



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE
Pardosa sierra Banks, 1898 (ARANEAE: LYCOSIDAE)
EN LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA,
MÉXICO**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos
Naturales
(Orientación en Ecología)

p r e s e n t a

Miguel Mauricio Correa Ramírez

La Paz, B.C.S. Agosto de 2010

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12 horas del día 24 del Mes de agosto del 2010, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

" Análisis de la diversidad genética de *Pardosa sierra* Banks, 1898 (Araneae: Lycosidae) en la Península de Baja California, México. "

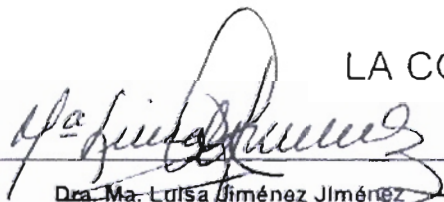
Presentada por el alumno:

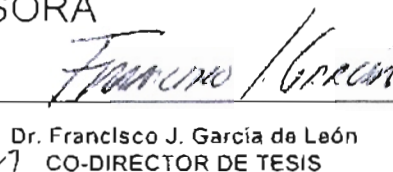
Miguel Mauricio Correa Ramírez

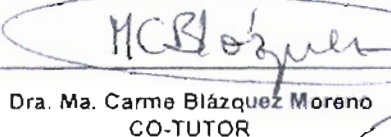
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Ecología

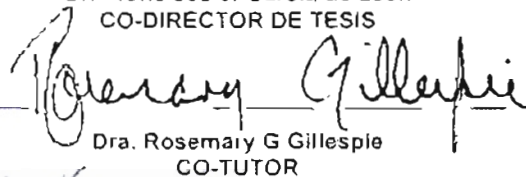
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

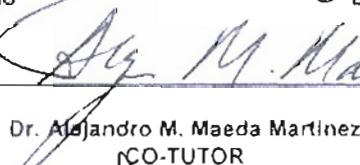
LA COMISION REVISORA


Dra. Ma. Luisa Jiménez Jiménez
CO-DIRECTOR DE TESIS


Dr. Francisco J. García de León
CO-DIRECTOR DE TESIS


Dra. Ma. Carme Blázquez Moreno
CO-TUTOR


Dra. Rosemary G Gillespie
CO-TUTOR


Dr. Alejandro M. Maeda Martínez
CO-TUTOR


DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITÉ TUTORIAL

Dra. María Luisa Jiménez Jiménez

Co-Directora de tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B. C. S. México.

Dr. Francisco Javier García de León

Co-Director de tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B. C. S. México.

Dra. María del Carmen Blázquez Moreno

Co-tutora

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B. C. S. México.

Dra. Rosemary G. Gillespie

Co-tutora

The University of California, Berkeley, California. Estados Unidos de Norteamérica.

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez

Co-tutor

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B. C. S. México.

COMITÉ REVISOR

Dra. María Luisa Jiménez Jiménez

Dr. Francisco Javier García de León

Dra. María del Carmen Blázquez Moreno

Dra. Rosemary G. Gillespie

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez

MIEMBROS DEL JURADO DE LA DEFENSA DE TESIS

Dra. María Luisa Jiménez Jiménez

Dr. Francisco Javier García de León

Dra. María del Carmen Blázquez Moreno

Dr. Pedro Cruz Hernández

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez

Dr. Gopal Murugan

RESUMEN

Dos de las teorías biogeográficas que han tratado de explicar la distribución actual de las especies son el Dispersionismo y la Vicariancia, una permitiendo ampliar las zonas de distribución (dispersión) de especies y la otra fragmentándolas en el espacio y tiempo (vicariancia). Es en este sentido, los marcadores moleculares tales como el citocromo *c* oxidasa subunidad 1 (COI) del ADN mitocondrial, con tasas de mutación generalmente moderada son empleados como fuentes de información taxonómica, que ayuda en la delimitación de las especies y el estudio de su filogenia. Mientras que, marcadores con tasas de mutación más rápidas como los microsatélites del ADN nuclear, permiten analizar los procesos que ocurren hacia el interior de las especies, tales como el aislamiento entre poblaciones, mecanismos de dispersión, entre otros. *Pardosa sierra* es una especie que en la literatura especializada se reporta con amplia distribución geográfica (de Utah, USA a Veracruz, México), además, muestra una historia taxonómica controvertida. Por lo que al pretender realizar un estudio de genética de poblaciones de la especie y observar tipos morfológicos distintos a lo largo de la distribución geográfica de la especie surgieron las siguientes preguntas: ¿Los diferentes morfos representan un polimorfismo balanceado en *P. sierra*, por lo tanto, pertenecen a una misma especie? ¿Es el grupo *lapidicina*, al cual pertenece *P. sierra*, un grupo monofilético? Si se conocen las fronteras taxonómicas de *Pardosa sierra* ¿Existe diferenciación genética entre las poblaciones y los niveles de flujo genético que pueden informar de manera indirecta sobre las capacidades de dispersión aún no bien conocidas en esta especie?

Usando material biológico de museo y colectado en varias localidades de México, así como también fotografías de microscopía electrónica de los genitales de machos y hembras, y la variación de un fragmento del gen COI del ADN mitocondrial se ha llegado a la conclusión que, *P. sierra* es un complejo de tres especies compuesto por *P. sierra*, *P. atromedia* y *P. sura*, que posiblemente por convergencia, los machos presentan un alto grado de similitud. Los datos analizados también permitieron aportar nueva información sobre la distribución geográfica de las especies, siendo dos de ellas endémicas, una en la península de Baja California (*P. sierra*), otra en California (*P. atromedia*) y la tercera de amplia distribución (*P. sura*). Esta última podría representar un complejo de especies crípticas difíciles de separar morfológicamente, donde secuencias del COI puedan ayudar a delimitar su cohesión como unidad taxonómica. La variación de las secuencias del COI también permitió establecer que el grupo *lapidicina* es monofilético.

Una vez resuelto los límites geográficos de *Pardosa sierra*, se estimó la variabilidad genética mediante cinco loci microsatélite especie-específico, se analizaron siete sitios de colecta a lo largo de la superficie peninsular, los resultados observados indican que *P. sierra* en la península de Baja California muestra niveles de diferenciación genética pequeños pero significativos con un alto grado de flujo genético. Dichos resultados rechazan la hipótesis de que *P. sierra* muestra reducidas capacidades de dispersión por estar fuertemente asociada a los oasis. Estos resultados se confirman con los análisis de asignación de individuos, el método de reconstrucción filogenético y el análisis de varianza molecular. No se observó aislamiento por distancia, por lo que el paisaje ecológico e interacciones con otros organismos pueden estar influyendo en el proceso de migración entre las poblaciones de *P. sierra* analizadas.

Palabras clave: Marcadores Moleculares, Taxonomía, Genética de poblaciones, Filogenia de *Pardosa sierra*.

Vo. Bo.

Dra. Ma. Luisa Jiménez Jiménez
Co-directora de tesis

Vo. Bo.

Dr. Francisco J. García de León
Co-director de tesis

ABSTRACT

The two biogeographical theories that have attempted to explain the current distribution of species are dispersionism and vicariance, one explains how the species expands to different distribution areas (dispersion), while the other explains species fragmentation in space and time (vicariance). In this sense, molecular markers such as cytochrome *c* oxidase subunit 1 (COI) of mitochondrial DNA, which generally have moderate mutation rates are used as sources of taxonomic information providing information that help delineatespecies and in studying their phylogeny. Whereas markers with fast rates of mutation like nuclear DNA microsatellites allow for analyzing the processes occurring in inland species, such as isolation between populations, dispersal mechanisms, among others. *Pardosa sierra* is a species that in the literature is reported as having a wide geographical range (Utah, USA to Veracruz, Mexico) and also shows a controversial taxonomic history. Population genetic studies of the species the claim that different morphological types are observed along the geographical distribution of the species has led to the following questions: Do different morphs represent a balanced polymorphism in *P. sierra*, therefore, belong to the same species? Is *lapidicina* group to which belongs *P. sierra*, a monophyletic group? By knowing the taxonomic boundaries of *Pardosa sierra* is there genetic differentiation among populations and gene flow levels that can indirectly provide information about the species dispersal capabilities that is presently not well known in this species?

Using biological material collected from museums and from other various localities of Mexico as well as electron micrographs of the genitalia of males and females, and variation of a gene fragment information from mitochondrial DNA COI it can be concluded that *P. sierra* is composed of three distinct species consisting of *P. sierra*, *P. atromedia* and *P. sura*, possibly by convergence, males have a high degree of similarity. The analyzed data also allowed to provide new information on the geographical distribution of species, being two of them endemic, one on the peninsula of Baja California (*P. sierra*), one in California (*P. atromedia*) and the third with a broad distribution (*P. sura*). The latter, likewise represents a complex of cryptic species difficult to separate morphologically, where COI sequences could help define its cohesion as a taxonomic unit. The variation of COI sequences also established that the *lapidicina* and *milvina* groups are monophyletic.

After resolving the geographical limits of *Pardosa sierra*, genetic variability was estimated using five species-specific microsatellite loci, which were analyzed from seven collection sites along the peninsula, the results indicate that *P. sierra* in Baja California Peninsula shows a small but significant genetic differentiation with a high degree of gene flow. These results reject the hypothesis that *P. sierra* have reduced dispersal capabilities and indicates that they are strongly associated to oasis. These results are confirmed by the analysis of individual's assignment, the phylogenetic reconstruction and analysis of molecular variance. There was no isolation by distance, so the ecological landscape (geomorphology, winds, rains, and hurricanes) may be influencing the process of migration among the populations of *P. sierra* analyzed with other factors such as sinantropy and the incidence of seasonal hurricanes.

Key words: Molecular Markers, Taxonomy, Population genetics, Phylogeny, *Pardosa sierra*.

DEDICATORIA

A mis padres, ya que sin ellos no estaría
aquí, por educarme y no dejarme caer.

A mis hermanos y sobrinos, por apoyarme
en todo momento y ser parte de mi vida.

A Gisela, por su apoyo, comentarios y todo
lo vivido hasta separar nuestros caminos.

A Claudia Leticia Cruz Miguel, por brindarme
una gran amistad e infinito apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Luisa Jiménez y al Dr. Francisco J. García de León por decidirse a dirigir este trabajo, por brindarme su amistad, sus consejos, sus reprimendas, por su valioso tiempo y sobretodo por su gran apoyo en mi formación.

A los Drs. María del Carmen Blázquez Moreno, Rosemary G. Gillespie y Alejandro Manuel Maeda Martínez por aceptar ser parte de mi comité tutorial, sus valiosas observaciones que sin duda han enriquecido este trabajo, por su apoyo y amistad incondicional.

A los Drs. Yolanda Maya, Sergio Ticul Álvarez Castañeda, Pedro Cruz y Eduardo F. Balart por sus valiosas indicaciones y comentarios durante el examen predoctoral que contribuyeron cuantiosamente a darle buen término a este trabajo.

A los proyectos SEMARNAT-CONACyT 2002-C01-052 “Los Arácnidos de los oasis de Baja California Sur”, SEP-CONACYT-2006-61753 “Estructura genética de las Poblaciones en Especies de Arañas de los oasis de la Baja California Sur” y SEMARNAT-CONACyT 0023861 “Un análisis de los efectos del cambio climático en el sistema biológico de un hábitat crítico: Los oasis de Baja California Sur”, por el apoyo para las salidas a campo, secuenciación, entre otras actividades.

Al CONACYT, por otorgar la beca para mi manutención durante mis estudios de posgrado.

A todo el personal de la unidad de posgrado del CIBNOR que labora y laboró en la misma: Dra. Eliza Serviere Zaragoza, Dra. Thelma Castellanos Cervantes, Lic. Osvelia Ibarra Morales, Lic. Leticia González Rubio, Beatrís Adriana Gálvez González, Claudia

Elizabeth Olachea León y María Guadalupe Sánchez Vázquez, por su apoyo en diversos trámites académicos que me ayudaron a concluir satisfactoriamente mis estudios, mil gracias por su amabilidad.

A José Manuel Melero Astorga y Horacio Sandoval Gómez, responsables del laboratorio de cómputo, por las facilidades otorgadas.

Al responsable del laboratorio de Aracnología y Entomología, M. en C. Carlos Palacios Cardiel, por su amistad, asistencia en campo y todas las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

A mis amigos: Blanca Estela Romero López, Sergio Scarry González Peláez, Yssel Gadar Aguayo, Julio Manuel Hernández Gutierrez, Marlenne Manzano, Miguel Oliva, Ruben Valles, Fausto Valenzuela, Laura Teresa Guzmán Villanueva, Noé Díaz Viloría, Vanesa Labrada, Laura Pérez Valencia, Jorge Vázquez Pérez, Ignacio Leyva y Alejandra Arciniega por apoyarme en todo momento de forma incondicional.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	6
II.1 Revisión sistemática de <i>Pardosa sierra</i> Banks, 1898 (Araneae: Lycosidae) con énfasis en la genitalia y genética molecular (COI ADNmt)	7
II.2 Obtención de loci microsatélites de <i>Pardosa sierra</i>	9
II.3 Estructura genética de las poblaciones de <i>Pardosa sierra</i> en los oasis de la Península de Baja California	17
II.4 Relaciones filogenéticas de los grupos <i>lapidicina</i> y <i>milvina</i> del género <i>Pardosa</i> (Lycosidae)	21
III. HIPÓTESIS	24
IV. OBJETIVO GENERAL	25
V. OBJETIVOS PARTICULARES	25
VI. MÉTODO	26
VI.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	26
VI.2 TRABAJO DE CAMPO	27
VI.2.1 Recolecta de material biológico de especies del género <i>Pardosa</i>	27
VI.2.2 Recolectas de material Biológico para estudios poblacionales de <i>Pardosa sierra</i>	27
VI.3 TRABAJO DE LABORATORIO	29

VI.3.1 Revisión sistemática de <i>P. sierra</i>	29
VI.3.1.1 Morfología	29
VI.3.1.2 Microscopía electrónica de barrido	30
VI.3.1.3 Extracción de ADN	30
VI.3.1.4 Estandarización de PCR para un fragmento del COI	
ADNmt	31
VI.3.2 Obtención de Microsatélites de <i>P. sierra</i>	32
VI.3.2.1 Amplificación cruzada de loci microsatélite	32
VI.3.2.2 Obtención de loci microsatélite del genoma de <i>Pardosa</i>	
<i>sierra</i>	33
VI.3.2.2.1 Amplificación cruzada de loci microsatélite	33
VI.3.2.2.2 Ligación de ADN a adaptadores de doble cadena	34
VI.3.2.2.3 Enriquecimiento de ADN con motivos repetitivos	36
VI.3.2.2.4 Clonación de ADN enriquecido en un vector plasmídico	39
VI.3.2.2.5 Secuenciación de clonas positivas	40
VI.3.2.2.6 Diseño y prueba de iniciadores	41
VI.3.2.2.7 Condiciones de amplificación por PCR de loci	
microsatélite	41
VI.3.2.2.7 PCR de loci microsatélite y electroforesis para estudio	
poblacional	42
VI.4 ANÁLISIS DE DATOS	43
VI.4.1 Revisión sistemática de <i>P. sierra</i>	43

VI.4.1.1 Morfología	43
VI.4.1.2 Análisis de secuencias	43
VI.4.1.3 Taxonomía molecular	44
VI.4.2 Obtención de microsatélites de <i>P. sierra</i>	45
VI.4.2.1 Variación de microsatélites y desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg	45
VI.4.3 Genética de poblaciones de <i>P. sierra</i>	48
VI.4.3.1 Variación entre poblaciones	48
VI.4.3.1.1 Análisis Factorial de Correspondencia	48
VI.4.3.1.2 Estadísticos F de Wright	48
VI.4.3.1.3 Análisis de varianza molecular AMOVA	49
III.4.3.1.4 Determinación de número de poblaciones	50
VI.4.3.1.5 Reconstrucción filogenética	52
VI.4.3.1.6 Aislamiento por distancia	53
VI.4.3.1.7 Flujo genético	54
VI.4.3.1.8 Tamaño efectivo de población	55
VI.4.4 Relaciones filogenéticas de las especies de los grupos <i>lapidicina</i> y <i>milvina</i> del género <i>Pardosa</i>	56
VI.4.4.1 Secuencias del GenBank	56
VI.4.4.2 Selección del grupo externo	56
VI.4.4.3 Métodos de reconstrucción filogenética	56
VI.4.4.4 Prueba de saturación	59

VI.4.4.5 Homogeneidad de las tasas evolutivas	60
VI.4.4.6 Relación entre distancias genéticas y tiempos de divergencia	62
VI.4.4.6.1 Formación del Golfo	62
VI.4.4.6.2 Trasgresión norteña	63
VI.4.4.6.3 Río Colorado	63
VI.4.4.6.4 Desertificación en la Península de Baja California	63
VI.4.4.7 Estimación de la tasa de mutación en <i>Pardosa</i>	64
VII. RESULTADOS	65
VII.1 Revisión Sistemática de <i>P. sierra</i> con énfasis en los genitales de las hembras y un fragmento del COI ADMmt	65
Familia Lycosidae Sundevall 1833	65
Subfamilia Pardosinae Simon 1898	65
Género <i>Pardosa</i> Koch 1847	66
Grupo <i>lapidicina</i>	66
<i>Pardosa sierra</i> Banks 1898	70
<i>Pardosa atromedia</i> Banks 1904	77
<i>Pardosa sura</i> Chamberlin y Ivie, 1941	84
VII.1.1 Morfología del complejo de especies	92
VII.1.2 Datos moleculares	94
VII.2 Obtención de marcadores tipo microsatélite	99
VII.2.1 Amplificación cruzada	99

VII.2.2 Generación de marcadores microsatélite de <i>Pardosa sierra</i>	99
VII.2.3 Variación de microsatélites y desviaciones del equilibrio de Ardí-Weinberg (EHW)	100
VII.3 Estructura Genética de poblaciones de <i>P. sierra</i>	104
VII.3.1 Variación intrapoblacional	104
VII.3.1.1 Alelos nulos	104
VII.3.1.2 Diversidad genética	105
VII.3.1.3 Frecuencias alélicas	110
VII.3.1.4 Equilibrio Hardy-Weinberg	110
VII.3.1.5 Equilibrio de ligamiento gamético	110
VII.3.2 Variación entre poblaciones	111
VII.3.2.1 Análisis Factorial de Correspondencia	111
VII.3.2.2 Estadísticos F de Wright	111
VII.3.2.3 Análisis de varianza molecular AMOVA	113
VII.3.2.4 Determinación de número de poblaciones	115
VII.3.2.5 Reconstrucción filogenética	118
VII.3.2.6 Aislamiento por distancia	120
VII.3.2.7 Flujo genético	120
VII.3.2.8 Tamaño efectivo poblacional	126
VII.4 Relaciones filogenéticas de las especies de los grupos <i>lapidicina</i> y <i>milvina</i> del género <i>Pardosa</i>	127
VII.4.1 Secuencias del GenBank	127

VII.4.2	Secuencias de ADN	127
VII.4.3	Diversidad genética del género <i>Pardosa</i>	128
VII.4.4	Selección del grupo externo	136
VII.4.5	Método del vecino más cercano (N-J)	136
VII.4.6	Método de máxima parsimonia	138
VII.4.7	Método de máxima verosimilitud	140
VII.4.8	Método de inferencia bayesiana	142
VII.4.9	Prueba de saturación	144
VII.4.10	Homogeneidad de la tasa evolutiva	144
VII.4.11	Relación entre la distancia genética y tiempos de divergencia	145
VII.4.12	Estimación de la tasa de mutación	146
VIII.	DISCUSIÓN	147
VIII.1	Validez de <i>Pardosa sierra</i> como unidad taxonómica (especie)	147
VIII.2	Obtención de microsatélites en <i>P. sierra</i>	
VIII.2.1	Amplificación cruzada	152
VIII.2.2	Polimorfismo de loci especie-específicos	152
VIII.3	Genética de poblaciones de <i>P. sierra</i> en la Península de Baja California	155
VIII.3.1	Variación intrapoblacional	155
VIII.3.1.1	Diversidad genética	155
VIII.3.1.2	Frecuencias alélicas	156

VIII.3.1.3 Equilibrio Hardy-Weinberg	156
VIII.3.1.4 Equilibrio de ligamiento gamético	158
VII.3.2 Variación entre poblaciones	158
VIII.3.2.1 Análisis Factorial de Correspondencia	158
VIII.3.2.2 Estadísticos F de Wright	159
VIII.3.2.3 Análisis de varianza molecular AMOVA	160
VIII.3.2.4 Determinación de número de poblaciones	160
VIII.3.2.5 Reconstrucción filogenética	162
VIII.3.2.6 Aislamiento por distancia	162
VIII.3.2.7 Flujo genético	164
VIII.3.2.8 Tamaño efectivo poblacional	169
VIII.4 Relaciones filogenéticas de los grupos <i>lapidicina</i> y <i>milvina</i> del género <i>Pardosa</i> (Lycosidae)	172
VIII.4.1 Diversidad nucleotídica	172
VIII.4.2 Métodos de reconstrucción filogenética	173
VIII.4.3 Homogeneidad de la tasa evolutiva	175
VIII.4.4 Relación entre la distancia genética y tiempos de divergencia	177
CONCLUSIONES	180
IX. LITERATURA CITADA	183
Apéndice 1	222
Apéndice 2	223

Apéndice 3

231

LISTA DE CUADROS

Cuadro I Coordenadas geográficas de las localidades donde se muestrearon ejemplares de <i>P. sierra. n</i> , número de ejemplares muestreados.	29
Cuadro II Mezcla para la reacción de digestión de ADN con la enzima de restricción Rsa-I. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.	33
Cuadro III Preparación de la mezcla de los adaptadores SuperSNX en doble cadena. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.	34
Cuadro IV Condiciones de concentración de reactivos para la reacción de ligación. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción; dc, doble cadena.	35
Cuadro V Condiciones de la PCR de los productos de ligación de fragmentos de ADN y SuperSNX24. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.	36
Cuadro VI Condiciones de temperatura y ciclos para PCR de productos ligados.	36
Cuadro VII Reacción de hibridación de sondas marcadas con biotina y ADN producto de una PCR de ADN ligado a un adaptador. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.	37
Cuadro VIII Condiciones de temperatura para la reacción de hibridación de sondas y ADN ligado.	37

Cuadro IX PCR para la recuperación de fragmentos enriquecidos donde se utiliza el ADN aislado mediante el empleo de sondas y perlas (enriquecimiento). [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.	38
Cuadro X Condiciones de temperatura y ciclos para la PCR de recuperación de insertos puros.	38
Cuadro XI Amplificación de insertos contenidos en clonas positivas. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.	40
Cuadro XII Condiciones de temperatura y ciclos para la amplificación de clonas positivas.	40
Cuadro XIII Material biológico usado para obtener secuencias del COI del ADNmt, y origen de las secuencias de otras especies del género <i>Pardosa</i> .	68
Cuadro XIV Caracteres somáticos medidos en milímetros en ejemplares hembras de las diferentes especies que componen actualmente a <i>Pardosa sierra</i> .	93
Cuadro XV Caracteres somáticos medidos en milímetros en ejemplares machos de las diferentes especies que componen actualmente a <i>Pardosa sierra</i> .	93
Cuadro XVI Composición de bases de un fragmento del gen COI. Los valores medios se dan junto con la desviación estándar para ilustrar el grado de dispersión estadística.	95

- Cuadro XVII** Valores de distancias no ponderadas (p -distance) en porcentaje para cada categoría: Mediana (valor intercuartil), observaciones máximas y mínimas comparadas con la media y la desviación estándar. **96**
- Cuadro XVIII** Matriz de distancias p (distancias no corregidas) entre especies; las distancias genéticas en la categoría intraespecífica se encuentran en la diagonal; los valores interespecíficos se encuentran por debajo de la diagonal. **97**
- Cuadro XIX** Rendimiento de la genoteca en *P. sierra*, C.P., clonas positivas; C.I., clonas positivas con inserto; C.S., clonas secuenciadas; C.S., clonas secuenciadas sin inserto; C.S.D., clonas secuenciadas con inserto con motivo repetitivo sin diseño de iniciadores; C.S.+, clonas positivas con motivos repetitivos y con diseño de iniciadores. **100**
- Cuadro XX** Características de 10 loci microsatellite diseñados a partir del genoma de *Pardosa sierra*: nombre del locus, Secuencia del iniciador, número de ascensión en GenBank, secuencia del iniciador, Motivo de repetición, Temperatura de alineamiento (T_a) en grados Celsius ($^{\circ}\text{C}$), Concentración de MgCl_2 , (CZ) talla de la clona, Intervalo de tallas alélicas, número de alelos (N_a), tamaño de muestra (n), heterocigocidad esperada (H_e) y observada (H_o). **102**
- Cuadro XXI** Comparación del desequilibrio genotípico de ligamiento por pares de locus en *P. sierra* ($P < 0.0011$ probabilidad con corrección de Bonferroni). * Valores significativos. **103**

Cuadro XXII Frecuencia de alelos nulos por población para cinco marcadores tipo microsatélite probados en siete poblaciones de *P. sierra* en la Península de Baja California Sur. Nombre del locus; frecuencia de los probables alelos nulo (ANF), Acrónimo de la población (Población). **104**

Cuadro XXIII Variabilidad genética estimada mediante 5 loci microsatélite en *P. sierra*. Tamaño de muestra (N), número de alelos (N_a), alelos efectivos (N_e), riqueza alélica (R), Heterocigocidad esperada no sesgada (H_e), Heterocigocidad observada (H_o) e índice de fijación (F) por población en oasis de la Península de Baja California. * En desequilibrio de HW después del ajuste secuencial de Bonferroni con $P < 0.0014$ (Rice 1989). **106**

Cuadro XXIV Valores de la prueba de desequilibrio de ligamiento por par de loci por población y su valor promedio en todas las poblaciones. Valores significativos después de la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples (Rice 1989) *, $P < 0.00014$. **111**

Cuadro XXV Comparaciones pareadas de los valores de F_{ST} para las localidades de *P. sierra* en la Península de Baja California. Se muestra el valor de F_{ST} y en negritas se indican los valores significativos, con $P < 0.05$. **113**

Cuadro XXVI Análisis de varianza molecular (AMOVA) de estructura genética poblacional multilocus de *P. sierra* en la Península de Baja California. Valores en negritas indican que el valor del estadístico F es

- significativamente diferente de cero, $P < 0.05$. 114
- Cuadro XXVII** Valores de los parámetros poblacionales a partir de cinco loci microsatélite, N_e calculados mediante la heterocigocidad observada en los datos y N_m , calculados mediante la linealización de los valores de F_{ST} entre las localidades, asumiendo una tasa de mutación $\mu = 1 \times 10^{-6}$, a partir de cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California. 121
- Cuadro XXVIII** Valores de tamaño efectivo poblacional N_e y migrantes efectivos por punto de muestreo N_m a partir de los estimadores Θ y M calculados en el programa MIGRATE 3.0 (Beerli 2004), asumiendo una tasa de mutación $\mu = 6.3 \times 10^{-6}$, empleando cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California. En la diagonal superior se encuentran las localidades receptoras, denotadas por un símbolo “+” y en la diagonal inferior las localidades emisoras de migrantes. 123
- Cuadro XXIX** Secuencia recuperadas del GenBank de especies del género *Pardosa*. 127
- Cuadro XXX** Número de secuencias obtenidas y número de haplotipos analizados por especie para un fragmento de COI, generados en este trabajo. 128
- Cuadro XXXI** Distancias genéticas por pares, calculadas bajo el algoritmo Kimura 2 parámetros para las especies de *Pardosa*, obtenidas a partir de secuencias generadas en este trabajo y otras obtenidas en GenBank, ver

texto para detalles.

135

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Representación gráfica de un fragmento de ADN que contiene un motivo repetitivo en tandem o microsatélite, repetición (CT)₁₂ aislado del genoma de *P. sierra*. **14**
- Figura 2** Sitios de recolecta de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California. Los acrónimos de cada sitio de colecta son: Baja California: Ensenada (**ENS**); El Rosarito (**ROS**). Baja California Sur: Cadejé (**CAD**); San Isidro (**SIS**); San Pedro de la Presa (**PSP**); El Novillo (**NOV**) y Sierra de la Laguna (**SLL**). **28**
- Figura 3** Posición del fragmento del gen mitocondrial (COI ADNmt) que se empleó para la caracterización genética de las arañas del género *Pardosa*. COI, citocromo oxidasa c región I. COII, citocromo oxidasa c región II. RNAt-Cys, ARN de transferencia correspondiente a la Cisteína. **32**
- Figura 4** Distribución geográfica de las especies del complejo de *Pardosa sierra*. Triángulos, *P. sierra*; estrellas, *P. atromedia*; círculos, *P. sura*. **69**
- Figura 5 A** Epigino en vista ventral de *Pardosa sierra*, × 130. Escala = 0.3 mm.: H, caperuza en posición anterior; MF, campo medio; CO, orificios copulatorios; TP, pieza transversa; CS, escleritos laterales. **B.** Epigino, vista dorsal, × 130. Escala = 0.3 mm.: ST, espermatecas; SD, conductos copulatorios; CO, orificios copulatorios. **C.** Espermateca, vista dorsal, × 450. Escala = 0.1 mm.: BG, bulbo de la espermateca; MD, microconductos. **75**

Figura 6 A Pedipalpo del macho en vista ventral de *Pardosa sierra*, $\times 120$. Escala = 0.3 mm.: E, émbolo; MA, apófisis media; TA, apófisis terminal; M, esclerito accesorio medio; C, conductor. **B.** Acercamiento de la apófisis media, $\times 500$. Escala = 0.1 mm. **C.** acercamiento del émbolo, $\times 470$. Escala = 0.1 mm.

76

Figura 7 A Epiginio en vista ventral de *P. atromedia*. $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: H, caperuza en posición anterior; MF, campo medio; CO, orificios copulatorios; TP, pieza transversal; CS, escleritos laterales. **B.** Epigino, vista dorsal, $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: ST, espermatecas; SD, conductos copulatorios; CO, orificios copulatorios. **C.** Espermateca, vista dorsal, $\times 450$. Escala = 0.1 mm.: BG, bulbo de la espermateca; MD, microductos.

82

Figura 8 A Pedipalpo del macho en vista ventral de *Pardosa atromedia*. $\times 120$. Escala = 0.3 mm.: E, émbolo; MA, apófisis media; TA, apófisis terminal; M, esclerito accesorio medio; C, conductor. **B.** acercamiento de la apófisis media, $\times 500$. Escala = 0.1 mm. **C.** acercamiento del émbolo, $\times 470$. Escala = 0.1 mm.

83

Figura 9 A Epiginio en vista ventral de *Pardosa sura*. $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: H, caperuza en posición anterior; MF, campo medio; CO, orificios copulatorios; TP, pieza transversal; CS, escleritos laterales. **B.** epiginio, vista dorsal, $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: ST, espermatecas; SD, conductos copulatorios; CO, orificios copulatorios. **C.** Espermateca, vista dorsal, $\times 450$. Escala = 0.1 mm.: BG, bulbo de la espermateca; MD, microductos.

90

Figura 10 A Pedipalpo del macho en vista ventral de *Pardosa sura*. $\times 120$. Escala = 0.3 mm.: E, émbolo; MA, apófisis media; TA, apófisis terminal; M, esclerito accesorio medio; C, conductor. **B.** acercamiento de la apófisis media, $\times 500$. Escala = 0.1 mm. **C.** acercamiento del émbolo, $\times 470$. Escala = 0.1 mm.

91

Figura 11 Diagrama de cajas y bigotes de las distancias genéticas no ponderadas (p -distancias) para un fragmento del gen COI del ADNmt. Las cajas indican el intervalo de intercuartiles (IQR: Entre el mayor [Q3] y el menor [Q1] cuartil). Las barras negras en medio de las cajas indican la mediana en cada categoría, los bigotes indican valores entre $1.5\times$ del IQR o debajo de Q1 o $1.5\times$ sobre Q3. Los ‘puntos’ fuera de las cajas indican valores extremos: por debajo $1.5\times$ y por arriba de $3\times$ del valor de IQR.

96

Figura 12 Topología del dendograma elaborado mediante el algoritmo Neighbor-Joining (distancias genéticas no ponderadas p ; 10,000 replicas de optimización mediante bootstrap) de un fragmento del COI ADNmt de algunas especies pertenecientes al grupo *lapidicina*. Los números en los nodos indican el soporte estadístico de las ramas. Chi, Chihuahua; Dgo., Durango; NL, Nuevo León; Cad, Cadejé; SL, Sierra de la Laguna; Ens, Ensenada.

98

Figura 13 Valores promedio de número de alelos (N_a), alelos efectivos (N_e), riqueza alélica (R), heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada no sesgada (H_e) para las localidades de *P. sierra* en la Península

de Baja California. Los acrónimos de las localidades son definidos en el Cuadro II.

108

Figura 14 Análisis factorial de correspondencia (AFC) empleando las frecuencias de alelos en cinco loci microsátélites para siete localidades de *P. sierra* muestreadas en la Península de Baja California, México. SLL, Sierra de la Laguna (color amarillo); NOV, El Novillo (azul oscuro); PSP, San Pedro de la Presa (color blanco); SIS, San Isidro (color gris); CAD, Cadejé (color rosa); ROS, El Rosarito (color verde); ENS, Ensenada (azul marino). Los grupos que se pueden apreciar son: Círculo amarillo, SLL. Círculo rosa, CAD. Círculo azul, ROS-ENS. Círculo negro, NOV-PSP-SIS.

112

Figura 15 A) Número de poblaciones inferidas (K) de *P. sierra* a partir del cálculo de $\text{LnP}(D)$, promedio de 15 repeticiones, mediante el programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.* 2000). B) Número de grupos genéticamente homogéneos a partir de la tasa de cambio de la función de verosimilitud o ΔK (Evanno *et al.* 2005).

116

Figura 16 Número de poblaciones determinado a partir del programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.* 2000). El genoma de cada individuo está representado con una línea vertical. El color rojo, caracteriza a Sierra de la Laguna (SLL); azul, caracteriza a El Novillo (NOV); rosa, caracteriza al grupo formado por San Pedro de la Presa y San Isidro (PSP-SIS); amarillo, representa a Cadejé (CAD) y el color verde, corresponde al grupo

formado por El Rosarito y Ensenada (ROS-ENS). A partir de frecuencias alélicas de cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California.

118

Figura 17 Cladograma construido mediante el algoritmo del vecino más cercano no enraizado basado en la distancia D_{CE} (Cavalli-Sforza y Edwards 1967), construidas a partir de frecuencias alélicas de cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California. Sierra de la Laguna, SLL; San Pedro de la Presa, PSP; San Isidro, SIS; Cadejé, CAD; El Rosarito, ROS y Ensenada, ENS y El Novillo, NOV. Se empleó un remuestreo de 10,000 interacciones para soportar las ramas del árbol.

119

Figura 18 Logaritmo natural de la distancia geográfica en mapas (en kilómetros) contra la distancia genética calculada por pares de poblaciones mediante la distancia D_{CE} multilocus (cinco loci microsatélite) entre localidades donde se recolectaron ejemplares de *P. sierra* en la Península de Baja California. La función en el gráfico, indica una ecuación de regresión lineal obtenida de los datos; R^2 , es el coeficiente de determinación entre las variables.

120

Figura 19 Dirección e intensidad de la migración entre localidades donde se recolectó *P. sierra*. La dirección de la migración está dada por la flecha. La intensidad de la migración se denota por el grosor de las líneas. Sierra de la Laguna (SLL), color rojo; El Novillo (NOV), color azul; San Pedro de la Presa (PSP) y San Isidro (SIS), color rosa; Cadejé (CAD), color

amarillo; El Rosarito (ROS) y Ensenada (ENS), color verde. Flechas negras migración simétrica entre localidades. El tamaño del círculo representa N_e . Flujo genético y N_e representados en la figura fueron los calculados con MIGRATE. 125

Figura 20 Alineamiento de secuencias de aminoácidos del fragmento de COI ADNmt de las especies de arañas pertenecientes a los grupos *lapidicina* y *milvina* con secuencias de *Drosophila melanogaster* y *Phidippus aurantius*. 130

Figura 21 Alineamiento de secuencias nucleotídicas de un fragmento del gen COI ADNmt correspondiente a las especies del género *Pardosa* y *Schizocosa ocreata* analizadas. 131

Figura 22 Topología del árbol filogenético construido mediante el algoritmo Neighbor-Joining (Kimura-2 parámetros) del gen COI del ADNmt para arañas lobo del género *Pardosa* recolectadas en este trabajo y obtenidas del GenBank (NCBI). El clado color rojo, contiene al grupo *lapidicina*; el clado color azul contiene al grupo *milvina*. Los números en los nodos representan el soporte estadístico (10,000 replicas de bootstrap) de los clados formados. 137

Figura 23 Árbol filogenético consenso construido mediante el algoritmo de máxima parsimonia. El árbol resultó con 320 pasos, un índice de consistencia CI = 0.619 y un índice de retención RI = 0.709. Los números en las ramas indican el soporte estadístico de los nodos obtenidos mediante

bootstrap con 1,000 replicas. En este árbol el grupo *lapidicina* se encuentra resaltado en rojo y el grupo *milvina* en azul.

139

Figura 24 Filogenia parcial del género *Pardosa*, obtenido mediante el método de máxima verosimilitud empleando el modelo de evolución nucleotídica GTR+I+G (Posada y Crandall 1998). El soporte estadístico se calculó mediante bootstrap con 1,000 replicas.

141

Figura 25 Árbol de relaciones filogenética construido mediante análisis de probabilidades posteriores, el análisis se condujo empleando el modelo más general de evolución nucleotídica Nst = 6 o GTR. El soporte de los nodos se calculó mediante las probabilidades posteriores expresadas en porcentaje. En color rojo, el clado compuesto por especies del grupo *lapidicina* y en azul, las especies del grupo *milvina*.

143

Figura 26 Gráfica de saturación del número de transiciones de la tercera posición del codón contra la distancia genética por par de secuencias corregidas por máxima verosimilitud entre especies del género *Pardosa*.

144

Figura 27 Relación entre el porcentaje de divergencia genética (DG) y edad del clado en millones de años (EC), $EC = -271 \times 10^3 + (8066 \times 10^2 * DG)$. Coeficiente de determinación $R^2 = 0.997$ ($P = 0.00$). Las líneas punteadas representan el intervalo de confianza al 95 %. Los puntos representan la divergencia entre los haplotipos de las distintas especies del grupo *lapidicina*.

145

GLOSARIO

Abdomen: División posterior del cuerpo de la araña, que comprende el pedicelo y la porción posterior en forma de saco generalmente no segmentado además, contiene a las hileras. La parte posterior (trasera) de las dos divisiones principales del cuerpo de una araña.

ADN mitocondrial: La secuenciación del ADN mitocondrial es una técnica ampliamente utilizada en sistemática. La mayor parte materna, la transmisión clonal de ADNmt ofrece tanto oportunidades como problemas para el análisis filogenético.

Alelo: Un segmento variante de material genético. organismos diploides tendrá dos alelos potencialmente para cualquier fragmento en particular (de genes, sensus lato) de ADN (por ejemplo, un alelo "normal" y otro "mutante " para la característica "color de ojos" de *Drosophila*).

Alelos nulos: Alelos que no son amplificados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), debido a que presentan mutaciones en la región flanqueante de la secuencia por lo que no son visibles en el gel de la electroforesis. La presencia de alelos nulos en una población puede generar desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg hacia un déficit de heterocigotos.

Aloenzimas: Variantes codominantes de proteínas (alelos) que pueden ser visualizados por electroforesis en geles de almidón. Estos fueron los primeros grandes marcadores genéticos moleculares, desarrollados a finales de 1960.

Alopátrica: Que no se superponen en áreas geográficas.

Anillos: Anillos de pigmentación alrededor de los segmentos de las patas.

