegetación densa y debajo de objetos en la superficie, mientras *U. bicarinatus* habita árboles

principalmente (Hardy y McDiarmid, 1969). La diferenciación entre *U. ornatus* Norte y *U. ornatus* Sur podría deberse a las marcadas diferencias en el hábitat, a la separación ecológica con *U. bicarinatus* o a una combinación de ambas. Si *U. ornatus* Norte y *U. ornatus* Sur utilizan un hábitat distinto, puede que estén sometidas a presiones selectivas distintas. Por lo tanto, los híbridos de estas dos poblaciones tendrán una adecuación menor a la de los individuos locales, lo que reduciría el flujo genético y llevaría a la divergencia de las poblaciones. Ya que nuestros resultados sugieren que la diferenciación de las poblaciones de *U. ornatus* está asociada a la diferenciación de unos pocos loci, es posible que solo una pequeña fracción del genoma se encuentre bajo selección divergente y esté contribuyendo a disminuir el flujo genético entre las poblaciones (Krohn y cols., 2019). Una marcada diferencia en uso del hábitat entre las poblaciones de *U. ornatus* podría haber tenido consecuencias en el largo de las patas traseras, el cual es un carácter que está relacionado con el tamaño de la percha en las lagartijas del género *Anolis* (Losos y Sinervo, 1989), por lo que la hipótesis de un uso diferencial del hábitat podría ser puesta a prueba buscando diferenciación morfológica entre las poblaciones.

Como se esperaba, observamos una dramática reducción de la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y de la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), ambas medidas de la diversidad genética, en *U. clarionensis* y *U. auriculatus*, respecto a *U. ornatus* en el continente. La reducción de la diversidad genética en poblaciones insulares es un fenómeno común, que puede ser el resultado de diversos procesos estocásticos, como el efecto fundador, cuellos de botella poblacionales o un reducido tamaño efectivo poblacional (Frankham, 1997). Nuestras estimaciones de  $\pi$  para *U. auriculatus*

y *U. clarionensis* son similares a las estimadas para gorilas (*Gorilla gorilla*), delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) y el zorro isleño de Isla Santa Catalina (*Urocyon littoralis*). Todas estas especies han pasado por cuellos de botella severos o han tenido un histórico tamaño efectivo poblacional pequeño (J. A. Robinson y cols., 2016). De igual manera, el tecolote llanero de Isla Socorro (*Athene cunicularia rostrata*) muestra una reducción de la heterocigosidad, similar a la observada en *U. auriculatus* y *U. clarionensis*, la cual pudo haber ocurrido durante la colonización de la isla (Macías-Duarte y cols., 2019). Aunque una dramática reducción de la diversidad genética podría ser un indicativo de un cuello de botella poblacional, los resultados de nuestro análisis demográfico sugieren que la pérdida de diversidad genética de *U. auriculatus* respecto a *U. ornatus* Sur, y de *U. clarionensis* respecto a *U. ornatus* Norte y Sur está asociada a la deriva genética a largo plazo a consecuencia de un histórico tamaño efectivo poblacional pequeño y no a la pérdida de diversidad producto de un evento fundador. Por este motivo, la reducción de la diversidad genética de *U. clarionensis* respecto a las poblaciones continentales es mucho más severa que en *U. auriculatus*, ya que representa el evento de colonización más antiguo. A esto se le podría sumar que Isla Socorro es topográfica y biológicamente más compleja que Isla Clarión, lo que podría estar contribuyendo a mantener un mayor nivel de diversidad genética en *U. auriculatus* debido a una mayor heterogeneidad ambiental (Huang y cols., 2016).

Estimar correctamente cambios severos en el tamaño efectivo poblacional como cuellos de botella y expansiones poblacionales son la tarea más difícil en el modelado demográfico. Esto se debe a la dificultad de estimar correctamente la frecuencia de las variantes alélicas de menor



frecuencia, las cuales son clave para inferir estos eventos demográficos. La dificultad es tanta que incluso con datos ddRAD simulados y secuenciación completa del genoma las estimaciones son muy variables (Shafer y cols., 2017). Usualmente modelos simples y eventos demográficos antiguos requieren de un tamaño de muestra pequeño (tres individuos) para tener un buen soporte. En cambio, detectar cuellos de botella y expansiones poblaciones recientes y antiguos requiere de un tamaño de muestra de al menos 20 individuos (J. D. Robinson y cols., 2014). Estas dificultades técnicas podrían haber limitado nuestra capacidad de detectar los cambios demográficos asociados al efecto fundador. Otra posible alternativa es que las colonizaciones de Isla Clarión e Isla Socorro se hayan dado por un número relativamente grande de individuos, lo que podría haber minimizado el efecto fundador. Sin embargo, la colonización por medio de balsas vegetales arrastradas desde el continente (Brattstrom, 1955) hacen poco probable este escenario. Debido a que las islas que forman el Archipiélago de Revillagigedo nunca han estado en contacto con el continente, el escenario que creemos más probable para la colonización de las islas es la colonización por unos pocos individuos, seguido de un crecimiento exponencial breve hasta alcanzar la capacidad de carga de las islas, después de lo cual el tamaño poblacional permanecido relativamente constante. Por lo que también es necesario probar modelos más realistas, que involucren cuellos de botella poblaciones con crecimiento exponencial seguido de un tamaño de población constante.

Observamos una reducción de la heterocigosidad observada respecto a la esperada bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg. Mientras que las especies insulares tuvieron una reducción cercana al 20%, en

las poblaciones continentales la disminución fue de casi el 60%. Esta reducción de la heterocigosidad podría deberse a estructura poblacional, parentesco o a un apareamiento no aleatorio (Wang, 2018). Ya que con el análisis de STRUCTURE se buscó reducir la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg a consecuencia de la estructura poblacional y el solo tomar un individuo por localidad para disminuir el parentesco entre las muestras tampoco afectó el análisis, estas explicaciones parecen poco probables. En *U. ornatatus*, como ya se mencionó, los machos presentan distintos fenotipos de coloración, lo que los hace diferir en morfología y comportamiento. Estas diferencias están asociadas a distintas estrategias reproductivas. Mientras que algunos machos son territoriales, agresivos y defienden territorios grandes, otros ocupan pequeños territorios en la periferia de los primeros y algunos incluso son nómadas y no defienden un territorio (Hews y cols., 1997; Moore y cols., 1998). Estas diferencias en las estrategias reproductivas podrían estar contribuyendo al apareamiento selectivo y a la desviación de las frecuencias esperadas bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg. En cambio, en poblaciones insulares se ha propuesto que debido a la pérdida de la diversidad genética se espera que el apareamiento selectivo se reduzca debido a que los machos son todos muy similares en su composición genética (Doutrelant y cols., 2016). Esto es fácilmente observable en *U. auriculatus* y *U. clarionensis*, ya que en ambas poblaciones los machos son monomórficos en su coloración, lo que incrementa las posibilidades de un apareamiento aleatorio lo que podría resultar en los patrones que observamos de heterocigosidad.

Trabajos recientes en poblaciones insulares sugieren que el nivel de diversidad genética neutral de las poblaciones insulares respecto a

las poblaciones continentales está determinado por el efecto de la deriva genética a largo plazo (Clegg y cols., 2002; J. A. Robinson y cols., 2016; Charles y cols., 2018). Sin embargo, la dificultad de detectar los cuellos de botella poblacionales y sus efectos sobre la diversidad genética y la diferenciación de poblaciones, no permite descartar la participación del efecto fundador. Es necesario seguir trabajando con poblaciones insulares utilizando metodologías enfocadas a la detección y caracterización de los efectos de los cuellos de botella poblacionales. Si no somos capaces de determinar el papel de efecto fundador en el establecimiento y diferenciación de especies endémicas de islas volcánicas, donde la especiación peripátrica es el escenario más probable, nos será aún más difícil determinar el papel del efecto fundador en especies continentales, en las cuales no podemos asumir que las especies de distribución peripátrica fueron peripátricas en el pasado, debido a que los rangos de distribución pueden variar dramáticamente a través del tiempo.

## 6. Conclusiones

Los establecimientos de *U. auriculatus* y *U. clarionensis* representan dos eventos de colonización independientes desde el continente y están asociados a la edad geológica de las islas. *Urosaurus clarionensis*, en Isla Clarión la más antigua de las islas, representa el evento de colonización más antiguo y *U. auriculatus* en Isla Socorro, representa el más reciente. Estos resultados se oponen a la hipótesis actual que propone un evento de colonización desde el continente seguido de otro entre islas. Además, la colonización de Isla Socorro parece haberse dado por individuos de la parte sur de la distribución de *U. ornatus* en

un tiempo geológico relativamente reciente por lo que muestra poca diferenciación genética respecto a la población continental. Tanto *U. clarionensis* como *U. auriculatus* tienen una drástica reducción de la diversidad genética respecto a *U. ornatus* en el continente. Esta reducción, está asociada a la deriva genética a largo plazo y no al evento fundador como se esperaba, aunque nuestros resultados pudieron haberse visto afectados por la dificultad de detectar cambios poblacionales severos y sus consecuencias. Es necesario seguir trabajando en la caracterización de los cambios genéticos asociados a los cuellos de botella fundadores en especies endémicas de islas oceánicas, las cuales son vistas como pruebas de especiación peripátrica, para en un futuro ser capaces de detectar estos cambios en sistemas continentales y estar un paso más cerca de comprender la importancia del efecto fundador en el proceso de especiación.

## 7. Perspectivas

Debido a la dificultad de detectar cuellos de botella y expansiones poblacionales, es necesario aumentar el tamaño de muestra y hacer uso de un programa que permita determinar de forma más precisa las frecuencias de los alelos de baja frecuencia. Estos alelos son de vital importancia a la hora de modelar cambios en el tamaño efectivo poblacional. Una alternativa sería utilizar ANGSD (Korneliussen y cols., 2014) el cual mejora de forma considerable las inferencias demográficas (Warmuth y Ellegren, 2019).

Aprovechando que *U. ornatus* también se distribuye en tres de las cuatro islas que forman el Archipiélago de las Islas Marías, fren-

te a las costas de Nayarit en México, podemos comparar el nivel de diversidad genética y de diferenciación de estas poblaciones respecto a las poblaciones continentales, y a *U. clarionensis* y *U. auriculatus*. Las poblaciones de *U. ornatus* en el Archipiélago de las Islas Marías son poblaciones que quedaron aisladas con los cambios en el nivel del mar por lo que representan posibles eventos de vicarianza. Por lo que añadirlas al estudio nos ayudará a discriminar entre los efectos de un cuello de botella fundador y los de un evento de vicarianza en la diversidad genética y la diferenciación de especies insulares respecto a sus especies continentales más cercanas. Este trabajo se puede extender a más grupos taxonómicos, como las serpientes del género *Hypsiglena* que también cuentan con representantes en las Islas Marías y el Archipiélago de Revillagigedo, para buscar patrones generalizados asociados al evento fundador y de vicarianza y estar un paso más cerca de comprender la importancia del efecto fundador en el proceso de especiación.

## Referencias

- Aguirre-Muñoz, A., Méndez-Sánchez, F., Ortiz-Alcaraz, A., Del Mazo-Maza, A., Fueyo-MacDonald, L., Rhodes-Espinoza, A., . . . García-Martínez, S. (2015). Formulario de nominación del bien natural Archipiélago de Revillagigedo para su inscripción en la lista del patrimonio mundial, presentado al centro de patrimonio mundial de la UNESCO. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas y Grupo de Ecología y Conservación de Islas, A.C.
- Barber, B. R., Martínez-Gómez, J. E., y Peterson, A. T. (2004). Systematic position of the Socorro mockingbird *Mimodes graysoni*. *Journal of Avian*

- Biology, 35(3), 195–198.
- Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C.-H., Xie, D., ... Drummond, A. J. (2014). Beast 2: a software platform for bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 10(4), e1003537.
- Bouckaert, R. R. (2010). Densitree: making sense of sets of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 26(10), 1372–1373.
- Brattstrom, B. H. (1955). Notes on the herpetology of the Revillagigedo islands, Mexico. *The American Midland Naturalist*, 54(1), 219–229.
- Brattstrom, B. H. (1990). Biogeography of the islas Revillagigedo, Mexico. *Journal of Biogeography*, 177–183.
- Bryant, D., Bouckaert, R., Felsenstein, J., Rosenberg, N. A., y RoyChoudhury, A. (2012). Inferring species trees directly from biallelic genetic markers: bypassing gene trees in a full coalescent analysis. *Molecular biology and evolution*, 29(8), 1917–1932.
- Cariou, M., Duret, L., y Charlat, S. (2013). Is rad-seq suitable for phylogenetic inference? an in silico assessment and optimization. *Ecology and evolution*, 3(4), 846–852.
- Carson, H. L. (1968). The population flush and its genetic consequences. En R. C. Lewontin (Ed.), *Population biology and evolution* (p. 123-137). Syracuse University Press.
- Carson, H. L., y Templeton, A. R. (1984). Genetic revolutions in relation to speciation phenomena: the founding of new populations. *Annual review of ecology and systematics*, 15(1), 97–132.

- Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A., y Cresko, W. A. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular ecology*, 22(11), 3124–3140.
- Catchen, J. M., Amores, A., Hohenlohe, P., Cresko, W., y Postlethwait, J. H. (2011). Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. *G3: Genes, genomes, genetics*, 1(3), 171–182.
- Charles, K. L., Bell, R. C., Blackburn, D. C., Burger, M., Fujita, M. K., Gvoždik, V., ... Portik, D. M. (2018). Sky, sea, and forest islands: Diversification in the african leaf-folding frog *Afrixalus paradorsalis* (anura: Hyperoliidae) of the Lower Guineo-Congolian rain forest. *Journal of biogeography*, 45(8), 1781–1794.
- Chen, X.-Y., y He, F. (2009). Speciation and endemism under the model of island biogeography. *Ecology*, 90(1), 39–45.
- Clegg, S. M., Degnan, S. M., Kikkawa, J., Moritz, C., Estoup, A., y Owens, I. P. (2002). Genetic consequences of sequential founder events by an island-colonizing bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(12), 8127–8132.
- CONANP. (2004). Programa de conservación y de manejo reserva de la biosfera Archipiélago Revillagigedo. México, DF: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas.
- Cooper, E. A., y Uy, J. A. C. (2017). Genomic evidence for convergent evolution of a key trait underlying divergence in island birds. *Molecular ecology*, 26(14), 3760–3774.
- Coyne, J. A., y Orr, H. A. (2004). *Speciation*. Sinauer Associates, Inc.

- Darwin, C., y Wallace, A. (1858). On the tendency of species to form varieties; and on the perpetuation of varieties and species by natural means of selection. *Journal of the proceedings of the Linnean Society of London. Zoology*, 3(9), 45–62.
- Doutrelant, C., Paquet, M., Renoult, J. P., Grégoire, A., Crochet, P.-A., y Covas, R. (2016). Worldwide patterns of bird colouration on islands. *Ecology letters*, 19(5), 537–545.
- Dunham, A. E. (1982). Demographic and life-history variation among populations of the iguanid lizard *Urosaurus ornatus*: implications for the study of life-history phenomena in lizards. *Herpetologica*, 208–221.
- Eaton, D. A. (2014). Pyrad: assembly of de novo radseq loci for phylogenetic analyses. *Bioinformatics*, 30(13), 1844–1849.
- Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611–2620.
- Evans III, E. L., Martínez-Gómez, J. E., y Sehgal, R. N. (2015). Phylogenetic relationships and taxonomic status of the endemic Socorro warbler (*Setophaga pitiayumi graysoni*). *Journal of ornithology*, 156(2), 363–370.
- Falush, D., Stephens, M., y Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567–1587.
- Feldman, C. R., Flores-Villela, O., y Papenfuss, T. J. (2011). Phylogeny, biogeography, and display evolution in the tree and brush lizard genus *Urosaurus* (squamata: Phrynosomatidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 61(3), 714–725.