Apareamiento selectivo: Sistemas de apareamiento no aleatorias en el que se forman parejas entre individuos muy semejantes.

Apéndices: Piezas y órganos (como las patas, hileras, quelíceros) que están conectados al cuerpo.

Apófisis media: Un esclerito derivados de la división central de los órganos de pedipalpo masculino.

Apomórfico: Un estado de carácter derivado que se llama el estado apomórficos. Esta propiedad "apomórficos" no es de validez general, pero siempre relacionados con el estado en comparación de uno o más caracteres y el nivel jerárquico

Arácnida: La división principal, clase Arachnida, de los artrópodos de respiración aérea, incluye a los arácnidos, como los escorpiones, los ácaros, arañas, opiliones, solífugos, entre otros.

Aracnología: La rama de la zoología que se ocupa únicamente de las arañas.

Aracnólogo: El que estudia los arácnidos.

Araneae: El nombre ordinal (de orden Araneae, clasificación) de todas las arañas.

Artrópodo: Animales de patas articuladas, como los ciempiés, milpiés, insectos, crustáceos, arañas, escorpiones, y muchos otros tipos menos conocidos, los miembros del Phylum Arthropoda.

Asignación (prueba de): Un método de asignar a los individuos a las poblaciones de las que tenían más probabilidades de tener su origen (con independencia de donde se dispersaron o fueron muestreadas).

Autotomía: El acto de reflejo de la automutilación dejando caer apéndices; conocida en los arácnidos.

bp: Abreviatura de "pares de bases" (nucleótidos).

Bulbo: El órgano genital de los machos de las arañas, que contiene el reservorio de esperma y se encuentra unido al tarso del pedipalpo, raramente fusionado al tarso como en algunos Oonopidae, el cual puede ser diferenciado por la ausencia de sedas.

Cabeza: La parte del caparazón que lleva a los ojos, que está separada del tórax por un surco poco profundo en los insectos.

Cadenas de Markov: Modelo que es ajustable para modelar una secuencia de variables aleatorias, tales como secuencias de ADN en la cual, la probabilidad que asume el valor de una variable depende del valor de las variables más recientes que la precede.

Cadenas de Markov Montecarlo: Método que se basa en la simulación de un proceso estocástico para determinar las propiedades de una distribución de probabilidad que no puede ser estudiada fácilmente por métodos analíticos. Una cadena de Markov genera una serie de variables aleatorias de manera que la distribución de probabilidades de estados futuros está completamente determinada por el estado actual de la cadena. Bajo ciertas condiciones, la cadena llegará a un estado estacionario de manera que si se corre por cierto periodo (el suficiente), la cadena presentará una distribución de probabilidades específica.

Caparazón: La cubierta dorsal dura que cubre del prosoma en los Arácnidos

Caracteres y estados de carácter: En los caracteres se comparten similitudes de las propiedades (las estructuras o comportamientos) en diferentes organismos, que son reconocidos y formulados, y que se supone que son heredables y homólogos. La subdivisión del cuerpo permanente de un organismo en caracteres discretos (incluyendo caracteres de comportamiento) siempre seguirá siendo más bien subjetiva y opcional, aunque de ninguna manera completamente arbitraria. Las diferencias entre caracteres

homólogos en diferentes organismos se denominan estados de carácter. caracteres de diagnóstico (por ejemplo, para las claves de identificación) puede incluir estados de carácter "primitivo" (= plesiomórficos) y derivados (= apomórficos), mientras que la relación filogenética sólo puede ser demostrada por compartir estados de carácter derivados (sinapomorfias). El propio carácter no es una observación, sino una hipótesis de homología, ya que implica que todos los estados de carácter se incluyen las transformaciones de un estado compartido ancestrales. El término "carácter" en consecuencia requiere una comparación de diferentes organismos, un solo organismo no tiene caracteres, sólo ciertas propiedades. La distribución biogeográfica, una población de parásitos o simbioses, la adaptación a determinados hospederos, los hábitats o recursos, así como los comportamientos adquiridos, representan diferentes propiedades de los organismos, que incluso pueden tener cierta correlación con sus relaciones filogenéticas, pero no son caracteres de acuerdo a la definición anterior, porque no se hereda genéticamente. Puesto que son aún más importantes para la biología evolutiva las propiedades particulares de los organismos individuales, a menudo se llaman "rasgos" para expresar esta diferencia sin utilizar el término "carácter".

Carapacho: La cubierta del exoesqueleto o caparazón, sobre la parte dorsal (superior) o superficie del prosoma.

Cimbio: El tarso ahuecado del pedipalpo masculino dentro del cual los órganos palpales se encuentran.

Cladograma: Un cladograma es un esquema de "argumentación filogenético" o representación gráfica en forma de árbol (dendrograma), que especifica los grados relativos

de relación filogenética (relaciones de parentesco) de los taxones analizados, así como su monofilia, basada en la evidencia de las sinapomorfias reconocidas y autapomorfias.

Clípeo: El área que se encuentra entre la línea anterior de los ojos y el borde anterior del caparazón.

Codominante: Expresión de fenotipos heterocigotos que difieren de los fenotipos homocigotos. Los microsatélites son marcadores genéticos codominantes, ya que se puede distinguir entre un heterocigoto (dos bandas) de cada uno de los homocigotos (de una sola banda).

Colmillo: La parte o segmento anterior de cada uno de quelíceros, el conducto del veneno se encuentra cerca de la punta o parte distal.

Conductor: Una estructura semi membranosa en el pedipalpo masculino que apoya y guía al émbolo en la inseminación.

Conductos copuladores: Conductos en la genitalia de la hembra que conectan las aberturas copuladoras externas con las espermatecas (conductos de inseminación, conductos espermáticos).

Corrección de Bonferroni: Procedimiento no paramétrico el cual es empleado para reducir el error tipo I (rechazo de una hipótesis nula verdadera) cuando se realizan pruebas múltiples o comparaciones.

Coxa: El segmento basal de las atas por medio del cual se articulan con el cuerpo. El segmento de la pata más cercana al cuerpo; modificada en el palpo para formar endito superior.

Cruzamiento al azar: Una premisa fundamental la simplificación de muchos modelos de genética de poblaciones. Por ejemplo, para el equilibrio de Hardy-Weinberg, el apareamiento al azar es necesario.

Deriva genética: Es una fuerza que reduce heterocigosidad por la pérdida aleatoria de alelos. La deriva es inversamente proporcional al tamaño de la población. Poblaciones infinitamente grandes (una asunción de la equilibrio de Hardy-Weinberg) no se desvía de la expectativa, mientras que las poblaciones pequeñas experimentarán mayores efectos de la deriva. La deriva es una de las principales fuerzas del cambio evolutivo (junto con la selección natural, mutación, migración genética y el apareamiento no aleatorio). El equilibrio / equilibrio entre deriva y mutación es un tema importante de gran parte de la genética de poblaciones.

Deslizamiento en al replicación: Un proceso de mutación mediante el cual un tándem de secuencia simple de repeticiones (microsatélites) crece o se reduce por adición o sustracción de las "unidades" simples que conforman el " collar ". Una repetición de CA dinucleótido crecería por adición o sustracción de unidades de CA.

Dimorfismo sexual: Diferencia de forma, color, tamaño, etc, entre los sexos de la misma especie.

Diploide: Tener un doble complemento de cromosomas (en general, un juego del padre y otro de la madre). Muchos análisis genéticos se realizan en los taxones cuyas células son generalmente diploides. Las excepciones para incluir diploidía gametos haploides, los machos diploides haploides en himenópteros, las especies poliploides y las etapas haploides en algunos ciclos de vida complejos.

Dispersión aérea: Volar por los aires en las líneas de seda hilada por arañas. Dispersión aeronáutica por medio de corrientes de aire empleando hilos de seda.

Distal: Pertenece al extremo exterior más lejano, lejos del cuerpo o punto de unión.

Distancia genética: Existen varios estadísticos para medir la “distancia genética” entre los subgrupos o poblaciones. Las principales medidas de distancia incluyen la distancia de Nei (1972, 1978), la distancia de Reynolds (Reynolds et al. 1983) y las nuevas medidas de distancia que incorporan el proceso de mutación gradual en microsatélites (RST de Slatkin 1995a, b; D de Shriver et al. Nei, μ delta de Goldstein et al. 1995).

Diversidad genética (heterocigosidad esperada): Una medida de la variación genética en una población. Se calcula a partir del cuadrado de frecuencias. ver Weir (1996) p. 124 para la fórmula.

Dorsal: Pertenece a la superficie superior.

Dorso: En general, la superficie superior.

Efecto Wahlund: Reducción de la heterocigosidad en relación a lo esperado según el EHW en una población dividida en varias subpoblaciones parcialmente aisladas.

Electroforesis: En acetato polarizado, gel de agarosa o de acrilamida a través del cual se corre proteínas o ADN. El material se separa por peso o polaridad y permite distinguir las variantes.

Endemismo: Ocurre sólo en una localidad o área restringida. especies de las islas suelen ser endémicas (no se encuentra en territorios de tierra firme). Los altos niveles de endemismo en la península de Baja California (por ejemplo, plantas e invertebrados), esto sugiere una historia de aislamiento geográfico.

Endito: La porción de la coxa de los pedipalpos de la mayoría de las arañas, que sirve para aplastar a la presa, el maxilar superior.

Entelegina: Forma derivada de la genitalia de arañas, donde la hembra tiene estructuras o aberturas externas copuladoras, típicamente en una estructura epiginial esclerosada y los machos presentan un pedipalpo relativamente complejo, este término también se refiere al nombre del clado Entelegynae que incluye la mayor parte de las arañas vivas.

Equilibrio de Hardy-Weinberg: Se abrevia HWE cuenta de ciertos supuestos simplificadores, como no se deriva genética (tamaño = población infinita), el apareamiento al azar (panmixia), las generaciones no se solapan, sin selección y sin migración (genética), la frecuencia de los genotipo en una población infinita se puede predecir a partir de las frecuencias génicas, p y q con la fórmula: $p^2 + 2pq + q^2$.

Escapo: En forma de un dedo, o de lengua o proyecciones que surge de la línea media del epiginio de las hembras de algunas arañas.

Esclerito: Cualquier estructura individual esclerotizada unida a otras estructuras membranosas.

Esclerotizadas (estructuras): Estructuras rígidas y o duras no flexible o membranosa.

Escópula: Una o varias líneas de sedas en la parte ventral del tarso y metatarso, en algunas arañas.

Espermatecas: Estructuras contenedoras o receptáculos en los epiginio de las hembras de arañas que almacenan los espermatozoides de los machos. Los sacos o cavidades en las arañas hembra que reciben y almacenar el semen.

Espermatozoide: Las células de esperma maduras.

Estadísticos F: Son una medida de la estructura genética desarrollado por Sewall Wright (1969, 1978). Relacionado con el análisis estadístico de varianza (ANOVA). F_{ST} es la proporción de la varianza genética total que figura en una subpoblación (el subíndice S) en relación a la varianza genética total (el subíndice T). Los valores pueden ir desde 0 a 1. F_{ST} alto (cercano a 1) implica un considerable grado de diferenciación entre las poblaciones.

Esternón: Una placa esclerotizada entre las coxas, se encuentra en formando la base del prosoma. El escudo del exoesqueleto en forma de corazón u oval que cubre la superficie inferior del prosoma.

Estructura genética poblacional: Ocurre cuando en dos o más sitios recolectados se presenta cierto grado de diferenciación genética, tal que se consideran como subpoblaciones diferentes.

Fémur: El muslo; por lo general el más fuerte segmento de la pata de la araña, articulado al cuerpo a través del trocánter y la coxa y teniendo la patela y el resto de segmentos de las patas en su extremo distal (P1. Fémures; adj. Femoral) El tercer segmento de la pierna, a contar desde el cuerpo.

Filogenético: Pertenciente a las relaciones evolutivas entre y dentro de los grupos.

F_{IS} (coeficiente de endogamia): Es la proporción de la variación en la subpoblación que figuran en un individuo. Un alto F_{IS} implica un considerable grado de consanguinidad. Medidas relacionadas: q (theta) de Weir y Cockerham (1984) y G_{ST} de Nei (1973, 1978).

Flujo genético: Es el desplazamiento de genes de una población a otra, haciendo que sean más similares. la migración genética es el principal agente del flujo de genes.

Foliolo: Cualquier patrón de pigmentación en el dorso del abdomen que es bastante amplia y en forma de hoja.

Fóvea: Un surco medio situado en la parte dorsal del caparazón, que marca la unión interna de los músculos del estómago.

Frecuencias génicas: El término es utilizado en la genética de poblaciones para las frecuencias de alelos.

Genotipo: El conjunto de variantes de ADN que se encuentran en uno o más loci en un individuo. La información de la que se desarrollan genotipos podría incluir aloenzimas alelos, los alelos de microsatélites, o la secuencia de la información (se refieren generalmente al haplotipos).

Grupo externo: Este procedimiento es más o menos la inclusión de nuevos caracteres en los árboles filogenéticos bien soportado (optimización de carácter en un cladograma dado). Basándose en el principio de parsimonia la comparación del grupo externo representa un método indirecto para polarizar nuevos caracteres. La existencia de pruebas (sinapomorfias) para la monofilia del grupo en estudio es esencial, así como el conocimiento de algunos de sus parientes más cercanos filogenéticos.

Grupo monofilético: En un sistema jerárquico de origen común, un antepasado y todos sus descendientes (especies descendientes) forman una comunidad cerrada de origen común que se llama un grupo monofilético

Grupo parafilético: Un grupo no monofilético, que se ha definido sobre la base de compartir estados de carácter "primitivos" (simplesiomorfias). Los grupos parafilético no son totalmente delimitados arbitrariamente y en consecuencia no representan entidades naturales.

Grupos hermanos: Monophyla de dos o más especies, que juntos forman un grupo monofilético, lo que originó el evento de especiación mismo (en su mayoría dicotomías), han sido denominados grupos hermanos.

Haploginia: El grupo de arañas en el que las hembras no tienen epiginio.

H_e (heterocigosidad esperada): También se conoce como la diversidad génica.

Hematodoca: Un conjunto de tejido elástico conectivo entre los grupos de escleritos del pedipalpo en el macho que se distiende con hemolinfa durante la inseminación causando el reacomodo de los escleritos para separarse y girar.

Heterocigosidad (esperada): Parámetro a nivel de la población. La proporción de heterocigóticos que se espera en una población que se encuentra en HWE.

Hileras: Apéndices en el extremo posterior del abdomen, por debajo del tubérculo anal, de los cuales se excretan hebras de seda.

H_o (heterocigosidad observada): Es la proporción observada de los heterocigotos.

Homología: Estructuras o comportamientos similares en diferentes organismos, que se supone que representan modificaciones de una novedad evolutiva única en un ancestro común de estos organismos, se llaman caracteres homólogos. Homologías son por lo tanto las hipótesis sobre el origen evolutivo de singular ciertas similitudes.

Homoplasia: Es el término más general para todo tipo de comparaciones no homólogas. Todos los estados de carácter compartido, que se tienen que explicar en un árbol filogenético (cladograma) con más de un paso evolutivo (orígenes múltiples o pérdidas) se conocen como estados de carácter homoplásicos.

Inducción de espermatozoides: El proceso de transferencia de los espermatozoides desde el orificio genital debajo de la base del abdomen en el receptáculo en el pedipalpo masculino.

Inferencia bayesiana: Método estadístico en el cual no hay una distribución lógica entre los parámetros del modelo y los datos, siendo ambas variables aleatorias con una distribución de probabilidad conjunta, la cual es especificada por un modelo probabilístico. el principal objetivo de la inferencia bayesiana es calcular la distribución a posteriori de los parámetros, la cual está condicionada a los datos.

Labio: El labio, bajo la apertura de la boca y entre los maxilares o enditos, que se adjunta a la parte delantera del esternón.

Lateral: Perteneciente a un lado.

Locus: Del latín 'lugar'. Un segmento o fragmento de ADN en un lugar determinado en un cromosoma particular, de uso frecuente para un 'gen' en sentido amplio, es decir, un segmento de ADN que se emplea para analizar la variabilidad (por ejemplo, un locus microsatélite).

Maxilar superior: Las piezas bucales a cada lado del labio que son las coxas modificada del palpos .

Mediana: En la línea media o media.

Metatarso: Plural metatarsos; adjetivo. Metatarsiano. El sexto segmento de la pata, a contar desde el cuerpo.

Migración: En la genética de poblaciones, la migración, el desplazamiento (permanente) de los genes dentro o fuera de una población. Se refiere al proceso intercambio de genes entre las poblaciones móviles como el flujo de genes.

Ninfa: Una pequeña araña, estadio inmaduro, por lo general acaba de salir del saco de huevos. La araña en estadio de ninfa o inmadura, por lo general se asemeja al adulto, más pequeña, totalmente móvil y no depende del vitelo.

Nucleótidos: Son los bloques básicos del ADN (y ARN). Los nucleótidos del ADN consiste en una base nitrogenada, un azúcar desoxirribosa (ribosa para ARN) y un grupo fosfato.

Número efectivo de alelos (N_e): Es el número de alelos que en igual frecuencia resultarían en la homocigosidad que el número de alelos observados.

Órganos del pedipalpo modificado (Machos): Las estructuras más o menos complejas en la parte terminal del pedipalpo del macho adulto. Contiene los grupos de escleritos separados unos de otros y el cimbio hasta tres haematodocas y contener el depósito de semen que se abre a través de conductos a través de la punta del émbolo.

Panmixia: Ausencia de diferenciación entre subpoblaciones (debido a los altos niveles de flujo de genes, creando efectivamente una sola población general sin estructura interna). El adjetivo es panmíctica.

Paracimbio: Una estructura en la ramificación del pedipalpo masculino, unido o contenido en el cimbio.

Parsimonia: El principio de parsimonia (también conocido como "navaja de Ockham") requiere que las hipótesis ad hoc debe minimizarse en la medida de lo posible en las explicaciones científicas de los fenómenos naturales. Esto significa, por Sistemática Filogenética que a partir de los millones de cladogramas teóricos posibles se debe preferir las hipótesis que reducen al mínimo el número de pasos y/o el peso de los supuestos de no homología (homoplasias). El principio de parsimonia es un principio epistemológico, y por

lo tanto debe ser visto como una herramienta, no como una afirmación de que la evolución siempre tuvo la forma más parsimoniosa.

Parte anterior: Más cerca de la parte delantera o extremo de la cabeza.

Patela: El cuarto segmento de la pata o del pedipalpo, a contar desde el cuerpo.

Pedicelo: El tallo delgado que conecta el prosoma (caparazón) y el abdomen.

Pedipalpo: El apéndice que surgen justo en frente de las patas, la coxa del que también forma el maxilar superior. No tiene el segmento del metatarso y en los machos adultos se modificaron en gran medida para la transferencia de esperma.

Plesiomorfía: Un estado de carácter "primitivo", que es tomado de un antepasado sin cambio, se denomina el estado plesiomórficos. Esta propiedad es relativa (como apomorfía), ya que está en función del estado de carácter en comparación y el nivel jerárquico enfocado. Un estado plesiomórficos sólo es plesiomórfico en comparación con un estado de carácter derivado, pero puede ser apomórficos en comparación con un estado aún más plesiomórfico.

Población: Grupo de organismos de la misma especie que habitan en un área geográfica restringida y que tienen la capacidad de reproducirse con cualquier otro miembro de dicho grupo.

Población panmíctica: Es aquella en donde todos los individuos de la población tienen la misma probabilidad de aparearse.

Polaridad de caracteres: La polarización de un carácter especifica cuál de los estados de carácter ha de ser considerado como plesiomórficos y que otros como apomórficos. La polaridad puede ser directamente deducida de la precedencia estratigráfica u ontogenico de

los Estados restantes o indirectamente deducirse con el método de comparación del grupo externo.

Posterior: Cerca de la parte trasera.

Principio de dicotomía: las politomías en un cladograma puede tener tres causas diferentes o bien un hecho real especiación politómica (división múltiple), o simplemente una simple falta de conocimiento acerca de las sinapomorfías que pueden solucionar las politomías en dicotomías, o la politomías incluso puede resultar como artefacto de un "consenso" método que se aplica a menudo al elaborar hipótesis de parentesco. Fuera de ello, la preferencia por los árboles completamente dicotómicos debe entenderse como un principio heurístico, que requiere que la búsqueda de nuevas sinapomorfías.

Proceso: Una proyección de la estructura principal, en la morfología de las arañas.

Procurvado: Curvada con forma de arco por delante de su centro.

Prolateral: Proyección de, o en el lado que mira hacia adelante.

Prosoma: La cabeza y el tórax unidos en arácnidos y crustáceos. La porción anterior (frontal) de las dos divisiones principales del cuerpo de una araña.

Proximal: Perteneciente a la parte interior; más cercana al cuerpo o punto de unión.

Quelíceros: El par de apéndices parecidos a pinzas de los arácnidos, en las arañas consta de dos segmentos, la porción distal o colmillos para inyectar el veneno de las glándulas que se encuentran en la porción basal. Equivalente a las mandíbulas en otros artrópodos como los insectos, cada uno compuesto por una gran parte basal y un colmillo

Quitina: Un homopolisacárido lineal encontrado como molécula característica de la cutícula de los artrópodos. Las moléculas son capas de cadenas y enlaces cruzados para formar la base sólida y ligera de la cutícula.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Método empleado para realizar copias de segmentos de ADN altamente específicos. el ADN es desnaturalizado por temperaturas elevadas, se añaden las regiones flanqueantes (iniciadores de PCR) y la secuencia es copiada mediante la enzima polimerasa termoestable (Taq). Este proceso se lleva al cabo en una serie de 30 a 50 ciclos en un termociclador, en una reacción estándar de 30 ciclos, el factor de amplificación es de 100 millones de copias.

Recombinación: Intercambio de segmentos de genes pasando por quiasmas (intercambio de material entre cromátidas no hermanas). Las secciones son intercambiados por lo general homólogos. La probabilidad de recombinación aumenta al aumentar la distancia física.

Recurvado: Curvada con forma de arco con sus extremos detrás de su centro.

Región flanqueante: En microsatélites, las regiones que flanquean son los tramos de ADN fuera de la secuencia de repetición en tándem simple. Estas secuencias se utilizan como pares de iniciadores. Las regiones que flanquean suelen ser invariables a través de las poblaciones o especie, pero las mutaciones en la región de acompañamiento puede ser una causa de alelos nulos, así como una fuente potencialmente grave de homoplasia.

Regla de desviación: Durante la especiación alopátrica, por la separación geográfica de una población madre, ésta no suele ser dividido en dos poblaciones de tamaño similar (especiación dicopátrica), sólo una pequeña población periférica está separada de la población restante (especiación peripátrica). Debido a un fenómeno que se conoce generalmente como la deriva genética de la población fundadora pequeño que muestra una divergencia morfológica más fuerte desde el estado original que la población de gran

tamaño, donde el resto se mantiene más o menos sin cambios. Este "efecto fundador" fue llamado por Willi Hennig la "regla de la desviación".

Reloj molecular: Hipótesis de que el cambio molecular es lineal con el tiempo, y constante en los diferentes taxones y en diferentes lugares. Si esto es así, entonces la diferencia entre las secuencias homólogas en los diferentes taxones se pueden utilizar para estimar el tiempo transcurrido desde la divergencia.

Retrolateral: Proyección de, o sobre, el lado que da hacia atrás.

Riqueza alélica (R): Número promedio de alelos por locus independiente del tamaño de la muestra.

Simpátrica: Que ocurren en la misma zona geográfica.

Simplesiomorfia: Comúnmente "primitivo" (= plesiomórficos) semejanzas que se consideran como homología se denomina simplesiomorfias. Estos simplesiomorficos no representan ninguna evidencia de una estrecha relación filogenética (monofilia) de los grupos que comparten estos caracteres.

Sinapomorfía: Comúnmente, caracteres derivados (= apomórficos) semejanzas que se consideran como homologías se llaman sinapomorfías, por ejemplo, la presencia de pelos en Monotremata, Marsupiales y Placenta. sinapomorfías ponen de manifiesto la estrecha relación filogenética (monofilia) de dos o más especies o grupos monofiléticos.

Sinónimo: Cada uno de dos o más nombres científicos del mismo valor usado para denotar el mismo taxón. El nombre válido es el nombre que cumple con la regla de prioridad por ser el primero con el que se conoció un taxón.

Sustitución silenciosa: Una mutación en la codificación / región expresada por el ADN que no produce ningún cambio en el aminoácido codificado (debido a la redundancia del código genético). También conocido como la sustitución de sinónimos.

Tamaño efectivo poblacional (N_e): Es el tamaño de una población idealizada (estable panmictica y estacionaria) que tendría el mismo grado de endogamia y deriva génica observado en la población verdadera. Se entiende también, como el número de individuos de una población que dejan descendencia en la siguiente generación.

Tarso: El segmento más distal de las patas, que lleva las uñas en su parte apical. (Pl. tarsos; adj. Tarso) El más distal (o final) del segmento de una pata o pedipalpo.

Taxón: Cualquier unidad taxonómica (por ejemplo, familia, género, especie).

Taxonomía: La teoría y la práctica de clasificar los organismos, que forma parte de la sistemática, el estudio de los tipos y la diversidad de organismos.

Tergitos: Escleritos dorsales en el cuerpo, las placas duras en el abdomen de las tarántulas atípicas que indican la segmentación.

Tibia: La quinta división de la pata de araña, entre la patela y el metatarso. (Pl. Tibias adj. Tibial) El quinto segmento de la pata o pedipalpo a contar desde el cuerpo.

Tórax: La segunda región del cuerpo de los insectos que lleva las patas, en las arañas, fusionados con la cabeza para formar el prosoma. La parte del prosoma detrás de la región de la cabeza y separada de ella por un surco poco profundo.

Transición: Una mutación puntual en el ADN en el que el reemplazo es por un nucleótido similar. Es decir, una purina (A y G) por una purina o una pirimidina (C o T) por una pirimidina. Las transiciones ocurren con más frecuencia que transversiones. Las tasas

diferentes de las mutaciones se pueden incorporar en la inferencia filogenética por diversos sistemas de ponderación.

Transversión: Una mutación puntual en el ADN en el que el reemplazo es por un nucleótido disímil. Es decir, una purina (A o G) se sustituye por una pirimidina (C o T) o viceversa.

Trocánter: El segundo segmento de la pata o pedipalpo, a contar desde el cuerpo.

Tubérculo anal: Una pequeña proyección, que se encuentra en posición dorsal a las hileras, donde se encuentra la abertura anal. El pequeño tubérculo caudal que lleva el orificio anal.

Uñas accesorias: Dentadas, sedas engrosadas cerca de las uñas verdaderas de algunas arañas.

Ventral: Perteneciente a la parte inferior.

I. INTRODUCCIÓN

Dos de las teorías biogeográficas que han tratado de explicar la distribución actual de las especies son la dispersión y la vicarianza. Es probable que ambos procesos hayan actuado de forma independiente pero con la misma importancia a escalas distintas de tiempo, permitiendo ampliar zonas de distribución de las especies (dispersión) y fragmentándolas (vicarianza) en el espacio y tiempo (Ronquist 1997; Crisci 2001; Posadas *et al.* 2006). De lo anterior surge la incertidumbre acerca de cual de estos procesos ocurrió primero o tuvo mayor impacto. Se cuenta con la distribución actual de las especies y sus poblaciones, sin embargo no se pueden realizar experimentos en procesos que requieren largos periodos de tiempo. En este sentido la filogenia y filogeografía de las especies a través de marcadores moleculares como el gen que codifica para la enzima citocromo oxidasa *c* región 1 del ADN mitocondrial (COI) aportan información valiosa para contrastar las teorías antes mencionadas a escalas distintas de tiempo, principalmente de miles a millones de años (Brower 1994; Arbogast *et al.* 2002) y con relación a las diversas áreas geográficas como la Neotropical y Neártica, así como en áreas menores como el Eje Neovolcánico, Desierto Sonorense, Desierto Chihuahuense, entre otras (Morafka *et al.* 1992; Zink 2002; Marshall y Libebherr 2000).

Aunado a lo anterior, este tipo de marcadores moleculares pueden ser empleados en la identificación de especies, y en la taxonomía y sistemática de los taxa a varios niveles jerárquicos (familia, género y especie), ayudando a entender los procesos de especiación (Barrett y Hebert 2005; Astrin *et al.* 2006).

Por otra parte, una de las directrices en la búsqueda de información que permita entender la actual distribución de las especies es conocer como se encuentran organizadas las poblaciones, en cuanto a su proximidad o parecido genético. En este sentido, la genética de poblaciones es la disciplina que se encarga de estudiar la variabilidad genética a lo largo de la distribución actual de la especie, aportando información sobre el pasado evolutivo de la misma y proveyendo resultados importantes para discernir entre las teorías de dispersión y vicariancia. La mayoría de las especies están formadas por una o más poblaciones de individuos, que pueden aparearse entre sí al interior de cada población o entre las distintas poblaciones que componen una especie. Por ello uno de los aspectos más importantes en el estudio de la genética de poblaciones es entender cómo se estructuran las poblaciones, haciendo referencia principalmente a la combinación de alelos y de genotipos.

La estructura genética de las poblaciones puede describirse bajo alguno de los dos modelos poblacionales generales, el continuo y el discreto (Latter 1972). El primero asume que las poblaciones naturales presentan una distribución no interrumpida como la predicha por panmixia (reproducción al azar), lo que implica alta homogeneidad en la frecuencia y distribución de alelos. En contraste el modelo discreto, asume que las poblaciones se encuentran distribuidas de manera discontinua y más o menos independiente. Éste puede tener varias modalidades, 1) el de islas, donde los organismos de cada población tiene acceso a cualquiera de las subpoblaciones de forma irrestricta; y 2) el modelo de saltos (stepping-stone) supone que, los organismos de cada población sólo tiene acceso a subpoblaciones adyacentes (Kimura 1953). Las barreras geográficas acentúan la subdivisión poblacional, que en combinación con las capacidades de dispersión pueden también reducir la panmixia en una o varias subpoblaciones que se

encuentren distribuidas en áreas geográficas extensas (Templeton 1998) y que subsecuentemente actuarían como grupos aislados (aislamiento por distancia). En estos casos la frecuencia y distribución alélica serán heterogéneas en diferentes grados.

En el modelo discreto, las barreras geográficas y ecológicas tales como la distancia entre poblaciones y cambios en la estructura del paisaje en combinación con las capacidades de dispersión de las especies, pueden tener como efecto, incrementar la heterogeneidad genética entre sus poblaciones a lo largo de su distribución geográfica. La importancia de este tipo de poblaciones radica en que permite conocer parte de la historia evolutiva a lo largo de su rango de distribución (Frankham *et al.* 2002; Zink 2002; Crews y Hedin 2006).

Uno de los lugares más interesantes para abordar el modelo discreto, es, sin duda, la península de Baja California. A lo largo de su historia, la península ha sufrido una gran cantidad de cambios geográficos, orográficos y latitudinales (Carreño y Helenes 2002; Johnson y Ward 2002). Estos cambios favorecieron la aparición y propagación de vegetación métrica a lo largo del área peninsular. Hacia finales del Pleistoceno aumentó la temperatura, lo que provocó un incremento en el nivel del mar y un proceso de desertificación (Grismer y McGuire 1993; Riddle *et al.* 2000; Johnson y Ward 2002), ambos fenómenos produjeron una fragmentación de flora y fauna de afinidades métricas, lo cual pudo haber dado origen a los oasis.

Por lo anterior y desde un punto de vista evolutivo, podemos suponer que la fauna y la flora propias de los oasis, han sufrido procesos de fragmentación espacial a diferentes escalas de tiempo, debido a los fenómenos de vicariancia (por la formación del Golfo de California y la desertificación de la Península de Baja California), promoviendo el aislamiento e interrupción del flujo genético entre sus poblaciones. Los

aspectos genético poblacionales, pueden ser estudiados mediante el uso de marcadores moleculares nucleares como los microsatélite, debido a que proveen información actual e histórica, de la diversidad genética de las especies y sus poblaciones (Zhang y Hewitt 2003; Ji *et al.* 2004; Jacobsen *et al.* 2005).

El grupo de las arañas representa un buen modelo de estudio, pues algunas de ellas poseen requerimientos muy específicos, existiendo exclusivamente en ambientes cercanos a cuerpos de agua, como es el caso de las especies del género *Pardosa* (Lycosidae), *Tinus* (Pisauridae), *Anyphaena* (Anyphaenidae) y *Tetragnatha* (Tetragnathidae). El primer género habita solo en el suelo, mientras las otras tres habitan en la vegetación (Richter 1970; Lowrie 1973; Jiménez 1989 a, b; Dondale y Redner 1990; Wenninger y Fagan 2000; Smith 2002; Graham *et al.* 2003; Correa 2004; Nieto 2004). Los géneros *Pardosa* y *Tinus* restringen aún más sus requerimientos de hábitat debido a su capacidad limitada de dispersión (Bonte *et al.* 2003) y aspectos de su biología como son los cuidados maternos. Así, las hembras, después del periodo de oviposición, llevan consigo el ovisaco hasta que emergen las primeras ninfas. En el caso de las especies del género *Tinus* las ninfas al nacer inmediatamente se dispersan, mientras que las de *Pardosa* trepan al opistosoma de la madre y permanecen ahí hasta haber consumido su vítelo y estar preparadas para cazar su propio alimento (Jiménez 1989b). Así pues, tanto la distribución, como el comportamiento y los patrones de dispersión observados predicen que éstas especies debe mostrar una fuerte estructura genética con niveles de flujo génico bajos o nulos.

Dado que *Pardosa sierra* es la especie con la mayor probabilidad de encajar en el modelo discreto, fue elegida para establecer si las zonas áridas que rodean los oasis representan una barrera para la dispersión y dilucidar el efecto en sus poblaciones

(cambios en el tamaño efectivo poblacional y tasa de migración entre poblaciones), mediante la generación y análisis de loci microsatélite.

Sin embargo, la literatura taxómica de *Pardosa sierra* muestra que el conocimiento de los límites taxonómicos de la especie es ambigua. *Pardosa sierra* es una especie de amplia distribución geográfica en Norteamérica (Barnes 1959; Vogel 2004), y en virtud de que se reportan dos morfos de hembras, se considera que es un buen modelo para el empleo de marcadores mitocondriales para determinar si ambos morfos pertenecen a un mismo linaje y representan una variación geográfica de una misma especie.

El presente trabajo se dividió en cuatro líneas de investigación: I) Revisión taxonómica y sistemática a nivel especie de las diferentes formas de las hembras de *P. sierra*. II) Obtención de marcadores microsatélite de *P. sierra*, III) Estudiar la estructura genética de las poblaciones de *P. sierra* distribuidas en humedales de la península de Baja California. IV) Estudiar las relaciones filogenéticas en algunos grupos de especie americanos del género *Pardosa* mediante análisis de ADNmt, como el grupo *milvina* y *lapidicina* (Aranae: Lycosidae), al cual pertenece *P. sierra*.

En la primera línea de investigación se analiza la validez de *P. sierra* como entidad taxonómica en su rango de distribución por medio del análisis morfológico de las diferentes formas registradas para esta especie, así como el estudio de los caracteres moleculares aportados por la secuenciación de un fragmento del COI ADNmt, debido que se reporta como una especie de amplia distribución y con polimorfismo marcado en los genitales. En segunda se aborda la obtención de marcadores microsatélite siguiendo dos estrategias, la primera, por amplificación cruzada, siendo la segunda, el aislamiento de microsatélites mediante la creación de librerías genómicas enriquecidas con motivos

repetidos a partir del genoma de la especie. En la tercera se emplearon los marcadores microsatélite para realizar un estudio genético poblacional de *P. sierra* en algunos oasis de la península de Baja California. En la última línea de investigación se reconstruyeron árboles filogenéticos para determinar si los grupos de especies definidos por similitudes morfológicas conforman grupos filogenéticamente emparentados tales como el *lapidicina*, *milvina* y otras especies (*P. californica*, *P. astrigera*, *P. jamburoensis*, entre otras) pertenecientes al género *Pardosa*.

Finalmente en este estudio se pretende responder a las siguientes preguntas: ¿Los diferentes morfos representan un polimorfismo balanceado en *P. sierra* y por lo tanto, pertenecen a una misma especie? ¿Las poblaciones de los diferentes oasis se encuentran aisladas genéticamente? ¿Es éste un aislamiento genético reciente? ¿Existe un gradiente en la diversidad genética que permita suponer la existencia de flujo genético que informe de manera indirecta sobre las capacidades de dispersión aún no bien conocidas en la especie de interés? ¿Es el grupo *lapidicina*, al cual pertenece *P. sierra*, un grupo monofilético?

II. ANTECEDENTES

Unos de los principales problemas que existe en biología es referente a la validez e incluso existencia de lo que es una especie, así como los límites de ésta, dígame, ¿cuando dos o más entidades son o no una misma unidad taxonómica?, el evadir esta pregunta puede llevar a conclusiones erróneas en casi cualquier línea de investigación que esté relacionada a la biología comparada, por lo que es indispensable iniciar

estableciendo los límites de los modelos biológicos (especies) de estudio hoy en día y que permitan a su vez realizar estudios poblacionales y de relaciones filogenéticas.

II.1 Revisión sistemática de *Pardosa sierra* Banks, 1898 (Araneae: Lycosidae) con énfasis en la genitalia y genética molecular (COI ADNmt)

Tradicionalmente, en la sistemática del orden Araneae se emplean caracteres morfológicos para diferenciar y clasificar los diferentes grupos taxonómicos. A nivel especie, dichos caracteres provienen principalmente de la genitalia, pues en general presenta poca variabilidad intraespecífica y una gran variación interespecífica (Huber 2004). No obstante, la mayoría de las arañas en estadios juveniles no pueden ser identificadas debido a que aún no han desarrollado caracteres sexuales como el epiginio en las hembras y la modificación de los pedipalpos en los machos. Las arañas presentan un dimorfismo sexual marcado, por lo que es necesario el uso de diversos criterios en la identificación de especies, pues algunas muestran amplias variaciones en los genitales de hembras y/o machos a lo largo de su distribución, lo que ha generado opiniones encontradas acerca de la validez y estabilidad en la nominación de especies (Dondale y Redner 1981; Dreyer y Brady 2008).

Particularmente, las arañas que presentan problemas taxonómicos, son las especies de la familia Lycosidae. En este grupo es frecuente el registro de especies con amplia distribución y con polimorfismo marcado en estructuras sexuales y/o somáticas, que propicia la sinonimia e incertidumbres taxonómicas (Dondale y Redner 1981; Stratton y Uetz 1981; Stratton 1991; Reiskind y Cushing 1996; Scheffer *et al.* 1996; Parri *et al.* 1997; Milasowszky *et al.* 1998; Miller *et al.* 1998; Töpfer-Hofmann *et al.* 2000; Hepner y Milasowszky 2006; Dreyer y Brady 2008; entre otros). En el género

Pardosa este tópico ha sido estudiado en grupos de especies europeas por Tongiorgi (1966a y 1966b), Holm y Kronestedt (1970), Hollander y Dijkstra (1974), Kronestedt (1981), Wunderlich (1984), Barthel y Helversen (1990), Kronestedt (1990), Kronestedt (1992), Chang *et al.* (2007) y Kronestedt (2007). Los grupos de especies americanas no son la excepción (Barnes 1959; Lowrie y Dondale 1981; Dondale y Redner 1984). Estos estudios demuestran que la taxonomía tradicional presentar serias limitaciones para clasificar un gran número de especies y sus individuos.

El tipo de problemas expuesto anteriormente podría ser resuelto mediante el uso combinado de marcadores moleculares y en particular con el análisis del ADN mitocondrial (Brower 1994), pues proveen caracteres genéticos directos útiles para la investigación taxonómica (DeSalle *et al.* 2005). Los marcadores genéticos (nucleares y mitocondriales) están ganando rápidamente terreno como una fuente de información que está siendo ampliamente extendida a diferentes taxa. Un ejemplo es el uso del código de barras del ADN (The Consortium for the Barcode of Life “CBOL” en <http://barcoding.si.edu/> y su contacto en México: El código de barras de la vida México “MEXBOL”).