- Frankham, R. (1997). Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity*, 78(3), 311.
- Futuyma, D. J., y Kirkpatrick, M. (2011). *Evolution*. Oxford University Press.
- Gottscho, A. D., Wood, D. A., Vandergast, A. G., Lemos-Espinal, J., Gattesy, J., y Reeder, T. W. (2017). Lineage diversification of fringe-toed lizards (phrynosomatidae: *Uma notata* complex) in the colorado desert: Delimiting species in the presence of gene flow. *Molecular phylogenetics and evolution*, 106, 103–117.
- Grant, P. R. (2002). Founder effects and silvereyes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(12), 7818–7820.
- Gutenkunst, R., Hernandez, R., Williamson, S., y Bustamante, C. (2010). Diffusion approximations for demographic inference: Dadi. *Nature Precedings*, 5, 1–1.
- Gutenkunst, R. N., Hernandez, R. D., Williamson, S. H., y Bustamante, C. D. (2009). Inferring the joint demographic history of multiple populations from multidimensional snp frequency data. *PLoS genetics*, 5(10), e1000695.
- Hamilton, M. (2011). *Population genetics*. John Wiley & Sons.
- Hardy, L. M., y McDiarmid, R. W. (1969). *The amphibians and reptiles of Sinaloa, Mexico*. University of Kansas Publications, Museum of Natural History.
- Hews, D. K., Thompson, C. W., Moore, I. T., y Moore, M. C. (1997). Population frequencies of alternative male phenotypes in tree lizards: geo-

- graphic variation and common-garden rearing studies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41(6), 371–380.
- Holsinger, K. E., y Weir, B. S. (2009). Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting  $F_{st}$ . *Nature Reviews Genetics*, 10(9), 639.
- Huang, Y., Tran, I., y Agrawal, A. F. (2016). Does genetic variation maintained by environmental heterogeneity facilitate adaptation to novel selection? *The American Naturalist*, 188(1), 27–37.
- Jakobsson, M., y Rosenberg, N. A. (2007). Clumpp: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23(14), 1801–1806.
- Kaneshiro, K. Y., Gillespie, R. G., y Carson, H. L. (1995). Chromosomes and male genitalia of hawaiian *Drosophila*: tools for interpreting phylogeny and geography. *Hawaiian biogeography: evolution on a hot spot archipelago*, 57–71.
- Kier, G., Kreft, H., Lee, T. M., Jetz, W., Ibisch, P. L., Nowicki, C., . . . Barthlott, W. (2009). A global assessment of endemism and species richness across island and mainland regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(23), 9322–9327.
- King, R. B. (2003). Mendelian inheritance of melanism in the garter snake *Thamnophis sirtalis*. *Herpetologica*, 59(4), 484–489.
- Kolbe, J. J., Leal, M., Schoener, T. W., Spiller, D. A., y Losos, J. B. (2012). Founder effects persist despite adaptive differentiation: a field experiment with lizards. *Science*, 335(6072), 1086–1089.

- Korneliussen, T. S., Albrechtsen, A., y Nielsen, R. (2014). ANGSD: analysis of next generation sequencing data. *BMC bioinformatics*, 15(1), 356.
- Krohn, A. R., Diepeveen, E. T., Bi, K., y Rosenblum, E. B. (2019). Local adaptation does not lead to genome-wide differentiation in lava flow lizards. *Ecology and Evolution*.
- Leache, A. D., Chavez, A. S., Jones, L. N., Grummer, J. A., Gottscho, A. D., y Linkem, C. W. (2015). Phylogenomics of phrynosomatid lizards: conflicting signals from sequence capture versus restriction site associated dna sequencing. *Genome biology and evolution*, 7(3), 706–719.
- Losos, J. B., y Ricklefs, R. E. (2009). Adaptation and diversification on islands. *Nature*, 457(7231), 830.
- Losos, J. B., y Sinervo, B. (1989). The effects of morphology and perch diameter on sprint performance of *Anolis* lizards. *Journal of Experimental Biology*, 145(1), 23–30.
- Lovette, I. J., Arbogast, B. S., Curry, R. L., Zink, R. M., Botero, C. A., Sullivan, J. P., ... others (2012). Phylogenetic relationships of the mockingbirds and thrashers (aves: Mimidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(2), 219–229.
- Macías-Duarte, A., Conway, C. J., Holroyd, G. L., Valdez-Gómez, H. E., y Culver, M. (2019). Genetic variation among island and continental populations of burrowing owl (*Athene cunicularia*) subspecies in North America. *Journal of Raptor Research*, 53(2), 127–133.
- Manthey, J. D., Campillo, L. C., Burns, K. J., y Moyle, R. G. (2016). Comparison of target-capture and restriction-site associated dna sequencing

- for phylogenomics: a test in cardinalid tanagers (aves, genus: *Piranga*). *Systematic biology*, 65(4), 640–650.
- Mastretta-Yanes, A., Arrigo, N., Alvarez, N., Jorgensen, T. H., Piñero, D., y Emerson, B. C. (2015). Restriction site-associated dna sequencing, genotyping error estimation and de novo assembly optimization for population genetic inference. *Molecular ecology resources*, 15(1), 28–41.
- Mayr, E. (1942). *Systematics and the origin of species*. Columbia University Press.
- Mayr, E. (1954). Change in genetic environment and evolution. En J. Huxley, A. C. Hardy, y E. B. Ford (Eds.), *Evolution as a process* (p. 157-180). London, Allen Unwin.
- Mayr, E. (1982). Speciation and macroevolution. *Evolution*, 36(6), 1119–1132.
- Mittleman, M. B. (1942). A summary of the iguanid genus *Urosaurus*. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College*, 153.
- Moore, M. C., Hews, D. K., y Knapp, R. (1998). Hormonal control and evolution of alternative male phenotypes: generalizations of models for sexual differentiation. *American Zoologist*, 38(1), 133–151.
- Mulcahy, D. G., Martínez-Gómez, J. E., Aguirre-León, G., Cervantes-Pasqualli, J. A., y Zug, G. R. (2014). Rediscovery of an endemic vertebrate from the remote islas Revillagigedo in the Eastern Pacific Ocean: the Clarión nightsnake lost and found. *PloS one*, 9(5), e97682.

- Myers, E. A., Burgoon, J. L., Ray, J. M., Martínez-Gómez, J. E., Matías-Ferrer, N., Mulcahy, D. G., y Burbrink, F. T. (2017). Coalescent species tree inference of *Coluber* and *Masticophis*. *Copeia*, 105(4), 640–648.
- Naturalista. (2019). Conabio. (<http://http://www.naturalista.mx> [Accessed: August,2019])
- Paris, J. R., Stevens, J. R., y Catchen, J. M. (2017). Lost in parameter space: a road map for STACKS. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(10), 1360–1373.
- Peterson, B. K., Weber, J. N., Kay, E. H., Fisher, H. S., y Hoekstra, H. E. (2012). Double digest radseq: an inexpensive method for de novo snp discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one*, 7(5), e37135.
- Porras-Hurtado, L., Ruiz, Y., Santos, C., Phillips, C., Carracedo, Á., y Lareu, M. (2013). An overview of STRUCTURE: applications, parameter settings, and supporting software. *Frontiers in genetics*, 4, 98.
- Portik, D. M., Leaché, A. D., Rivera, D., Barej, M. F., Burger, M., Hirschfeld, M., . . . Fujita, M. K. (2017). Evaluating mechanisms of diversification in a guineo-congolian tropical forest frog using demographic model selection. *Molecular ecology*, 26(19), 5245–5263.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
- Rambaut, A., y Drummond, A. (2012). Treeannotator, version 1.7.5. Available at [beast.bio.ed.ac.uk/TreeAnnotator](http://beast.bio.ed.ac.uk/TreeAnnotator). Accessed April, 15, 2013.

- Rambaut, A., Suchard, M., Xie, D., y Drummond, A. (2014). Tracer 1.6.  
URL: <http://beast.bio.ed.ac.uk/tracer>.
- Rau, C. S., y Loomis, R. B. (1977). A new species of *Urosaurus* (reptilia, lacertilia, iguanidae) from Baja California, Mexico. *Journal of Herpetology*, 25–29.
- Richards, A. F. (1959). Geology of the islas Revillagigedo, Mexico. *Bulletin Volcanologique*, 22(1), 73.
- Robinson, J. A., Ortega-Del Vecchyo, D., Fan, Z., Kim, B. Y., Marsden, C. D., Lohmueller, K. E., ... others (2016). Genomic flatlining in the endangered island fox. *Current Biology*, 26(9), 1183–1189.
- Robinson, J. D., Coffman, A. J., Hickerson, M. J., y Gutenkunst, R. N. (2014). Sampling strategies for frequency spectrum-based population genomic inference. *BMC evolutionary biology*, 14(1), 254.
- Rodriguez-Estrella, R., de la Luz, J. L. L., Breceda, A., Castellanos, A., Cancino, J., y Llinas, J. (1996). Status, density and habitat relationships of the endemic terrestrial birds of Socorro Island, Revillagigedo islands, Mexico. *Biological Conservation*, 76(2), 195–202.
- Runemark, A., Brydegaard, M., y Svensson, E. I. (2014). Does relaxed predation drive phenotypic divergence among insular populations? *Journal of evolutionary biology*, 27(8), 1676–1690.
- Shafer, A. B., Peart, C. R., Tusso, S., Maayan, I., Brelsford, A., Wheat, C. W., y Wolf, J. B. (2017). Bioinformatic processing of rad-seq data dramatically impacts downstream population genetic inference. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(8), 907–917.

- Slatkin, M. (1996). In defense of founder-flush theories of speciation. *The American Naturalist*, 147(4), 493–505.
- Smith, J. M., y Zucker, N. (1997). Do female tree lizards, *Urosaurus ornatus*, exhibit mate choice? *Journal of Herpetology*, 179–186.
- Soja, C. M. (1992). Potential contributions of ancient oceanic islands to evolutionary theory. *The Journal of Geology*, 100(1), 125–134.
- Templeton, A. R. (1980). The theory of speciation via the founder principle. *Genetics*, 94(4), 1011–1038.
- Templeton, A. R. (2008). The reality and importance of founder speciation in evolution. *Bioessays*, 30(5), 470–479.
- Toews, D. P., Taylor, S. A., Vallender, R., Brelsford, A., Butcher, B. G., Messer, P. W., y Lovette, I. J. (2016). Plumage genes and little else distinguish the genomes of hybridizing warblers. *Current Biology*, 26(17), 2313–2318.
- Triantis, K., Whittaker, R. J., Fernández-Palacios, J. M., y Geist, D. J. (2016). Oceanic archipelagos: a perspective on the geodynamics and biogeography of the world's smallest biotic provinces. Issue: *Frontiers of Biogeography*, 8 (2).
- Wang, J. (2018). Effects of sampling close relatives on some elementary population genetics analyses. *Molecular ecology resources*, 18(1), 41–54.
- Warmuth, V. M., y Ellegren, H. (2019). Genotype-free estimation of allele frequencies reduces bias and improves demographic inference from radseq data. *Molecular ecology resources*, 19(3), 586–596.

Warren, B. H., Simberloff, D., Ricklefs, R. E., Aguilee, R., Condamine, F. L., Gravel, D., ... others (2015). Islands as model systems in ecology and evolution: prospects fifty years after MacArthur-Wilson. *Ecology Letters*, 18(2), 200–217.

Wiens, J. J. (1993). Phylogenetic systematics of the tree lizards (genus *Urosaurus*). *Herpetologica*, 399–420.



## 8. Material Suplementario

Cuadro S1: Localidad, especie y número de individuos colectados.

ID	Localidad	Especie	No. Individuos
1	Isla Clarion, COL	<i>U. clarionensis</i>	10
2	Isla Socorro, COL	<i>U. auriculatus</i>	7
3	Topolobampo, SIN	<i>U. ornatus</i>	4
4	Cerro Prieto, SON	<i>U. ornatus</i>	5
5	Pueblo Mayo, SON	<i>U. ornatus</i>	5
6	Presa Alvaro Obregon, SON	<i>U. ornatus</i>	4
7	Playa Piedras Pintas, SON	<i>U. ornatus</i>	3
8	Hermosillo, SON	<i>U. ornatus</i>	3
9	Carbó, SON	<i>U. ornatus</i>	6



Figura S1: Sitios de muestreo en el Archipiélago de Revillagigedo y en México continental. El color verde representa la localidad donde se colectaron los ejemplares de *U. clarionensis*, el azul donde se colectó *U. auriculatus* y el amarillo las localidades de *U. ornatus*. Los números corresponden al ID asignado a cada localidad en la Cuadro 1.

Cuadro S2: Volumen final de ADN utilizado por muestra y los adaptadores que les fue asignados a cada una para la construcción de las librerías

Librería	Adaptador_P1_ID	Muestra ID	ng/muestra	P7_Idx_ID	P5_Idx_ID
1	MspI_P1_GCATG	U.cl_4	300	Idx_1_ATCACG	Idx_1_TCGCAGG
1	MspI_P1_AACCA	U.cl_5	300	Idx_1_ATCACG	Idx_1_TCGCAGG
1	MspI_P1_CGATC	U.cl_6	300	Idx_1_ATCACG	Idx_1_TCGCAGG
1	MspI_P1_TCGAT	U.cl_9	300	Idx_1_ATCACG	Idx_1_TCGCAGG
1	MspI_P1_TGCAT	U.cl_10	300	Idx_1_ATCACG	Idx_1_TCGCAGG
2	MspI_P1_GCATG	3172	300	Idx_2_CGATGT	Idx_2_CTCTGCA
2	MspI_P1_AACCA	3173	300	Idx_2_CGATGT	Idx_2_CTCTGCA
2	MspI_P1_CGATC	3174	300	Idx_2_CGATGT	Idx_2_CTCTGCA
2	MspI_P1_TCGAT	3176	300	Idx_2_CGATGT	Idx_2_CTCTGCA
2	MspI_P1_TGCAT	3177	300	Idx_2_CGATGT	Idx_2_CTCTGCA
3	MspI_P1_GCATG	3179	300	Idx_3_TTAGGC	Idx_3_CCTAGGT
3	MspI_P1_AACCA	3180	300	Idx_3_TTAGGC	Idx_3_CCTAGGT
3	MspI_P1_CGATC	3181	300	Idx_3_TTAGGC	Idx_3_CCTAGGT
3	MspI_P1_TCGAT	3184	300	Idx_3_TTAGGC	Idx_3_CCTAGGT
3	MspI_P1_TGCAT	3186	300	Idx_3_TTAGGC	Idx_3_CCTAGGT
4	MspI_P1_GCATG	3183	300	Idx_4_TGACCA	Idx_4_GGATCAA
4	MspI_P1_AACCA	3190	300	Idx_4_TGACCA	Idx_4_GGATCAA
4	MspI_P1_CGATC	U.au_7	300	Idx_4_TGACCA	Idx_4_GGATCAA
4	MspI_P1_TCGAT	U.au_3	300	Idx_4_TGACCA	Idx_4_GGATCAA
4	MspI_P1_TGCAT	3198	300	Idx_4_TGACCA	Idx_4_GGATCAA
5	MspI_P1_GCATG	3191	270	Idx_5_ACAGTG	Idx_5_GCAAGAT
5	MspI_P1_AACCA	3187	270	Idx_5_ACAGTG	Idx_5_GCAAGAT
5	MspI_P1_CGATC	3399	270	Idx_5_ACAGTG	Idx_5_GCAAGAT
5	MspI_P1_TCGAT	3426	300	Idx_5_ACAGTG	Idx_5_GCAAGAT
5	MspI_P1_TGCAT	3397	300	Idx_5_ACAGTG	Idx_5_GCAAGAT
6	MspI_P1_GCATG	3199	300	Idx_6_GCCAAT	Idx_6_ATGGAGA
6	MspI_P1_AACCA	3200	300	Idx_6_GCCAAT	Idx_6_ATGGAGA
6	MspI_P1_CGATC	3425	300	Idx_6_GCCAAT	Idx_6_ATGGAGA
6	MspI_P1_TCGAT	U.au_5	300	Idx_6_GCCAAT	Idx_6_ATGGAGA
6	MspI_P1_TGCAT	U.au_6	300	Idx_6_GCCAAT	Idx_6_ATGGAGA
7	MspI_P1_GCATG	3185	300	Idx_7_CAGATC	Idx_7_CTCGATG
7	MspI_P1_AACCA	3188	300	Idx_7_CAGATC	Idx_7_CTCGATG
7	MspI_P1_CGATC	3189	300	Idx_7_CAGATC	Idx_7_CTCGATG
7	MspI_P1_TCGAT	3192	300	Idx_7_CAGATC	Idx_7_CTCGATG
7	MspI_P1_TGCAT	3194	300	Idx_7_CAGATC	Idx_7_CTCGATG