Por otra parte, es importante señalar que en la actualidad y debido a situaciones como las antes expuestas, no se conoce con certeza la diversidad biológica de grupos como las arañas y otros invertebrados. Por ejemplo, el hecho de agrupar diferentes morfotipos en una misma especie genera dudas acerca de la validez de las especies descritas, por lo que la información molecular podría ser de gran valor para determinar el grado en que se ha subestimando la diversidad biológica de estos grupos.

Pardosa sierra Banks, 1898 (Lycosidae: Araneae) pertenece al grupo *lapidicina*, y ha sido considerada como una especie de amplia distribución, reportándose desde

Utah, en E.U.A. a Oaxaca y Veracruz en México. Se han reportado dos morfotipos al caracterizar los genitales de las hembras y algunas variaciones de los genitales en los machos (Barnes 1959). Esta especie es de pequeño tamaño (5 - 9 mm), emboscadora de hábitos diurnos y vive entre las rocas o suelo de las zonas húmedas (Lowrie 1973; Punzo y Farmer 2006).

La última revisión del grupo *lapidicina*, Barnes (1959) discutió las diferencias morfológicas de *P. sierra*, y sinonimizó a *Pardosa atromedia* Banks, 1904 y *Pardosa sura* Chamberlin e Ivie, 1941 en ésta especie sobre la base de que las variaciones entre los genitales de dichas especies nominales son tan pequeñas que no justifican su separación taxonómica.

En el presente estudio se comparan las variaciones morfológicas entre los distintos morfotipos reportados en la literatura y los ejemplares encontrados en las colecciones biológicas, conjuntamente con un análisis genético que permita someter a prueba la validez de *P. sierra* como una sola especie, o como un conjunto de especies taxonómicamente bien diferenciadas.

II.2 Obtención de loci microsatélites de *Pardosa sierra*

La conservación de las especies con poblaciones fragmentadas requiere del conocimiento de su dinámica y estructura metapoblacional, que incluye la determinación de la variabilidad genética dentro y entre poblaciones. Los marcadores moleculares permiten, por ejemplo, identificar poblaciones con una diversidad genética reducida y generalmente más vulnerables a un posible cambio ambiental, así como distinguir subpoblaciones genéticamente diferenciadas del resto para dirigir los esfuerzos de conservación hacia ellas. Del mismo modo, permiten descubrir genealogías

génicas y conocer el grado de parentesco entre individuos a fin de programar cruzamientos que prevengan niveles de consanguinidad altos que puedan llevar a la depresión biológica y su posible extinción.

La popularidad en el uso de distintos marcadores ha variado con el tiempo. La aplicación por primera vez de las técnicas de electroforesis de enzimas (separación en un campo eléctrico de proteínas) a mediados de los años 60 (Harris 1966; Lewontin y Hubby 1966) contribuyó a un gran avance en la detección de variabilidad genética; aunque paulatinamente se han sustituido por otros marcadores moleculares que detectan polimorfismos a nivel de ADN, como los RFLPs (Restriction Fragment-Length Polymorphisms) (Sunnucks 2000).

Sin embargo, con el desarrollo y generalización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR: Polymerase Chain Reaction) (Saiki *et al.* 1985; Mullis y Faloona 1987) tomaron ventaja una serie de marcadores que de otra forma no podrían haber progresado, como es el caso de los microsatélites y minisatélites. Así pues, la publicación en 1989 de tres trabajos sobre el aislamiento y caracterización de microsatélites (Litt *et al.* 1989; Tautz y Renz 1984; Weber y May 1989), inició una nueva era en el empleo de marcadores genéticos que ha revolucionado los campos de la biología de la conservación, la genética cuantitativa y la genética de poblaciones.

Una de las ventajas de los marcadores microsatélite, comparado otros marcadores (minisatélites, RFLP, RAPD, ADNmt, entre otros) radica en que están considerados por la mayoría de autores, como la más poderosa herramienta para los estudios de genética de poblaciones y son reconocidos como marcadores neutrales (Cheng y Crittenden 1994; Freeland 2005; Allendorf y Luikart 2007). Se ha estimado que la tasa de mutación en los microsatélites varía entre 10^{-2} y 10^{-5} por generación

(Weber y Wong 1993; Chakraborty *et al.* 1997), y el mecanismo que explica mejor su alto grado de polimorfismo, es la acumulación de errores producidos por el deslizamiento de la polimerasa durante la replicación del ADN (Schlötterer y Tautz 1992; Strand *et al.* 1993; Tautz y Schlötterer 1994; Kruglyak *et al.* 1998; Eisen 1999; Ellegren 2000), así como por el entrecruzamiento desigual durante la meiosis (Jarne y Lagoda 1996), el cual se refiere a la ganancia en el número de repeticiones en uno de los cromosomas donde se encuentra el microsatélite, mientras que el otro, obtiene un menor número de éstas.

Los marcadores microsatélites se definen por el tipo particular de motivos de secuencia o unidades de repetición (UR), y por su longitud o número de repeticiones en una posición concreta en el cromosoma (locus). Con estos criterios se vienen clasificando generalmente en tres familias (basado en Weber 1990):

1) Microsatélites perfectos, se definen como repeticiones en un número mínimo de 9 UR sin interrupción y sin repeticiones adyacentes (p. e. $(CA)_n$ $n > 9$).

2) Microsatélites compuestos, se tratan de dos o más repeticiones de al menos 9 UR ininterrumpidas. Las UR pueden ser combinaciones de motivos de un número variable de pares de bases (p. e. $(CA)_n$ $-(GA)_m$; $n > 9$, $m > 9$).

3) Microsatélites interrumpidos, son repeticiones ininterrumpidas de al menos 9 UR separadas como máximo por 4 pares de bases (p. e. $(CA)_n$ $-N_t-$ $(CA)_n$ $-N_t-$ $(CA)_n$; $n > 9$, $t < 4$).

La evolución y función de los microsatélites son en gran parte desconocidos. Existe todavía controversia sobre qué patrones siguen en los cambios de tamaño de alelos de una generación a otra, qué factores determinan la tasa de mutación (Hancock 1999; Li *et al.* 2002; Sibly *et al.* 2003), y la función que puedan desempeñar debido al hecho de que se encuentran tanto en regiones codificantes como no codificantes (Tautz *et al.* 1986; Kashi *et al.* 1997; Kashi y Soller 1999; Li *et al.* 2002). Los modelos que se han considerado más relevantes para explicar la evolución de los microsatélites son tres: el modelo de alelos infinitos (Infinite Allele Model, IAM; Kimura y Crow 1964), el modelo del K-alelo (K-allele model, KAM; Crow y Kimura 1970) y el modelo del salto mutacional (Stepwise Mutation Model, SMM; Kimura y Otha 1978). Este último es el que se ha aplicado más ampliamente, e implica que las mutaciones suponen la pérdida o ganancia de una sola unidad de repetición, y por lo tanto, las mutaciones tienen lugar sobre alelos ya presentes en la población, es decir, que mantienen cierta “memoria” sobre el estado alélico anterior (Weber y Wong 1993; Goldstein *et al.* 1995; Balloux y Goudet 2002). El modelo de salto mutacional se definió inicialmente para explicar la distribución de las frecuencias alélicas de isoenzimas, pero se aplica mejor a los microsatélites, donde se asume que las mutaciones ocurren más fácilmente de una manera regular. Por el contrario, en el modelo IAM, las unidades de repetición mutan en un número variable y por lo tanto el resultado no depende del estado alélico previo de la población. Por último, el modelo KAM asume k posibles estados alélicos en una población y cada alelo tiene una probabilidad constante ($\mu/(k-1)$) de mutar de entre los $k-1$ estados alélicos restantes.

Existen evidencias de que el aumento del tamaño del alelo ocurre más frecuentemente que su disminución, pero se desconoce si hay fuerzas selectivas en el

mantenimiento y generación de los microsatélites (Primmer *et al.* 1997; Brohede y Ellegren 1999). Desde una perspectiva filogenética, se ha podido profundizar mejor en la dinámica evolutiva de los microsatélites. A pesar de que los microsatélites poseen altas tasas de mutación, las regiones flanqueantes están más conservadas, y por tanto se pueden utilizar para probar y establecer hipótesis filogenéticas entre especies cercanas. De esta forma, por ejemplo, se han propuesto filogenias a nivel de familia, para los cíclidos (Zardoya *et al.* 1996) y salmónidos (Koskinen *et al.* 2002), de subfamilia para las avispas Polistinae (Zhu *et al.* 2000), y a nivel especie para el anfibio *Bufo calamita* (Rowe *et al.* 1998) y para la cacerola de mar (Chelicerata) *Limulus polyphemus* (Ortí *et al.* 1997).

Por otro lado, existe también una gran variabilidad en la cantidad de secuencias de microsatélites en los genomas de diferentes especies en términos de frecuencia, longitud y tipo de repetición (Toth *et al.* 2000; Neff y Gross 2001). Por ejemplo, se sabe que los microsatélites son comunes en peces (DeWoody y Avise 2000), insectos himenópteros (Franck *et al.* 1998) y mamíferos (Forbes *et al.* 1995). Sin embargo son relativamente raros en los genomas de aves (Primmer *et al.* 1997).

Los marcadores microsatélite se definen como loci nucleares con secuencias de nucleótidos repetitivos (de uno a seis) dispuestos en tandem (Figura II.1). Generalmente se encuentran en zonas no codificantes del ADN, pero también se han detectado en regiones intergénicas y aún en genomas de organelos (ADNmt y ADNcp) (Armour *et al.* 1999; Xu *et al.* 1999; Chambers y MacAvoy 2000). Los motivos repetidos en tandem se encuentran flanqueados por secuencias de nucleótidos conservadas. Entre sus características más generales están el ser co-dominantes, considerárseles neutros y presentar un alto grado de polimorfismo. Esta variación, se refiere a las diferencias en la

longitud de los alelos, pudiendo ser distinta entre los loci, indicando que la tasa de mutación no es la misma para cada locus. La forma de obtener este tipo de información es mediante el diseño de iniciadores, lo cual se realiza en zonas conservadas vía la PCR. Estos iniciadores pueden ser específicos para cada genoma o especie, por lo que no siempre un juego de iniciadores aislados en una especie, funcionará en otra (amplificación cruzada) (Zane *et al.* 2002). De ser este el caso, será necesario el aislamiento de microsatélites a partir del genoma de la especie de interés.

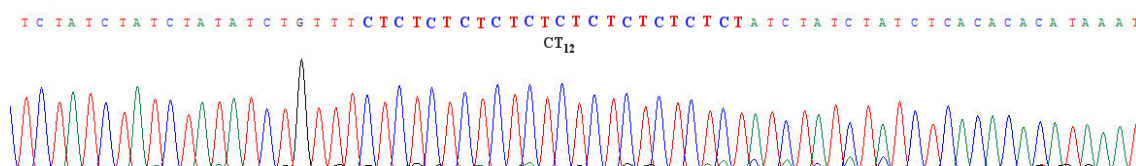


Figura 1 Representación gráfica de un fragmento de ADN que contiene un motivo repetitivo en tandem o microsatélite, repetición (CT)₁₂ aislado del genoma de *P. sierra*.

Actualmente, el aislamiento de microsatélites se basa en la generación de una banca o librería genómica enriquecida con motivos repetitivos. Brevemente, el ADN total es cortado con una o varias enzimas de restricción, posteriormente se establece una librería enriquecida de fragmentos de ADN repetidos y unidos a un fragmento de ADN (Superlinkers) de secuencia conocida, los cuales son seleccionados mediante sondas (nucleótidos de secuencia conocida con motivo repetido) marcadas con biotina. Para separar los fragmentos de ADN cortados que contengan motivos repetitivos en tandem, se emplea un sistema de perlas imantadas afines a la biotina, posteriormente se realiza una transformación bacteriana de los fragmentos contenidos en esta banca. A diferencia de este método, la obtención de loci microsatélite se realizaba mediante librerías construidas sin una previa selección de fragmentos de ADN enriquecida con

microsatélites, por lo que la probabilidad de obtener este tipo de marcadores era muy baja (bajo rendimiento) y altamente demandante en costos y tiempo (Zane *et al.* 2002; Cruz 2003).

Una de las principales utilidades de este tipo de marcador, es la posibilidad de estimar los niveles de variabilidad genética dentro de las poblaciones y analizar las relaciones genéticas existentes entre las mismas. Su empleo exitoso ha sido ampliamente demostrado en poblaciones en cultivo y naturales para estimar la diversidad genética (Cruz 2003; Allendorf y Luikart 2007), así como también para análisis filogenéticos, cuando se usa un número importante de loci con apropiadas tasas de mutación (Takezaki y Nei 1996).

Una nueva técnica para el aislamiento de microsatélites es mediante la secuenciación masiva de genomas empleando pirosecuenciadores, sin embargo, el aislamiento de loci microsatélite se realiza preferentemente mediante la elaboración de genotecas enriquecidas con motivos repetitivos, mediante el empleo de pruebas marcadas con biotina y aislados mediante partículas paramagnéticas (Dynabeads) del resto del ADN digerido (Glenn y Schable 2005), esto representa una ventaja, ya que anteriormente las genotecas eran realizadas sin enriquecimiento y cribadas mediante sondas radioactivas para detectar la presencia de insertos con estos motivos (Zane *et al.* 2002; Cruz 2003; García de León *et al.* 1997). Una vez obtenidas las secuencias de clonas positivas con fragmentos microsatélite que permitan el diseño de iniciadores y haber probado su polimorfismo, estos marcadores pueden ser empleados en una gran variedad de trabajos, como los forenses (identificación de individuos), diagnóstico de enfermedades y estudios de conservación (identificación de unidades de conservación), entre otros (Zhang y Hewitt 2003; Schlötterer 2004).

Para la obtención de datos de loci microsátélites, los productos de PCR son separados, por ejemplo, por electroforesis en geles de poliacrilamida y visualizados con tinción en plata (Benbouza *et al.* 2006), autorradiografía (si los iniciadores están radiactivamente marcados) o a través de scanners o secuenciadores (en caso de iniciadores fluorescentemente marcados) (Zischler *et al.* 1989).

En los trabajos que abordan la diversidad genética de especies de arañas, se han empleado isoenzimas como marcadores moleculares (Lubin y Crozier 1985; Smith 1986; Ramirez y Froehling 1997; Evans y Goodisman 2002; Ramirez y Chi 2004); estos, presentan varias desventajas como el mostrar bajos niveles de polimorfismo dado que depende de la solubilidad de las proteínas en agua. El que provengan de genes nucleares indica que la variación que detectan se ve afectada por la redundancia en los codones que codifican para los aminoácidos, así como por las sustituciones nucleotídicas sinónimas, por lo que la variación genética probablemente sea subestimada, razones por las cuales se eligió el uso de loci microsátélite en *P. sierra*, debido a que presentan un alto polimorfismo y alta tasa de mutación (Zhu *et al.* 2000). Aunado a lo anterior y en virtud de que existen muy pocos trabajos donde se han aislado microsátélites de especies de arañas y cuyas pruebas de amplificación cruzada son inviables ya que las especies de donde se han aislado este tipo de marcadores se encuentran filogenéticamente muy distantes de la especie en cuestión (en otras familias de arañas).

II.3 Estructura genética de las poblaciones de *Pardosa sierra* en los oasis de la Península de Baja California

La araña lobo *Pardosa sierra*, es una especie de amplia distribución en gran parte de la Península de Baja California, desde la región del Cabo hasta Ensenada, Baja California, México (Correa *et al.* aceptado, Apéndice 3). Esta especie habita en los márgenes de los ríos y arroyos tanto naturales como artificiales, preferentemente en zonas rocosas (Lowrie 1973; Punzo y Farmer 2006). *Pardosa sierra*, pertenece al gremio de las cazadoras errantes edáficas, estas exhiben cuidados parentales desde la ovoposición, eclosión y hasta el final de la tercer muda, lo que ocurre de los siete a catorce días (Punzo y Farmer 2006). Aunque no se conoce la conducta reproductiva de la especie, la mayor parte de las especies de la familia Lycosidae muestran un comportamiento de apareamiento, en donde el macho corteja a la hembra, lo que supone que *P. sierra* muestre conductas ligadas a la selección sexual.

Los hábitos de vida antes mencionados, son aspectos de su biología que son importantes de correlacionar con los niveles de diversidad genética (Papura *et al.* 2003; Vialette *et al.* 2005). Este tipo de características de vida, puede estar influenciando la diversidad genética al interior y entre sus poblaciones.

Aún cuando existen datos que permiten suponer sobre la capacidad de dispersión de esta especie (Lowrie 1973; Punzo y Farmer 2006; Bonte *et al.* 2003), en realidad no se conocen los mecanismos de dispersión ni se ha estimado el tamaño de poblaciones de *P. sierra* en los diversos oasis de la Baja California.

Por lo que uno de los principales intereses en esta parte de la investigación, es determinar si las poblaciones de *P. sierra* muestran una estructuración genética relictiva a lo largo de los oasis de la Península y estimar si existe un flujo genético entre ellas. Esta

información es de gran interés para comprender las capacidades de dispersión de *P. sierra* previamente subestimadas en los estudios biológicos de otras especies hasta ahora realizados (Bonte *et al.* 2003; Lambeets *et al.* 2010).

En este sentido, la teoría sobre la dispersión predice que el patrón de distribución de las especies depende del potencial de migración, de su biología y de las barreras geográficas y ecológicas encontradas a lo largo de su rango de distribución. Las arañas, por mostrar distintos modos de dispersión, son un buen modelo de estudio ya que la estructura genética de sus poblaciones depende de los factores relacionados con sus capacidades de dispersión. Es probable que especies con escaso o nulo potencial de dispersión posean una estructuración genética heterogénea, y ésta puede o no estar correlacionados con su comportamiento social.

Por ejemplo, *Diaea ergandros* en la parte sur de Australia, posee una limitada capacidad de dispersión, un fuerte comportamiento social y es poco territorial (Evans y Goodisman 2002), la evaluación de la diversidad genética indicó una estructura genética heterogénea. Del mismo modo, Smith (1986) reportó que para *Anelosimus eximius* en Panamá y Surinam, se detectó una marcada diferenciación poblacional, debido a su baja dispersión, correlacionada con un comportamiento pseudo social y cuidados parentales. Otra especie con una conducta social marcada como *Achearanea wau* de Nueva Guinea (Lubin y Crozier 1985) presentó una marcada estructura poblacional resultado de un fenómeno de endogamia al interior de cada colonia. No obstante, en especies no sociales también se ha reportado la presencia de heterogeneidad genética, tal es el caso *Apostichus simus* (Ramirez y Froehling 1997) y *Atypoides riversi* en California (Ramirez y Chi 2004), ambas especies habitan galerías subterráneas y poseen limitadas capacidades de migración. Estos estudios parecen apoyar la hipótesis de que la

heterogeneidad genética está determinada por la capacidad de dispersión de la especie más que por una conducta social.

Por su parte las especies con alta capacidad de dispersión tienden a presentar una homogeneidad genética entre sus poblaciones, que pueden estar ligadas a comportamientos solitarios durante su ciclo de vida. Por ejemplo, *Argiope trifasciata* en el centro de Pennsylvania (Ramírez y Haakonsen 1999); *Metepeira ventura* en la Isla Santa Catalina en California (Ramirez y Fandino 1996); tres especies del género *Schizocosa* y una especie de *Phidippus* en Illinois (Steiner *et al.* 1992) y *Araneus diadematus* en Dinamarca (Johanesen y Toft 2002), todas ellas mostraron el mismo patrón de homogeneidad genética y capacidad de dispersión elevada. Resulta interesante el hecho de que, en todos los trabajos mencionados se emplearon isoenzimas como marcadores moleculares. Estos marcadores presentan desventajas para los estudios de genética de poblaciones por mostrar bajos niveles de polimorfismo, debido a que la variación que detectan se ve afectada por la redundancia en los codones que codifican para los aminoácidos y a las sustituciones nucleotídicas sinónimas (Zhang *et al.* 2002). Por lo anterior, el uso de microsatélite es aconsejable para estos estudios, debido a su alto polimorfismo y a su alta tasa de mutación, siendo especialmente útiles para develar estructuras genéticas finas, incluso en especies con amplias capacidades de dispersión como el caso de los peces pelágicos (Kingsford y Defires 1999; Gonzalez *et al.* 2008).

La falta de una revisión taxonómica adecuada de la especie ha ocasionado incertidumbre sobre el rango de distribución de esta y otras especies. Recientemente, con base en estudios morfológicos y moleculares se ha propuesto una solución a este conflicto, delimitando el área de distribución de *P. sierra*, siendo endémica para la

Península de Baja California, principalmente en los oasis y cuerpos de agua rodeados por áreas de vegetación árido-tropical.

Asimismo, se desconoce aún el tipo de estructura genética, aunque se asume que los organismos de la familia Lycosidae son poco propensos a dispersarse de forma pasiva (Salmon y Horner 1977; Greenstone *et al.* 1987). De acuerdo con Bonte *et al.* (2003 y 2006), la capacidad de dispersión pasiva de las especies que se encuentran en hábitats muy específicos es menor a la de aquellas especies generalistas en la ocupación del hábitat.

Estos datos permiten suponer que *P. sierra*, considerada como una especie circunscrita exclusivamente a los cuerpos de agua con sitios rocosos (Lowrie 1973; Punzo y Farmer 2006), no se dispersa de forma pasiva, no obstante, los hallazgos preliminares del ADN mitocondrial realizados en la especie contradicen esta suposición (Correa-Ramírez *et al.* aceptado, Apéndice 3).

Considerando los escasos datos sobre la especie y la información biológica que se conoce de los licósidos, se plantea la siguiente pregunta: ¿una especie como *P. sierra*, con una amplia distribución geográfica en La Península de Baja California, con cuidados maternos, uso especializado del hábitat y con baja capacidad de dispersión, muestra una estructura genética entre sus poblaciones del tipo aislamiento por distancia? Por otra parte, el conocimiento sobre el patrón de distribución de la diversidad genética de las arañas circunscritas a los oasis, permitirá teorizar sobre el origen de estos ecosistemas, así como proporcionar herramientas que ayuden en la conservación de estos sitios.

II.4 Relaciones filogenéticas de los grupos *lapidicina* y *milvina* del género *Pardosa* (Lycosidae)

Las arañas pertenecientes a la familia Lycosidae (arañas lobo) forman uno de los grupos más diversos del Orden Araneae, con cerca de 2,367 especies descritas en más de 100 géneros en todo el mundo (Platnick 2010). Estos organismos se encuentran en casi todos los hábitat terrestres y han conseguido colonizar algunos de los lugares más inhóspitos de la tierra. Las apomorfias o rasgos derivados, a partir de un ancestro común más cercano de ésta familia, son la disposición de sus ocho ojos en tres filas (4:2:2); la falta de la apófisis retrolateral en la tibia del pedipalpo de los machos y los cuidados maternales (Dondale 1986). La monofilia de la familia Lycosidae se encuentra bien respaldada tanto por caracteres morfológicos como con estudios moleculares (Dondale 1986; Griswold 1993; Barrett y Hebert 2005; Murphy *et al.* 2006), sin embargo, las relaciones filogenéticas en categorías taxonómicas inferiores, son poco conocidas. Actualmente, se reconocen cinco subfamilias Allocosinae, Lycosinae, Pardosinae, Sosippinae y Venoniinae. A este nivel, las hipótesis de relaciones de parentesco, se basan exclusivamente en la morfología del pedipalpo del macho.

Lycosinae y Pardosinae agrupan a la mayoría de las especies de la familia, siendo esta última la que contiene al género *Pardosa*, cuyas especies están estrechamente emparentadas (Dondale 1986). También se desconocen las relaciones de parentesco entre las subfamilias y es mayor el debate acerca de estas relaciones al interior de los géneros y los grupos de especies que los componen, principalmente aquellos que contienen una gran diversidad de especies como es el caso del género *Pardosa*.

Dentro del género *Pardosa* existe un considerable número de grupos de especies, en particular *groenlandica*, *moesta*, *coloradensis*, *xerampelina*, *lapponica*, *tesquorum*, *modica*, entre otros que se registran en Norteamérica (Vogel 2004). Si bien es cierto que se desconoce el número total de grupos de especies que ocurren en México, dos de los más conocidos e importantes que ocurren en las zonas áridas de México, son el grupo *lapidicina* y el grupo *milvina*, pero existe un total desconocimiento sobre las relaciones filogenéticas dentro y entre los grupos de *Pardosa* en el país. Los estudios que van dirigidos a resolver las relaciones filogenéticas en estos niveles taxonómicos, contribuirán al conocimiento de la diversidad biológica de las arañas en Norteamérica. Particularmente son interesantes aquellos estudios que empleen secuencias de genes con tasas de mutación moderada como el COI del ADN mitocondrial que además tiene un respaldo amplio en las bases de datos internacionales como GenBank (Chang *et al.* 2007).

El género *Pardosa* es uno de los más diversos de la familia Lycosidae, el cual está dividido en varios grupos (Vogel 2004). Se ha discutido si esta clasificación en grupos es natural y si dentro de cada grupo existen verdaderas relaciones de parentesco (Dondale 1986; Muster y Berendonk 2006). En la mayoría de los grupos de arañas, estos ordenamientos se han realizado tradicionalmente por el análisis de estructuras morfológicas, sobre todo con los genitales de los adultos (Dondale 1984). No obstante, aun existen muchas especies del género que no han sido clasificadas dentro de algún grupo específico o son reubicadas en otros grupos de especies como *Pardosa mercurialis*, que fue reasignada de *lapidicina* al *mercurialis* (Vogel 2004).

Uno de los grupos de especies más conspicuos de este género, es *lapidicina*, en el que se encuentra clasificada *P. sierra*. Este grupo representa un complejo homogéneo

de ocho especies, la mayoría de las cuales ocurren en el suroeste de Estados Unidos y norte de México (Barnes 1959). La mitad de estas especies fueron descritas a principios del siglo pasado. Sin embargo, la falta y deficiencia de descripciones adecuadas y la estrecha similitud morfológica de las especies, han conducido a abandonar el concepto de la jerarquía del grupo, quedando el conocimiento de las relaciones filogenéticas y la validez de las especies que lo componen en un estado de relativa confusión (Vogel 2004).

El grupo *milvina* es otro grupo de especies que ocurren en México y está también entre los más diversos del país, ya que cuenta con aproximadamente ocho especies reportadas (Vogel 2004) y al igual que el grupo *lapidicina*, poco se conoce de las relaciones filogenéticas con otros grupos de especies (Dondale 1984) y las relaciones de parentesco al interior del grupo no se encuentran bien establecidas o se desconocen.

III. HIPÓTESIS

Dado que la taxonomía de *Pardosa sierra* ha sido complicada por la falta de variación de los caracteres normalmente usados en la identificación intra-específica, lo cual ha forzado a los investigadores a sinonimizar especies; se espera que los análisis de las variaciones de un fragmento del COI del ADNmt y las variaciones de la morfología de la genitalia, permitirán definir la validez taxonómica de las especie incluidas en este complejo taxonómico. Además, de acuerdo a la semejanza en la morfología de la genitalia de las especies que conforman al grupo *lapidicina*, se espera que la variación de las secuencias del COI confirme la monofilia del grupo. Por otro lado, puesto que en la Península de Baja California existe solo *P. sierra* y que las zonas árido-tropicales representan una barrera geográfica y ecológica para la dispersión de esta especie con fuerte dependencia al hábitat de oasis, se espera observar una alta diferenciación genética entre sus poblaciones.

IV. OBJETIVO GENERAL

- Analizar la diversidad genética de *Pardosa sierra* a lo largo de su distribución y determinar las relaciones filogenéticas con respecto a sus congéneres del grupo *lapidicina*.

V. OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener secuencias de un fragmento del gen COI del ADN mitocondrial de especies del grupo *lapidicina*.
- Esclarecer la identidad taxonómica de *P. sierra* a lo largo de la distribución geográfica actualmente conocida.
- Determinar el nivel de variación de las secuencias COI de *P. sierra* dentro de los oasis de la Península de Baja California.
- Obtener marcadores microsatélite a partir del genoma *Pardosa sierra*.
- Evaluar la diversidad genética intra e interpoblacional de *P. sierra* en oasis de la Península de Baja California mediante marcadores moleculares del tipo microsatélite.
- Reconstruir las relaciones filogenéticas y probar la monofilia de las arañas lobo de los grupos *lapidicina* y *milvina* usando la variabilidad genética de un fragmento del COI.

VI. MÉTODO

VI.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La vegetación presente en los oasis se compone principalmente de *Phoenix dactylifera*, *Washingtonia filifera*, *Xanthosoma sp.*, *Prosopis glandulosa*, *Jatropha cinerea*, *Vallesia glabra* y *Acacia brandegeana* (Grismer y McGuire, 1993; Maya *et al.* 1997). Sin embargo también se encuentran huertos con árboles frutales como *Mangifera indica*, *M. caesia*, *M. foetida*, *M. odorata*, *Citrus aurantium*, *Citrus limon* y *Ficus carica*. La vegetación circundante a estos cuerpos de agua, es del tipo matorral sarcocaulé que se caracteriza por la dominancia de arbustos de tallos carnosos, gruesos, en ocasiones retorcidos y algunos de corteza papirácea. Entre los géneros se encuentra a *Jatropha*, *Bursera* y *Fouquieria* (INEGI 1995). El clima en general es cálido seco con lluvias en verano e inviernos frescos (BW (h' w) (INEGI 1995; Coria 1997), en esta zona la temperatura promedio mensual anualizada, fluctúa entre los 16°C en invierno y más de 30°C en verano.

La precipitación presenta valores promedio mensual anualizado que van desde 20 mm de lluvia en invierno hasta cero mm en verano (INEGI 2006; Pineda *et al.* 1997). Es interesante resaltar que si bien los oasis muestran vegetación similar, no son del todo iguales, mostrando elementos florísticos característicos en cada sitio, además de diferentes niveles de perturbación antropogénica, indirectamente estimada, por los niveles de población humana.

Los cambios de vegetación de un oasis a las zonas circundantes secas (matorral sarcocaulé) son extremos, existiendo grandes áreas con matorral sarcocaulé entre los

cuerpos de agua de la región. Estos cambios de vegetación representan una barrera para la dispersión de especies animales y vegetales entre oasis.

VI.2 TRABAJO DE CAMPO

VI.2.1 Recolecta de material biológico de especies del género *Pardosa*

Se obtuvieron ejemplares de los tres morfotipos antes citados ($n \geq 3$), así como especímenes de *P. vadosa* Barnes 1959; *P. valens* Gertsch 1934 y *P. steva* Lowrie y Gertsch 1955 de California, EE.UU.; Baja California Sur, Chihuahua, Nuevo León, Sinaloa y Sonora, México. Todos los ejemplares recolectados por especie ($n \geq 3$) fueron preservados en etanol al 96% inmediatamente después de su captura. Dichos especímenes fueron depositados en la colección Aracnológica (CARCIB) del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., México.

VI.2.2 Recolectas de material Biológico para estudios poblacionales de *Pardosa sierra*

Las recolectas de arañas para el estudio poblacional se realizaron tratando de cubrir la totalidad del área de distribución geográfica de *P. sierra*, en la Península de Baja California (Fig. 2). En total se realizaron siete recolectas de material aracnológico para el estudio poblacional (Cuadro I; Fig. 2). Las capturas se hicieron en las orillas de los arroyos u oasis.

Las capturas se realizaron manualmente hasta obtener una muestra de alrededor de 50 individuos adultos por localidad (Cuadro II), excepto para las localidades de El Rosarito ($n = 10$) y Ensenada ($n = 26$). Todos los ejemplares fueron fijados en campo en

etanol al 96%. Las muestras se trasladaron a la colección de arácnidos del CIBNOR para su identificación taxonómica.

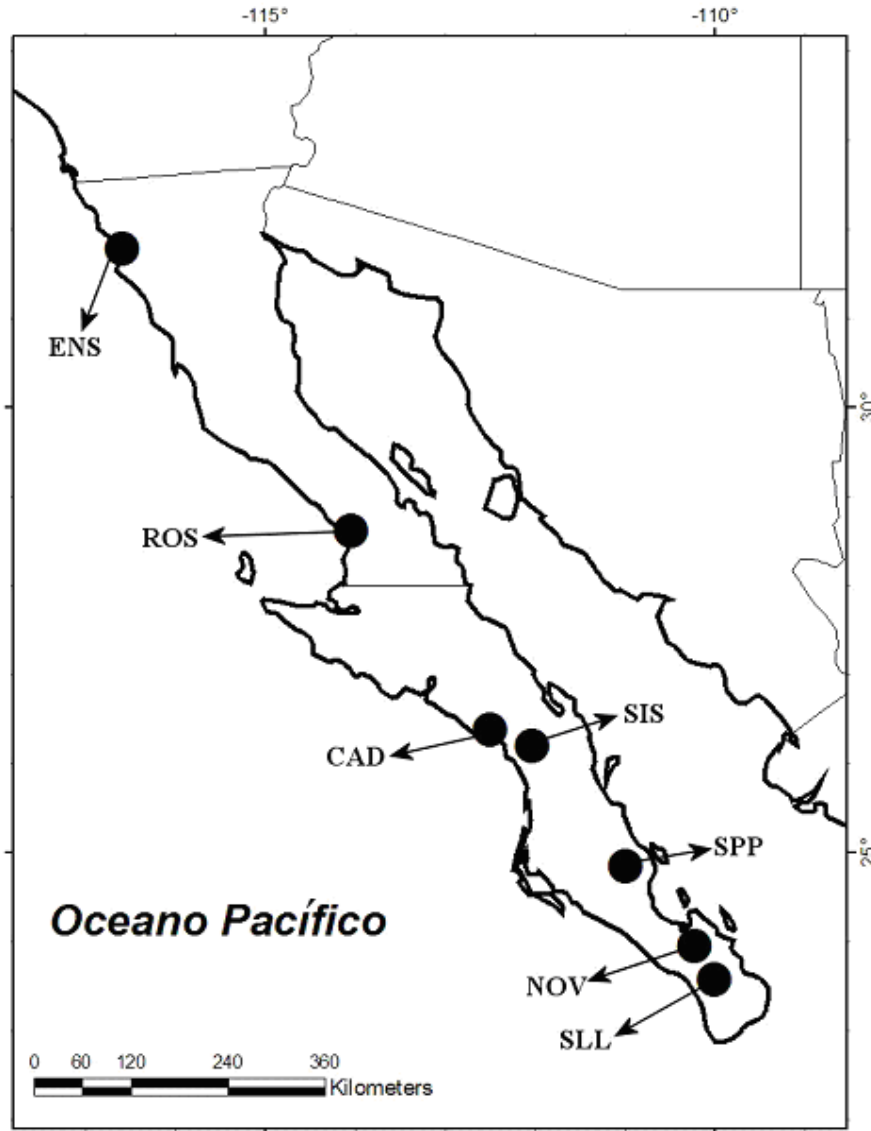


Figura 2 Sitios de recolecta de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California. Los acrónimos de cada sitio de colecta son: Baja California: Ensenada (**ENS**); El Rosarito (**ROS**). Baja California Sur: Cadejé (**CAD**); San Isidro (**SIS**); San Pedro de la Presa (**SPP**); El Novillo (**NOV**) y Sierra de la Laguna (**SLL**).

Cuadro I Coordenadas geográficas de las localidades donde se muestrearon ejemplares de *P. sierra*. Número de ejemplares, *n*.

Fecha	Municipio	Localidad	Norte	Oeste	Acrónimo	<i>n</i>
Abril 2008	Ensenada	Ensenada	31° 47'	116° 36'	ENS	26
Abril 2008	Ensenada	El Rosarito	28° 37'	114° 02'	ROS	10
Octubre 05 del 2006	Mulegé	Cadejé	26° 22'	112° 30'	CAD	52
Octubre 28 del 2006	Comondú	San Isidro-La Purísima	26° 12'	112° 02'	SIS	52
Junio 19 del 2008	La Paz	San Pedro de la Presa	24° 50'	110° 59'	PSP	52
Junio 04 del 2006	La Paz	El Novillo	23° 55'	110° 13'	NOV	52
Noviembre 2006	Los Cabos	Sierra de la Laguna	23° 14'	109° 52'	SLL	52

VI.3 TRABAJO DE LABORATORIO

VI.3.1 Revisión sistemática de *P. sierra*

VI.3.1.1 Morfología

Especímenes hembras y machos de *P. sierra* fueron estudiados para establecer la forma de los epiginos y pedipalpos. Se incluyeron especímenes depositados en las colecciones del American Museum of Natural History (60 especímenes), Nueva York, E.U.A.; California Academy of Science (20 especímenes), California, E.U.A.; Darrell Ubick colección personal (siete muestras), E.U.A. y del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (50 especímenes), Baja California Sur, México. Los genitales de cada ejemplar fueron disecados bajo un microscopio estereoscópico para determinar la identidad del morfotipo, asimismo, se tomaron medidas corporales, con la ayuda de una reglilla de medición, de 10 hembras y 10 machos por morfotipo para conocer el grado de traslape empleando medidas estándares usadas en la identificación tradicional de especies pertenecientes a este género.

VI.3.1.2 Microscopía electrónica de barrido

Se realizó un análisis detallado de epiginos y pedipalpos de tres hembras y machos para tres morfotipos/especie, denominados A, B y C de *P. sierra*. Mediante la disección y preparación de este material, se obtuvieron imágenes en un microscopio electrónico de barrido (SME). Ambos tipos de genitales fueron procesados mediante la digestión de tejido blando con 100 µl de buffer de extracción de ADN, 20 µl SDS, y dos µl de proteinasa K en tubos de 0.2 ml. a 56 °C. Posteriormente, se detuvo la reacción enzimática mediante deshidratación del tejido adicionando 200 µl de alcohol absoluto y preparado para llevarlo a punto crítico de secado con CO₂. Posteriormente, las muestras fueron cubiertas con vanadio y revisadas en un microscopio Hitachi S-3000N. Las imágenes fueron digitalizadas con el programa Quartz PCI 5.0.

VI.3.1.3 Extracción de ADN

Todas las muestras se conservaron en etanol al 96% inmediatamente después de su recolecta. El ADN genómico total (por lo menos n = 3, en cada especie) fue extraído de las patas ya veces la mitad del prosoma de las arañas según lo descrito por Aljanabi y Martínez (1997). El siguiente paso fue para romper el tejido colocándolo en un tubo Eppendorf de 1.5 ml con 410 µl de tampón de extracción (100 mM NaCl, 10 mM EDTA, 10 mM Tris a pH 8.0) y 90 µl de SDS al 10%, y la maceración se con una mano de mortero plástico. Hemos añadido proteinasa K (Sigma, # P2308, St. Louis, MO) a una concentración final de 10 U / ml, y se incubó la mezcla durante una noche a 56 ° C. A continuación se centrifugaron los tubos a 14000 rpm en una microcentrífuga (modelo 5414, Eppendorf) durante 5 min. El sobrenadante se han recolectado, 180 µl de NaCl 5 M ha sido añadido. Después de mezclar y la centrifugación de nuevo, recuperó el

sobrenadante en un tubo limpio y limpiarse dos veces con un alcohol-cloroformo isoamílico (24:1) solución. Finalmente, se precipitó el ADN en el sobrenadante con etanol absoluto y se lavó con etanol al 80%.

VI.3.1.4 Estandarización de PCR para un fragmento del COI ADNmt

Se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en Inglés) para amplificar el fragmento COI (Fig. 4), para lo cual se diseñaron un par de iniciadores (COIP-L 5'-TAG TAG GGG AAA GTG TTG-3 'y COIP-R 5'-AAT GAA AAT GAG CTA CAA CA-3') de una secuencia de *P. milvina* (Hentz 1844) previamente registrada en el GenBank (Greenstone *et al.* 2005 – No. de acceso GenBank: DQ072280). Este par de iniciadores permitió la amplificación de un fragmento de 710 pares de bases (pb) de longitud. Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador BioRad I. El volumen de reacción fue de 15 µl que contuvo ~50 ng de ADN genómico, 0.40 mM de cada iniciador, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP, 1x PCR buffer y 0.5 U de Taq polimerase (Invitrogen). Se empleó un programa de temperaturas que se ejecutó durante 35 ciclos, donde cada ciclo consistió de 30 segundos de desnaturalización a 94 ° C, 30 segundos de alineamiento a 52 ° C, 30 segundos de extensión a 72 ° C con un paso de desnaturalización inicial de 94 ° C durante 4 minutos y un paso final de polimerización (extensión) a 72°C durante 10 minutos. Los productos de PCR fueron visualizados por electroforesis en geles de agarosa (1.5%). La secuenciación de estos fragmentos de ADNmt se realizó a través del método de secuenciación BigDye Terminador (tinción terminal) en secuenciadores automáticos ABI PRISM 3730XL (PE Applied Biosystems) (Macrogen, Seúl, Corea). Todas las secuencias fueron depositadas en el GenBank (Cuadro I).

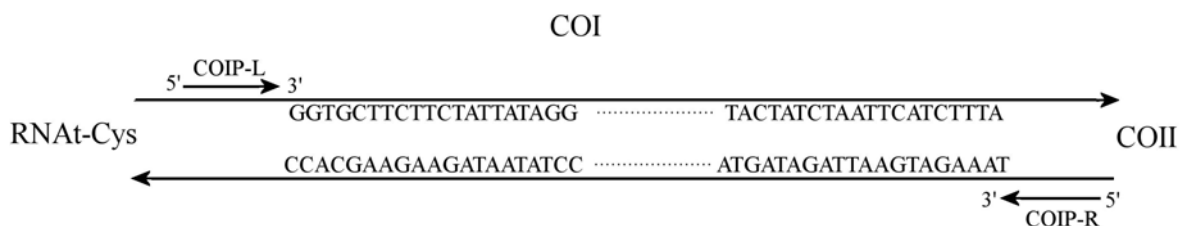


Figura 3 Posición del fragmento del gen mitocondrial (COI ADNmt) que se empleó para la caracterización genética de las arañas del género *Pardosa*. COI, citocromo oxidasa c región I. COII, citocromo oxidasa c región II. RNA_t-Cys, ARN de transferencia correspondiente a la Cisteína.

VI.3.2 Obtención de Microsatélites de *P. sierra*

VI.3.2.1 Amplificación cruzada de loci microsatélite

Uno de los métodos más empleados para la obtención de datos de microsatélites ha sido el empleo de iniciadores aislados en otras especies o amplificación cruzada, es decir, se prueban los iniciadores aislados en una especie y son aplicados a otra especie, de preferencia cercana filogenéticamente. Sin embargo, para el caso de las arañas, la información existente acerca del aislamiento de este tipo de marcadores moleculares es muy escasa (cinco especies de arañas en GenBank). La especie más cercana filogenéticamente que se pudo encontrar en el GenBank fue *Dolomedes plantarius* de la familia Pisauridae, esta es una de las familias hermanas de Lycosidae. De esta especie se seleccionaron los iniciadores siguientes: DpGC1 (GC1F 5'-GAA TTA ACG AGC GTC TAC TG-3' y 5'-GC1B- CTA ACA ACC GAA ATA TAT AC-3'), DpHF5 (HF5F 5'-GAA GCA GCT CTC AAT TCA TTT-3' y HF5B 5'-AGA GGT TGC GTT

GAG GAC TTT-3') y DpNA1 (NA1F 5'-TCC AAT AGT TAC GCT AAA CA-3' y NA1B 5'-CAA CCC TTC AAT TTA GTT AT-3'), estos tres pares de iniciadores fueron probados en el genoma de *Pardosa sierra* (Lycosidae).

VI.3.2.2.2 Obtención de loci microsatélite del genoma de *Pardosa sierra*

Para la obtención de marcadores microsatélite se empleó el protocolo propuesto por Glenn y Schable (2005), con las siguientes modificaciones. Se cambió la técnica de extracción de ADN, sustituyendo ésta por la descrita en el punto III.3.3. Una vez obtenido el ADN de alto peso molecular, se llevó a una concentración aproximada de 200 ng/ μ l, en un volumen total de 20 μ l para obtener 4 μ g de ADN. Posteriormente el ADN fue digerido con la enzima de restricción Rsa-I. En el cuadro III se describe el protocolo de digestión.

Cuadro II Mezcla para la reacción de digestión de ADN con la enzima de restricción Rsa-I. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.

	[Inicial]	[Final]	Rx
Buffer de Enzima	10 X	1 X	2.50 μ l
NaCl	5 M	0.5 M	0.25 μ l
Enzima Rsa-I	10 u/ μ l	10 u/ μ l	1.00 μ l
ADN	200 μ g/ μ l	200 μ g/ μ l	20.00 μ l
Agua m-Q			1.25 μ l
Volumen final			25 μ l

La reacción se incubó a 37°C por una hora y después se procedió a correr una alícuota en un gel de agarosa al 1% para corroborar la digestión de la enzima. Posteriormente se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, donde se corrió la

mezcla digerida junto con un marcador molecular en talla (100 pb) durante 40 minutos a 75 voltios en buffer TAE (Tris-acetato-EDTA). Éste procedimiento permitió seleccionar fragmentos entre los 500 y 1200 pb. Para la purificación de dichos fragmentos se empleó el kit comercial de Quiagen para el ADN en geles de agarosa.

VI.3.2.2.3 Ligación de ADN a adaptadores de doble cadena

Enseguida, se procedió a la ligación de los fragmentos de ADN de doble cadena con los adaptadores superSNX24 y SuperSNX24+4 en volúmenes y molaridades iguales. Esta mezcla se llevó a 95°C y se dejó enfriar a temperatura ambiente para la formación del adaptador de doble cadena por complementariedad (Cuadro III).

Cuadro III Preparación de la mezcla de los adaptadores SuperSNX en doble cadena. [],

Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.

	[Inicial]	[Final]	Rx
Super SNX24 F	141.6 μmol	10 μmol	7.1 μl
Super SNX24+4	160.8 μmol	10 μmol	6.2 μl
NaCl	500 μM	100 μM	20 μl
Agua Mili-Q			66.7 μl
Volumen final			100 μl

Esta etapa proporciona a su vez un sitio de inicio para la PCR, durante la reacción de ligación se adiciona la enzima XmnI, la cual permite cortar el adaptador de doble cadena y evitar posibles artefactos que interfieran con la reacción de ligación (Cuadro IV).

Cuadro IV Condiciones de concentración de reactivos para la reacción de ligación. [],

Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción; dc, doble cadena.

	[Inicial]	[Final]	Rx
Superlinkers dc	10 mM	2 mM	7.00 μ l
Buffer ligasa	10 X	1X	3.50 μ l
XmnI	30 u/ μ l	30 u/Rx	1.50 μ l
ADN Ligasa	1 u/ μ l	3 u/Rx	3.00 μ l
ADN digerido			20.00 μ l
Volumen final			35.00 μ l

La reacción de ligación fue incubada en un termociclador a 16°C por 16 horas, después se realizó una reacción de PCR empleando el adaptador SuperSNX24 como iniciador de la reacción, ver protocolos en Cuadros V y VI.

Cuadro V Condiciones de la PCR de los productos de ligación de fragmentos de ADN

y SuperSNX24. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.

	[Inicial]	[Final]	Rx
Buffer PCR	10 X	1 X	2.50 μ l
BSA	250 μ g/ml	25 μ g/ml	2.50 μ l
Cl ₂ Mg	50 mM	2 mM	1.00 μ l
Superlinker 24 F	10 mM	0.5 mM	1.25 μ l
dNTPs	10 mM	0.2 mM	0.50 μ l
Taq	5 u/ μ l	1.25 u/Rx	0.25 μ l
ADN digerido			3.00 μ l
Agua Milli-Q			14.00 μ l
Volumen final			25.00 μ l

Cuadro VI Condiciones de temperatura y ciclos para PCR de productos ligados.

1 ciclo	95°C	02:00	Min
	95°C	00:20	Min
25 ciclos	60°C	00:20	Min
	72°C	01:30	Min
1 ciclo	72°C	04:00	Min
1 ciclo	15°C	10:00	Min

VI.3.2.2.3 Enriquecimiento de ADN con motivos repetitivos

El enriquecimiento de fragmentos de ADN se realizó mediante el empleo de sondas marcadas (oligonucleótidos unidos a una molécula de biotina en su extremo 3'). Las sondas empleadas fueron (GT)₁₂, (GA)₁₂ y (GACA)₆ la finalidad de emplear estos oligonucleótidos es la de permitir la hibridación de estos con fragmentos de ADN ligados a adaptadores (Cuadro VII y VIII) y poder ser seleccionados aquellos fragmentos complementarios a las sondas con motivos repetitivos.

Cuadro VII Reacción de hibridación de sondas marcadas con biotina y ADN producto de una PCR de ADN ligado a un adaptador. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.

	[Final]	Rx
Solución Hyb	2 X	25µl
Sonda Biotinilada	1 µM	10 µl
Producto PCR de Ligación	10	10 µl
Agua Milli-Q	5	5 µl
Volumen final		50 µl

Con el programa descrito en el Cuadro IX se desnaturalizó el ADN para permitir el alineamiento de las sondas con el ADN ligado por complementariedad.

Cuadro VIII Condiciones de temperatura para la reacción de hibridación de sondas y ADN ligado.

1 ciclo	95°C		05:00 Min
	80°C-50°C	-0.3°C	00:10 Min
1 ciclo	50°C		10:00 Min
	49.50°C-40°C	-0.5°C	00:10 Min
1 ciclo	15°C		10:00 Min

Subsecuentemente se recuperaron los fragmentos ligados e hibridizados con las sondas marcadas. Esto se realizó con la ayuda de microesferas con alta afinidad por la biotina las cuales recuperan el ADN de interés y eliminar el no hibridizado. El ADN fue recuperado por precipitación con alcohol absoluto y acetato de sodio 3M. La recuperación de los fragmentos de ADN enriquecido con secuencias microsatélite se realizó mediante una PCR (los protocolos se detallan en los Cuadros IX y X).

Cuadro IX PCR para la recuperación de fragmentos enriquecidos donde se utiliza el ADN aislado mediante el empleo de sondas y perlas (enriquecimiento). [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.

	[Inicial]	[Final]	Rx
Buffer PCR	10 X	1 X	2.5 µl
BSA	250 µg/ml	25 µg/ml	2.5 µl
Cl ₂ Mg	50 mM	2 mM	1.00 µl
Superlinker 24	10 µmol	0.52 µmol	1.30 µl
dNTPs	10 mM	0.6 mM	1.50 µl
Taq	5 u/µl	1 u/Rx	0.20 µl
ADN recuperado			2.00 µl
Agua Milli-Q			14.00 µl
Volumen final			25.00 µl

Cuadro X Condiciones de temperatura y ciclos para la PCR de recuperación de insertos puros.

1 ciclo	95°C	02:00 Min
	95°C	00:20 Min
35 ciclos	60°C	00:20 Min
	72°C	01:30 Min
1 ciclo	72°C	15:00 Min
1 ciclo	15°C	10:00 Min

A continuación se realizó la clonación de los fragmentos enriquecidos mediante el kit de clonación Topo TA PCR 2.1 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante.

VI.3.2.2.4 Clonación de ADN enriquecido en un vector plasmídico

Para la clonación, se emplearon bacterias transformadas, las cuales se hicieron crecer a 37°C por una noche. Las bacterias se sembraron en cultivos en cajas de Petri. La detección de clonas positivas (aquellas que contiene un fragmento de ADN con una región microsatélite de *P. sierra*) se realizó mediante el empleo de los reporteros IPTG y X-gal. Las colonias sin insertos de ADN de *P. sierra* mostraron un color azul claro a intenso, mientras que las colonia de color blanco contienen un fragmento de ADN ligado al plásmido. Las clonas positivas fueron resembrados en placas de cultivo nuevas para dejarlas crecer durante toda la noche a 37°C.

Cuando las colonias alcanzaron un diámetro mayor a la punta de un palillo de madera, fueron colocadas en micro-tubos para su posterior almacenamiento (un tubo por colonia para formar la genoteca o librería).

Para evaluar la inserción de un fragmento de ADN de *P. sierra*, simultáneamente se tomó una muestra de cada una de ellas para realizar una PCR empleando los iniciadores universales, M13F y M13R del plásmido (Cuadro XI y XII). El producto de PCR se corrió en un gel de agarosa al 1% empleando un marcador molecular en talla.

Cuadro XI Amplificación de insertos contenidos en clonas positivas. [], Concentración de reactivos; Rx, volumen final para una reacción.

	[Inicial]	[Final]	Vol. X 1Rx
Buffer PCR	10 X	1 X	2.50 μ l
BSA	250 μ g/ml	25 μ g/ml	2.50 μ l
Cl2Mg	50 mM	2 mM	1.00 μ l
M13F	10 μ mol	0.4 μ mol	1.00 μ l
M13R	10 μ mol	0.4 μ mol	1.00 μ l
dNTPs	10 mM	0.6 mM	1.50 μ l
Taq	5 u/ μ l	0.5 u/ μ l	0.10 μ l
ADN de clonas +			1.50 μ l
Agua Milli-Q			13.90 μ l
			25.00 μ l

Cuadro XII Condiciones de temperatura y ciclos para la amplificación de clonas positivas.

1 ciclo	95°C	02:00 min
	95°C	00:20 min
35 ciclos	50°C	00:20 min
	72°C	01:30 min
1 ciclo	72°C	5:00 min
1 ciclo	15°C	10:00 min

VI.3.2.2.5 Secuenciación de clonas positivas

Después de la PCR sobre los plásmidos recombinantes, se seleccionaron clonas que presentaron un tamaño de entre 500 y 1200 pares de bases. Estas clonas se enviaron a secuenciación utilizando los iniciadores (M13F), para ello se empleo los servicios de secuenciación de la compañía Macrogen en Seul, Corea, quienes emplean el método de

secuenciación BigDye Terminador en secuenciadores automáticos ABI PRISM 3730XL (PE Applied Biosystems).

VI.3.2.2.6 Diseño y prueba de iniciadores

Para el diseño de iniciadores se exploraron las secuencias obtenidas de las clonas positivas mediante el empleo de programas como Chromas pro (Versión 1.34) y Sequencher (Versión 4.14). Después de un proceso de depuración de las secuencias, se diseñaron iniciadores específicos mediante el empleo del programa Primer 3 (Rosen y Skaletsky 2000). Los oligonucleótidos fueron sintetizados por Sigma-Biogenosys. Los iniciadores obtenidos se probaron en las clonas positivas de donde fueron obtenidos y en ADN total de cinco individuos de *P. sierra*. Para la estandarización de la PCR de loci microsatélites se calculó su temperatura teórica de alineamiento, seleccionándose una temperatura de 2°C por arriba de esta temperatura teórica. Además, se varió la concentración de cloruro de magnesio de 1 a 3 mM. La concentración de ADN para la reacción fue de 50 a 75 µg/µl.

VI.3.2.2.6 Condiciones de amplificación por PCR de loci microsatélite

Las reacciones de PCR se realizaron en volúmenes de 15 µl conteniendo buffer de PCR 1x (20 mM Tris-HCl pH 8,4, 50 mM KCl), 0.2 mM de cada dNTP, 0.4 µmol de cada iniciador, 2.5 mM Cl₂Mg y 0.15 unidades de taq DNA polimerasa (Invitrogen). Las condiciones de ciclos térmicos fueron 95°C durante 5 minutos; seguido de 35 ciclos con temperatura de desnaturalización a 95°C durante 30 segundos; temperatura de alineamiento por 30 segundos; y temperatura de extensión a 72°C durante 30 segundos; finalmente un ciclo a una temperatura de extensión a 72°C durante 5 minutos. Los

productos de PCR fueron evaluados por electroforesis en geles de poliacrilamida 6% con 7.5 M de urea. Los geles fueron teñidos con plata de acuerdo Benbouza *et al.* (2006). Los alelo fueron determinado por el tamaño dependiendo de su posición relativa en el gel (electromorfos) y en comparación con el tamaño de una marcador en talla de 10 y 100 bp.

Para valorar el polimorfismo de los loci microsatélites obtenidos se uso una muestra de 26 individuos colectados en el oasis de Cadejé (N 26.38°, O 112.49°; Fig. 2).

VI.3.2.2.7 PCR de loci microsatélite y electroforesis para estudio poblacional

La extracción de ADN para esta parte del trabajo se realizó como se mencionó en el punto III.3.3. Para el estudio poblacional, se emplearon cinco loci microsatélite *Psier04*, *Psier17*, *Psier19*, *Psier20* y *Psier21*. Las reacciones de PCR se realizaron en volúmenes de 15 μ l. Las condiciones de temperatura y concentraciones de reactivos para la amplificación de loci microsatélite se siguió el método descrito en Correa-Ramírez *et al.* (aceptado, Apéndice 3). Los productos de PCR fueron evaluados por electroforesis en geles de poliacrilamida de acuerdo Benbouza *et al.* (2006) como se menciona en el punto anterior.

VI.4 ANÁLISIS DE DATOS

VI.4.1 Revisión sistemática de *P. sierra*

VI.4.1.1 Morfología

A las medidas tanto somáticas como de genitales se les aplicará un análisis de varianza para determinar si los distintos morfos de *P. sierra* presentan solape en una o varias mediciones, para esto se empleó el programa estadístico STATISTICA Ver. 6.0.

Las abreviaturas de estructuras y medidas morfológicas empleadas en el texto, en las figuras y los cuadros son las siguientes: Cuerpo: ancho del esternón (AE), longitud del esternón (LE), ancho del área ocular media (AAOM), distancia entre los ojos posterolaterales (DOP), Longitud del Cuadrilátero ocular posterior (LCP). Machos: estructuras del pedipalpo: émbolo (E), apófisis media (MA), apófisis terminal (TA). Tibia (TP), fémur (chimenea), la longitud total de cimbio (BT), la longitud de bulbo (Bx), la parte distal de la Cimbio (AB). Hembras: Conductos de fertilización (FD), longitud del campo medio (MF), pieza transversal (TP), espermatecas (SP), longitud de epiginio (EPL), ancho del epiginio (EPW). Instituciones: The American Museum of Natural History (AMNH), Museum of Comparative Zoology (MCZ), Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CARCIB), California Academy of Science (CAS).

VI.4.1.2 Análisis de secuencias

El alineamiento del fragmento del citocromo *c* oxidasa región 1 (COI) obtenido de varias especies se realizó con ayuda de los programas Chromas Pro y ClustalX interfase para Windows v. 1.8 (Thompson *et al.* 1997), empleando los parámetros estándares de

cada programa: penalización por huecos (gap opening cost) = 15; penalización por amplitud del hueco (gap extension cost) = 6.66; retraso de secuencias divergentes (delay divergent sequences) = 30%; y transición de ADN (DNA transition) = 0.50). Las secuencias fueron truncadas en 630 pb para evitar ambigüedades en el alineamiento. Las secuencias fueron revisadas visualmente usando el programa BioEdit (Hall 2007); el alineamiento final fue exportado en un formato Nexus empleando ClustalX interfase para Windows v. 1.8 (Thompson *et al.* 1997).

La edición consistió en revisar las secuencias obtenidas para determinar la extensión en pares de bases útiles. Esto permitió limpiar las regiones de las secuencias con baja señal como por ejemplo las del inicio (50 PB) y el final (150 PB). Posteriormente, el fragmento resultante se tradujo a proteínas para corroborar la identidad de éste (Wernersson y Pedersen 2003).

VI.4.1.3 Taxonomía molecular

Se estimó la separación de los diferentes taxa mediante el cálculo del intervalo entre la mínima diferenciación entre especies y la máxima diferenciación entre conspecíficos (Astrin *et al.* 2006). Un valor numérico igual a cero o negativo evidencia un solape entre las categorías antes mencionadas (intraespecífico vs interespecífico).

Posteriormente, se empleó el programa PAUP* ver. 4.0b10 (Swofford 2000) para calcular las matrices de distancias genéticas no ponderadas (*p*-distance) así como en la elaboración de un dendograma de similitudes empleando el algoritmo del vecino más cercano (Neighbor-Joining, NJ) (Saitou y Nei 1987). Este método fue seleccionado por su rapidez y procesamiento fenético para emplearse como un dendograma de identificación de especies, el cual es distinto a un árbol para el análisis filogenético de

las especies (Paquin y Hedin 2004; Barrett y Hebert 2005; López-Legentil y Turon 2005; Markmann y Tautz 2005; Vences *et al.* 2005; Ward *et al.* 2005; Hajibabaei *et al.* 2006; Astrin *et al.* 2006; Smith *et al.* 2006). Finalmente, se empleó la prueba Shapiro-Wilk implementada en el programa STATISTICA v6 para analizar el tipo de distribución estadística de las distancias genéticas no ponderadas.

VI.4.2 Obtención de microsatélites de *P. sierra*

VI.4.2.1 Variación de microsatélites y desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg

La frecuencia de alelos nulos se estimó mediante el empleo de los programas MicroChecker (Van Oosterhout *et al.* 2004) y FreeNa (Chapuis y Estoup 2007). La existencia de alelos nulos en los microsatélites empleados representa un inconveniente en los análisis de genética de poblaciones (Pemberton *et al.* 1995). Los alelos nulos, generalmente son causados por una mutación en el sitio de unión de uno de los iniciadores, que conduce a que no amplifique un alelo que, generalmente es el de mayor tamaño (Callen *et al.* 1993; Paetkau y Strobeck 1995).

Para describir la variación genética al interior la población de Cadejé de los loci microsatélite tanto en su forma monolocus como multilocus se estimaron parámetros tales como el número alelos (N); número promedio de alelos por locus (N_a), así como el número de alelos efectivos (N_e); riqueza alélica (R); heterocigosidad observada (H_o), calculada a partir de los genotipos, que representa la proporción de individuos heterocigotos y la heterocigosidad estimada no sesgada (H_e), que representa la proporción de individuos heterocigotos esperados en la población a partir del equilibrio de Hardy-Weinberg. Así como el índice de fijación (F). Estas estimaciones se realizaron

con ayuda del paquete estadístico Genetix Ver. 4.01 (Belkhir *et al.* 1998). El cálculo de la diversidad genética se realizó mediante la fórmula de Nei (1987):

$$H_{sk} = \frac{n_k}{n_k - 1} \left(1 - \sum (p_{ik}^2 - \frac{H_{ok}}{2n_k}) \right)$$

Donde n_k es el tamaño de la muestra k , p_{ik} la frecuencia del alelo A_i en la muestra k y H_{ok} la proporción de heterocigocidad observada en la muestra k . Además se calculó la riqueza alélica, esta última es una medida que indica el número de alelos, independientemente del tamaño de la población, esto permite hacer comparaciones entre poblaciones con diferente tamaño de muestra empleando la fórmula:

$$R_s = \sum_{i=1}^{n_u} \left| 1 - \frac{\left(\frac{2N - N_i}{2n} \right)}{\left(\frac{2N}{2n} \right)} \right|$$

Donde N_i es el número de alelos de talla i entre los $2N$ genes, el denominador de la sumatoria indica la probabilidad de muestrear el alelo i al menos en una ocasión en la muestra de tamaño $2n$, para la estimación de los valores de diversidad y riqueza alélica se empleó el programa FSTAT (Goudet 1995 y 2001).

Para cada locus se determinó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg, el cual es una hipótesis nula que predice la existencia de panmixia, lo que significa que las poblaciones son genéticamente homogéneas debido a que los individuos que constituyen a la población se reproducen sexualmente y al azar y mantienen las frecuencias alélicas y genotípicas constantes generación tras generación. El índice de consanguinidad F_{IS} puede emplearse como una prueba de desviación a la panmixia y por lo tanto al EHW ($F_{IS} = 0$), donde se asume una ausencia de cambio con un balance entre la deriva genética y la mutación, por lo que la hipótesis alternativa indicaría la ausencia de panmixia ($F_{IS} \neq 0$), donde al interior de las poblaciones no existe

reproducción aleatoria y por lo tanto éstas no se encuentran en equilibrio. Este tipo de estimador varía entre -1 y +1, cuando F_{IS} presenta un valor negativo se entiende que existe un exceso de heterocigotos en la población, mientras que si el valor es mayor a cero, se interpreta como la existencia de un déficit de heterocigotos en la población. El estimador F_{IS} se calculó según Weir y Cockerham (1984), la significación estadística de dicha prueba se evaluó mediante un sistema de 10,000 permutaciones empleando para este fin el programa Genepop ver. 4.0 (Raymond y Rousset 2001). Adicionalmente, se realizaron correcciones de significación estadística por pruebas múltiples mediante la prueba secuencial de Bonferroni (Rice 1989).

El análisis de desequilibrio de ligamiento puede ser aplicado para garantizar la distribución independiente de los alelos en una sola población o en diferentes poblaciones, ya que cada una de ellas, contendría una historia independiente en función del aporte de la deriva al azar, mutación y migración que se han producido. Si esta información no es independiente (es decir, los loci están ligados genéticamente), entonces los resultados pueden estar sesgados hacia los acontecimientos del grupo ligado. Se determinó el desequilibrio de ligamiento por pares de loci utilizando el programa Genepop ver. 4.0 (Raymond y Rousset 2001), el cual se basa en el método de cadenas de Markov, donde se aplica una prueba exacta de Fisher empleando 10,000 permutaciones con un criterio de significación de 0.05 comparando pares de loci, la hipótesis nula de dicha prueba, establece que los genotipos de un determinado locus son independientes de otro locus.

Respecto a la probabilidad de exclusión (PE), esta se basa en la probabilidad de que un supuesto padre puede ser excluido como progenitor potencial, asumiendo que éste supuesto padre fue seleccionado al azar. Para esto, se obtienen valores de PE de

cada uno de los loci microsátélites para generar un valor total de los marcadores en su forma multilocus, el cálculo de estos se obtuvo mediante el programa Cervus 3.0 (Slate *et al.* 2000; Kalinowski *et al.* 2007).

VI.4.3 Genética de poblaciones de *P. sierra*

VI.4.3.1 Variación entre poblaciones

VI.4.3.1.1 Análisis Factorial de Correspondencia

Para identificar la estructura genética, se emplearon diversos métodos. En primer lugar se realizó un análisis factorial de correspondencia como método exploratorio de datos para visualizar si existen diferencias entre los genotipos de las localidades, para lo cual se empleó el programa GENETIX 5.05.2 (Belkhir *et al.* 2000).

VI.4.3.1.2 Estadísticos F de Wright

Se verificó la estructura genética mediante los estimadores de fijación de Wright (1951), estos se pueden obtenerse mediante la relación $F = 1 - (H_o / H_a)$, donde H_o representa la heterocigocidad observada, mientras que H_a es la heterocigocidad calculada al equilibrio.

Este índice fue desarrollado para describir las propiedades de las poblaciones naturales subdivididas, donde se proponen tres parámetros, según una sucesión jerárquica en términos de: Individuos (F_{IS}), subdivisiones poblacionales (F_{IT}) y población total (F_{ST}): en este caso, se calculó F_{ST} según Weir y Cockerham (1984) para estimar las divergencias genéticas entre las poblaciones. Los valores de F_{ST} van de cero a uno, donde el cero indica que no existe diferenciación entre las poblaciones, mientras que el valor de uno indica una diferenciación máxima entre grupos. La significancia estadística

de este indicador también fue probada mediante métodos de permutación de alelos en los loci, utilizando para este fin el programa Genetix 4.01 (Belkhir *et al.* 1998), asimismo se realizaron correcciones de Bonferroni para pruebas múltiples (Rice 1989).

VI.4.3.1.3 Análisis de varianza molecular AMOVA

En genética de poblaciones al definir a las poblaciones como poseedoras de una estructura genética particular que se desea probar (Cockerham 1969 y 1973), es posible separar la varianza total en sus componentes debido a diferencias intra e inter-poblacionales (Excoffier *et al.* 1992). En este caso se empleó el estimador F_{ST} que se basa en las frecuencias de los alelos y no el estimador R_{ST} que se basa en la suma de cuadrados de la diferencia del número de repeticiones, empleando para esto el paquete computacional Arlequín ver. 3.1 (Excoffier *et al.* 2005). Se realizaron tres diferentes análisis de varianza molecular (Analysis of Molecular Variations, AMOVA) en donde las localidades de recolecta se agruparon bajo distintos criterios con el fin de maximizar la varianza entre grupos y así poder develar alguna estructura genética del juego de datos, los cuales se describen a continuación:

- A) Las localidades de recolecta se tomaron como unidades poblacionales individuales (SLL, NOV, PSP, SIS, CAD, ROS y ENS).
- B) Las localidades se agruparon en Norte (ENS-ROS) vs Centro (CAD-SIS-PSP) vs Sur (NOV-SLL).
- C) Las localidades se agruparon considerando su grado de diferenciación genética obtenida mediante los estimadores de F_{ST} por pares de poblaciones, agrupando aquellas poblaciones que no son significativamente diferentes. El arreglo de estas fue de la siguiente

En cada uno de estos análisis se empleó un total de 10,000 permutaciones para su cálculo.

III.4.3.1.4 Determinación de número de poblaciones

Asimismo, para determinar el número de poblaciones se utilizó el programa STRUCTURE ver. 2.2 (Pritchard *et al.* 2000; Pritchard 2007). Este programa implementa un modelo de probabilidades bayesianas, donde se asume que cada grupo es modelado por un juego característico de frecuencias alélicas, donde X denota el genotipo de los individuos muestreados, Z son el número de poblaciones o grupos de origen de los individuos y P hace referencia a las frecuencias alélicas en todas las poblaciones o grupos formados y donde cada una de las variables representa un vector dimensional (X , Z y P). El principal supuesto de este modelo es que las poblaciones se encuentran en EHW, por lo que cada alelo en cada locus y en cada genotipo es un evento independiente de la distribución de las frecuencias apropiadas, obedeciendo a una distribución de probabilidades $\Pr(X | Z, P)$, según la ecuación:

$$\Pr(X_l^{i,a} = j | Z, P) = P_z^{(i)/j}$$

Donde $X_l^{(i,a)}$ representa el genotipo del i^o individuo en el l^o locus y donde el valor de i va de 1 a N , mientras que l va de 1 a L y $P_z^{(i)/j}$ es la frecuencia del alelo j en el locus l en la población del individuo i . Debido a que es imposible calcular con exactitud esta distribución se utiliza el método de Montecarlo vía las cadenas de Markov para obtener una aproximación mediante remuestreo dada por (Z^1, P^1) , (Z^2, P^2) , ..., (Z^M, P^M) , a partir de $\Pr(Z, P | X)$ que permita inferir posteriormente Z y P .

Las aplicaciones de este modelo dentro de la genética de poblaciones incluyen demostrar la existencia de estructura entre poblaciones, identificar poblaciones, asignar individuos a poblaciones así como la identificación de migrantes y la mezcla de individuos, todo lo anterior sin asumir un proceso de mutación en particular.

El modelo empleado de este programa fue la mezcla de poblaciones con 10,000 replicas durante el periodo de pre-simulación, posteriormente, los valores de probabilidad fueron calculados después de 100,000 replicas consecutivas, donde el valor de K tomó valores de 1 a 7, sin tomar en cuenta el grupo de origen de los individuos. Posteriormente se realizó nuevamente la simulación antes descrita, con la diferencia de tomar en cuenta, en esta ocasión la localidad de recolecta o grupo de origen de los individuos. Para asegurar la constancia del modelo, todas las simulaciones se repitieron en 15 ocasiones.

Adicionalmente, se calculó el estadístico ΔK (Evanno *et al.* 2005), que es la tasa de cambio en el logaritmo de la probabilidad de los datos entre los valores sucesivos de K , debido a que este método es adecuado para poder detectar el número de grupos reales para datos simulados bajo modelos de intercambio genético. Como no es posible evaluar ΔK para $K = 1$, se exploró la probabilidad de $K = 2$ a $K = 7$. Este método es esencialmente visualizado en gráficas (Evanno *et al.* 2005).

Los datos obtenidos del programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.* 2000) y corroborados por el estadístico ΔK (Evanno *et al.* 2005) en cuanto al número de grupos formados, fueron graficados empleando el programa DISTRUCT ver. 1.1 (Rosenberg 2004), el cual muestra a cada individuo como una línea formando parte de un segmento, este segmento se encuentra dividido entre K colores que representan la probabilidad o coeficiente de que cada individuo pertenezca al grupo al que se asignó.

VI.4.3.1.5 Reconstrucción filogenética

Para esta parte del trabajo, se seleccionó el estimador de distancia genética propuesto por Cavalli-Sforza y Edward (1967) o de la cuerda en un espacio cartesiano D_{CE} , el cual se basa en una medida de distancia geométrica que calcula las distancias de la cuerda según la ecuación:

$$D_{CE} = (2 / \pi r) \sum_f^r \sqrt{2(1 - \sum_i^{m_j} \sqrt{x_{ij} y_{ij}})}$$

Si se representan dos poblaciones en la superficie de un hiperespacio multidimensional usando las frecuencias alélicas del j^o locus, entonces la D_{CE} de tal locus estará representado por la distancia de la cuerda entre las dos poblaciones, por lo que el ángulo (θ_j) de las dos poblaciones está dado según la ecuación:

$$\theta_j = \sum_i^m j \sqrt{x_{ij} y_{ij}}$$

Esta distancia no hace referencia a ningún supuesto relacionado a un tamaño de muestra constante o tasa de mutación entre loci. Por lo que la magnitud de esta distancia no es proporcional al tiempo evolutivo, sin embargo, es ampliamente usada para estimar con mayor precisión la topología del árbol entre las poblaciones, sin asumir algún modelo mutacional (Takezaki y Nei 1996). Para el cálculo de esta distancia se utilizó el programa MICROSAT (Minch 1998), donde, el cálculo se basó en 10,000 replicas.

Posteriormente, se procedió a la construcción de cladogramas basados en las matrices de las distancias calculadas, bajo el algoritmo del vecino más cercano (neighbour joining, N-J; Saitou y Nei 1987), incluido en el programa PHYLIP ver. 3.66 (Felstein 2005). Para estimar la confianza de la topología de los árboles obtenidos, basados en la distancia D_{CE} se realizó un bootstrap de 10,000 permutaciones,

compilando este en el paquete CONSENSE incluido en el programa PHYLIP ver. 3.66 (Felstein 2005).

VI.4.3.1.6 Aislamiento por distancia

Finalmente se analizaron los datos en busca de evidencias de aislamiento por distancia en el área muestreada, este análisis se basa en la suposición de que los individuos de una población tendrán mayor probabilidad de reproducirse con organismos de poblaciones cercanas en vez de poblaciones distantes. Como resultado de esta tendencia, las poblaciones que se encuentran cerca unas de otras serán genéticamente más similares que las poblaciones que se encuentra más separadas (Boulton *et al.* 1998). Para esto, se realizó un análisis de regresión lineal de los valores de la distancia genética D_{CE} (Cavalli-Sforza y Edwards 1967) entre cada par de poblaciones y el logaritmo natural de la distancia geográfica lineal en kilómetros (D_{km}) que existe entre ellas. Para estimar la significancia estadística de esta regresión, se empleó una prueba de Mantel (1967), realizando 10,000 permutaciones para el análisis (Nei 1973 y 1978), empleando para este fin el programa XLSTAT 2010.2.03.

Este análisis se basa en el cálculo de la distribución de r (DGE-DGG) o función de asociación entre variables, donde DGE representa la distancia geográfica o el logaritmo natural de esta y DGG, representa la distancia genética, estimada a partir de permutaciones que en este caso fue de 20,000 con una significancia estadística $\alpha = 0.01$, si el valor de probabilidad es mayor que el de la significancia estadística, se acepta la hipótesis nula de no asociación entre matrices de distancias DGG y DGE.

VI.4.3.1.7 Flujo genético

El valor del flujo genético (N_m) entre las distintas poblaciones se estimó según la fórmula descrita por Wright (1969): $N_m = (1 - F_{st}) / (4 * F_{ST})$, este estimador emplea la varianza estandarizada de todas las frecuencias alélicas y no el número de alelos privados en cada población analizada y en el cual se relaciona el número de migrantes por generación con los valores de F_{ST} , este análisis se realizó mediante el programa Genetix ver. 4.01 (Belkhir *et al.* 1998).

Dado que los valores de flujo genético obtenidos mediante F_{ST} son robustos y no permiten determinar el sentido de la migración, también se empleó el programa MIGRATE 3.0 (Beerli y Felsenstein 1999; Beerli 2004) para los cálculos de N_e y N_m , el cual usa métodos de máxima verosimilitud y coalescencia para calcular el parámetro poblacional Theta (Θ), que representa el tamaño poblacional estimado dentro del modelo, siendo éste igual a $4N_e\mu$, donde N_e es el tamaño efectivo poblacional y μ la tasa de mutación y el parámetro de migración M que es igual a m/μ , donde m es la tasa de inmigración por generación y μ es la tasa de mutación, que en este caso fue de 6.3×10^{-6} que ha sido empleada en otros estudios de artrópodos (Schug *et al.* 1998a y b; Endersby *et al.* 2009). Ambos parámetros (Θ y M), son calculados mediante el índice de importancia del muestreo Metrópolis-Hasting (Beerli y Felsenstein 1999). Estos análisis se realizaron mediante el empleo del modelo alélico utilizando diez cadenas cortas y dos largas con 5,000 y 50,000 genealogías guardadas respectivamente, para esto, se calcularon los valores F_{ST} como parámetros de inicio con una tasa de mutación constante y una tasa de migración asimétrica, finalmente, éste procedimiento se repitió en al menos cinco ocasiones para verificar la precisión de los datos calculados ya que MIGRATE usa un número aleatorio como semilla para iniciar los cálculos por lo que

las réplicas estimadas de Θ varían entre sí y por ende es necesario replicar estos análisis (Bailey *et al.* 2007).

VI.4.3.1.8 Tamaño efectivo de población

El tamaño efectivo (N_e) poblacional fue calculado para cada localidad a partir de los valores de H_e siguiendo la fórmula citada en García de León *et al.* (1997), la cual se basa en el modelo de alelos infinitos, $N_e = (H/1-H)/4\mu$, donde H es la heterocigosidad esperada y μ representa la tasa de mutación del marcador empleado. Para este caso se empleó la tasa de mutación de 6.3×10^{-6} , debido a que en artrópodos tal como *Drosophila melanogaster*, la tasa de mutación de los microsatélites es menor que la reportada para otros grupos (Schug *et al.* 1998a y b), principalmente de vertebrados (1×10^{-4} , Dallas 1992; Weber y Wong 1993; Ellegren 1995; García de León *et al.* 1995; Gonzalez y Zardoya 2007; Gonzalez *et al.* 2008).

Asimismo, se calculó el tamaño efectivo poblacional mediante el programa MIGRATE 3.0 (Beerli y Felsenstein 1999; Beerli 2004) y una tasa de mutación de 6.3×10^{-6} . Esto con el objetivo de obtener una estimación corregida por máxima verosimilitud de la talla efectiva de población (N_e) de cada localidad de recolecta de *P. Sierra*.

VI.4.4 Relaciones filogenéticas de las especies de los grupos *lapidicina* y *milvina* del género *Pardos*.

VI.4.4.1 Secuencias del GenBank

Con el objeto de hacer comparaciones con las secuencias obtenidas de las diversas especies recolectadas en el presente estudio, se realizó una consulta en esta base de datos del GenBank (NCBI) para recuperar las secuencias de varias especies de arañas lobo, pertenecientes a otros grupos de especies del género *Pardosa*. Las secuencias recuperadas se indican en el Cuadro XXVIII.