8	MspI_P1_GCATG	3182	270	Idx_8_ACTTGA	Idx_8_GCTCGAA
8	MspI_P1_AACCA	3193	270	Idx_8_ACTTGA	Idx_8_GCTCGAA
8	MspI_P1_CGATC	3424	270	Idx_8_ACTTGA	Idx_8_GCTCGAA
8	MspI_P1_TCGAT	3201	270	Idx_8_ACTTGA	Idx_8_GCTCGAA
8	MspI_P1_TGCAT	3178	270	Idx_8_ACTTGA	Idx_8_GCTCGAA
9	MspI_P1_GCATG	3197	250	Idx_9_GATCAG	Idx_9_ACCAACT
9	MspI_P1_AACCA	U.cl_8	250	Idx_9_GATCAG	Idx_9_ACCAACT
9	MspI_P1_CGATC	3175	250	Idx_9_GATCAG	Idx_9_ACCAACT
10	MspI_P1_GCATG	3195	135	Idx_10_TAGCTT	Idx_10_CCGGTAC
10	MspI_P1_AACCA	U.cl_7	135	Idx_10_TAGCTT	Idx_10_CCGGTAC
10	MspI_P1_CGATC	3398	135	Idx_10_TAGCTT	Idx_10_CCGGTAC
10	MspI_P1_TCGAT	3196	135	Idx_10_TAGCTT	Idx_10_CCGGTAC

Cuadro S3: Secuencia de los oligos utilizados en la preparación de las librerías.

Nombre del oligo	Secuencia del oligo de 5 a 3'
P7_Idx_1_ATCACG	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATCGTGATGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_2_CGATGT	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATACATCGGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_3_TTAGGC	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATGCCTAAGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_4_TGACCA	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATTGGTCAGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_5_ACAGTG	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATCACTGTGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_6_GCCAAT	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATATTGGCGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_7_CAGATC	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATGATCTGGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_8_ACTTGA	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATCAAGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_9_GATCAG	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATCTGATCGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P7_Idx_10_TAGCTT	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATAAGCTAGTGACTGGAG TTCAGACGTGTGC
P5_Idx_1_TCGCAGG	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACCCTGCGAACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_2_CTCTGCA	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTGCAGAGACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_3_CCTAGGT	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACACCTAGGACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_4_GGATCAA	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTTGATCCACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_5_GCAAGAT	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACATCTTGCACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_6_ATGGAGA	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTCTCCATACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_7_CTCGATG	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACCATCGAGACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_8_GCTCGAA	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTTCGAGCACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT

P5_Idx_9_ACCAACT	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACAGTTGGTACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
P5_Idx_10_CCGGTAC	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACGTACCGGACAC TCTTTCCCTACACGACGCTCTT
MpsI_P1.2_GCATG	CGCATGCAGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTG T
MpsI_P1.2_AACCA	CGTGGTTAGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTG T
MpsI_P1.2_CGATC	CGGATCGAGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTG T
MpsI_P1.2_TCGAT	CGATCGAAGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTG T
MpsI_P1.2_TGCAT	CGATGCAAGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTG T
MspI_P1.1_GCATG	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTGCATG
MspI_P1.1_AACCA	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTAACCA
MspI_P1.1_CGATC	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTCGATC
MspI_P1.1_TCGAT	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTTCGAT
MspI_P1.1_TGCAT	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTTGCAT
SbfI_P2.1	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTTGCA
SbfI_P2.2	AGATCGGAAGAGCGAGAACAA

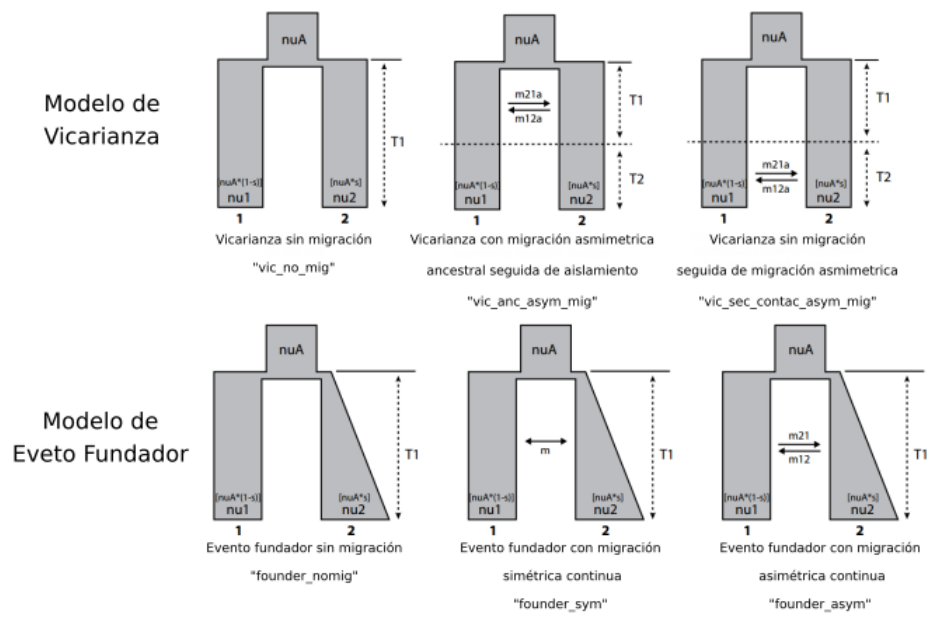


Figura S2: Hipótesis utilizadas para la inferencia demográfica. En número uno representa la población continental y el número dos la población insular.

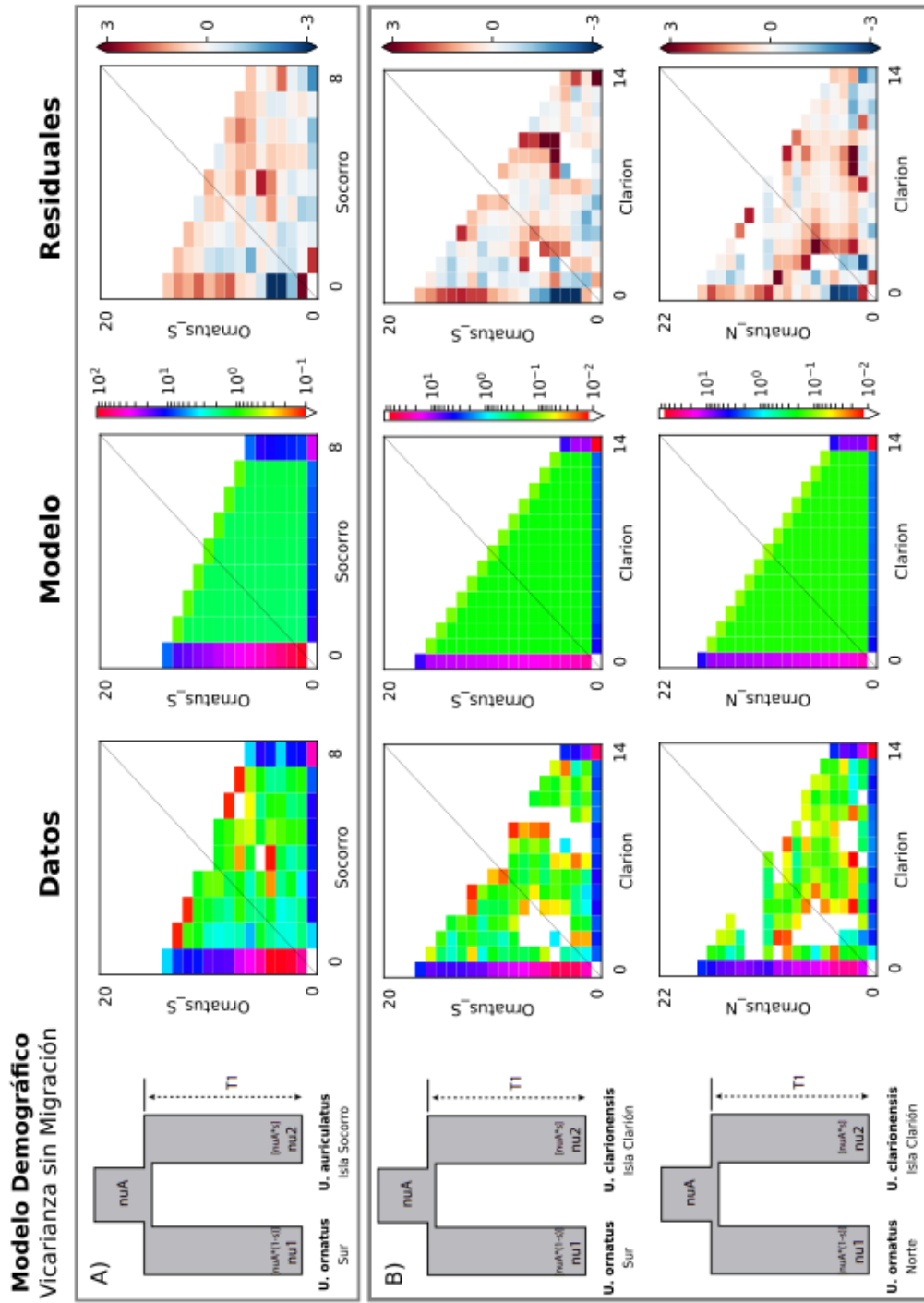


Figura S3: Resultados del modelado demográfico entre A) *U. auriculatus* y *U. ornatus* Sur, y B) *U. clarionensis* respecto a *U. ornatus* Norte y Sur. De forma gráfica se presenta el espectro de las frecuencias alélicas (AFS) simulado contra el obtenido de los datos reales y sus residuales, para cada par de poblaciones.



Cuadro S4: Estimaciones de tamaño efectivo poblacional ( $H_e$ ) y tiempo de divergencia (T) por par de poblaciones.

Poblaciones	$H_e$ Ancestral	$H_e$ continental	$H_e$ Insular	T
U.au-U.oS	131,718	108,865	22,853	110,243
U.cl-U.oS	63,776	54,286	9,490	127,552
U.cl-U.oN	65,202	51,301	13,901	130,404

## 9. Anexos

**SEMARNAT**

SECRETARÍA DE  
MEDIO AMBIENTE  
Y RECURSOS NATURALES



**SUBSECRETARÍA DE GESTIÓN PARA LA PROTECCIÓN  
AMBIENTAL  
DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE**

**Oficio N° SGPA/DGVS/09161/17**

Ciudad de México, a 18 octubre de 2017

"2017, AÑO DEL CENTENARIO DE LA PROMULGACIÓN DE LA  
CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS"

**DR. SEAN MICHAEL ROVITO**

LABORATORIO NACIONAL DE GENÓMICA PARA LA BIODIVERSIDAD, LANGEBIO  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN  
KM. 9.6 LIBRAMIENTO NORTE  
CARRETERA LEÓN-IRAPUATO  
IRAPUATO, GUANAJUATO  
C.P. 36821-MÉXICO  
TEL. 01 (462) 166 3035, E-MAIL: srovito@langebio.cinvestav.mx

En atención a la solicitud de Licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza, por Línea de investigación, la cual fue recibida el 31 agosto de 2017, en la Dirección General de Vida Silvestre y se le otorgo la bitácora 11/K5-0235/08/17 y considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano y con fundamento en el Artículo 32 Bis fracciones I, III, XXII, XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículo 19 fracción XXV y 32 fracción VI, XVIII, XXI, XXIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 26 de noviembre de 2012; 79, 80 fracción I, 82, 83 y 87 párrafo cuarto de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículos 9º. Fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 Fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre; Artículo 85, Artículo 88, fracciones I y II, Artículo 105, fracciones II y III del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Áreas Naturales Protegidas (ANP's); las disposiciones relativas de la Norma Oficial Mexicana NOM-126-SEMARNAT-2000, por la que se establecen las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros recursos biológicos en el territorio nacional; la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo, la Dirección General de Vida Silvestre **autoriza** la Licencia de Colecta científica por línea de investigación para investigadores y colectores científicos vinculados a Instituciones de Investigación con **Núm. FAUT-0314**, como apoyo a las actividades sobre **HERPETOLOGÍA-ENTOMOLOGÍA (ANFIBIOS-REPTILES-ESCARABAJOS)** para realizar las siguientes actividades con el objetivo de realizar estudios sobre biodiversidad.

Página 1 de 4

Ejército Nacional Núm. 223, Colonia Anáhuac, Delegación Miguel Hidalgo, C.P. 11320, Ciudad de México  
Tel: (55)5490 0900 / 01800 0000 247 www.semarnat.gob.mx



- Colecta de hasta cinco (05) ejemplares por especie y por población de reptiles y anfibios que no se encuentren en alguna categoría de riesgo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y que no se tenga su registro en la Colección Nacional de Anfibios y Reptiles del Instituto de Biología de la UNAM.
- Colecta de hasta cinco (05) ejemplares por especie y por localidad (escarabajos) de las Familias Passalidae, Zopheridae y del Género **Leptinotarsa**.

Las actividades se llevarán a cabo a **Nivel nacional fuera de Áreas Naturales Protegidas**. Esta autorización tendrá **una vigencia de un año (01) a partir de la emisión de la presente autorización**.

Las actividades se realizarán con el Aval del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, con la colaboración de la Biól. María Guadalupe Segovia Ramírez, M.S. Julio César García Sánchez, Biól. Louis Paul Decena Segarra, Ana Mayela Ornelas Morín, Biól. Jorge López Torres, Mizraim Olivares Miranda, Emanuel Martínez Ugalde, Zeltzin Corina Rodríguez Ortiz y Alfredo Gutiérrez Morales, debiendo sujetarse obligatoriamente el titular y colaboradores a las siguientes condiciones:

**1.- Cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes en la materia, sean Federales, Estatales o Municipales, así como con las disposiciones establecidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en Materia de Áreas Naturales Protegidas y demás disposiciones legales aplicables.**

2.- En caso de realizar actividades en Áreas Naturales Protegidas, obligatoriamente y previo al inicio de las actividades de campo en las mismas, deberá contactar a los Directores de las Áreas Naturales Protegidas correspondientes <http://www.conanp.gob.mx/directorio.html>, lo anterior para coordinar las actividades de campo con el personal del ANP, presentar su programa de actividades, lista de participantes y fechas en que pretende ingresar al Parque; asimismo se le asignará el personal del ANP que lo acompañará durante los trabajos de campo y deberá acatar las indicaciones y recomendaciones que le haga dicho personal.