VI.4.4.2 Selección del grupo externo

Con la finalidad de polarizar los caracteres dentro de las secuencias del género *Pardosa*, se seleccionó una secuencia perteneciente al género *Schizocosa ocreata* (Hentz 1844) dada su extensión (> 630 PB, Hebets y Vink 2007; No. de acceso GenBank: EF584467) y su cercanía filogenética con las especies del género *Pardosa* definida por caracteres morfológicos (Dondale 1986).

VI.4.4.3 Métodos de reconstrucción filogenética

Una de las ventajas de usar el COI para los análisis filogenéticos es que existe una amplia información de secuencias de otras especies en el GenBank para fines comparativos. Para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas se emplearon métodos de distancia como el algoritmo N-J (Gascuel y Steel 2006) usando el modelo de Kimura 2 parámetros, la confiabilidad del árbol se estimó mediante el método de “Boostraping” con 10,000 repeticiones (Berry y Gascuel 2000) mediante el software

Mega 4 (Kumar *et al.* 2004), utilizándose la secuencia de *S. ocreata* como grupo externo para polarizar los caracteres al interior del género *Pardosa*. Otro método de reconstrucción fue el de máxima parsimonia, bajo este modelo, la hipótesis central es la homología filogenética, que en secuencias de ácidos nucleicos, se refiere a la correspondencia entre genes o secuencias, en este caso entre fragmentos de secuencias del gen COI del ADNmt. En este tipo de modelo se valoran los cambios entre estados en unidades de “pasos” que representan eventos evolutivos y que dependen del concepto de homología antes mencionado (Mabee 1989; De Luna *et al.* 2005). Se asume que los caracteres compartidos en diferentes entidades reflejan un origen común. Los grupos que se forman sobre la base de tales caracteres comunes, y la explicación más simple para la evolución de los caracteres se toma como la correcta, o la más parsimoniosa. Con caracteres múltiples, diferentes grupos pueden ser igualmente plausibles, o igualmente parsimoniosos, y por lo tanto se generan varios árboles igualmente parsimoniosos. En tales casos, se debe deducir un único árbol consenso estricto, que incluya las topologías que no se contradicen en ninguno de los árboles iniciales. Si el árbol “consenso estricto” no se ha resuelto significa que no hay congruencia entre los árboles iniciales, y por lo tanto es probable que los datos utilizados para construir el árbol, sean filogenéticamente no informativos. La regla de mayoría indica que el árbol consenso muestra los nodos que son coherentes en al menos la mitad o en todos los árboles y el porcentaje de árboles en los cuales existe una topología dada se muestra en las ramas. Por lo que la robustez del modelo se cuantifica en términos del número de pasos o eventos de cambio adicionado que implica un árbol particular. En este análisis se realizó una búsqueda heurística con 1,000 repeticiones, adicionando una secuencia a la vez de forma aleatoria para generar un juego de árboles igualmente parsimoniosos,

que después son analizados mediante la regla de la mayoría para determinar la topología que mejor explique el arreglo de los datos. Entonces son evaluados tanto el árbol consenso estricto y el derivado de la regla de mayoría con menor número de pasos para determinar cual es el que mejor explicó los cambios en los datos. Para determinar cual de los dos árboles (consenso estricto o el derivado de la regla de mayoría) explicó mejor los cambios en los datos se usó una prueba de rango Wilcoxon (Wilcoxon signed-rank test; Templeton 1983; Goldman *et al.* 2000) implementada en el programa PAUP 4.10b* para Windows (Swofford *et al.* 2001). De igual forma, se empleó como grupo externo, la secuencia de *S. ocreata* para polarizar los caracteres al interior del género *Pardosa*.

También se reconstruyeron árboles mediante los métodos de máxima verosimilitud (Steel y Penny 2000; Posada y Crandall 2001) y de probabilidad posterior bayesiana (Rannala y Yang 1996). Para el empleo de estos modelos es un prerrequisito el conocer o estimar el modelo evolutivo que mejor ajusta a los datos. La robustez de estos procedimientos se mide en términos del ajuste entre los datos observados y las predicciones calculadas por un árbol y modelo evolutivo en particular (Swofford *et al.* 2001). Para el modelo de máxima verosimilitud se empleó una serie de pruebas de probabilidades logarítmicas jerárquicas, implementadas en el programa ModelTest 3.06 (Posada y Crandall 2001; Posada 2003) esto ayudó con la selección del mejor modelo de evolución nucleotídica. Posteriormente se implementó una búsqueda heurística bajo el modelo GTR + I + G, con adición paso a paso de las secuencias de manera aleatoria con 100 replicas y mediante el algoritmo de corte y reconexión de ramas en el programa PAUP* 4.10b (Swofford 2000). El soporte de los nodos se obtuvo mediante los mismos procedimientos de búsqueda pero con un bootstrap de 1,000 réplicas (Swofford *et al.*

2001). El análisis de probabilidades posteriores se realizó mediante el uso del programa MrBayes 3.0b4 (Huelsenbeck y Ronquist 2001). Los datos se ajustaron al modelo GTR (Nst = 6). Los cálculos de probabilidad posterior bayesiana se ejecutaron en un intervalo de 5×10^6 generaciones muestreando cada 1,000 generaciones. Asimismo, se empleó como grupo externo, la secuencia de *S. ocreata* para polarizar los caracteres al interior del género *Pardosa*. Los análisis se repitieron en cinco ocasiones para corroborar la convergencia y topología encontrada, así como los parámetros estimados. El soporte de los nodos se determinó por probabilidades posteriores (Huelsenbeck y Ronquist 2001; Huelsenbeck *et al.* 2002).

VI.4.4.4 Prueba de saturación

Para determinar la confiabilidad de las inferencias filogenéticas, se realizaron pruebas de saturación, que se refiere a los múltiples cambios que puedan suscitarse en sitios homólogos que sean acumulados a través del tiempo evolutivo y que puedan sesgar estas inferencias acerca de las divergencias a distintas escalas en la filogenia (Hulsey *et al.* 2004). Para esto se graficó la distancia pareada máxima corregida mediante verosimilitud contra el número de transiciones en la tercera posición de los codones que componen al fragmento del COI aquí analizado. Si no existe saturación, se espera encontrar una relación lineal entre estas variables. Las distancias pareadas se calcularon con base en el modelo que mejor ajustó a los datos y los parámetros calculados a partir de Modeltest (Posada y Crandall 1998). Estos cálculos se realizaron en el programa PAUP 4.10b* (Swofford *et al.* 2001) y donde las matrices resultantes se exportaron en formato de columna para su análisis en Statistica 6.0.

VI.4.4.5 Homogeneidad de las tasas evolutivas

Para calibrar un reloj molecular en las especies del género *Pardosa*, primero se determinó mediante la prueba de Tajima (1993) la tasa evolutiva del fragmento del COI. Este método se basa en el empleo de tres secuencias nucleotídicas alineadas y entre las cuales no existen huecos (gaps) y donde n_{ijk} representan el número de sitios con diferencias en las secuencias 1, 2 y 3 en sus bases denotados por los subíndices i, j y k respectivamente, que a su vez toman los valores 1, 2, 3 y 4 para representar los nucleótidos A, G, C y T, respectivamente y donde la secuencia 3 es el grupo externo. Entonces la esperanza para n_{ijk} , debe ser igual a n_{jik} , en la siguiente igualdad:

$$E(n_{ijk}) = E(n_{jik}) \quad (1)$$

Esta ecuación no toma en cuenta ya sea el modelo de sustitución o la tasa de sustitución variable entre los diferentes sitios. Ya que si la igualdad no es alcanzada, es posible suponer que la tasa de mutación no es constante.

Para simplificar esta prueba, se tomaron en consideración exclusivamente los sitios donde existen dos nucleótidos diferentes en las tres secuencias y se define el número de sitios observados donde los nucleótidos en la secuencia 1 son diferentes de aquellos presentes en las secuencias 2 y 3 denotados por m_1 , en este mismo sentido, se pueden definir m_2 y m_3 de la siguiente manera:

$$m_1 = \sum_i \sum_{j \neq i} n_{ijj} \dots \dots \dots (2a)$$

$$m_2 = \sum_i \sum_{j \neq i} n_{jij} \dots \dots \dots (2b)$$

$$m_3 = \sum_i \sum_{j \neq i} n_{jji} \dots \dots \dots (2c)$$

Donde la secuencia 3 es el grupo externo, por lo que a partir de la ecuación (1), se espera que:

$$E(m_1) = E(m_2) \quad (3)$$

Esta igualdad puede ser evaluada mediante una prueba de Chi cuadrada (X^2) de la siguiente manera:

$$X^2 = \frac{(m_1 - m_2)^2}{(m_1 + m_2)} \quad (4)$$

Esta prueba sigue una distribución tipo X^2 con un grado de libertad, siendo ésta prueba unitaria, por lo que es posible calcular la probabilidad exacta bajo la hipótesis nula dada por la ecuación (3).

La igualdad se alcanza si la tasa es constante, sin embargo, es posible que se alcance aún cuando la tasa no sea constante, por lo que esta prueba puede ser considerada conservativa.

Como en las secuencias del ADN mitocondrial los cambios transicionales ocurren de manera más recurrente que aquellos de tipo transversiones, es preferible clasificar estas diferencias. Por lo que m_1 es dividido en el número de sitios con diferencias tipo transiciones (s_i) y el número de sitios con diferencias tipo transversión (v_i) y en donde las bases A, G, C y T son denotadas por 1, 2, 3 y 4 en la parte derecha de la igualdad, por lo que se definen como:

$$s_1 = n_{211} + n_{122} + n_{433} + n_{344} \dots \dots \dots (5a)$$

$$v_1 = m_1 - s_1 \dots \dots \dots (5b)$$

$$s_2 = n_{121} + n_{212} + n_{343} + n_{434} \dots \dots \dots (5c)$$

$$v_2 = m_2 - s_2 \dots \dots \dots (5d)$$

$$s_3 = n_{112} + n_{221} + n_{334} + n_{443} \dots \dots \dots (5e)$$

$$v_3 = m_3 - s_3 \dots \dots \dots (5f)$$

Por lo que a partir de la ecuación (1), la prueba de X^2 para el caso donde se diferencian los cambios en transiciones y transversiones se da mediante la siguiente fórmula:

$$X^2 = \frac{(s_1 - s_2)^2}{(s_1 + s_2)} + \frac{(v_1 - v_2)^2}{(v_1 + v_2)}$$

Esta ecuación presenta una distribución de probabilidades tipo X^2 con dos grados de libertad, si los valores de probabilidad observados en esta prueba son menores a 0.05, entonces se rechaza la hipótesis nula de tasa iguales de mutación entre linajes (Tajima 1993). Los cálculos de esta prueba se realizaron con el programa MEGA 4 (Kumar *et al.* 2004).

VI.4.4.6 Relación entre distancias genéticas y tiempos de divergencia

Se usó las distancias genéticas y la distribución geográfica actual de algunas de las especies de *Pardosa* y las barreras potenciales que pudieron funcionar como mecanismos de aislamiento para estimar el tiempo de divergencia. Para lo anterior se conformaron los siguientes juegos de datos:

VI.4.4.6.1 Formación del Golfo

Se empleó la distancia genética entre *P. sierra* y *P. vadosa* (DG= 6.9 %), las cuales habitan en las costas opuestas del Golfo de California (Barnes 1959) y la hipótesis vicariante de la formación del Golfo de California (5 millones de años; Riddle *et al.* 2000a; Jonson y Ward 2002) como barrera geográfica potencial de aislamiento (Brower 1994; Arbogast *et al.* 2002).

VI.4.4.6.2 Trasmigración nortea

Se usó la divergencia genética entre las especies *P. sierra* y *P. atromedia* (DG = 5.5 %), que habitan en la zona peninsular y la zona centro-sur de California respectivamente y se cree que el tiempo de divergencia de este par de especies pudo haberse dado desde hace 4.0 millones de años cuando la hipotética barrera vicariante del canal interpeninsular nortea separó la masa peninsular (norte de Baja California) de la parte sur de lo que ahora se conoce como California (Plioceno tardío a Pleistoceno temprano, Riddle *et al.* 2000a; Murphy y Aguirre-León 2002).

VI.4.4.6.3 Río Colorado

También se empleó la distancia genética del par de especies *P. atromedia* y *P. sura* (DG = 5 %) y el incremento del cauce del río Colorado (embasamiento de Bouse y cierre de San Gorgonio) hace aproximadamente 3.5 millones de años y que se usó como hipótesis vicariante que separó la biota de lo que hoy se conoce como California y Arizona (Hafner y Riddle, 2005; Riddle y Hafner 2006; Crews y Hedin 2006).

VI.4.4.6.4 Desertificación en la Península de Baja California

Por último, para calibrar los tiempos de divergencia entre las poblaciones de *Pardosa sierra* en la Baja California, se usaron las distancias genéticas entre las poblaciones de arañas recolectadas en Ensenada en Baja California (ENS) y Sierra de la Laguna en Baja California Sur (SLL) (DG = 0.3 %); las de Ensenada (ENS) y Cadejé en Baja California Sur (CAD) (DG = 0.5 %); y Cadejé (CAD) y Sierra de la Laguna (SLL) (DG = 0.2). Estas distancias genéticas se contrastaron con la hipótesis de la ocurrencia de un

evento de desertificación en el noroeste de México, el cual inicio aproximadamente hace 15,000 años (Hafner y Riddle, 2005; Riddle y Hafner 2006).

Con estos juegos de datos se estimó el grado de correlación del porcentaje de divergencia entre pares de especies en función al tiempo (en millones de años) y bajo la suposición de una tasa de mutación constante del fragmento analizado (Brower 1994; Thorne *et al.* 1998; Arbogast *et al.* 2002; Dusfour *et al.* 2007), mediante la siguiente fórmula:

$$EC = a + b * DG$$

Donde EC representa la edad del clado o tiempo de divergencia entre pares de especies, a es la ordenada al origen, b la pendiente y DG es el porcentaje de distancia genética entre pares de especies.

VI.4.4.7 Estimación de la tasa de mutación en *Pardosa*

Para estimar la tasa de mutación se despejo la variable DG de la ecuación anterior como sigue:

$$DG = \frac{EC - a}{b}$$

VII. RESULTADOS

VII.1 Revisión Sistemática de *P. sierra* con énfasis en los genitales de las hembras y un fragmento del COI ADMmt

Familia Lycosidae Sundevall 1833

La familia Lycosidae agrupa a las llamadas arañas lobo; las hembras de esta especie presentan cuidados maternos desde la oviposición (acarrear el ovisaco en las hileras) y hasta la segunda o tercer muda de los estadios juveniles, que transportan en el dorso del opistosoma; los hábitos de vida dentro de esta familia son el de cazadoras activas diurnas y nocturnas hasta las tejedoras de red cónica (Sosippinae). A nivel familia, se encuentra estrechamente relacionada a Pisauridae y Oxiopidae (Dondale 1986; Griswold 1993; Zehethofer y Sturmbauer 1998). Actualmente, se reconocen cinco subfamilias dentro de Lycosidae siendo estas: Allocosinae, Lycosinae, Pardosinae, Sosippinae y Venoniinae, de estas, Lycosinae y Pardosinae contienen a la mayoría de las especies de la familia.

Subfamilia Pardosinae Simon 1898

Esta subfamilia se define por presentar una apófisis terminal dentada en su porción apical, y donde se sitúan los géneros *Acantholycosa* y *Pardosa*, siendo éste último uno de los más diversos, congregando a 2,367 especies válidas (Platnick 2010), reunidas a su vez en grupos de especies.

Género *Pardosa* Koch 1847

Especie Tipo.- *Lycosa alacris* C.L. Koch, 1833, designado por Charitonov (1932).

Las especies del género *Pardosa* que ocurren en las zonas áridas, se distribuyen en los grupos *tesquorum*, *distincta*, *lapidicina* y *milvina* entre otros, sin embargo, es incierto el número de grupos de especies que encuentran en nuestro país, donde además, es muy probable que aún existan especies sin describirse y asignarse a un grupo de especies en particular. Entre estos, los grupos *milvina* y *lapidicina* ocurren en el noroeste mexicano, siendo este último el mejor representado.

Grupo *lapidicina*

Este grupo presenta problemas taxonómicos, debido principalmente a la similitud fenotípica que existe entre las especies que lo componen. Todos los miembros del grupo *lapidicina* poseen esencialmente el mismo patrón de variación de color, aunque cada especie presenta una gama considerable de coloración, que va de muy pálida a muy oscura (Barnes 1959). El caparazón es más alto entre las filas segunda y tercera de ojos y existen pendientes ligeras en los costados posteriores del caparazón, principalmente a la altura de su quinta parte posterior. Los ojos anteromedios están separados por aproximadamente cuatro quintas partes de su diámetro, los ojos anterolaterales representan en proporción de tamaño, las tres cuartas partes de la mitad del diámetro de los ojos anteromedios, encontrándose separados por una quinta parte de su diámetro. Los ojos de la segunda línea son de dos a dos y media veces más grandes que el diámetro de los ojos anteromedios. Los ojos de la tercera línea son ligeramente más pequeños que los ojos de la segunda, estos se encuentran separados de la segunda línea por una a dos veces el diámetro de los ojos de la segunda línea. La segunda línea de ojos

es una y media veces mayor a la longitud de la primera línea, la tercera línea de ojos son en tamaño, del doble de la longitud de la primera línea. La zona ocular es más ancha que larga. El orden de las patas por su longitud es: 4:1:2:3 (Barnes, 1959).

El pedipalpo de los machos es el que presenta los caracteres más valiosos para separar a las especies del grupo *lapidicina* (Barnes 1959), sin embargo, en el caso de las tres especies analizadas en este estudio, los genitales femeninos son los que mostraron los mejores caracteres para la discriminación entre las especies. Después del estudio morfológico de todos los ejemplares de las colecciones, se detectaron tres formas, que fueron designadas como: *P. sierra*, la primera, descrita por los Banks 1898: 374, pl. XVI, Fig. 20, como *P. sierra* (morfo A); la segunda descrita por Banks 1904: 355, pl. XXXIX, Fig. 32, como *P. atromedia* (morfo B) y la tercera como *P. sura* (con el epiginio ilustrado por Chamberlin y Ivie 1941: 10, pl. V, Fig. 61), consideradas por Barnes 1959, Fig. 36 como un morfo de *P. sierra* (morfo C). La primera especie, fue descrita a partir de una colecta de organismos provenientes de la Sierra de la Laguna (Banks 1898), pero también con otros especímenes recolectados en otras localidades de la Península de Baja California. *P. atromedia* se recolectó de California, mientras que *P. sura*, fue recolectada en varias localidades de México (Distrito Federal, Estado de México, Chihuahua y Puebla) y en el suroeste de los EUA (Utah, Colorado, Arizona, California y Texas, en Fig. 4 y Cuadro XIII).

Debido a que los especímenes tipo (holotipo y lectotipo) se encuentran perdidos, en el presente trabajo se designó un neotipo para *Pardosa sura*: Esto de acuerdo con las recomendaciones dadas en el artículo 175 del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (2008), basadas principalmente en que se aclaró la situación taxonómica de las especies de interés, si los datos y la descripción se encuentran suficientemente

sustentados como para garantizar el reconocimiento de la entidad taxonómica designada.

Cuadro XIII Material biológico usado para obtener secuencias del COI del ADNmt, y origen de las secuencias de otras especies del género *Pardosa*.

Especie	Localidad muestreada	No. Acceso	No. Voucher	No. de Individuos
<i>Pardosa valens</i>	Sinaloa, México	FJ546474	CAECIBG 1614,	1♀ 1♂
	Chihuahua, México	FJ546475	CAECIBG 1615	2♀
<i>Pardosa steva</i>	Sonora, México	FJ546470	CAECIBG 1610,	2♀ 2♂
	Nuevo León	FJ546471	CAECIBG 1611	2♀ 2♂
<i>Pardosa sura</i>	Chihuahua, México	FJ546468	CAECIBG 1608	2♀ 1♂
	Durango, México		CAECIBG 1616	2♀ 1♂
	Nuevo León, México	FJ546469	CAECIBG 1609	2♀ 1♂
<i>Pardosa vadosa</i>	Sonora, México	FJ546472	CAECIBG 1612,	2♀ 1♂
	Chihuahua, México	FJ546473	CAECIBG 1613	2♀ 1♂
<i>Pardosa sierra</i>	Ensenada, B. C., México		CAECIBG 1617	2♀ 1♂
	Cadejé, B. C. S., México	FJ546465	CAECIBG 1605	2♀ 1♂
	Sierra la Laguna, B. C. S., México	FJ546464	CAECIBG 1604	3♀ 3♂
<i>Pardosa atromedia</i>	Río Osos, California, EUA	FJ546466	CAECIBG 1606	2♀
	Río Osos, California, EUA	FJ546467	CAECIBG 1607	1♂
<i>Pardosa astrigera</i>	China	AY836055.1	-	
	China	AY836072.1	-	

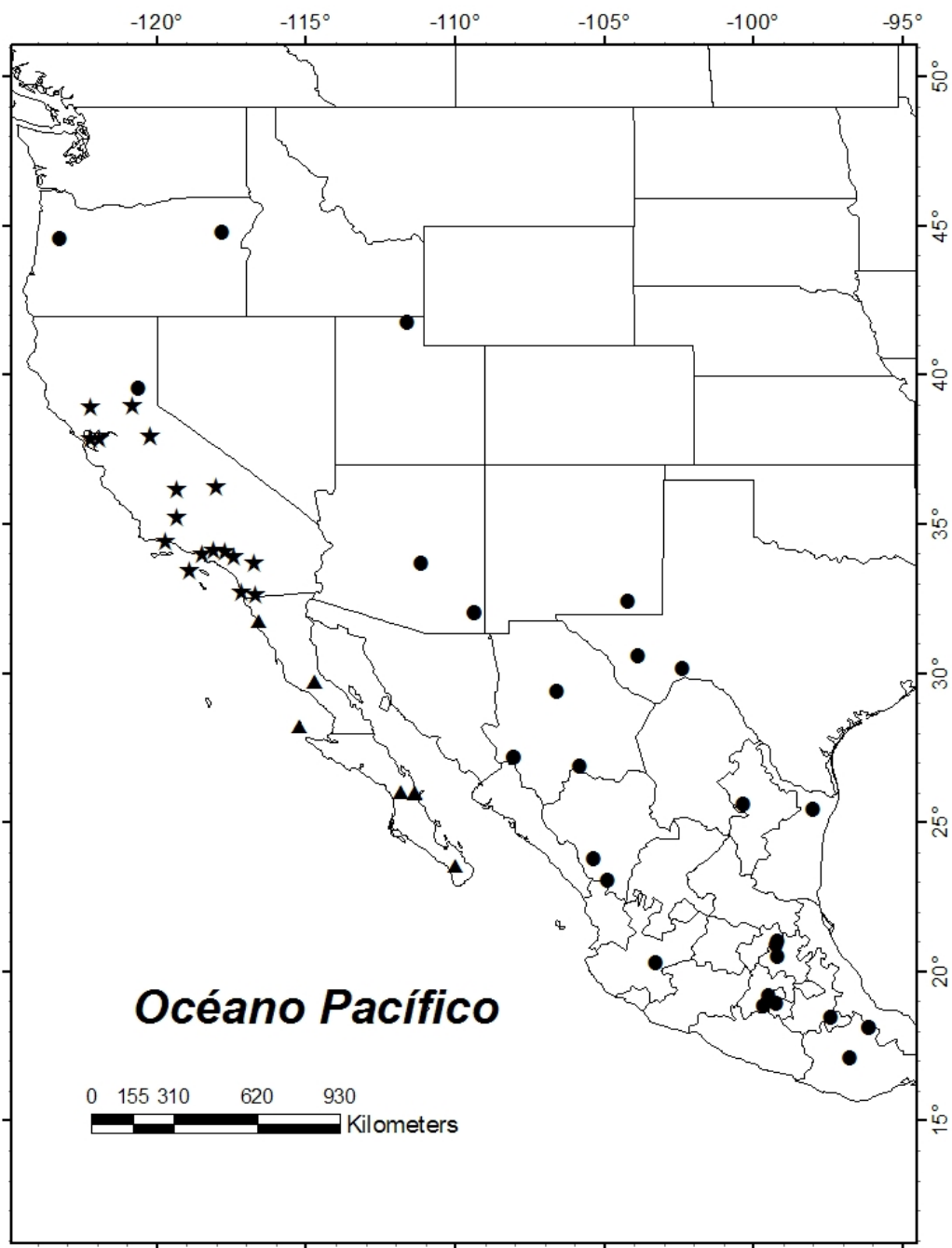


Figura 4 Distribución geográfica de las especies del complejo de *Pardosa sierra*.

Triángulos, *P. sierra*; estrellas, *P. atromedia*; círculos, *P. sura*.

***Pardosa sierra* Banks 1898**

Figuras 2, 5 y 6

Pardosa sierra Banks 1898:274; Petrunkevitch 1911:575; Gertsch 1934:19; Roewer 1954:194; Bonnet 1958:3422; Barnes 1959:14; Vogel 2004:72; Platnick 2010.

Nota: El holotipo, un macho depositado en CAS, se perdió debido al terremoto e incendio de 1906.

Material examinado

Lectotipo. Hembra: MEXICO: Sierra de la Laguna, Baja California: 1898 (N. Banks colector). La etiqueta no muestra información numérica de la colección de origen (MCZ).

Paralectotipo. Macho: MÉXICO: Baja California Sur, recolectados de la Sierra de la Laguna, 2-4 noviembre de 2006 (M.M. Correa y C. Palacios) (CARCIB).

Material adicional examinado

MEXICO: *Baja California:* Isla Cedros 22 Febrero 1945 8♀ (B. F. Osorio y M. T. H. Tafall) (AMNH), Idem Gran Cañón 10 Marzo, 1945 6♀ (B. F. Osorio y M. T. H. Tafall) (AMNH), Tajo Branch of Cantil Canyon east side of Laguna Salada 2♀ (T. Briggs) (CAS), Ensenada, Abril 2008, 3♂ 5♀ (García de León) (CARCIB), El Rosarito Abril 2008 1♂ 3♀ (García de León) (CARCIB), Arrollo Cataviña 2♀ (CAS); *Baja California Sur:* Sierra la Laguna 1898 1♀; Idem 2-4 Noviembre 2006 50♂ 50♀ (M. M. Correa y C. Palacios) (CARCIB); San José de Comondú 29 Octubre 2006 (C. Palacios) 10♂ 15♀ (CARCIB); San Isidro -La Purísima- 28 Octubre 2006 5♂ 20♀ (C. Palacios) 5♂ 15♀ (CARCIB); San Pedro de la Presa 19 Junio 2008 50♂ 50♀ (M. M. Correa y C.

Palacios) (CARCIB), Cadejé 5 Octubre 2006 50♂ 50♀ (M. M. Correa y C. Palacios)
 (CARCIB), San Ignacio 3 Octubre 2006 50♂ 50♀ (M. M. Correa y C. Palacios)
 (CARCIB), Mulegé 4 Octubre 2006 50♂ 50♀ (M. M. Correa y C. Palacios) (CARCIB),
 El Chorro Región del Cabo 23 Octubre 2005 10♂ 20♀ (M. M. Correa y C. Palacios)
 (CARCIB).

Diagnosis

Las hembras de *P. sierra* se diferencian de aquellas de otros grupos taxonómicos dentro del grupo *lapidicina*, por la forma de media luna de los escleritos epiginiales que se encuentran en el borde apical de las expansiones laterales, que toman además una forma que simula una curva sigmoidea (Fig. 5A). Los conductos copulatorios son rectos y más anchos en su base, pero nunca curvados como en *P. atromedia*. En los machos, el émbolo se extiende a través del bulbo con la punta curva apicalmente (Fig. 6 A y C) que difieren de los presentes en *P. atromedia* y *P. sura*. La apófisis terminal es más corta que la apófisis media que presenta forma de pulgar. *Pardosa sierra* se distingue de otras especies relacionadas por las siguientes sustituciones únicas de nucleótidos del ADNmt en las posiciones de la alineación de referencia siguientes: C (51), G (54), G (63), G (102), T (264), G (267), G (279), T (226), G (390), C (477), A (480), C (489), G (543) y T (606).

Descripción

Hembra (*lectotipo*). Longitud total de 5.80 mm, longitud del caparazón 2.75 mm, y ancho de 2.31 mm. Prosoma de color marrón claro, a negro en la región ocular, con una banda ancha e irregular en cada lado superior, con denticiones en la zona media que

inician antes del surco torácico; el clípeo con sedas delgadas de color blanco y negro, grandes manchas marginales y una línea a toda su longitud. Esternón negro pardusco cubierto de delgadas sedas, con márgenes pálidos. Quelícero marrón con algunas sedas oscuras. Los enditos son café oscuro con márgenes pálido; labio café oscuro con la parte apical pálida. Patas delgadas, cuarto par trasero muy largo, tibias I y II, con tres pares de espinas subiguales y un par corto en la porción distal, de color marrón claro con manchas negras, que forman bandas anchas en forma de anillos, dos en el fémur, una en la patela, dos bandas en la tibia y un punto negro en las coxas; todos trocánteres con muescas. La vista dorsal del opistosoma con puntos de color gris negruzco y manchas blancas, con la porción ventral gris más oscura. Los ojos son subiguales en la primera fila, los ojos medios están más separados que los ojos laterales. La pieza transversal del epiginio ocupa aproximadamente la mitad de la longitud total (Fig. 5) de este. El campo medio se amplía anteriormente, con la porción más estrecha en el centro y con una longitud de 0.10 mm (Fig. 5A). La pieza transversal tiene una longitud de 0.39mm de ancho (Fig. 5A). Esta pieza, se proyecta como una media luna en forma de canales a cada lado adquiriendo una estructura muy conspicua, en forma de una curva sigmoidea con bordes anchos y redondeados que se reducen en su zona media (Fig. 5A). En vista dorsal, los conductos espermáticos son rectos en su base (unidos a los orificios copulatorios). Las espermatecas son semiesféricas con una muesca prominente en los costados retrolaterales (Fig. 5C). Como en las otras especies, el epiginio presenta una estructura redonda situada en la parte media de los conductos espermáticos que parece ser una serie de microconductos (MD en la Fig. 5C).

Macho (Paralectotipo).- Longitud total de 4.25 mm, longitud del caparazón 2.18 mm, ancho de 1.76 mm. El patrón de coloración y la forma del cuerpo son similares a los de la hembra, pero más oscuros. El émbolo es corto con una punta fina. El conductor del pedipalpo del macho es en forma de espada, proyectándose hacia arriba y delante del bulbo. Este proceso es lo suficientemente esclerotizado y visible para ser claramente visible en el pedipalpo sin expandirlo. El bulbo, presenta una serie de procesos y escleritos accesorios en su parte media (Fig. 6A). El conductor es de forma redonda, en su parte apical es mucho menos visible ya que se oculta parcialmente por detrás del tégulo.

Variación fenotípica

Las hembras presentan una longitud corporal promedio de 7.87 ± 0.52 mm., la longitud del caparazón, con una media de 2.96 ± 0.25 mm., Ancho de 2.52 ± 0.21 mm.; las variaciones en el epigino fueron como sigue: MF con una longitud media de 0.12 ± 0.02 mm.; EPL 0.39 ± 0.06 mm. y EPW 0.39 ± 0.03 mm. Los escleritos transversales del epiginio varían en el grado de esclerosis y, a veces son muy oscuros o transparentes. Los machos tienen una longitud corporal promedio de 4.72 ± 0.32 mm. Longitud del caparazón, con una media de 2.40 ± 0.14 mm., ancho de 1.97 ± 0.13 mm. Las variaciones presentes en mediciones de los pedipalpos son las siguientes: TP de 0.50 ± 0.06 mm., FP 0.87 ± 1.02 mm., BT 0.80 ± 0.07 mm (Cuadros XIV y XV). Por último, la gama de coloración del cuerpo va de un color amarillo pálido a café oscuro en las hembras. Los machos son más oscuros que las hembras, principalmente en la zona ocular.

Historia Natural

Pardosa sierra se distribuye a lo largo de la Península de Baja California y es endémica de esta región (Fig. 2). La preferencia de hábitat de esta especie es similar a la de otras especies del grupo *lapidicina*, pues se les encuentra en las orillas de los ríos y oasis o cualquier tipo de humedal (oasis) naturales y artificiales rodeados de rocas, donde a menudo se recolectan manualmente y/o con el uso de trampas de caída.

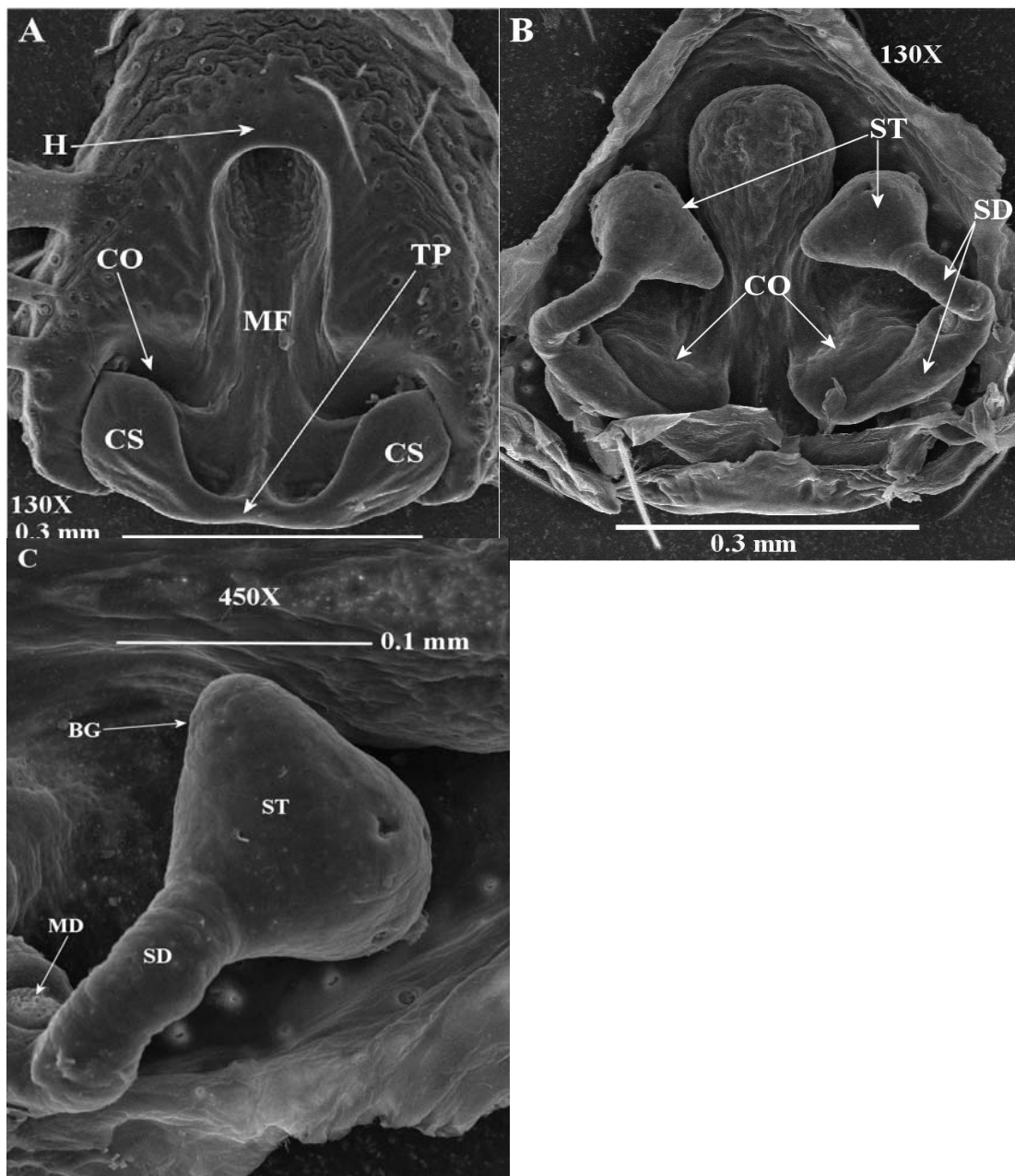


Figura 5 **A** Epigino en vista ventral de *Pardosa sierra*, $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: H, caperuza en posición anterior; MF, campo medio; CO, orificios copulatorios; TP, pieza transversa; CS, escleritos laterales. **B**. Epigino, vista dorsal, $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: ST, espermatecas; SD, conductos copulatorios; CO, orificios copulatorios. **C**. Espermateca, vista dorsal, $\times 450$. Escala = 0.1 mm.: BG, bulbo de la espermateca; MD, microconductos.

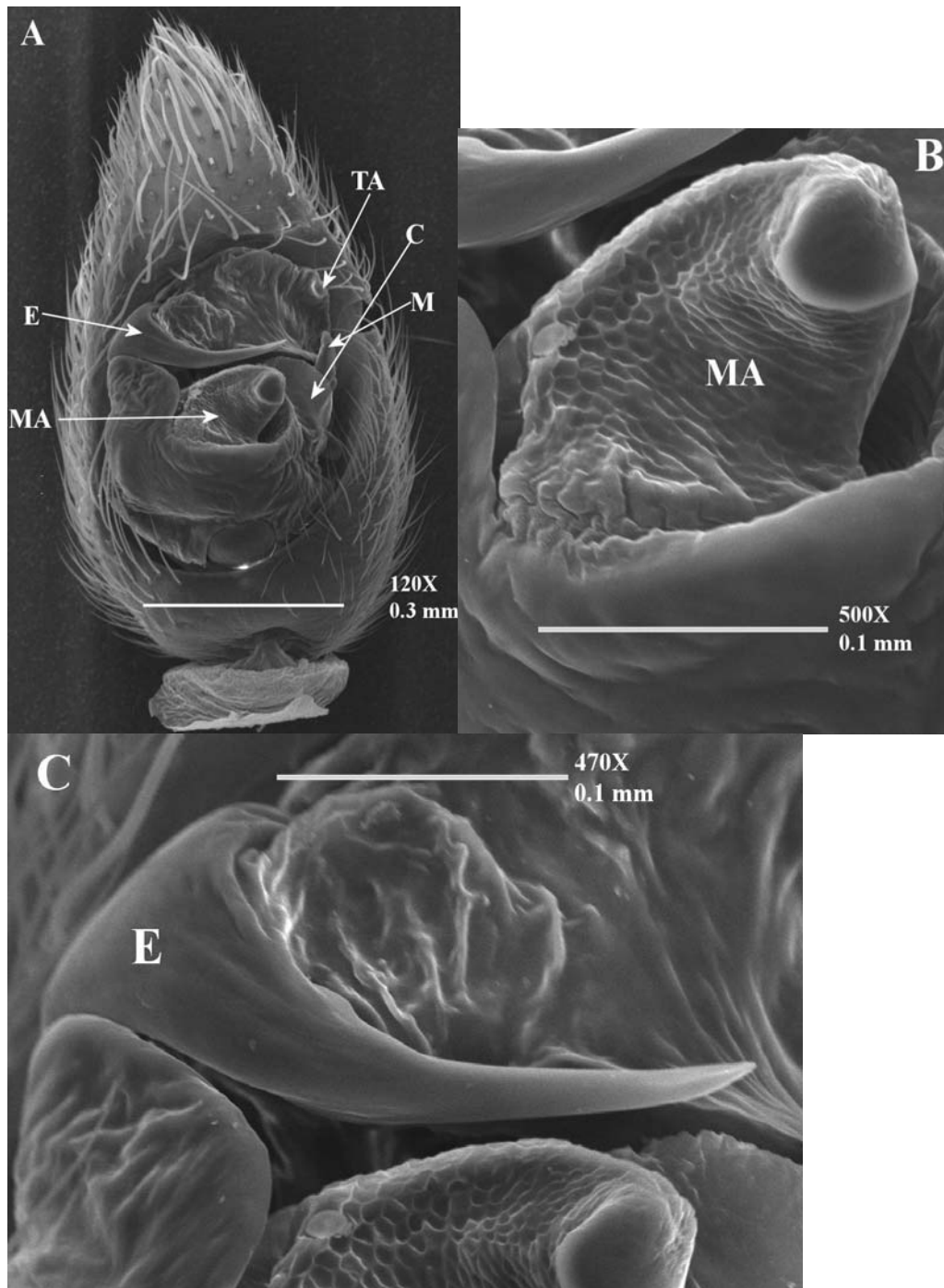


Figura 6 **A** Pedipalpo del macho en vista ventral de *Pardosa sierra*, $\times 120$. Escala = 0.3 mm.: E, émbolo; MA, apófisis media; TA, apófisis terminal; M, esclerito accesorio medio; C, conductor. **B**. Acercamiento de la apófisis media, $\times 500$. Escala = 0.1 mm. **C**. acercamiento del émbolo, $\times 470$. Escala = 0.1 mm.