3.- En todo momento el investigador será responsable de los impactos significativos que haya sobre las poblaciones de la flora o fauna silvestres y sus hábitats, por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si el riesgo es alto.





4.- Previo al inicio de las actividades de campo, deberá enviar obligatoriamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo a las Delegación Federal de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales en los estados de **Aguascalientes** 01(449) 9101126, **Baja California** 01(686) 9044200, **Baja California Sur** 01(55) 56243300, **Campeche** 01(981) 8119500, **Coahuila** 01(844) 4118400, **Colima** 01(312) 3160502, **Chiapas** 01(961) 6175000, **Chihuahua** 01(614) 4421500, **Durango** 01(618) 8270200, **Estado de México** 01(722) 276 78 50, **Guanajuato** 01(477) 7883700, **Guerrero** 01(744) 44341000, **Hidalgo** 01(771) 7179400, **Jalisco** 01(33) 36685300, **Michoacán** 01(443) 3226000, **Morelos** 01(777) 329 97 01, **Nayarit** 01(311) 2154900, **Nuevo León** 01(81) ) 83698900, **Oaxaca** 01(951) 5129600, **Puebla** 01(222) 2299500, **Querétaro** 01 (442) 2383400, **Quintana Roo** 01 (998) 8914601, **San Luis Potosí** 01(444) 8340600, **Sinaloa** 01(667) 7592700, **Sonora** 01(662) 25922700, **Tabasco** 01(993) 3101400, **Tamaulipas** (834) 315 03 46, **Tlaxcala** 01(246) 4650350, **Yucatán** 01(999) 9421302, **Veracruz** 01(228) 8416500, **Zacatecas** 01(492) 9239900 enviando copia del mismo a la Dirección General de Vida Silvestre. De igual manera, al término de dichas actividades se le notificará a la Delegación Federal correspondiente, enviando un reporte detallado por escrito.

5.- La totalidad del material colectado deberá destinarse exclusivamente a los fines específicos del proyecto, objeto de la presente autorización. Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre, material entomológico colectado será analizado en las instalaciones del Laboratorio de Genómica y Biodiversidad de Vertebrados y depositado en la Colección Nacional de Anfibios y Reptiles del Instituto de Biología de la UNAM, y el titular de la autorización asume la responsabilidad de remitir a esta Dirección General, copia de la(s) constancia(s) del(los) depósitos(s) debidamente firmado(s), especificando la cantidad del material depositado.

6.- Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, el responsable del proyecto deberá someter a la consideración de la Dirección General de Vida Silvestre, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa **detalladamente** las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y en su oportunidad, la(s) publicación(es) y sobre tiros producto de la investigación.

7.- Queda estrictamente **prohibido** efectuar cualquier aprovechamiento de las especies de flora y fauna silvestres, cuales quiera que sea su estatus, excepto lo aquí autorizado, así como



**SEMARNAT**

SECRETARÍA DE  
MEDIO AMBIENTE  
Y RECURSOS NATURALES



**SUBSECRETARÍA DE GESTIÓN PARA LA PROTECCIÓN  
AMBIENTAL**

**DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE**

**Oficio N° SGPA/DGVS/09161/17**

realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales, sin previa autorización.

8.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y al Capítulo IV, Artículo 97 de la Ley General de Vida Silvestre, esta autorización no ampara el aprovechamiento para fines comerciales, ni de utilización en biotecnología.

Se recomienda que durante sus actividades de campo, en el caso de observar ejemplares de especies listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, se notifique de ello (la especie, ubicación geográfica y la fecha) a esta Dirección General, en el informe de actividades antes mencionado.

La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten. Así mismo y tomando en consideración lo establecido en el Artículo 87 de la Ley General de Vida Silvestre el titular de la presente deberá contar con el consentimiento previo, expreso e informado de los legítimos propietarios de la(s) tierra(s) donde pretende desarrollar el proyecto.

**El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la autorización y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.**

Notifíquese la presente resolución al DR. SEAN MICHAEL ROVITO en su carácter de INVESTIGADOR LABORATORIO NACIONAL DE GENÓMICA PARA LA BIODIVERSIDAD, LANGEBO CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN, por alguno de los medios legales previstos por el artículo 35 y demás relativos y aplicables de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo.

**ATENTAMENTE  
EL DIRECTOR GENERAL**

**LIC. JOSÉ LUIS PEDRO FUNES IZAGUIRRE**

Copias al reverso.

Página 4 de 4

Ejército Nacional Núm. 223, Colonia Anáhuac, Delegación Miguel Alemán, C.P. 11320, Ciudad de México  
Tel: (55)5490 0900 / 01800 0000 247 [www.semarnat.gob.mx](http://www.semarnat.gob.mx)





Ciudad de México, a 27 de abril de 2018

**DR. SEAN MICHAEL ROVITO**  
**LABORATORIO NACIONAL DE GENÓMICA PARA LA BIODIVERSIDAD (LAGEBIO)**  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL I.P.N**  
**LIBRAMIENTO NORTE KM. 9.6**  
**CARRETERA LEÓN – IRAPUATO**  
**IRAPUATO-GUANAJUATO**  
**C.P. 36821 - MÉXICO**  
**TEL. 01 (462) 166 3035, E-MAIL: srovito@langebio.cinvestav.mx**

En atención a la solicitud de licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre, recibida en esta Dirección General el 14 de septiembre de 2017, a la cual se le asignó la bitácora 11/K5-0088/09/17 y considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano y con fundamento en el Artículo 32 Bis fracciones I, III, XXII, XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículo 19 fracción XXV y 32 fracción VI, XVIII, XXI, XXIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 26 de noviembre de 2012; 79, 80 fracción I, 82, 83 y 87 párrafo cuarto de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículos 9º. Fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 Fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre; Artículo 85, Artículo 88, fracciones I y II, Artículo 105, fracciones II y III del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Áreas Naturales Protegidas (ANP's); la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo, y al oficio No. F00/DGOR/0384-2018/2018 de fecha 05 de abril de 2018, emitido por la Dirección General de Operación Regional de la CONANP, la Dirección General de Vida Silvestre **autoriza** la licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre por proyecto sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico, para desarrollar las siguientes actividades inherentes al proyecto de investigación denominado "**Genómica de la especiación de los vertebrados terrestres de las Islas Revillagigedo**" con el objetivo de determinar la historia y demografía de la formación de las especies de *Urosaurus* endémicas en las islas Revillagigedo:

- Contención de hasta cinco (05) ejemplares por población de "lagartija arbolera" *Urosaurus ornatus* para obtención de tejidos de punta de cola y su liberación inmediata en el área de captura.
- Colecta de hasta cinco (05) ejemplares de "lagartija arbolera" *Urosaurus ornatus*.
- Contención de hasta siete (07) ejemplares de "lagartija arbolera de clarión" *Urosaurus clarionensis* para la obtención de tejido de la punta de cola y su liberación inmediata en el área de captura.
- Colecta de hasta tres (03) ejemplares de "lagartija arbolera de clarión" *Urosaurus clarionensis*.
- Contención de hasta siete (07) ejemplares de "lagartija arbolera de Socorro" *Urosaurus auriculatus* para la obtención de tejido de la punta de cola y su liberación inmediata en el área de captura.





- Colecta de hasta tres (03) ejemplares de "lagartija arbolera de Socorro" ***Urosaurus auriculatus***.
- Colecta de un (01) ejemplar de "culebra chirriadora de Isla Clarión" ***Coluber anthonyi***.
- Colecta de un (01) ejemplar de "culebra nocturna de Isla Clarión" ***Hypsiglena unaocularis***.

Las actividades se llevarán a cabo en los Estados de Sonora y Sinaloa, incluyendo las islas Clarión y Socorro dentro de la Reserva de la Biosfera "Archipiélago de Revillagigedo, estado de Colima. Esta autorización tendrá una vigencia de un (01) año a partir de la emisión de la presente.

Las actividades se realizarán con el aval del LANGEBIO del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN y con la colaboración de los CC. Juan Alfredo Gutiérrez Morales, Jimmy A. McGuire, Rauri C.K. Bowie y Lydia Smith y debiendo sujetarse obligatoriamente el titular y los colaboradores a las siguientes condiciones:

**1.- Cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes en la materia, sean Federales, Estatales o Municipales, así como con las disposiciones establecidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en Materia de Áreas Naturales Protegidas y demás disposiciones legales aplicables.**

2.- En todo momento el investigador será responsable de los impactos significativos que haya sobre las poblaciones de la flora o fauna silvestres y sus hábitats, por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si el riesgo es alto.

3.- Previo al inicio de las actividades de campo, deberá enviar obligatoriamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo a la Delegación Federal de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales en los estados de Colima 01 (312) 316 0507, Sinaloa 01 (667) 759 2713 y Sonora 01 (662) 259 2708, enviando copia del mismo a la Dirección General de Vida Silvestre. De igual manera, al término de dichas actividades lo notificará a esa Delegación Federal, enviando un reporte detallado por escrito.

**Para realizar sus actividades de colecta, deberá considerar las siguientes recomendaciones:**

4.- Obligatoriamente previo a las actividades y en un periodo, no menor a 10 días hábiles, previos a la fecha de ingreso a las áreas naturales protegidas, se deberá presentar el **tramite CNANP-00-007, Aviso para realizar actividades de investigación con colecta o manipulación de ejemplares de flora y fauna silvestre** en las oficinas de la Dirección de cada ANP donde se llevará a cabo la colecta científica.

- Coordinarse con el Director del ANP para definir, con base en las actividades de cada área, los sitios y las fechas de colecta (Biol. José Carlos Piñaza Soto, Biol. Adrián Méndez Barrera, Ing. Humberto Gabriel Reyes Gómez y Biol. Gloria Férmina Tavera Alonso)
- Colectar únicamente las especies y cantidades que establezca la resolución emitida por la Dirección General de Vida Silvestre. Se recomienda que cuando se trate de especies bajo alguna categoría de la NOM-059-SEMARNAT-2010, se evite la colecta si se prevén posibles afectaciones a la población





por la extracción, incluso de pocos individuos; asimismo si se capturan especies diferentes a las autorizadas proceder a su inmediata liberación.

- Cumplir las disposiciones establecidas en los Decretos y Programas de manejo de las ANP.
- Identificar geográficamente los sitios de colecta.
- Evitar alterar las condiciones de los sitios elegidos para realizar los trabajos de colecta, incluyendo la introducción de plantas, semillas, animales silvestres o domésticos.
- Retirar la zona de cualquier material o residuos producto de los trabajos de colecta, incluyendo la basura que se genere en cada visita.
- Solicitar al investigador que envíe a las direcciones regionales y de las áreas naturales protegidas, informes de tallados del número de ejemplares, partes o derivados por especie que fueron colectados en cada visita: informes parciales o anuales de las actividades a todo lo largo del proyecto, los artículos científicos que se deriven de la colecta; así como el documento que contenga los resultados, imágenes y toda aquella información que se considere pertinente hacer del conocimiento de las áreas protegidas a compromiso de solamente ser utilizadas para dichos fines.
- Con la finalidad de garantizar la correcta realización de las actividades de colecta e investigación científica, así como salvaguardar la integridad de los ecosistemas y de los investigadores, se deberán atender las indicaciones que haga el personal de las direcciones de las ANP y de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente.
- Para llevar a cabo la colecta de sebera obtener previamente la autorización de los dueños o legítimos poseedores de los predios, debiendo informar a los mismo sobre el objeto de la colecta o investigación.

5.- Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, el responsable del proyecto deberá someter a la consideración de la Dirección General de Vida Silvestre, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa detalladamente las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y en su oportunidad, la(s) publicación(es) y sobre tiros producto de la investigación.

6.- Queda estrictamente prohibido efectuar cualquier aprovechamiento de las especies de flora y fauna silvestres, cualquiera que sea su estatus, excepto lo aquí autorizado, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales, sin previa autorización.

7.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente al Capítulo IV, Artículo 97 de la Ley General de Vida Silvestre, esta autorización no ampara el aprovechamiento de los especímenes colectados para fines comerciales, ni de utilización en biotecnología.

Se recomienda que, durante sus actividades de campo, en el caso de encontrar ejemplares de especies listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, se notifique de ello (la especie, ubicación geográfica y la fecha) a esta Dirección General, en el informe de actividades antes mencionado.

La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten. Así mismo y tomando en consideración lo establecido en el Artículo 87 de la Ley General de Vida Silvestre el titular de la presente deberá contar con el consentimiento previo, expreso e informado de los legítimos propietarios de la(s) tierra(s) donde pretende desarrollar el proyecto.





**El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la autorización y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.**

Notifíquese la presente resolución al **DR. SEAN MICHAEL ROVITO** del LABORATORIO NACIONAL DE GENÓMICA PARA LA BIODIVERSIDAD (LAGEBIO) del CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL I.P.N, por alguno de los medios legales previstos por el Artículo 35 y demás relativos y aplicables de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo.

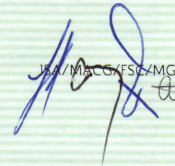
**ATENAMENTE****EL DIRECTOR GENERAL**


**LIC. JOSÉ LUIS PEDRO FUNES IZAGUIRRE**

"Por un uso eficiente del papel, las copias de conocimiento de este asunto son remitidas vía electrónica".

- C.c.e.p. C. Joel González Moreno.- Director General de Inspección de Vida Silvestre, Recursos Marinos y Ecosistemas Costeros, PROFEPA. e-mail: vida\_silvestre@profepa.gob.mx, jmeija@profepa.gob.mx  
 C. Nabor Ochoa López. - Delegado Federal de la SEMARNAT en el Estado de Colima.- e-mail: nabor.ochoa@colima.semarnat.gob.mx  
 C. Ricardo Edmundo Karam Von Bertrab.- Delegado Federal de la SEMARNAT en el Estado de Durango.- e-mail:  
 C. Jorge Abel López Sánchez.- Delegado Federal de la SEMARNAT en el Estado de Sinaloa.- e-mail: jorgeabel.lopez@sinaloa.semarnat.gob.mx  
 C. Gustavo Adolfo Clausen Iberri.- Delegado Federal de la SEMARNAT en el Estado de Sonora.- e-mail: delegado@sonora.semarnat.gob.mx  
 C. Ciro Hurtado Ramos.- Delegado de la PROFEPA en el Estado de Colima.- e-mail: churtado@profepa.gob.mx  
 C. Jesús Tesemi Avendaño Guerrero.- Delegado de la PROFEPA en el Estado de Sinaloa.- e-mail: tesemi@profepa.gob.mx  
 C. Jorge Carlos Flores Monge.- Delegado de la PROFEPA en el Estado de Sonora.- e-mail: jcflores@profepa.gob.mx  
 C. Cinthya Aurora Pérez Tirado.- Directora General de Operación Regional de la CONANP.- e-mail: cinthya.perez@conanp.gob.mx  
 C. Noe Ríos Somoza.- Coordinación de Asesores de la Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental.- e-mail: noe.rios@semarnat.gob.mx.  
 Subdirección de Comercio Nacional, Internacional y Otros Aprovechamientos.

Archivo General (11/K5-0088/09/17, DGVS-01681/1804, DGVS-05510/1712, DGVS-01087/1803)  
 c:oscar/colecta cientifica/SeanMichaelRovito-Salamandras( CONANP-Iagartijas) SUNIVS (27-04-18)



Sean Michael Rovito