***Pardosa atromedia* Banks 1904**

Figuras 2, 7 y 8

Pardosa atromedia Banks 1904:355; Petrunkevitch 1911:571 (en parte); Roewer 1954:194 (sinónimo júnior de *P. sierra* Banks 1898)

Pardosa sierra Banks 1898: Barnes 1959:14.

Nota: El holotipo, una hembra depositada en CAS, se perdió por el terremoto e incendio de 1906.

Material examinado

Lectotipo. Hembra: EUA: Curtice, California: 1904 (N. Banks colector). La etiqueta no muestra indicaciones numéricas de la colección de origen (MCZ). *Paralectotype.*

Macho: EUA: Fish Canyon San Gabriel Mountains Los Angeles Co. 2 Febrero 1950 1♂ (E. I. Schlinger) (AMNH).

Material adicional examinado

EUA: *California:* Curtice 1904 1♀ (Nathan Banks Coll.) (MCZ), 745 N 40 W 111 (AMNH), Stanislaus River 5miles west of Durrington Calaveras Co. 5 Agosto 1953 2♀ (W. Gertsch y J. Gertsch) (AMNH), Pinecrest Toulumne Co. 6 Julio 1947 1♀ (P. H.Arnaud) (CAS), Diablo Contra Costa Co. 25 Marzo 1947 6♀ (B. Malkin y D. G. Kelley) (AMNH), Monrovia Canyon 26 Julio, 1931 W117°5' N34°10' 2♀ (Chamberlin y Ivie) (AMNH), San Diego River near mouth 12 Julio 1931 W 117° 10" N 32° 46" 1♀ (Chamberlin y Ivie) (AMNH), Indian Canyon San Diego Co. 25 Mayo 1948 1♂ 1♀ (M. A. Pearce) (AMNH), Wildcat Creek Syskiyou Co. 1 mille NW Callahan 31 Julio 1968 1♀ (H. B. Leech) (CAS), San Juan Creek; near mountains 18 Julio 1931 W 117°40' N

33°27' 2♀ (Chamberlin y Ivie) (AMNH), Palm Springs 5 Abril 1925 W 116° 40" N 33°
 55" 2♀ (Chamberlin y Ivie) (AMNH), San Diego 2♀, Lower End Indian Canyon 14
 Julio 1948 1♀ (M. A. Pearce) (AMNH), Santiago W117°45' N33°45' 29 Diciembre
 1930 1♀ (Chamberlin y Ivie) (AMNH), Los Angeles Big Rock Creek Valyermo 4200 ft
 Los Angeles Co. 12 Junio 1943 1♀ (K. Cowles) (AMNH), Montgomery Canyon Mono
 Co. 13 Julio 1941 5♀ (M. A. Pearce) (AMNH), Fish Canyon San Gabriel Mountains
 Los Angeles Co. 2 February 1950 1♂ (E. I. Schlinger) (AMNH), Idem Los Angeles Co.
 2 Octubre 1944 1♀ (E. I. Schlinger) (AMNH), Idem Los Angeles Co. 29 Abril 1945 3♂
 5♀ (E. I. Schlinger) (AMNH), Roads End Kern river 3 Julio 1956 2♀ (V. Roth y W.
 Gertsch) (AMNH), Claremont California (RV.C) (R-4) 1♀ (Chamberlin) (AMNH),
 Idem W117°48' N34°3' 1♀ (Chamberlin), Yosemite Park (Wawona Camp) 17
 Septiembre 1941 W119°39' N37°32' 1♂ (Ivie) (AMNH), Idem Mariposa Co. 14 Julio
 1952 1♂ 3♀ (W. Gertsch, Schrammel y M. Cazier) (AMNH), Irvins near Santa Ana
 Park 17 Julio 1931 W 117°48' N 33°40' 1♂ (Chamberlin y Ivie) (AMNH), Near San
 Diego Mission 12 Julio 1931 5♀ (Chamberlin Det. Ivie) (AMNH), San Diego 2 Junio
 1948 2♂ 3♀ (M. A. Pearce) (AMNH), Eatons Canyon Marzo 1913 ? Quad. W118°
 N34° 2♂ (Chamberlin) (AMNH), Idem Marzo 1913 ? Quad. W118° N34° 2♂
 (Chamberlin) (AMNH), Olancha Inyo Co. 18 Julio 1952 1♀ (W. Gertsch, Schrammel y
 M. Cazier) (AMNH), San Juan Hot Spring 3 Julio 1931 W117°33' N 33°36' 2♀
 (Chamberlin y Ivie) (AMNH), Idem, 3 Julio 1931 W117°33' N 33°36' 4♀ (Chamberlin y
 Ivie) (AMNH), Santa Monica California 12♀ (Det. Gertsch) (AMNH), Idem 9♀ (Det.
 Gertsch) (AMNH), San Diego Co. Houser Creek 29 Junio 1948 4♀ (M. A. Pearce)
 (AMNH), Pine Forest 1927 2111 1♀ (W. G. Dietz), Magnesia Canyon Riverside Co. 21
 Abril 1951 1♀ (E. I. Schlinger) (AMNH), Idyllwild Riverside Co. 7 Julio 1953 1♀ (W.

Gertsch y J. Gertsch) (AMNH), Riverside Co. Andreas Canyon Palm Spring 3 Marzo 1956 3♂ 5♀ (V. Roth) (AMNH), Boulder Creek San Diego Co. 6 Mayo 1948 1♂ 8♀ (M. A. Pearce) (AMNH), Kawea River, 5mi E. Treerivers 1258 fts Tulare Co. 17 Julio 1952 2♀ (W. Gertsch) (AMNH), Tanbark Flats San Gabriel Mountains Los Angeles Co. 20 Junio 1952 1♂ 6♀ (W. Gertsch) (AMNH).

Diagnosis

Las hembras de *Pardosa atromedia* se diferencian de *P. sierra* y *P. sura* por la escleritos laterales forma de media luna de la epigynum que son curvos y delgados, casi con el mismo espesor en las partes apical y lateral que en la parte media de la pieza transversal (Fig. 7). Los conductos copulatorios son delgados en su base siendo estos curvos y nunca son rectas como en *P. sierra* y *P. sura*. En los machos, el émbolo se extiende a través del bulbo, con la punta curvada hacia su parte apical, pero termina en una punta trunca (Fig. 8), no como en *P. sierra* que termina en una punta fina. La apófisis terminal es casi la mitad del tamaño que la apófisis media, la apófisis media presenta forma de pulgar y es recta, el proceso accesorio medio es indistinguible con respecto a *P. sierra* y *P. sura*. *Pardosa atromedia* se diferencia de otras especies estrechamente relacionadas, sobre la base de las siguientes sustituciones únicas de nucleótidos de un fragmento del ADNmt en las posiciones de la alineación de referencia: C (42), G (66), A (81), G (114), G (129), G (288) y A (423).

Descripción

Hembra (*lectotipo*) con una longitud total de 7.03 mm, ancho de 2.39 mm. El prosoma es de color amarillo pálido a marrón oscuro, con una banda clara a lo largo de su base,

la región ocular es negra, con una banda ancha e irregular en cada lado, que aparece en la zona media antes del pliegue torácico; el clipeo presenta sedas delgadas color blanco y negro, así como manchas marginales y un parche a través de él. El esternón de color marrón, está cubierto de sedas, con márgenes pálidos. Quelíceros de color marrón claro a oscuro. Enditos marrón pálido, con márgenes claros, labio con la punta marrón pálido. Patas delgadas, par trasero muy largo, tibias I y II con 4 pares de espinas subiguales, patas amarillo pálido con manchas marrones oscuras, que forman anillos a lo ancho, dos en el fémur, uno en la rótula, dos bandas en la tibia y un punto negro en las coxas y un punto oscuro en la parte inferior del fémur. Vista dorsal del opistosoma con manchas amarillas y gris y manchas claras, la porción ventral gris, más o gris más oscuro. Los ojos son subiguales en la primera fila, los ojos medios más separados que los ojos laterales. La pieza transversal del epiginio presenta una longitud de 0.55 mm, ancho de 0.53 mm (Fig. 7A), con escleritos laterales de forma de media luna y con una depresión a cada lado de ella, generalmente, los escleritos son curvos y delgados, casi con el mismo espesor en la parte media de la pieza transversal. En vista dorsal, los conductos espermáticos son curvos en la base y rectos en la parte anterior (Fig. 7B). Las espermatecas son casi esféricas con pequeñas protuberancias apicales (Fig. 7C).

Macho (Paralectotipo): longitud total de 5.83 mm, longitud del caparazón de 2.88 mm, ancho de 2.09 mm. Apariencia similar a la de la hembra. El Conductor del pedipalpo del macho, en forma de espada, se proyecta hacia arriba del bulbo (Fig. 8), con la parte apical truncada, el émbolo es un poco curvo en su porción apical, el proceso medio, apófisis mediana y terminal muy parecidos a los presentes en *P. sierra* y *P. sura*.

Variación fenotípica

Las hembras tienen una longitud corporal promedio de 6.81 ± 0.64 mm, longitud del caparazón, con una media de 2.93 ± 0.19 mm., ancho de 2.51 ± 0.17 mm. Variaciones presentes en el epiginio (Cuadro XIV): MF con una longitud media de 0.13 ± 0.01 mm.; EPL 0.51 ± 0.04 mm. y EPW 0.49 ± 0.04 mm. Los escleritos laterales varían en el grado de esclerosis y, a veces son oscuros o transparentes. Los machos tienen una longitud corporal promedio de 5.57 ± 0.22 mm., longitud del caparazón con una media de 2.62 ± 0.22 mm., ancho de 2.21 ± 0.14 mm., las variaciones en el pedipalpo (Cuadro XV): TP promedio de 0.59 ± 0.02 mm., FP 0.99 ± 0.06 mm., BT 0.99 ± 0.05 mm (Cuadro XV). La gama de coloración va del amarillo pálido al café oscuro en las hembras y en ocasiones al café oscuro rojizo, los machos son más oscuros que las hembras, principalmente en la zona ocular.

Historia Natural

Pardosa atromedia ocurre en la parte centro y sur de California y al parecer se limita a su superficie (Fig. 2). La preferencia de hábitat de esta especie es similar a otras especies del grupo *lapidicina*. Prefiere los bordes de los ríos y arroyos, generalmente con rocas, donde a menudo se recolectan manualmente.



Figura 7 A Epigino en vista ventral de *P. atromedia*. $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: H, caperuza en posición anterior; MF, campo medio; CO, orificios copulatorios; TP, pieza transversal; CS, escleritos laterales. B. Epigino, vista dorsal, $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: ST, espermatecas; SD, conductos copulatorios; CO, orificios copulatorios. C. Espermateca, vista dorsal, $\times 450$. Escala = 0.1 mm.: BG, bulbo de la espermateca; MD, microductos.

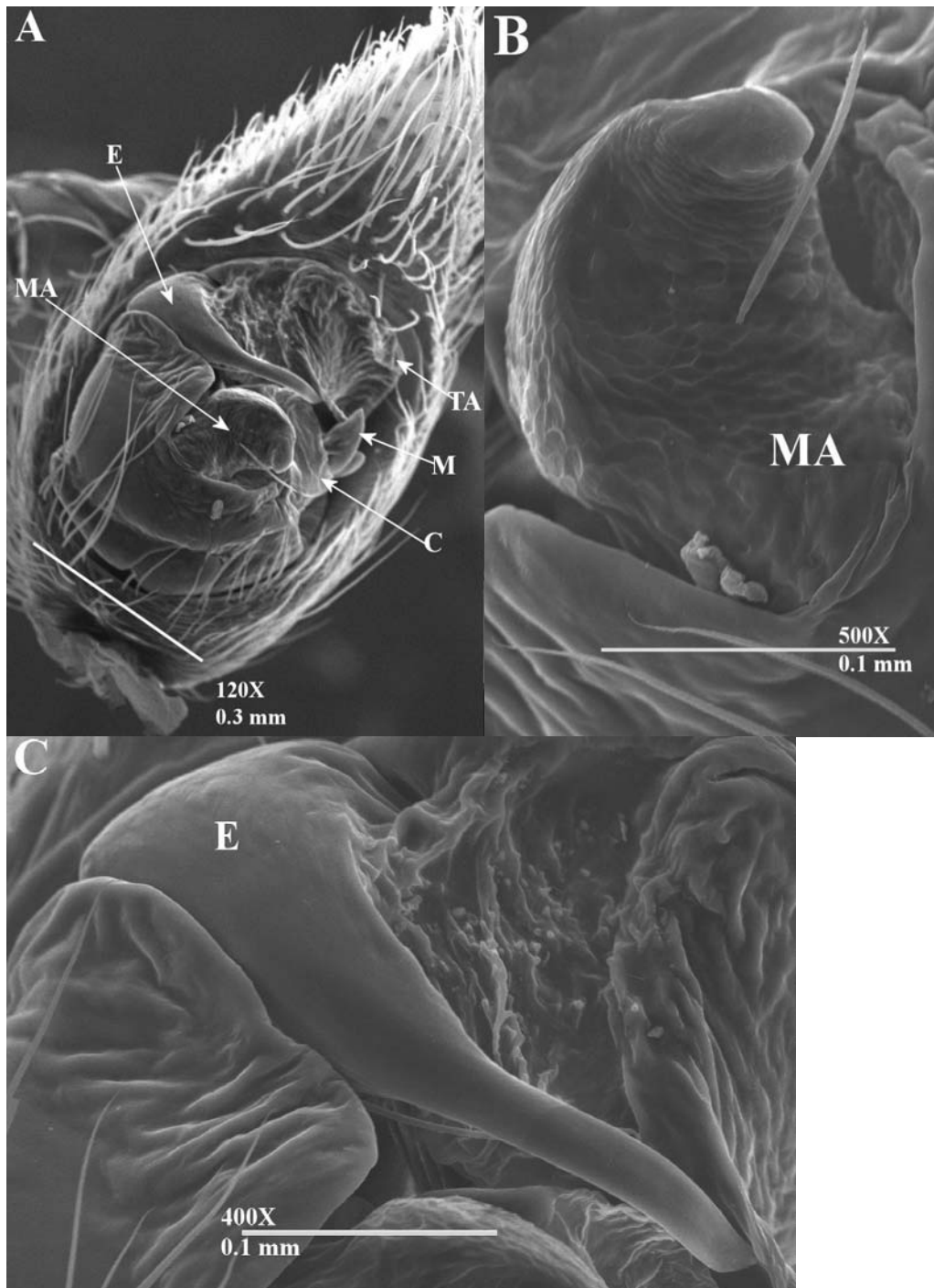


Figura 8 **A** Pedipalpo del macho en vista ventral de *Pardosa atromedia*. $\times 120$. Escala = 0.3 mm.: E, émbolo; MA, apófisis media; TA, apófisis terminal; M, esclerito accesorio medio; C, conductor. **B**. acercamiento de la apófisis media, $\times 500$. Escala = 0.1 mm. **C**. acercamiento del émbolo, $\times 470$. Escala = 0.1 mm.

***Pardosa sura* Chamberlin y Ivie, 1941**

Figuras 2, 9 y 10

Pardosa sura Chamberlin y Ivie 1941:10; Roewer 1954: 194

Pardosa sierra Banks 1898: Barnes 1959:14.

Nota: El holotipo hembra y paratipo hembra depositados en el Museo de Historia Natural de la Universidad de Utah, se considera material extraviado. La colección aracnológica de esta institución ha cambiado su ubicación varias veces hasta que finalmente fue integrado a la colección del AMNH.

Material examinado

Neotipo. Hembra: EE.UU.: California: 7 millas al oeste de Sierra City Condado Sierra 8 de julio 1952 (W. Gertsch) (AMNH). Paratipo Macho: EE.UU.: Utah: Cañón Beaver 6 de agosto 1927 (RV W. Chamberlin y Ivie) (AMNH).

Material adicional examinado

EUA: *Oregon*: Corvallis Kiger Isl. On Rocky Shore 18 Julio 1951 1♂ (V. Roth) (AMNH), Robinette 18 Junio 1938 1♀ (Hatch) (CAS); *Utah*: Beaver Canyon 6 Agosto 1927 5♂ 5♀ (R.V. Chamberlin y W. Ivie) (AMNH); *California*: Sierra City 7mi West Sierra County 8 Julio 1952 2♀ (W. Gertsch) (AMNH); *Arizona*: Sabino Canyon Sta. Catalina Mountains 26 Julio 1948 2♀ (W. Gertsch y J. Gertsch) (AMNH), Roosevelt Lake 23 Agosto 1923 1♀ (R. Flock) (CAS), Indian Gardens Grand Canyon 24 Julio 1934 F340724 1♂ 1♀ (Lutz Det. Gertsch) (AMNH), Coyote mountains 4-7 Agosto 1916 1♂ 1♀ (Lutz Det. Gertsch) (AMNH), Southwestern Res. Stat 5 miles west Portal 6-20 Julio 1955 2♀ (W. Gertsch) (AMNH), Manzanita Camp Oak creek Canyon 26

Julio 1950 2♀ (M. A. Cazier) (AMNH), 5000 ft Carr Canyon Huachuca Mts 1 Agosto
 1952 2♀ (W. Gertsch, Schrammel y M. Cazier) (AMNH), Cave Creek Cochise Co.
 Chiricahua mountains 5500 ft 16 Junio 1958 1♀ (MacNeill) (CAS), Moenocupi 24 Julio
 1952 1♀ (W. Gertsch, Schrammel y M. Cazier) (AMNH), Chiricahua Natural Monu. 15
 Julio 1948 3♀ (C. Vauries y P. Vauries) (AMNH), 10 miles south Oracle Sta Catalina
 Mountains 25 Julio 1949 (W. Gertsch y J. Gertsch) (AMNH), 5000 ft Carr Canyon
 Huachuca Mts 3 Junio 1952 15♀ (W. Gertsch, Schrammel y M. Cazier) (AMNH),
 Bottom Walnut Canyon 18 Agosto 1934 1♀ F340818 (Lutz Det. Gertsch) (AMNH),
 Southwestern Res. Stat 5 mi w. Portal 15 Junio 1955 1♂ 1♀ (M. Statham) (AMNH),
 Manzanita Camp Oak Creeck Canyon 27 Julio 1950 2♂ 5♀ (M. A. Cazier) (AMNH),
 Graham Mountains near Safford 14 Julio 1955 2♀ (V. Roth y W. Gertsch) (AMNH),
 Oak creek Canyon 22 Julio 1949 3♀ (W. Gertsch y J. Gertsch) (AMNH), White river
 Arizona 9 Julio 1940 3♀ (Gertsch y Hook) (AMNH), Browns Canyon Baboquivari Mts
 29-30 Junio 1952 3♂ (H. B. Leech y J. W. Green) (CAS), Strawberry 15 Mayo 1939 2♀
 (R. H. Crandall) (AMNH), Tucson Sabino Canyon 5 Junio 1952 1♂ 2♀ (W. Gertsch,
 Schrammel y M. Cazier) (AMNH), 10 mi NE White river 8-11 Julio 1940 1♂ 3♀
 (Gertsch y Hook) (AMNH), Miami 12 Mayo 1938 1♀ (R. H. Crandall) (AMNH); *Texas*:
 Sanderson 26 Mayo 1952 1♀ (W. Gertsch, Schrammel y M. Cazier) (AMNH); *Idaho*:
 10 miles south Swan Valley town 6 Julio 1935 (Ivie W.) (AMNH); *Colorado*: Montrose
 near Water 25 Julio 1941 1♀ (C. Goodnight y M. Goodnight). MEXICO: *Chihuahua*:
 San Francisco Mesa near Santa Barbara 8 Julio 1948 1H (W. Gertsch) (AMNH), 44
 miles north Chihuahua 13 Junio 1939 1♂ 1♀ (AM y L. I. Davis) (AMNH), Cañón
 Prieto near Primavera 30 Junio 1947 1♀ (W. Gertsch) (AMNH); Puente Bravo 9
 Octubre 2007 2♀ (M.M. Correa y F. J. García de León) (CARCIB), Cerocahui 25-26

Junio 1979 2♀(G. J. Millick) (CAS); *Coahuila*: 5 miles west Saltillo Julio 5 1936 2♂
 3♀ (L. I. Davis) (AMNH), *Nuevo León*: Monterrey 23 Mayo 1952 1♂ 1♀ (W. Gertsch,
 Schrammel y M. Cazier) (AMNH), 25 miles west of Monterrey 6 Julio 1936 1♂ 1♀ (L.
 I. Davis) (AMNH), Chipinque 15 Julio 1942 1♂ 1♀ (Bonet, Osorio y Pelaez) (AMNH),
 Montemorelos 23 Mayo 1952 1♂ 1♀ (W. Gertsch) (AMNH), *Tamaulipas*: Victoria,
 Mexico 12 Junio 1936 1♂ 2♀ (L. I. Davis)(AMNH); *Durango*: 10 miles east El Salto 8
 Agosto 1947 4♀ (W. Gertsch) (AMNH), Palos Colorados 5 Agosto 1947 1♂ 3♀ (W.
 Gertsch) (AMNH), *San Luis Potosí*: Pícolo 21 Mayo 1952 2♂ 12♀ (W. Gertsch,
 Schrammel y M. Cazier) (AMNH); *Hidalgo*: 5 miles south of Zimapan 20 Julio 1956,
 2♀ (V. Roth y W. Gertsch) (AMNH), Ixmiquilpan 6 Julio 1944, 1♀ (L. I. Davis)
 (AMNH), 10-25 miles south of Jacala 20 Julio 1956 1♀ (V. Roth y W. Gertsch)
 (AMNH); *Distrito Federal*: Almoloya del Río 7 Abril 1944 1♂ 1♀ (Hernandez y
 Mercado) (AMNH); *Jalisco*: Chapala 22 Junio 1941 2♀ (A. M. Davis) (AMNH);
Michoacán: 10 miles est Tizapán 11 Julio 1972 1♀ (A. R. Brady y A. Jung) (AMNH);
Morelos: Cuernavaca Octubre 1944 1♀ (N. L. H. Krauss) (AMNH); *Puebla*: Tehuacán
 24 Julio 1956 7♀ (V. Roth y W. Gertsch) (AMNH); *Gerrero*: Ixtapan de la Sal 21-28
 Agosto 1946 2♀ (H. Wagner) (AMNH); *Oaxaca*: near Oaxaca 12 Abril 1941 1♀ (H.
 Wagner) (AMNH), Base San Felipe mountains 16-17 Septiembre 1947 2♀ (B. Malkin)
 (AMNH); *Veracruz*: Cordava 492 1♀(AMNH).

Diagnosis

Las hembras de *Pardosa sura* difieren de *P. sierra* y *P. atromedia* por los escleritos en forma de media luna del epiginio, estos a su vez, en forma de canal con el borde apical hacia la parte anterior formando un ángulo de 45 ° hacia la porción central del epiginio

(Fig. 9). El septo medio, se extiende apicalmente hacia la capucha (parte anterior del epiginio), con el borde apical de los escleritos laterales de la cavidad formando un ángulo de 45 °. Los conductos copulatorios son rectos en su base y nunca curvos como en *P. atromedia*, subiguales de espesor, y no más ancho en su base como en *P. sierra*. En los machos, la estructura tiene un émbolo pedipalpal larga y delgada que se extiende a través del bulbo con una punta curva y truncado, que se vuelve hacia el conductor y cuya base es más ancha que en *P. sierra* y *P. atromedia*. El conductor es corto y truncado y se encuentra frente al émbolo (Fig. 10C). *Pardosa sura* se diferencia de otras especies estrechamente relacionadas por la sustituciones de nucleótidos únicos del ADNmt en las posiciones de la alineación de referencia como sigue: G / D (18), G (57), C (72), G (78), T (114), T (129), G (216), G (237), G (249), A / G (291), G (303), A (333), G (336), G (342), T (387), G (399), T (426) y C (613).

Descripción

Hembra (*Neotipo*): longitud total de 8.25 mm. Longitud del caparazón 3.55 mm, ancho de caparazón 3.15 mm. Prosoma color café oscuro, negro en la región ocular, con una banda ancha e irregular en cada costado; clipeo con sedas color blanco y negro; grandes manchas marginales y un parche a través del dorso hasta el surco torácico. Esternón negro pardusco cubierto de pelos, con márgenes pálidos. Quelíceros de color marrón oscuro. Enditos y labio de color marrón con contornos pálidos. Patas delgadas, par trasero muy largo, tibias I y II con 3 espinas subiguales y un par de espinas cortas en la parte distal, patas de color marrón oscuro con manchas negras, que dan la apariencia de anillos a lo ancho de la pata. Parte dorsal del opistosoma marcado con pequeñas manchas negras y grises, vientre gris claro a oscuro. Los ojos anteriores subiguales, ojos

posteromedios más separados entre sí que los ojos anterolaterales. La pieza transversal del epiginio ocupa aproximadamente la mitad de la longitud total (Fig. 9). El campo medio del epiginio se amplía hacia delante, con la porción más estrecha en la parte media, con un promedio de 0.14 mm (Fig. 9A). La pieza transversal tiene una longitud de 0.47 mm (Fig. 9A). Los escleritos de pieza transversal, conforman una media luna, con canales a cada lado, estos canales son similares a los presentados en *P. atromedia*, pero más estrechos y con los bordes casi rectos en un ángulo de 45°. En vista ventral, los canales son más anchos que en la base (Fig. 9B). Las espermatecas de forma casi esférica se estrechan en su base (Fig. 9C), para conectarse a los conductos espermáticos. En vista dorsal, el epiginio tiene una estructura redonda situada en la parte media de los conductos espermáticos, que parece ser una serie de micro-conductos (MD en la Fig. 9C).

Macho (*paratipo*): longitud total de 4.35 mm., longitud del caparazón 2.33 mm., ancho del caparazón 1.82 mm. Coloración y forma del cuerpo similar al de la hembra. Pedipalpo del macho con un conductor pequeño y truncado, émbolo largo y delgado que se extiende a través del bulbo (Fig. 10) con una punta curva y truncada, el esclerito medio, la apófisis media y la terminal muy similar a la que se presenta en *P. sierra* y *P. atromedia* (Fig. 10).

Variación fenotípica

Las hembras tienen una longitud corporal promedio de 7.22 ± 0.77 mm., longitud del caparazón, con una media de 3.04 ± 0.33 mm.; las variaciones del epiginio (Cuadro XIV) mostraron lo siguiente: MF con una longitud media de $0,14 \pm 0.01$ mm.; EPL 0.50

± 0.07 mm. y EPW 0.47 ± 0.55 mm. Los escleritos del epiginio varían en el grado de esclerosis y, a veces son oscuros o transparentes. Los machos tienen una longitud corporal promedio de 4.91 ± 0.51 mm. Longitud del caparazón, con una media de 2.50 ± 0.19 mm., ancho de 2.04 ± 0.20 mm. Las variaciones en los pedipalpos de los machos en algunas mediciones son: TP de 0.57 ± 0.06 mm., FP 0.94 ± 0.11 mm., BT 0.86 ± 0.05 mm (Cuadro XV). Por último, la gama de coloraciones del cuerpo es de color amarillo pálido a marrón rojizo en las hembras, los machos son más oscuros que las hembras, principalmente en la zona ocular.

Historia Natural

Pardosa sura aparentemente ocurre desde Oregon, parte noreste de California, Utah, Colorado, Arizona, Texas, en EE.UU., y en México se distribuye desde Chihuahua hasta Veracruz con excepción del noroeste (Sonora, Sinaloa y la península de Baja California, Fig. 2). La preferencia de hábitat de esta especie es similar al de otras especies del grupo *lapidicina*. Los organismos de esta especie son diurnos y prefieren el borde rocoso de los ríos y arroyos, donde a menudo se recolectan manualmente (Lowrie 1973).

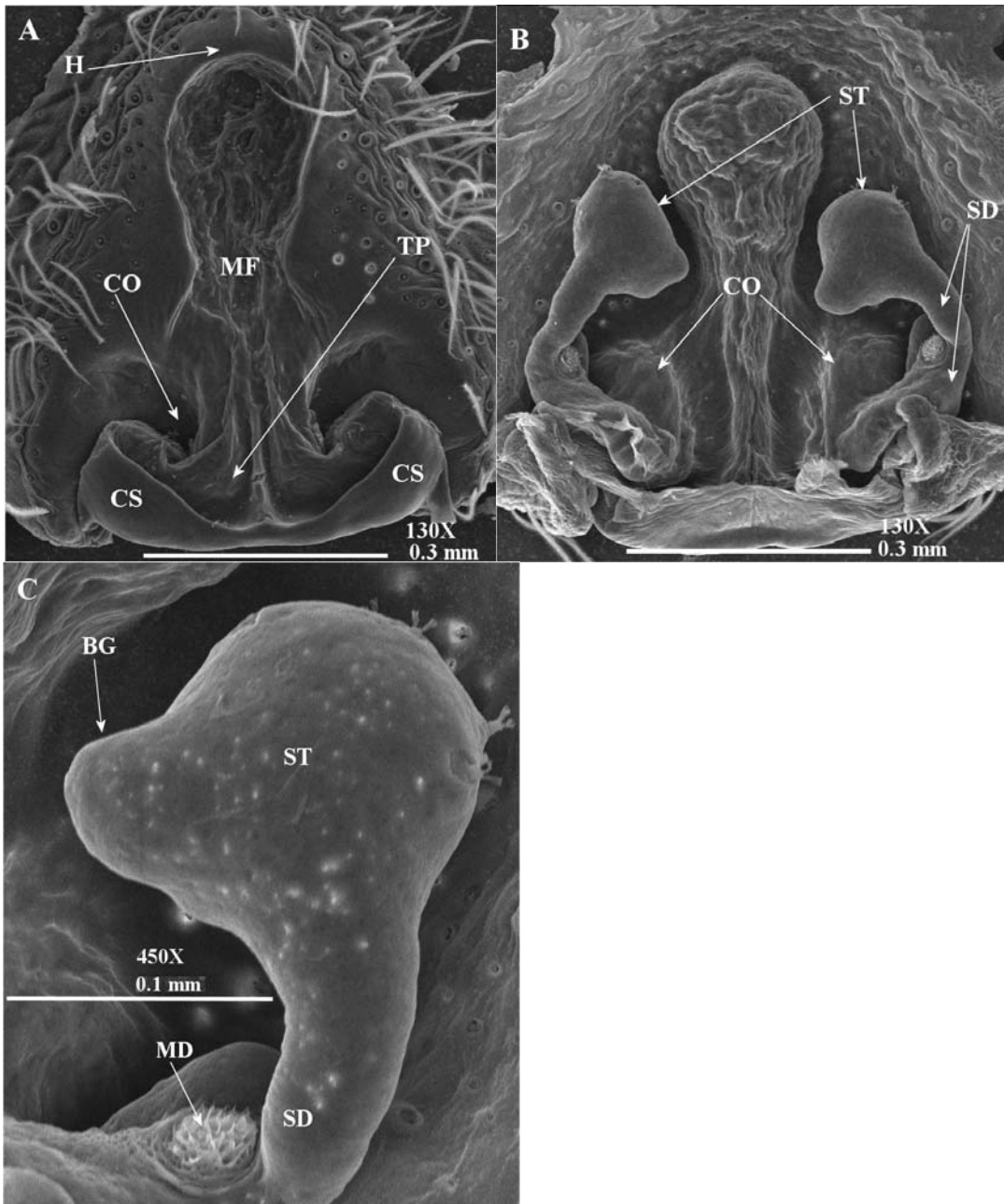


Figura 9 **A** Epiginio en vista ventral de *Pardosa sura*. $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: H, caperuza en posición anterior; MF, campo medio; CO, orificios copulatorios; TP, pieza transversal; CS, escleritos laterales. **B.** epiginio, vista dorsal, $\times 130$. Escala = 0.3 mm.: ST, espermatecas; SD, conductos copulatorios; CO, orificios copulatorios. **C.** Espermateca, vista dorsal, $\times 450$. Escala = 0.1 mm.: BG, bulbo de la espermateca; MD, microductos.

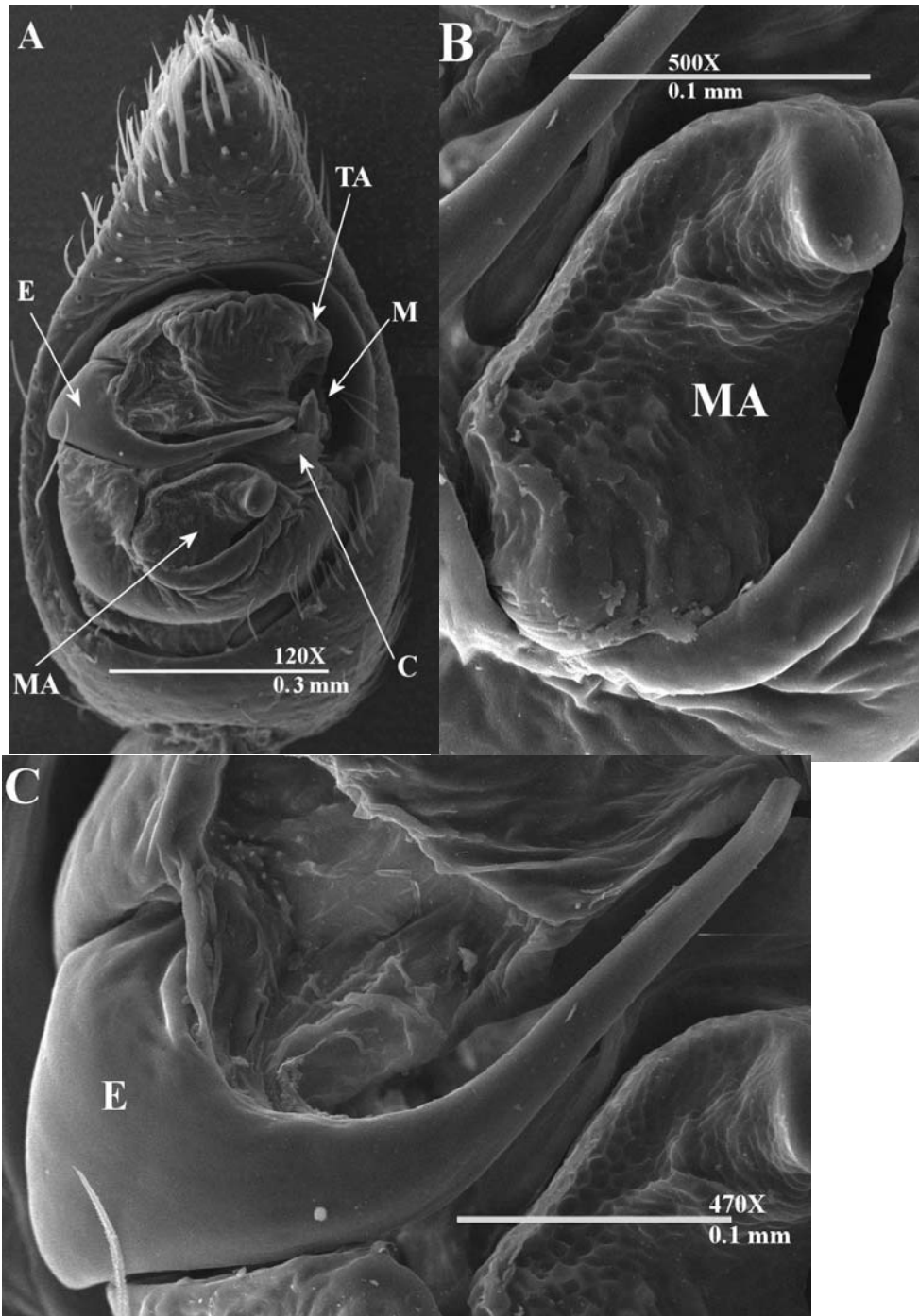


Figura 10 A Pedipalpo del macho en vista ventral de *Pardosa sura*. $\times 120$. Escala = 0.3 mm.: E, émbolo; MA, apófisis media; TA, apófisis terminal; M, esclerito accesorio medio; C, conductor. B. acercamiento de la apófisis media, $\times 500$. Escala = 0.1 mm. C. acercamiento del émbolo, $\times 470$. Escala = 0.1 mm.

VII.1.1 Morfología del complejo de especies

Un total de 20 ejemplares, 10 hembras y 10 machos por taxa fueron medidos y analizados. Los distintos caracteres somáticos (Cuadros XIV y XV) para ambos sexos, resultaron inútiles para separar a las especies, ya que la mayoría de ellos muestran un amplio solape. *Pardosa sura* mostró la mayor variación en todas las mediciones, solapándose con los intervalos en talla de *P. sierra* y *P. atromedia*, las cuales mostraron también solape entre sí ($n = 30$, $F = 4.98$ $P < 0.05$) (Cuadros XIV y XV). Respecto a los genitales, se registraron diferencias entre las hembras de las tres especies (*P. sura*, *P. sierra* y *P. atromedia*), sin embargo estas diferencias fueron de forma, no en las medidas lineales. Por su parte los pedipalpos de los machos observaron medidas muy similares entre las especies, principalmente en el tamaño del bulbo (Cuadro XV), así como en la distribución y forma de sus escleritos, otras ligeras diferencias fueron detectadas en la forma de la apófisis media, apófisis terminal y el émbolo. Aparentemente, el único esclerito que no mostró una variación entre las especies fue el esclerito accesorio medio (Figs. 6B, 8B y 10B).

Cuadro XIV Caracteres somáticos medidos en milímetros en ejemplares hembras de las diferentes especies que componen actualmente a *Pardosa sierra*.

	<i>Pardosa sierra</i> n = 10		<i>Pardosa atromedia</i> n = 10		<i>Pardosa sura</i> n = 10	
	Media ± DS	Min. -Máx.	Media ± DS	Min.-Max	Media ± DS	Min.-Max
Longitud total	7.87±0.52	7.08–8.63	6.81±0.64	6.00–7.50	7.22±0.77	5.58–8.25
Largo del caparazón	2.96±0.25	2.48–3.25	2.93±0.19	2.48–3.25	3.04±0.33	2.58–3.55
Ancho del caparazón	2.52±0.21	2.24–2.85	2.51±0.17	2.27–2.90	2.56±0.34	2.09–3.15
Ancho del esternón	1.43±0.10	1.29–1.57	1.42±0.09	1.27–1.57	1.40±0.12	1.14–1.61
Largo del esternón	1.57±0.11	1.33–1.69	1.55±0.09	1.37–1.71	1.53±0.13	1.27–1.76
Distancia entre OPM	0.96±0.04	0.86–1.02	1.00±0.08	0.86–1.10	1.05±0.10	0.88–1.18
Distancia entre OPL	1.29±0.08	1.14–1.39	1.36±0.10	1.18–1.47	1.39±0.14	1.18–1.59
Longitud CAO	0.96±0.06	0.84–1.06	1.00±0.08	0.86–1.12	1.05±0.10	0.90–1.18
Fémur I	2.93±0.24	2.50–3.30	3.00±0.16	2.70–3.20	2.80±3.20	2.21–0.34
Fémur II	2.89±0.28	2.45–3.35	2.95±0.15	2.65–3.15	2.74±0.33	2.18–3.15
Tibia I	2.59±0.22	2.20–2.90	2.69±0.18	2.40–2.90	2.51±3.35	1.82–0.44
Tibia III	2.30±0.18	2.00–2.55	2.45±0.14	2.20–2.60	2.51±0.25	2.27–3.10
Tarso I	1.15±0.07	1.04–1.24	1.15±0.06	1.02–1.24	1.07±0.10	0.90–1.29
Trocánter IV	0.52±0.04	0.49–0.59	0.58±0.03	0.53–0.63	0.55±0.07	0.45–0.65
Largo del epiginio	0.39±0.06	0.33–0.55	0.51±0.04	0.41–0.55	0.50±0.07	0.39–0.61
Ancho del epiginio	0.39±0.03	0.33–0.47	0.49±0.04	0.43–0.53	0.47±0.55	0.41–0.04
Campo medio	0.12±0.02	0.10–0.16	0.13±0.01	0.12–0.16	0.14±0.03	0.10–0.18

Cuadro XV Caracteres somáticos medidos en milímetros en ejemplares machos de las diferentes especies que componen actualmente a *Pardosa sierra*.

	<i>Pardosa sierra</i> n = 10		<i>Pardosa atromedia</i> n = 10		<i>Pardosa sura</i> n = 10	
	Media ± DS	Min. -Max.	Media ± DS	Min.-Max	Media ± DS	Min.-Max
Longitud total	4.72±0.32	4.25–5.33	5.57±0.22	5.33–5.83	4.91±0.51	4.35–5.50
Largo del caparazón	2.40±0.14	2.18–2.64	2.62±0.22	2.30–2.88	2.50±0.19	2.33–2.73
Ancho del caparazón	1.97±0.13	1.76–2.18	2.21±0.14	2.09–2.36	2.04±0.20	1.82–2.27
Ancho del esternón	1.15±0.08	1.04–1.24	1.19±0.07	1.12–1.27	1.11±0.08	1.02–1.22
Letargo del esternón	1.26±0.07	1.18–1.37	1.36±0.03	1.31–1.39	1.31±0.11	1.18–1.47
Distancia entre OPM	0.80±0.03	0.75–0.86	0.97±0.03	0.94–1.02	0.86±0.05	0.80–0.94
Distancia entre OPL	1.06±0.05	0.94–1.14	1.25±0.06	1.18–1.33	1.17±0.07	1.08–1.24
Longitud CAO	0.78±0.03	0.75–0.84	0.94±0.01	0.92–0.94	0.85±0.06	0.80–0.94
Fémur I	2.20±0.18	1.91–2.52	2.73±0.20	2.55–3.00	2.37±0.25	2.10–2.70
Fémur II	2.14±0.16	1.85–2.45	2.67±0.17	2.50–2.85	2.31±0.23	2.05–2.60
Tibia I	2.22±3.20	1.76–0.48	2.55±0.38	2.05–3.10	2.14±0.19	2.00–2.45
Tibia III	2.13±0.47	1.57–2.80	2.41±0.23	2.15–2.75	1.95±0.19	1.80–2.25
Tarso I	0.95±0.03	0.90–1.00	1.10±0.04	1.06–1.14	0.99±0.09	0.86–1.12
Trocánter IV	0.41±0.03	0.37–0.45	0.49±0.00	0.49–0.49	0.44±0.05	0.39–0.49
TP	0.50±0.06	0.41–0.63	0.59±0.02	0.57–0.63	0.57±0.06	0.49–0.65
FP	0.87±1.02	0.82–0.06	0.99±0.06	0.92–1.06	0.94±0.11	0.82–1.08
BT	0.80±0.07	0.73–0.94	0.99±0.05	0.94–1.06	0.86±0.05	0.82–0.94
Bx	0.48±0.07	0.41–0.65	0.60±0.02	0.59–0.63	0.53±0.04	0.49–0.59
AB	0.33±0.02	0.29–0.37	0.39±0.04	0.35–0.43	0.33±0.02	0.29–0.35

VII.1.2 Datos moleculares

La composición nucleotídica entre las especies de *Pardosa* fue homogénea (Cuadro XVI). Se detectaron 548 sitios invariables, y 82 variables, de los cuales 75 son parsimoniosamente informativos y siete son sitios únicos de cambio. Asimismo, como se observa en otras arañas (Astrin *et al.* 2006), existe un sesgo de A + T en la tercera posición de codón (Cuadro XVI) en el grupo *lapidicina*. Estos resultados, en general informan que este fragmento de ADN no presenta saturación, ya que se registraron pocas transversiones, siendo las transiciones las de mayor número, casi en su totalidad en la tercera posición de los codones y sólo un cambio en la secuencia de aminoácidos que corresponde con una transversión (A/G) en la posición 497, en la segunda posición del codón AAG (K/S) de dos especies: *P. steva* y *P. atromedia*. Los datos anteriores demuestran que la secuencia del fragmento del COI del ADN contiene información valiosa para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas al interior del género *Pardosa*.

Cuadro XVI Composición de bases de un fragmento del gen COI. Los valores medios se dan junto con la desviación estándar para ilustrar el grado de dispersión estadística.

Especies	1er+ 2do				3er			
	T	C	A	G	T	C	A	G
<i>P. valens</i>	36.9047 (± 0.0000)	17.3809 (± 0.0000)	21.9047 (± 0.0000)	23.8095 (± 0.0000)	53.3333 (± 0.0000)	2.3809 (± 0.0000)	38.0952 (± 0.0000)	6.1904 (± 0.0000)
<i>P. steva</i>	36.6667 (± 0.0000)	17.6190 (± 0.0000)	21.6667 (± 0.0000)	24.0476 (± 0.0000)	55.7142 (± 0.0000)	0.4761 (± 0.0000)	39.2857 (± 0.3367)	4.5238 (± 0.3367)
<i>P. sura</i>	36.9047 (± 0.0000)	17.3809 (± 0.0000)	21.9047 (± 0.0000)	23.8095 (± 0.0000)	54.2857 (± 0.0000)	0.9523 (± 0.0000)	38.3333 (± 0.3367)	6.4285 (± 0.3367)
<i>P. atromedia</i>	36.6667 (± 0.0000)	17.6190 (± 0.0000)	21.6667 (± 0.0000)	24.0476 (± 0.0000)	55.7142 (± 0.0000)	0.4761 (± 0.0000)	33.8095 (± 0.6734)	10.0000 (± 0.6734)
<i>P. vadosa</i>	36.6667 (± 0.0000)	17.6190 (± 0.0000)	21.9047 (± 0.0000)	23.8095 (± 0.0000)	53.0952 (± 0.3366)	0.0000 (± 0.0000)	36.6667 (± 0.6734)	10.2380 (± 0.3367)
<i>P. sierra</i>	36.9047 (± 0.0000)	17.3809 (± 0.0000)	21.9047 (± 0.0000)	23.8095 (± 0.0000)	54.5238 (± 0.3366)	1.4285 (± 0.0000)	34.0476 (± 0.3367)	10.0000 (± 0.0000)
<i>P. astrigera</i>	36.8976 (± 0.0408)	17.3880 (± 0.0408)	22.1499 (± 0.0408)	23.5643 (± 0.0408)	54.2217 (± 0.2012)	0.0923 (± 0.2012)	34.0938 (± 0.6634)	11.5920 (± 0.6503)

La prueba de Shapiro-Wilk ($W = 0.9496$, $P < 0.0005$) rechazó la hipótesis de normalidad para los datos de distancias genéticas no ponderadas obtenidas a partir de secuencias de un fragmento del COI del ADNmt, por lo que se usaron métodos no paramétricos para la comparación de las distancias genéticas dentro y entre categorías (mediana e intercuartiles). Las distancias entre los individuos se organizaron en dos categorías: dentro de las especies y entre las especies. No se encontraron haplotipos compartidos entre los taxones (especies). La divergencia genética para la comparación al interior de cualquier especie van de 0.16 a 1%, (máximo de 2% para *P. astrigera*) menor que aquella que existe entre individuos de diferentes especies que va desde 2.46 hasta 6.9 (Cuadros XVII y XVIII). Las mayores diferencias se observaron con las secuencias de *P. astrigera*, taxón que fue elegido por presentar un mayor número de haplotipos disponibles en el GenBank (Cuadro XVII y Fig. 11).

Cuadro XVII Valores de distancias no ponderadas (p -distance) en porcentaje para cada categoría: Mediana (valor intercuartil), observaciones máximas y mínimas comparadas con la media y la desviación estándar.

	Distancias entre especies (%)	Distancias dentro de especies (%)
Mediana	7.29 (6.18)	0.63 (0.16)
Min.–Max.	2.46–8.15	0.0–2.06
Media	7.29 (0.70)	0.65 (0.35)

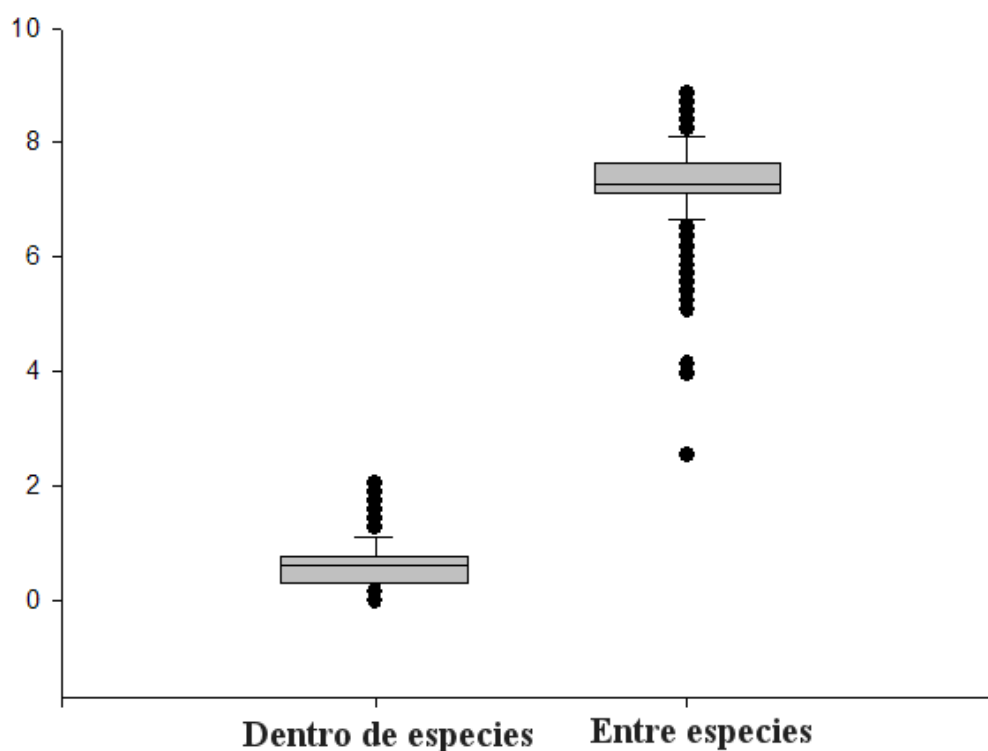


Figura 11 Diagrama de cajas y bigotes de las distancias genéticas no ponderadas (p -distancias) para un fragmento del gen COI del ADNmt. Las cajas indican el intervalo de intercuartiles (IQR: Entre el mayor [Q3] y el menor [Q1] cuartil). Las barras negras en medio de las cajas indican la mediana en cada categoría, los bigotes indican valores entre $1.5\times$ del IQR o debajo de Q1 o $1.5\times$ sobre Q3. Los ‘puntos’ fuera de las cajas indican valores extremos: por debajo $1.5\times$ y por arriba de $3\times$ del valor de IQR.

Asimismo, se observó que las arañas del grupo *lapidicina* tienen un rango de divergencia genética entre especies de 2.46 a 6.90% y dentro de las especies de 0.0 a 2.06% (Cuadro XVIII).

La diferencia entre categorías (intraespecífica vs. interespecíficas) fue de 0.4 (2.46-2.06 = 0.4), indicando que no hay superposición entre éstas. Además, los diagramas de cajas y bigotes usando distancias p no ponderadas también permiten visualizar con más detalle las diferencias entre los niveles de variación entre las categorías intra e interespecíficas (Fig. 11).

Cuadro XVIII Matriz de distancias p (distancias no corregidas) entre especies; las distancias genéticas en la categoría intraespecífica se encuentran en la diagonal; los valores interespecíficos se encuentran por debajo de la diagonal.

	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>Pardosa valens</i>	0.0032						
2. <i>P. steva</i>	0.0246	0.0016					
3. <i>P. vadosa</i>	0.0571	0.0500	0.0032				
4. <i>P. sura</i>	0.0397	0.0405	0.0593	0.0016			
5. <i>P. atromedia</i>	0.0635	0.0516	0.0683	0.0582	0.0032		
6. <i>P. sierra</i>	0.0643	0.0571	0.0659	0.0526	0.0690	0.0016	
7. <i>P. astrigera</i>	0.0766	0.0655	0.0719	0.0815	0.0733	0.0738	0.0065

Por último, la topología del dendograma de especies empleando el método de NJ COI (Fig. 12), muestra que *P. astrigera* forma un clado basal bien definido del resto de las especies, siendo todas estas homogéneas al interior de sí pero divergentes entre especies. (Fig. 12; véase el Cuadro XVIII de los resultados cuantitativos). Las diferencias intraespecíficas fueron muy pequeñas (Fig. 12 y Cuadro XVIII) en todos los casos, pero conspicuas en los valores interespecíficos (Fig. 12 y Cuadro XVIII). Esto,

en contraste con la ausencia de variación en las características morfológicas somáticas y la casi indetectable diferenciación presente en los machos, pero marcada en los genitales de las hembras.

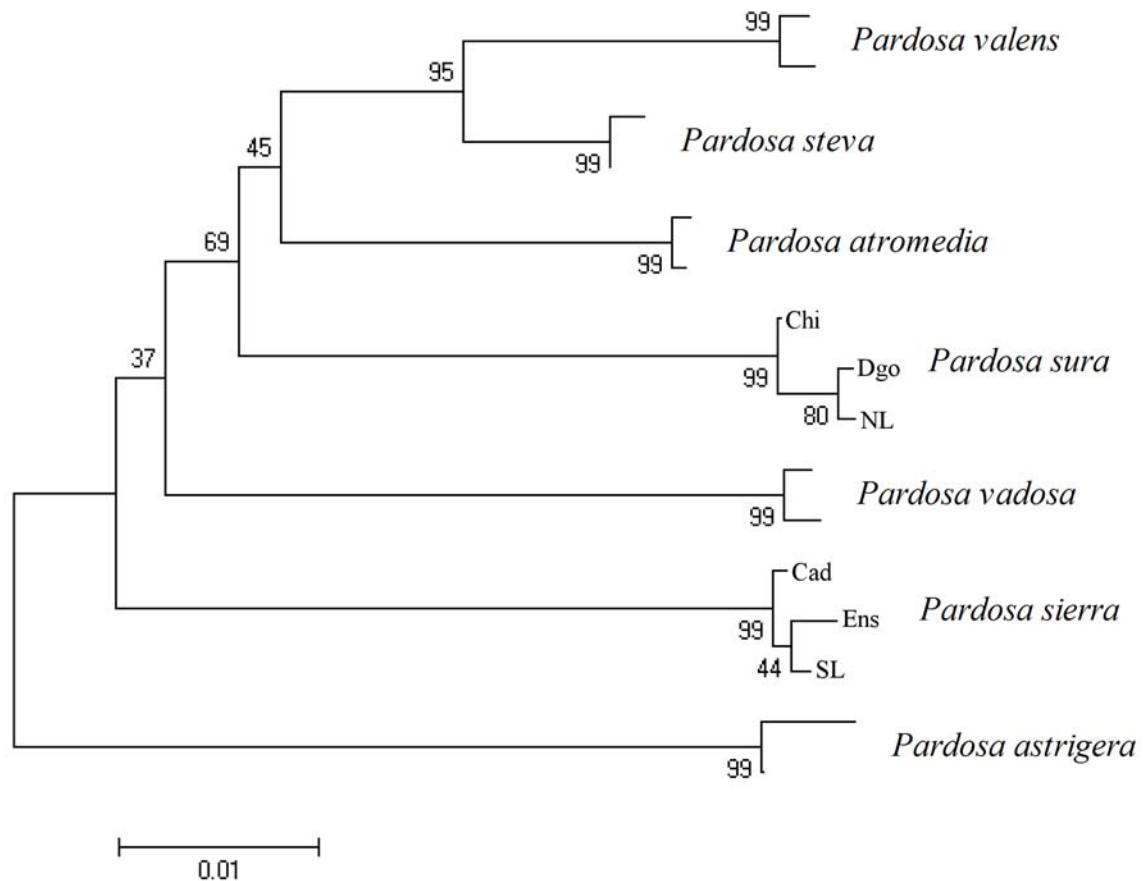


Figura 12 Topología del dendrograma elaborado mediante el algoritmo Neighbor-Joining (distancias genéticas no ponderadas p ; 10,000 replicas de optimización mediante bootstrap) de un fragmento del COI ADNmt de algunas especies pertenecientes al grupo *lapidicina*. Los números en los nodos indican el soporte estadístico de las ramas. Chi, Chihuahua; Dgo., Durango; NL, Nuevo León; Cad, Cadejé; SL, Sierra de la Laguna; Ens, Ensenada.

VII.2 Obtención de marcadores tipo microsatélite

VII.2.1 Amplificación cruzada

Los diferentes ensayos realizados para la amplificación cruzada de los tres loci microsatélites de *Dolomedes plantarius*, no permitieron obtener resultados consistentes por la falta de productos amplificados al variar los parámetros de temperatura de hibridación de los iniciadores y la concentración de cloruro de magnesio, por lo que no fue posible la transferencia de estos a *P. sierra*. Por ésta razón se decidió generar los microsatélites especie específicos a partir del genoma de *P. sierra*.

VII.2.2 Generación de marcadores microsatélite de *Pardosa sierra*

En total se obtuvieron 199 clonas, de los que se emplearon 84 clonas positivas que fueron secuenciadas. De estas, sólo 24 secuencias fueron usadas para el diseño de iniciadores de loci microsatélite debido a que presentaron una región de ADN adecuadas para el diseño de iniciadores.

La eficiencia en la obtención de microsatélites a partir del procedimiento empleado se midió en términos del número de loci obtenidos, a partir del número total de clonas positivas por tipo de sonda empleada. La eficiencia para las sondas de tipo dinucleótidos fue de 13%, mientras que para las sondas de tetranucleótido fue del 5% (Cuadro XIX).

Cuadro XIX Rendimiento de la genoteca en *P. sierra*, C.P., clonas positivas; C.I., clonas positivas con inserto; C.S., clonas secuenciadas; C.S., clonas secuenciadas sin inserto; C.S.D., clonas secuenciadas con inserto con motivo repetitivo sin diseño de iniciadores; C.S.+, clonas positivas con motivos repetitivos y con diseño de iniciadores.

Genoteca	Sondas	C.P.	C.I.	C. S.	C. S. -	C.S.D	C.S.+
1	(GACA) ₆	37	25	12	10	2	1
2	(GT) ₁₂ y (GA) ₁₂	162	90	72	43	31	24

De los 25 pares de iniciadores microsatélite; ocho fueron inespecíficos por lo que no presentaron productos de amplificación; seis presentaron inconsistencias en el número de muestras amplificadas; 11 de ellos fueron consistentes en las seis muestras empleada, mostrando polimorfismo, finalmente, uno fue monomórfico. Los 10 pares de iniciadores polimórficos (Cuadro XX) fueron seleccionados para probarse en una muestra de 26 individuos de la población de Cadejé.

VII.2.3 Variación de microsatélites y desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW)

Todos los loci fueron polimórficos con tallas alélicas que van de ocho a 22, la heterocigosidad observada osciló entre 0.480 a 0.908 (Cuadro XX). La riqueza alélica y la heterocigosidad observados fueron similares a los encontrados en las arañas *Pholcus phalangioides* (Rutten *et al.* 2001), *Plantarius fimbriatus* (Ji *et al.* 2004) y *Paratrechalea galianoae* (Caetano *et al.* 2009). La heterocigosidad esperada, el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) y el desequilibrio de ligamiento gamético entre pares de iniciadores (Excoffier *et al.* 2005) mostró que la mayoría de los loci se encontraron en HWE, sin embargo los loci *Psier21* y *Psier29* presentaron ligeras desviaciones al HWE. Para corroborar esto, se aplicó la corrección de Bonferroni para

pruebas múltiples, por lo que al final, sólo el locus *Psier29* siguió presentando una desviación significativa ($P < 0.001$), posiblemente debido a un déficit de heterocigotos (Cuadro XX). Se detectó aproximadamente tres veces más homocigotos que los esperados, por lo que la probabilidad de presencia de alelos nulos es significativa ($P < 0.05$). Dado que sólo este locus mostró déficit de heterocigotos, la hipótesis más probable es que el déficit de heterocigotos se deba a la presencia de alelos nulos.

La prueba exacta de desequilibrio de ligamiento gamético fue significativa (después de la corrección de Bonferroni), solo para el par de loci *Psier51/Psier57* (Cuadro XXI).

La probabilidad de exclusión del conjunto de loci fue 0.999 según las estimaciones calculadas empleando Cervus 2.0 (Marshall *et al.* 1998).

Cuadro XX Características de 10 loci microsatélite diseñados a partir del genoma de *Pardeasa sierra*; Nombre del locus; Secuencia del iniciador, Motivo de repetición; Temperatura de alineamiento (Ta) en grados Celsius (°C); MgCl₂ Concentración en milimolar (mM); (CZ) tamaño de la clona; Intervalo del tamaño de alelos; número de alelos (N_a); tamaño de muestra (n); heterocigocidad esperada (H_e) y observada (H_o); Número de acceso en GeneBank.

Nombre	Secuencia del iniciador (5'-3')	Motivo repetitivo	Ta °C	MgCl ₂ mM	CZ	AR	N _a	H _o	H _e	Número de acceso
Ps16 ⁰⁴	F:TATTTCTGGGGTGTTT R:ATCCCTCCCACTATCTC	(GT) _n CT(GT) _n	66	1.5	150	144-160	15/26	0.885	0.907	FJ975139
Ps16 ¹⁷	F:GTGAGTGAGGAGGAGAGA R:AGGTTGATTATGTGTTCC	(GA) _n	66	1.5	236	212-256	11/25	0.800	0.849	FJ975140
Ps16 ¹⁹	F:GAACGACCGTGTAAANA R:TATATCAACCAGCCAAAC	(CA) _n	58	2.0	120	112-144	14/24	0.875	0.913	EU580603
Ps16 ²⁰	F:CCATGTGACAGAACAGAAA R:ATGTGATGAAATGATATGG	(GA) _n GT(GA) _n	62	2.0	170	130-172	17/25	0.840	0.936	EU580604
Ps16 ²¹	F:TCCATTCAATCAGATGTAAA R:ACCTATGGGGATATATCT	(CT) _n	62	2.0	90	74-100	8/25	0.480	0.708	EU580605
Ps16 ²⁹	F:TTGATTTGAOTTATACACGG R:GAACCTTGAGGACACTCCTT	(CT) _n G(CT) _n	64	1.5	212	204-300	22/24	0.708	0.940	EU580606
Ps16 ⁴⁰	F:CAACCATCTAAACACACACA R:ATCGCCACTCTCAGGATTAAC	(GT) _n	58	2.0	125	162-208	17/24	0.875	0.929	EU580607
Ps16 ⁴⁶	F:CGCTTCAACGTATAACATTC R:GGTGCAGTTTAAAGGTAGAGG	(CT) _n ² (CT) _n	58	2.0	158	132-198	19/23	0.870	0.930	FJ975141
Ps16 ⁵¹	F:AAAAGTTTGAACACCTGTAA R:GCAATCAAGAAAATCAACA	(CT) _n	66	2.5	254	222-274	13/22	0.864	0.908	FJ975142
Ps16 ⁵⁷	F:CATTTGTAACATTCGTAGGG R:CCGATATGCTAATGCGATG	(TATA) _n G _n	64	2.5	226	168-208	12/22	0.909	0.908	EU580608

Cuadro XXI Comparación del desequilibrio genotípico de ligamiento por pares de locus en *P. sierra* ($P < 0.0011$ probabilidad con corrección de Bonferroni). * Valores significativos.

Locus	Locus	<i>P</i>	Locus	Locus	<i>P</i>
Psier04	Psier17	1	Psier19	Psier46	0.029
Psier04	Psier19	1	Psier20	Psier46	1
Psier17	Psier19	0.293	Psier21	Psier46	1
Psier04	Psier20	1	Psier29	Psier46	1
Psier17	Psier20	1	Psier40	Psier46	1
Psier19	Psier20	1	Psier04	Psier51	1
Psier04	Psier21	0.437	Psier17	Psier51	0.04
Psier17	Psier21	0.777	Psier19	Psier51	0.298
Psier19	Psier21	1	Psier20	Psier51	1
Psier20	Psier21	1	Psier21	Psier51	1
Psier04	Psier29	1	Psier29	Psier51	1
Psier17	Psier29	1	Psier40	Psier51	1
Psier19	Psier29	1	Psier46	Psier51	0.027
Psier20	Psier29	1	Psier04	Psier57	1
Psier21	Psier29	1	Psier17	Psier57	1
Psier04	Psier40	1	Psier19	Psier57	0.173
Psier17	Psier40	1	Psier20	Psier57	1
Psier19	Psier40	1	Psier21	Psier57	0.541
Psier20	Psier40	1	Psier29	Psier57	1
Psier21	Psier40	1	Psier40	Psier57	1
Psier29	Psier40	0.018	Psier46	Psier57	1
Psier04	Psier46	1	Psier51	Psier57	0*
Psier17	Psier46	0.064			

VII.3 Estructura Genética de poblaciones de *P. sierra*

VII.3.1 Variación intrapoblacional

Se conformó una base de datos de 296 individuos genotificados con cinco marcadores microsatélite.

VII.3.1.1 Alelos nulos

El análisis de alelos nulos se realizó en los programas MicroChecker y FreeNA (Cuadro XXII), estos mostraron que los loci empleados presentan alelos nulos en muy baja proporción por lo que pueden ser ignorados para realizar los análisis posteriores.

Cuadro XXII Frecuencia de alelos nulos por población para cinco marcadores tipo microsatélite probados en siete poblaciones de *P. sierra* en la Península de Baja California Sur. Nombre del locus; frecuencia de los probables alelos nulo (ANF), Acrónimo de la población (Población).

Locus	Población	ANF	Locus	Población	ANF
Psier04	SLL	0.05934	Psier20	SLL	0.01598
Psier04	NOV	0.02396	Psier20	NOV	0.08378
Psier04	PSP	0.05251	Psier20	PSP	0.04608
Psier04	SIS	0.04236	Psier20	SIS	0.21936
Psier04	CAD	0.04823	Psier20	CAD	0.0433
Psier04	ROS	0.10471	Psier20	ROS	0.10478
Psier04	ENS	0.06107	Psier20	ENS	0.01056
Psier17	SLL	0.02443	Psier21	SLL	0.05768
Psier17	NOV	0.03436	Psier21	NOV	0.04472
Psier17	PSP	0.07322	Psier21	PSP	0.04704
Psier17	SIS	0.13292	Psier21	SIS	0.09289
Psier17	CAD	0.04415	Psier21	CAD	0.0248
Psier17	ROS	0.00033	Psier21	ROS	0.04914
Psier17	ENS	0.04914	Psier21	ENS	0.05293
Psier19	SLL	0.0017			
Psier19	NOV	0.03116			
Psier19	PSP	0.05505			
Psier19	SIS	0.05414			
Psier19	CAD	0.02395			
Psier19	ROS	0.04922			
Psier19	ENS	0.02356			

VII.3.1.2 Diversidad genética

El número de alelos por locus (N_a) varió de 7.2 (ROS) a 15 (PSP), el número de alelos efectivos (N_e) varió entre 5.66 (ROS) y 8.42 (SLL), la heterocigosidad observada (H_o) registró valores entre 0.689 (ROS) y 0.814 (SLL), la heterocigosidad esperada (H_e) se encontró entre 0.805 (SIS) y 0.852 (SLL), los valores del índice de fijación (F) variaron entre 0.047 (SLL) y 0.256 (SIS). La riqueza alélica varió de 6.97 (ROS) a 8.33 (CAD) (Cuadro XXIII).

En la Fig. 13 se puede apreciar las diferencias entre los distintos descriptores de la diversidad genética en cada población, estos son muy similares entre localidades. Se remarca que debido a la diferencia en la talla de muestreo, la localidad de El Rosarito (ROS) presentó los valores más bajos en los parámetros de diversidad genética, excepto para la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e).

Cuadro XXIII Variabilidad genética estimada mediante 5 loci microsatélite en *P. sierra*. Tamaño de muestra (N), número de alelos (N_a), alelos efectivos (N_e), riqueza alélica (R), Heterocigocidad esperada no sesgada (H_e), Heterocigocidad observada (H_o) e índice de fijación (F) por población en oasis de la Península de Baja California. * En desequilibrio de HW después del ajuste secuencial de Bonferroni con $P < 0.0014$ (Rice 1989).

Localidad	Parámetro	Locus					Promedio
		Psier04	Psier17	Psier19	Psier20	Psier21	
SLL	N	51	52	51	52	52	51.6
	N_a	15	16	15	18	6	14
	N_e	6.305	11.605	9.094	12.180	2.938	8.4245
	R	7.839	10.137	8.749	10.563	4.015	8.2606
	H_o	0.7647	0.8846	0.8824	0.9038	0.6346	0.81402
	H_e	0.8497	0.9227	0.8989	0.9268	0.666	0.85282
	F	0.101	0.042	0.019	0.025	0.048	0.047
NOV	N	52	52	51	52	52	51.8
	N_a	11	12	15	21	5	12.8
	N_e	6.811	6.524	10.081	14.898	3.069	8.2767
	R	7.527	7.286	9.382	11.598	4.08	7.9746
	H_o	0.8269	0.8077	0.8431	0.7692	0.6154	0.77246
	H_e	0.8615	0.8549	0.9097	0.9419	0.6807	0.84974
	F	0.04	0.056	0.074	0.185*	0.097	0.0904
PSP	N	51	51	52	52	52	51.6
	N_a	13	18	16	23	5	15
	N_e	6.695	6.872	9.182	13.453	3.152	7.8705517
	R	7.763	8.217	9.148	11.128	4.047	8.0606
	H_o	0.7647	0.7647	0.7692	0.8462	0.6538	0.75972
	H_e	0.8591	0.8629	0.8997	0.9347	0.6893	0.84914
	F	0.111	0.115	0.146	0.096	0.052	0.104
SIS	N	51	52	51	52	51	51.4
	N_a	12	14	13	20	6	13
	N_e	6.252	4.407	7.039	9.623	2.641	5.9925
	R	7.366	6.734	7.903	10.066	3.647	7.1432
	H_o	0.7647	0.5192	0.7647	0.4808	0.4706	0.6
	H_e	0.8484	0.7806	0.8664	0.9048	0.6275	0.8055
	F	0.1	0.337*	0.118	0.471*	0.252	0.2556

Cuadro XXIII Continuación.

Localidad	Parámetro	Locus					Promedio
		Psier04	Psier17	Psier19	Psier20	Psier21	
CAD	N	46	49	49	51	51	49.2
	N _a	12	14	15	19	9	13.8
	N _e	5.870	6.763	10.174	12.973	4.583	8.0725
	R	7.486	7.702	9.784	11.13	5.559	8.3322
	H _o	0.7609	0.7959	0.8571	0.8431	0.7451	0.8004
	H _e	0.8387	0.8609	0.911	0.9321	0.7896	0.8665
	F	0.094	0.076	0.06	0.096	0.057	0.0766
ROS	N	9	9	10	10	10	9.6
	N _a	5	7	8	12	4	7.2
	N _e	3.857	6.480	5.128	9.524	2.817	5.5612
	R	5	7	7.595	11.374	3.9	6.9738
	H _o	0.5556	0.8889	0.7	0.7	0.6	0.6889
	H _e	0.7843	0.8954	0.8474	0.9421	0.6789	0.8296
	F	0.304	0.008	0.182	0.267	0.122	0.1766
ENS	N	26	25	25	26	26	25.6
	N _a	8	10	10	15	4	9.4
	N _e	7.388	7.143	6.831	10.903	2.372	6.9273
	R	7.426	7.874	7.782	10.241	3.684	7.4014
	H _o	0.7692	0.8	0.84	0.8846	0.5769	0.77414
	H _e	0.8816	0.8776	0.871	0.9261	0.5897	0.8292
	F	0.13	0.09	0.036	0.046	0.022	0.0648

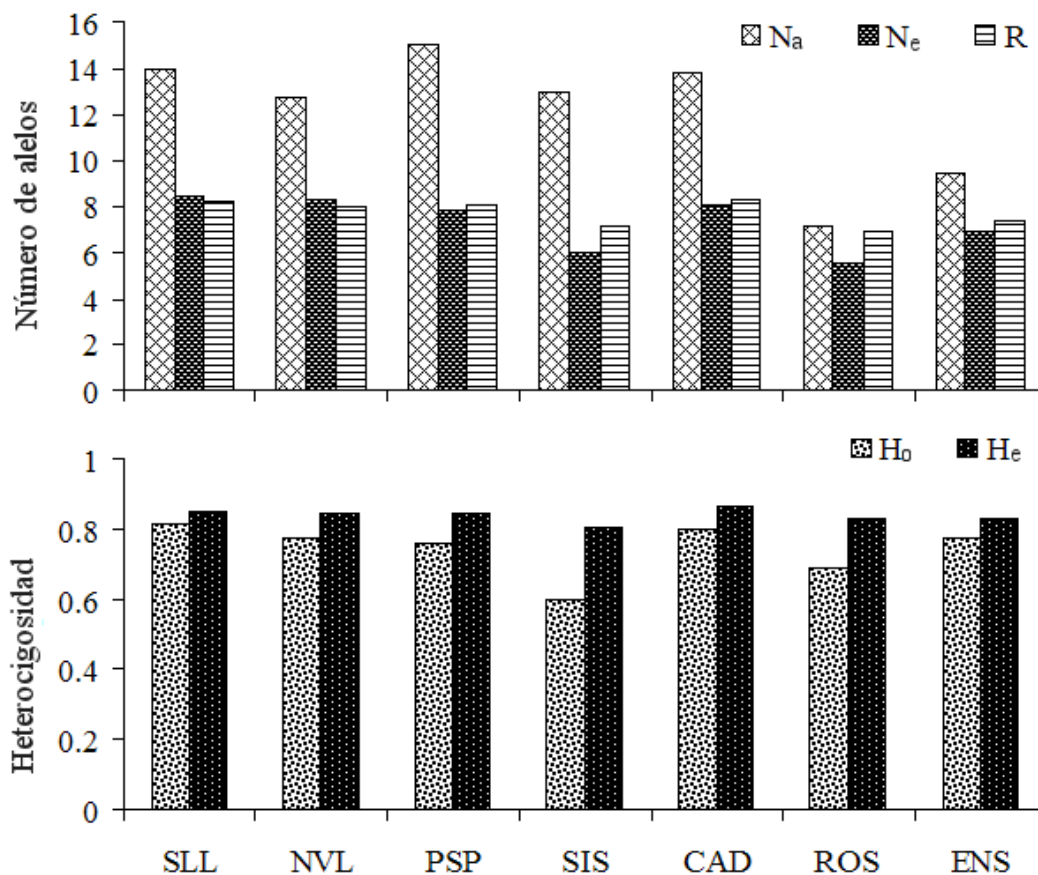


Figura 13 Valores promedio de número de alelos (N_a), alelos efectivos (N_e), riqueza alélica (R), heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada no sesgada (H_e) para las localidades de *P. sierra* en la Península de Baja California. Los acrónimos de las localidades son definidos en el Cuadro I.

VII.3.1.3 Frecuencias alélicas

El locus *Psier04*, presentó un total de 21 alelos considerando todas las localidades. De estos, 15 fueron registrados en la localidad Sierra de la Laguna (la más diversa), mientras solo se detectaron cinco para El Rosarito (la menos diversa). Se observaron 6 alelos privados, de los cuales tres se presentaron en la Sierra de la Laguna (176, 192 y 198 pares de bases, pb), siendo a su vez los de mayor tamaño; las otras localidades que contaron con alelos privados de este locus fueron San Pedro de la Presa (134 y 168 pb) y San Isidro con uno (190 pb) todos ellos en muy baja frecuencia (1%) (Apéndice 2).

El locus *Psier17*, presentó un total de 26 alelos, la localidad con un mayor número de alelos fue El Novillo (NOV) con 18, mientras que El Rosarito presentó el menor número de estos con siete. Se detectó la presencia de seis alelos privados distribuidos en cuatro poblaciones, de estas, la que presentó un mayor número de alelos exclusivos fue San Pedro de la Presa (224, 246 y 260 pb), mientras que las poblaciones Sierra de la Laguna con un alelo de 240 pb con una frecuencia del 12.5%, El Novillo (208 pb), y San Isidro (268 pb) sólo presentaron uno (Apéndice 2).

El locus *Psier19* presentó 21 alelos, de los cuales, 16 se encontraron en San Pedro de la Presa, mientras que nuevamente El Rosarito presentó el menor número de estos (ocho diferentes alelos). Se detectó la presencia de cuatro alelos exclusivos, tres de ellos se registraron en Sierra de la Laguna (142, 154 y 164 pb) con muy baja frecuencia (1%), mientras que el registrado para San Isidro (110 pb) con muy baja frecuencia (1.9%), resultando ser también el de menor tamaño de este locus (Apéndice 2).

Para el locus *Psier20*, se registraron 27 alelos en total, la población que presentó un mayor número de estos fue San Pedro de la Presa con 23, mientras que El Rosarito presentó 12. El número de alelos exclusivos fue de dos, uno de ellos se encontró en la localidad de San Isidro (176 pb) en baja frecuencia (1.9%), mientras que el otro se encontró en la localidad de Ensenada (198 pb) con frecuencia de 3.8% (Apéndice 2).

Finalmente, el locus *Psier21* resultó ser el locus menos diverso con 12 alelos, la población que mostró un mayor número de alelos fue Cadejé (nueve), mientras que las poblaciones con un menor número de alelos fueron Ensenada y El Rosarito (cuatro cada una), de estos alelos, cinco resultaron ser exclusivos, cuatro se registraron para Cadejé (74, 80, 84 y 98 pb), tres de ellos con muy baja frecuencia (1%), mientras que el 98

presentó una frecuencia mayor (5.9%), el otro alelo exclusivo se detectó en la localidad de San Isidro (106) con muy baja frecuencia 1% (Apéndice 2).

VII.3.4 Equilibrio Hardy-Weinberg

Los resultados de esta prueba por locus por población, mostraron que después de la corrección de Bonferroni (Rice 1989), sólo tres pruebas se desviaron significativamente del equilibrio (Cuadro XXIII). Una en la población de El Novillo (NOV) en el locus *Psier20* con $H_o = 0.7692$ y $H_e = 0.7692$, y dos en la localidad de San Isidro (SIS) en los loci *Psier17* ($H_o = 0.519$ y $H_e = 0.780$) y *Psier20* ($H_o = 0.480$ y $H_e = 0.904$). Estas desviaciones fueron ocasionadas por un déficit de heterocigotos y dado que la incidencia de alelos nulos fue extremadamente baja (no significativa). Respecto a las pruebas de desviaciones al EHW multilocus por población ninguna de estas fue significativa (Cuadro XXIII).

VII.3.5 Equilibrio de ligamiento gamético

Los resultados de la prueba de desequilibrio de ligamiento entre pares loci indicaron (Cuadro XXIV) que no existe ligamiento entre estos después del ajuste secuencias de Bonferroni (Rice 1989), $P < 0.00041$. Por lo que la información que aporta cada locus es independiente del resto de ellos.

Cuadro XXIV Valores de la prueba de desequilibrio de ligamiento por par de loci por población y su valor promedio en todas las poblaciones. Valores significativos después de la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples (Rice 1989) *, $P < 0.00014$.

Par de loci	Población							Promedio
	SLL	NVL	PSP	SIS	CAD	ROS	ENS	
Psier04-Psier17	0.3627	0.4834	0.9736	0.0476	1	1	1	0.4173
Psier04-Psier19	1	0.6611	0.1240	0.3679	1	1	1	0.5223
Psier04-Psier20	1	1	0.4369	0.3889	1	1	1	0.5841
Psier04-Psier21	0.3023	0.5286	0.5511	0.9921	0.8319	1	0.1604	0.7236
Psier17-Psier19	1	0.8731	0.5186	0.2676	0.1887	1	1	0.3511
Psier17-Psier20	1	0.0554	1	0.1053	0.2063	1	1	0.0463
Psier17-Psier21	0.6886	0.3031	0.6059	0.7507	0.3280	1	1	0.6749
Psier19-Psier20	0.3561	1	1	0.4044	1	1	1	0.5149
Psier19-Psier21	0.0997	0.1849	0.9186	0.9013	0.5073	1	0.5647	0.4481
Psier20-Psier21	0.9351	0.0031	0.3239	0.6571	0.4031	0.1141	1	0.1560

VII.3.6 Variación entre poblaciones

VII.3.6.1 Análisis Factorial de Correspondencia

Como un primer acercamiento a tratar de observar si existe estructura genética entre las poblaciones de *P. sierra*, se realizó un Análisis Factorial de Correspondencia (AFC). Este análisis se realizó ordenando las muestras según la localidad de procedencia, que en este caso fueron siete (Cuadro II). En la Figura 14, se muestra un gráfico tridimensional correspondiente al AFC, donde el total de varianza explicada es del 68.6% compuesto por los factores 1 (28.55%), 2 (20.13%) y 3 (19.92%). Este análisis permite detectar cuatro grupos genéticamente distintos. A la izquierda del gráfico se separan ligeramente los organismos pertenecientes a Sierra de la Laguna (color amarillo), mientras que a la derecha aquellos que provienen de Cadejé (color rosa), en la parte superior de la gráfica se agrupan organismos provenientes de Ensenada (azul marino) y El Rosarito (color verde), asimismo, en la parte central de la gráfica se aglomeran un gran número de organismos que incluye a ejemplares recolectados en las

localidades antes mencionadas y aquellos provenientes de las localidades de El Novillo (azul oscuro), San Pedro de la Presa (color blanco) y San Isidro (color gris).

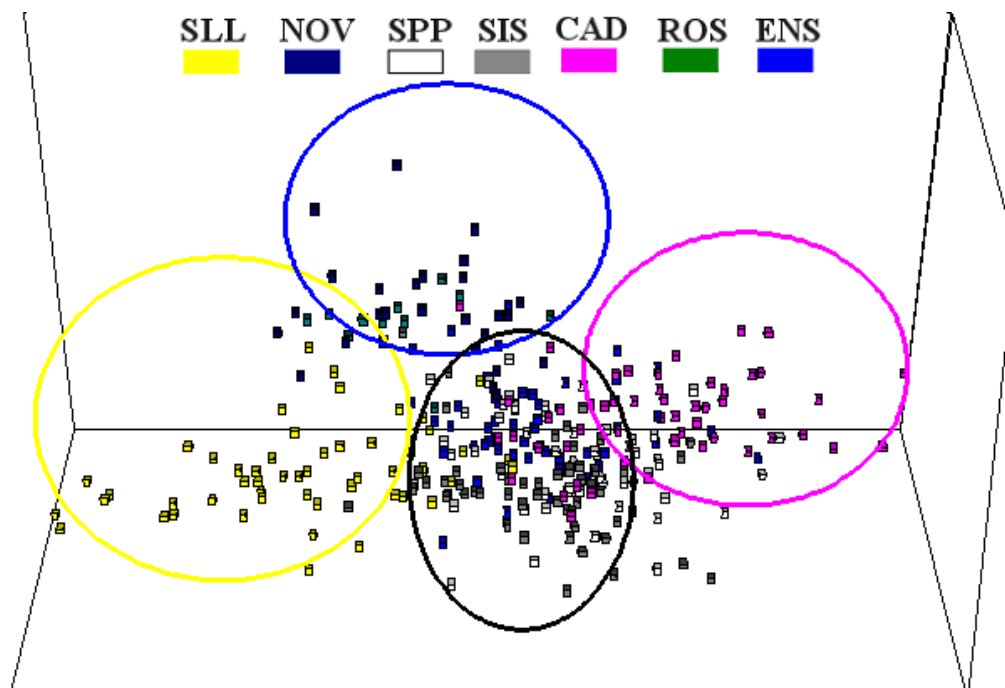


Figura 14 Análisis factorial de correspondencia (AFC) empleando las frecuencias de alelos en cinco loci microsatélites para siete localidades de *P. sierra* muestreadas en la Península de Baja California, México. SLL, Sierra de la Laguna (color amarillo); NOV, El Novillo (azul oscuro); PSP, San Pedro de la Presa (color blanco); SIS, San Isidro (color gris); CAD, Cadejé (color rosa); ROS, El Rosarito (color verde); ENS, Ensenada (azul marino). Los grupos que se pueden apreciar son: Círculo amarillo, SLL. Círculo rosa, CAD. Círculo azul, ROS-ENS. Círculo negro, NOV-PSP-SIS.

Aunque este análisis distinguió cuatro unidades poblacionales (Sierra de la Laguna, Cadejé, San Pedro de la Presa-San Isidro y las localidades nortañas Ensenada-Rosarito), también permitió observar mezclas entre localidades, principalmente entre El Novillo, San Pedro de la Presa y San Isidro. Sin embargo, este análisis exploratorio, no

proporciona un soporte estadístico riguroso para la definición de unidades genéticas discretas (Fig. 14).

VII.3.6.2 Estadísticos F de Wright

Los resultados de la prueba de diferenciación genética mediante el cálculo de F_{ST} total entre localidades, demostró la existencia de diferencias genéticas pequeñas pero significativas entre ellas ($F_{ST} = 0.020$, $P = 0.0001$). Esta misma tendencia se observa en el cálculo de los valores de F_{ST} por pares de población excepto para los pares PSP-SIS y ENS-ROS (Cuadro XXV).

Cuadro XXV Comparaciones pareadas de los valores de F_{ST} para las localidades de *P. sierra* en la Península de Baja California. Se muestra el valor de F_{ST} y en negritas se indican los valores significativos, con $P < 0.05$.

	SLL	NOV	PSP	SIS	CAD	ROS	ENS
SLL							
NOV	0.014809						
PSP	0.024139	0.009216					
SIS	0.029747	0.011632	0.00280				
CAD	0.036509	0.016823	0.011801	0.031188			
ROS	0.023089	0.01506	0.051944	0.045569	0.041366		
ENS	0.023195	0.026153	0.02863	0.044103	0.048643	-0.01585	

VII.3.6.3 Análisis de varianza molecular AMOVA

El análisis de varianza molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés), mostró que la mayor parte de la varianza genética en los grupos probados, se encontró repartida entre los individuos, con valores entre 93.53 y 93.88 % (Cuadro XXVI) de la varianza total y valores de F_{ST} fueron significativos ($P < 0.0$; Cuadro XXVI).

Cuadro XXVI Análisis de varianza molecular (AMOVA) de estructura genética poblacional multilocus de *P. sierra* en la Península de Baja California. Valores en negritas indican que el valor del estadístico F es significativamente diferente de cero, $P < 0.05$.

Estructura probada	Fuente de variación	Componente de varianza	% del total	Estadístico F	Valor de <i>P</i>
A un grupo	Entre grupos	0.04421	2.03	0.02037	0
	Dentro de Poblaciones	0.08627	4.09	0.06123	0
	Entre individuos	1.97973	93.88	0.04176	0
B tres grupos	Entre grupos	0.02625	1.24	0.01240	0
	Dentro de grupos	0.02452	1.16	0.01173	0
	Dentro de Poblaciones	0.08627	4.08	0.04176	0
	Entre individuos	1.97973	93.53	0.06474	0
C cinco grupos	Entre grupos	0.04854	2.30	0.02298	0.010
	Dentro de grupos	-0.00177	-0.08	-0.00086	0.60474
	Dentro de Poblaciones	0.08627	4.08	0.04176	0
	Entre individuos	1.97973	93.70	0.06297	0

A continuación se describen los resultados del AMOVA con los distintos niveles jerárquicos:

A. un solo grupo

El agrupamiento de las localidades como unidades poblacionales independientes solo explica el 2.03 % de varianza total, con ligeras diferencias genéticas entre ellas ($F_{CT} = 0.02037$) pero significativas ($P = 0$). En este agrupamiento, se observa además, que al interior de cada grupo la varianza explicada es de 4.09 %, existiendo diferencias significativas dentro de ellas ($F_{IS} = 0.06123$; $P = 0$).

B. tres grupos

El agrupamiento de las localidades en Norte vs. Centro vs. Sur, sólo explica el 1.24 % de la varianza total, sin embargo no se observaron diferencias genéticas ($F_{CT} = 0.01240$; $P = 0.46$). Al igual que la prueba anterior, la varianza explicada dentro de los

grupos fue de 1.16 %, también con ligeras diferencias genéticas ($F_{SC} = 0.011739$) pero significativas ($P = 0$).

C. cinco grupos

El agrupamiento por el grado de diferenciación genético (F_{ST}) o hipótesis C mostró un ligero incremento en la varianza explicada con respecto a la hipótesis A, con 2.30 %, el valor de diferenciación genética fue ligeramente superior ($F_{CT} = 0.02298$) y significativo ($P = 0.01$). Asimismo no se observó diferencias genéticas dentro de los grupos ($F_{SC} = -0.00086$; $P = 0.60474$). Este nivel jerárquico resultó ser el mejor que explica la estructura genética de los datos entre localidades muestreadas para *P. sierra* en la Península de Baja California (Cuadro XXVI).

VII.3.6.4 Determinación de número de poblaciones

Basado en una muestra de 296 individuos genotipificados con cinco loci microsatélite, LnP (D) alcanzó el mayor valor de la verosimilitud (-6700) con $K = 5$ (Fig. 15A). Por lo que STRUCTURE detectó una estructura poblacional de cinco grupos genéticos para los individuos de *P. sierra*. El método de Evanno *et al.* (2005), confirmó los resultados anteriores, en la Fig. 15B se observa la estimación de la tasa de cambio de ΔK , que corresponde a 5 como el número real de grupos estimados.

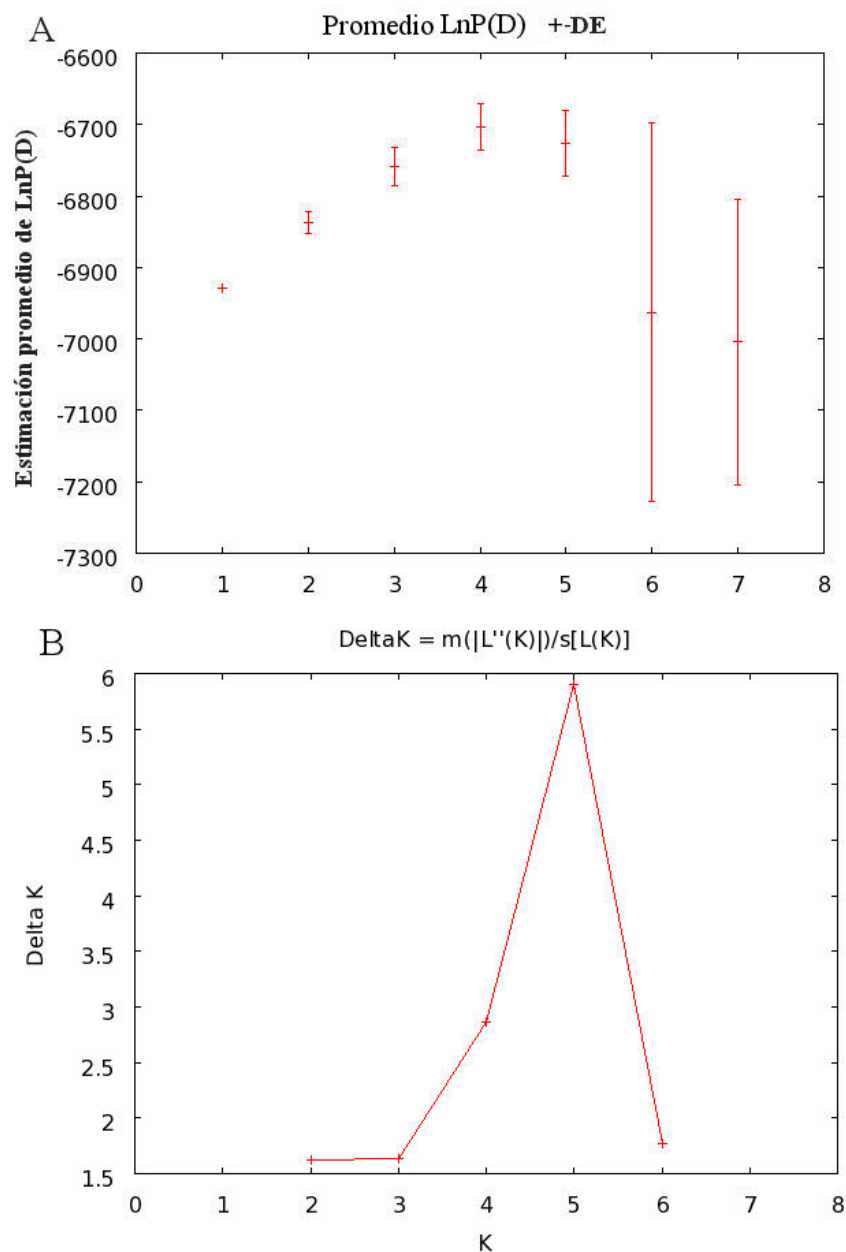


Figura 15 A) Número de poblaciones inferidas (K) de *P. sierra* a partir del cálculo de LnP(D), promedio de 15 repeticiones, mediante el programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.* 2000). B) Número de grupos genéticamente homogéneos a partir de la tasa de cambio de la función de verosimilitud o ΔK (Evanno *et al.* 2005).

En la Fig. 16 se observa que los grupos están formados por: población 1 la localidad Sierra de la Laguna (rojo), que representa un conjunto de datos muy homogéneo con una alta probabilidad de asignamiento de pertenecer a este grupo del 89

%; la población 2 más heterogénea formada por El Novillo (azul) presentó una probabilidad de asignamiento de 37 %, el resto de la probabilidad de asignamiento se dividió entre las poblaciones de Presa San Pedro con 26 % y Cadejé con 25 %; la población 3 San Pedro de la Presa y San Isidro (rosa) formaron también un grupo heterogéneo con una probabilidad de asignamiento de 58 %, el resto de la probabilidad de asignamiento se encontró repartida entre Cadejé con 19 % y Sierra de la Laguna con 12 %. Por su parte, el grupo 4 integrada por Cadejé (amarillo), con una probabilidad de asignamiento de 87 %; mientras que la quinta población se conformó por El Rosarito y Ensenada (verde), con una probabilidad de asignamiento de 88.9 %. Es importante señalar que entre las poblaciones existe mezcla de colores, lo que indudablemente indican cierto grado de flujo genético, siendo éste muy fuerte entre las poblaciones que conforman al grupo dos y tres. Estos resultados indican además que existe un grado de estructuración entre las localidades muestreadas, así como entre los grupos formados (Fig. 16).

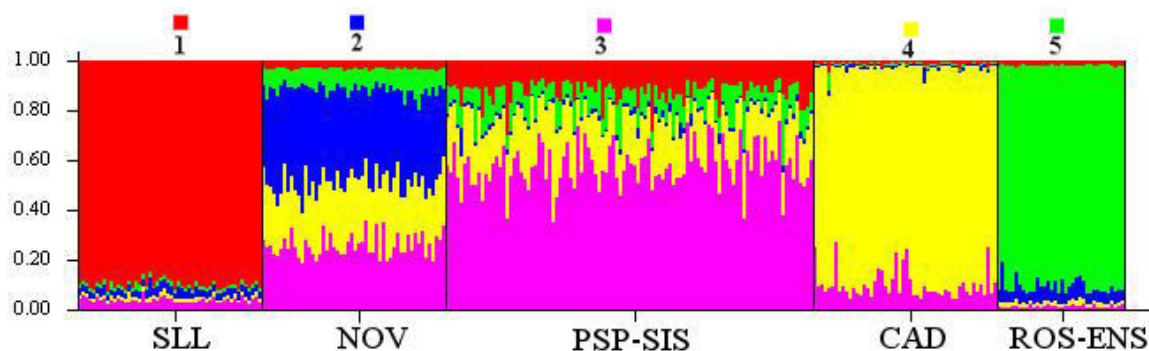


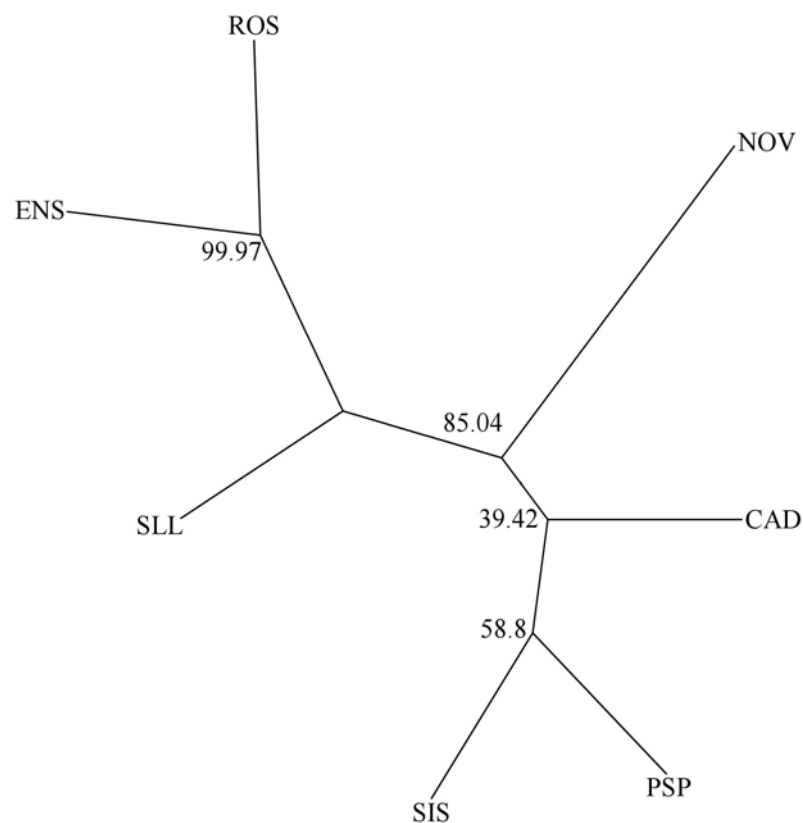
Figura 16 Número de poblaciones determinado a partir del programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.* 2000). El genoma de cada individuo está representado con una línea vertical. El color rojo, caracteriza a Sierra de la Laguna (SLL); azul, caracteriza a El Novillo (NOV); rosa, caracteriza al grupo formado por San Pedro de la Presa y San Isidro (PSP-SIS); amarillo, representa a Cadejé (CAD) y el color verde, corresponde al grupo formado por El Rosarito y Ensenada (ROS-ENS). A partir de frecuencias alélicas de cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California.

Tres de los cinco grupos poblaciones se encuentran en sistemas de montañas independientes, como La Sierra de la Laguna (SLL) hacia la región sur de la Península de Baja California, La Sierra de la Victoria (NOV) que es un pequeño sistema ubicado hacia la parte norte de la región del Cabo y La Sierra de la Giganta (PSP-SIS) que marca el final de la región del Cabo. Además, la localidad de Cadejé (CAD) se encuentra hacia la vertiente del Pacífico en una planicie fuera de la Sierra de la Giganta, mientras que, las localidades más norteñas (ROS y ENS) se encuentran hacia el norte de la Península de Baja California, separadas del resto de las poblaciones por el desierto del Vizcaíno (Fig. 3).

VII.3.6.5 Reconstrucción filogenética

El cladograma obtenido mediante el algoritmo del vecino más cercano (NJ), se muestra en la Fig. 17, se observa una rama extrema que incluye a las localidades de Ensenada-El

Rosarito (ENS-ROS) junto a Sierra de la Laguna (SLL) con un soporte del 99.97 %, mientras que en otra rama ubicada al centro del árbol se demarca la localidad El Novillo (NOV) con un soporte del 85.04 %, junto a la localidad de Cadejé (CAD) con un soporte del 39.42 %, que se encuentra unida a las dos restantes localidades, San Pedro de la Presa (PSP) y San Isidro (SIS) con un soporte del 58.8 %.



1000

Figura 17 Cladograma construido mediante el algoritmo del vecino más cercano no enraizado basado en la distancia D_{CE} (Cavalli-Sforza y Edwards 1967), construidas a partir de frecuencias alélicas de cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California. Sierra de la Laguna, SLL; San Pedro de la Presa, PSP; San Isidro, SIS; Cadejé, CAD; El Rosarito, ROS y Ensenada, ENS y El Novillo, NOV. Se empleó un remuestreo de 10,000 interacciones para soportar las ramas del árbol.

VII.3.6.6 Aislamiento por distancia

La prueba de Mantel para las siete localidades, mostró que no existe una correlación estadísticamente significativa entre el logaritmo natural de las distancias geográficas y las distancias genéticas D_{CE} (valor del coeficiente de determinación $R^2 = 0.1272$; $P = 0.286$), ver Fig. 18.

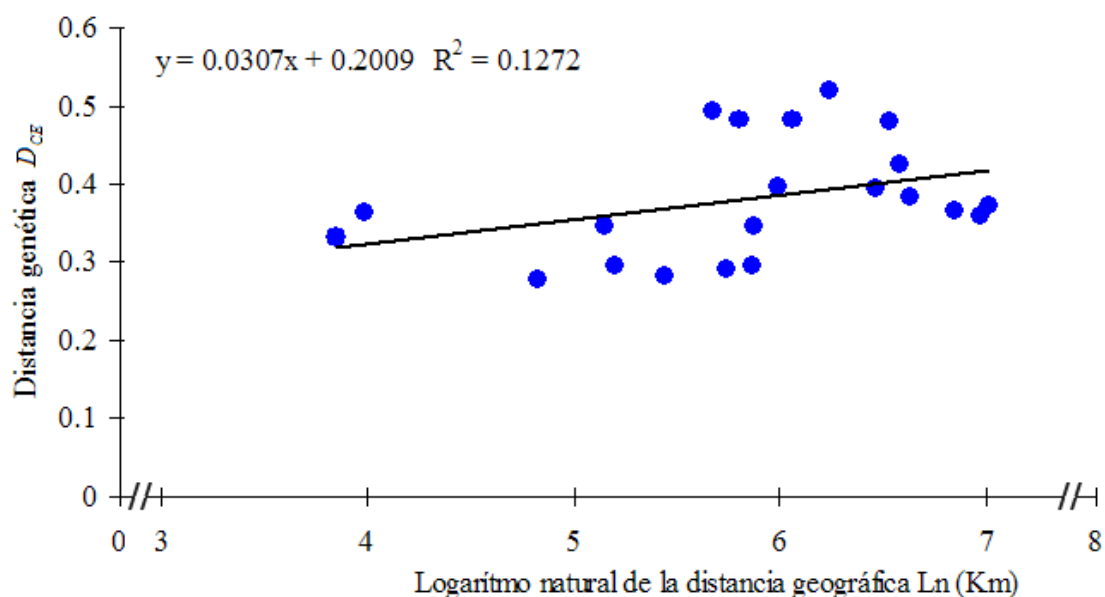


Figura 18 Logaritmo natural de la distancia geográfica en mapas (en kilómetros) contra la distancia genética calculada por pares de poblaciones mediante la distancia D_{CE} multilocus (cinco loci microsatélite) entre localidades donde se recolectaron ejemplares de *P. sierra* en la Península de Baja California. La función en el gráfico, indica una ecuación de regresión lineal obtenida de los datos; R^2 , es el coeficiente de determinación entre las variables.

VII.3.6.7 Flujo genético

El número de migrantes por generación (N_m), calculados a partir de los valores de F_{ST} , variaron de un valor mínimo de 4.29 entre San Pedro de la Presa (PSP) y El Rosarito (ROS) y un valor máximo de infinito entre las localidad del Rosarito y Ensenada (Cuadro XXVII). En general se puede observar tres niveles de flujo genético entre las

localidades estudiadas; niveles bajos (menos de 10 inmigrantes por generación) observados entre las localidades más extremas (norteñas y sureñas) y las localidades del centro de la Baja California (Sierra de la Laguna/San Pedro de la Presa, Sierra de la Laguna/San Isidro, Sierra de la Laguna/Cadejé, Sierra de la Laguna/El Rosarito, El Novillo/El Rosarito, San Pedro de la Presa/Cadejé, San Pedro de la Presa/El Rosarito, San Pedro de la Presa/Ensenada, San Isidro/El Rosarito, San Isidro/Ensenada, Cadejé/El Rosarito, Cadejé/Ensenada), excepto el par San Isidro/Cadejé que son localidades cercanas entre si; niveles intermedios de flujo genético (mayores de 10 y menores de 15) observados entre las localidades Sierra de la Laguna/El Novillo, Sierra de la Laguna/Ensenada, El Novillo/Cadejé y El Novillo/Ensenada; y finalmente niveles de flujo genético altos entre las localidades El Novillo/San Pedro de la Presa, El Novillo/San Isidro, San Pedro de la Presa/San Isidro y El Rosarito/Ensenada.

Cuadro XXVII Valores de los parámetros poblacionales a partir de cinco loci microsatélite, N_e calculados mediante la heterocigocidad observada en los datos y N_m , calculados mediante la linealización de los valores de F_{ST} entre las localidades, asumiendo una tasa de mutación $\mu = 1 \times 10^{-6}$, a partir de cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California.

Localidad	N_e	N_m						
		SLL	NOV	PSP	SIS	CAD	ROS	ENS
SLL	173,664.45							
NOV	134,746.21	12.59						
PSP	125,454.95	9.86	24.98					
SIS	136,059.44	7.07	16	88.96				
CAD	159,127.78	6.39	14.93	7.843	6.73			
ROS	59,523.81	9.76	9.1	4.29	5.11	5.29		
ENS	87,873.04	10.35	10.14	8.26	4.77	4.73	∞	

Con el parámetro de tasa de migración (M) calculados a partir del modelo de máxima verosimilitud se estimó la tasa de migración por generación (N_m) o flujo genético. Dichos resultados se muestran en el Cuadro XXVIII. En general también se puede describir tres niveles de flujo genético, bajos (menores de 1), intermedios (mayores de 1 y menores de 2) y altos (mayores de 2). La localidad que mostró valores bajos como localidad receptora de inmigrantes fue ROS quien recibió inmigrantes a tasas bajas de PSP y CAD. Ninguna localidad envió inmigrantes a estos niveles de migración. Se detectó flujos genéticos intermedios en las localidades receptoras de inmigrantes siguientes; San Isidro quien recibió inmigrantes a tasas intermedias de SLL y NOV; Cadejé quien recibió inmigrantes de SLL, NOV y PSP; El Rosarito quien recibió inmigrantes de SLL, NOV y SIS y Ensenada que recibió inmigrantes a tasas intermedias de todas las localidades excepto de ROS. Por su parte las localidades que enviaron inmigrantes a tasas intermedias fueron; San Pedro de la Presa que envió inmigrantes a SLL; San Isidro quien envió inmigrantes a SLL; El Rosarito quien envió inmigrantes a SIS y CAD y Ensenada envió inmigrantes a tasas intermedias a SLL, NOV y CAD. El resto las comparaciones enviaron y recibieron inmigrantes a tasas altas de migración. Los valores más altos de las tasa de inmigración se presentaron entre San Pedro de la Presa y San Isidro (4.73 inmigración entre SIS/PSP y 4.831 en el sentido inverso SPP/SIS), y entre las localidades de Ensenada y El Rosarito (5.37 ENS/ROS y 4.62 ROS/ENS). El valor más bajo lo presentaron El Rosarito como receptora y San Pedro de la Presa como emisora (0.508).

Cuadro XXVIII Valores de tamaño efectivo poblacional N_e y migrantes efectivos por punto de muestreo N_m a partir de los estimadores Θ y M calculados en el programa MIGRATE 3.0 (Beerli 2004), asumiendo una tasa de mutación $\mu = 6.3 \times 10^{-6}$, empleando cinco loci microsatélite de *Pardosa sierra* en la Península de Baja California. En la diagonal superior se encuentran las localidades receptoras, denotadas por un símbolo “+” y en la diagonal inferior las localidades emisoras de migrantes.

Localidad	N_e	$N_m = \Theta * M$						
		SLL+	NOV+	PSP+	SIS+	CAD+	ROS+	ENS+
SLL	74,682.54		3.333	3.382	1.165	1.24	1.063	1.086
NOV	31,865.08	3.613		3.497	1.496	1.295	1.024	1.457
PSP	26,746.03	1.837	3.633		4.73	1.677	0.508	1.257
SIS	27,857.14	1.538	3.352	4.831		2.255	1.466	1.299
CAD	30,277.78	2.127	3.478	3.241	2.974		0.834	1.075
ROS	22,063.49	3.316	2.121	2.142	1.788	1.637		4.62
ENS	23,730.16	1.494	1.491	2.712	2.108	1.681	5.378	

En la Fig. 19 se esquematizó el intercambio de inmigrantes entre las localidades estudiadas (Cuadro II), existen algunas localidades con tasas migración casi simétricas y con las tasa más altas de intercambio, estas son las localidades ENS y ROS (4.62 y 5.378) y SIS y PSP (4.831 y 4.73), estos dos pares de localidades también mostraron valores de F_{ST} no significativos (Cuadro XXV).

Otros dos pares de localidades que muestran también tasas simétricas pero menos altas de migración, estas son NOV/SLL (3.333 y 3.613) y PSP/NOV (3.497 y 3.633). La localidad de la Sierra de la Laguna, que se encuentra en el extremo más sureño del área de estudio muestra flujo genético asimétrico con respecto a las otras localidades, esta localidad envía inmigrantes con tasas más altas de flujo a las localidades relativamente cercanas (NOV 3.333 y PSP 3.382) y con tasas menores a localidades lejanas (SIS 1.65, CAD 1.24, ROS 1.063 y ESN 1.086) pero recibe inmigrantes a tasas altas de NOV 3.613, ROS 3.316, CAD 2.127 y a tasas menores de

SIS 1.538, y PSP 1.837, no habiendo aparente relación con la distancia geográfica entre ellos.

También se observa flujo genético fuertemente asimétrico entre las localidades NOV, SIS, CAD y PSP, habiendo mayor flujo genético de SIS hacia NOV (3.352), de CAD hacia NOV (3.478) y CAD hacia PSP (3.241) que en sentido contrario (NOV hacia SIS 1.496; NOV hacia CAD 1.295 y PSP hacia CAD 1.677). Resulta asimismo interesante resaltar que Cadejé y San Isidro muestran flujo genético muy equivalente (2.255 CAD/SIS y 2.974 SIS/CAD) y a pesar de su cercanía intercambian inmigrantes a tasas moderadamente altas.

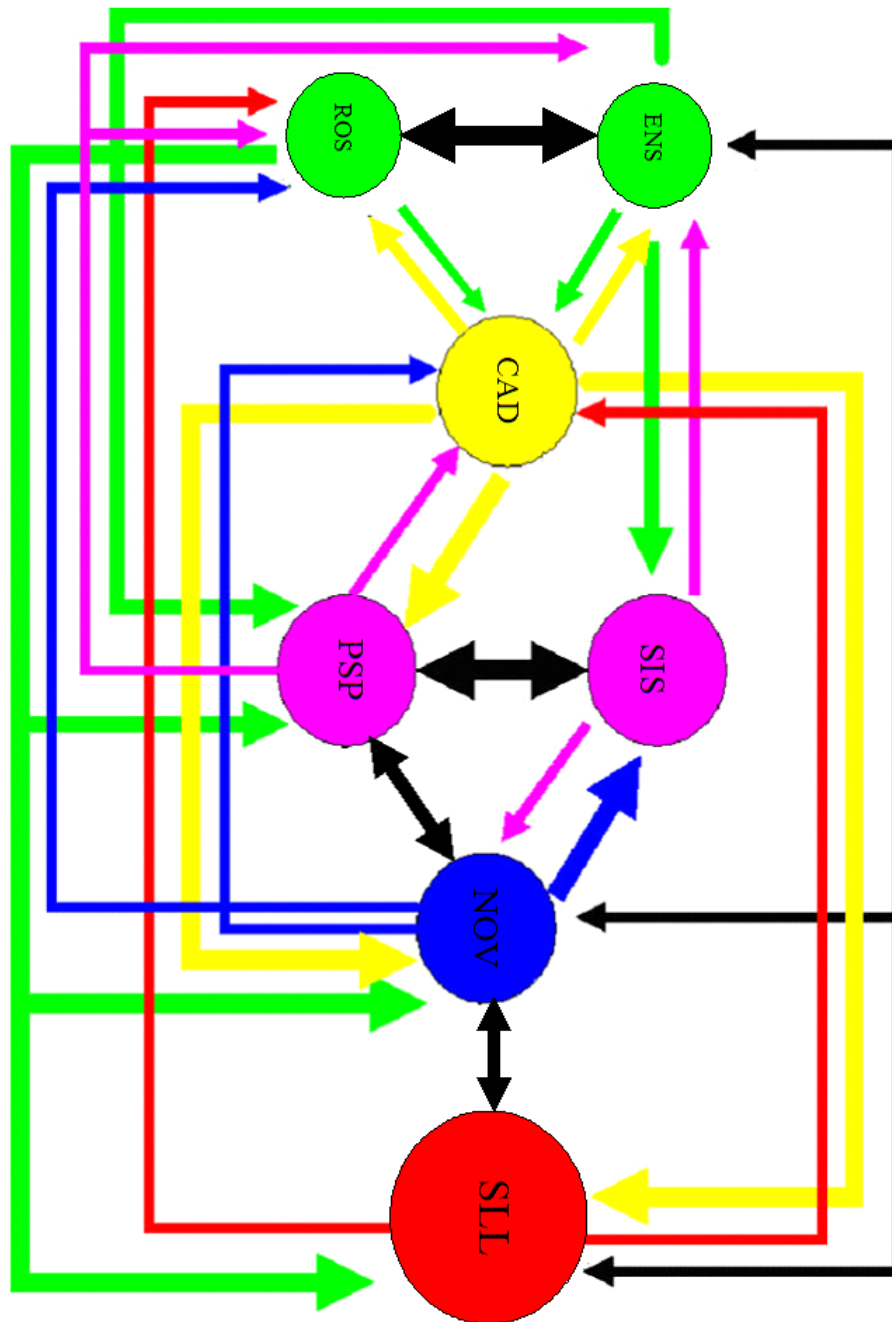


Figura 19 Dirección e intensidad de la migración entre localidades donde se recolectó *P. sierra*. La dirección de la migración está dada por la flecha. La intensidad de la migración se denota por el grosor de las líneas. Sierra de la Laguna (SLL), color rojo; El Novillo (NOV), color azul; San Pedro de la Presa (PSP) y San Isidro (SIS), color rosa; Cadejé (CAD), color amarillo; El Rosarito (ROS) y Ensenada (ENS), color verde. Flechas negras migración simétrica entre localidades. El tamaño del círculo representa N_e . Flujo genético y N_e representados en la figura fueron los calculados con MIGRATE.

VII.3.6.8 Tamaño efectivo poblacional

Los valores más altos del tamaño efectivo poblacional calculados a partir de la heterocigocidad observada y una tasa de mutación $\mu = 1 \times 10^{-6}$, fueron para Sierra de la Laguna (173,664), mientras que los valores intermedios se observaron en las localidades de NOV, PSP, SIS y CAD y los valores pequeños en las localidades norteñas de Ensenada y El Rosarito (87,873 y 59,523 respectivamente, Cuadro XXVII).

Respecto al tamaño efectivo poblacional calculado mediante los parámetros Θ y M , con una tasa de mutación de 6.3×10^{-6} , se observa igualmente tres tipos de tamaño efectivo de poblaciones, alto para Sierra de la Laguna (74,682), intermedios para NOV, PSP, SIS y CAD y bajos para Ensenada y El Rosarito (23,730 y 22,063 respectivamente, Cuadro XXVIII).

VII.4 Relaciones filogenéticas de las especies de los grupos *lapidicina* y *milvina* del género *Pardosa*

VII.4.1 Secuencias del GenBank

Con el objeto de hacer comparaciones con las secuencias obtenidas de las diversas especies recolectadas en el presente estudio, se realizó una consulta en esta base de datos del GenBank (NCBI) para recuperar las secuencias de varias especies de arañas lobo, pertenecientes a otros grupos de especies del género *Pardosa*. Las secuencias recuperadas se indican en el Cuadro XXIX.

Cuadro XXIX Secuencia recuperadas del GenBank de especies del género *Pardosa*.

Especie	Grupo de especies	Gen	No. de acceso	Origen	Referencia
<i>P. laura</i>	<i>amentada</i>	COX 1	DQ508215	Rusia, Corea, Japón, Taiwan	Chang <i>et al.</i> Sin publicar
<i>P. pusiola</i>		COX 1	DQ508220	India a China y Java	Chang <i>et al.</i> Sin publicar
<i>P. milvina</i>	<i>milvina</i>	COX 1	DQ029230	EUA y Canadá	Greenstone <i>et al.</i> 2005

VII.4.2 Secuencias de ADN

Se obtuvieron un total de 38 secuencias del fragmento COI del ADNmt de 10 especies del género *Pardosa* (Cuadro XXI). Se secuenció un fragmento de 710 pb, sin embargo al editarlo para su comparación con secuencias de otras especies del género *Pardosa*, sólo se analizaron 630 pb, se incluyeron tres secuencias de especies de este género obtenidas de GenBank (Cuadro XXVIII) y una secuencia de *Schizocosa ocreata* obtenida de la misma fuente.

Cuadro XXX Número de secuencias obtenidas y número de haplotipos analizados por especie para un fragmento de COI, generados en este trabajo.

Localidad	Especie	# de secuencias	# de haplotipos
Baja California Sur	<i>P. sierra</i>	9	2
Baja California	<i>P. sierra</i>	5	1
Sierra de Chihuahua	<i>P. sura</i>	2	1
Nuevo León	<i>P. sura</i>	4	1
Durango	<i>P. sura</i>	4	1
California	<i>P. atromedia</i>	2	2
Sonora y Sinaloa	<i>P. valens</i>	2	2
Sonora y Sinaloa	<i>P. vadosa</i>	2	2
Chihuahua	<i>P. steva</i>	2	2
Península de Yucatán	<i>P. hamifera</i>	2	1
Baja California Sur	<i>P. bellona</i>	2	1
Baja California	<i>P. sp1</i>	1	1
California	<i>P. californica</i>	1	1

VII.4.3 Diversidad genética del género *Pardosa*

De las 38 secuencias obtenidas en el género *Pardosa* se observaron 22 haplotipos únicos para las 14 especies (Cuadro XXVIII y XXIX). La diversidad haplotípica fue de 100 %. Estas secuencias presentaron un total de 630 sitios, de los cuales 484 fueron invariantes, 146 sitios de cambio divididos en 41 autapomorfias o sitios únicos de cambio (singletones) y 105 sitios parsimoniosamente informativos. El número de sustituciones correspondientes a transiciones en la primera posición del codón fue de dos y no hubo transversiones. En la segunda posición no se detectaron transiciones o transversión. En la tercera posición se detectaron 22 transiciones mientras que el número de transversiones fue de 17. Mostrando un fuerte sesgo en cuanto a la composición de nucleótidos de A-T (69.5 %) y G-C (30.5 %).

La diversidad nucleotídica total fue de 6.63 % y el número de diferencias promedio entre secuencias fue de 41.818.

El fragmento del gen COI empleado en esta parte del trabajo se encuentra entre la posición 1835 y 2538 PB del genoma mitocondrial de *Drosophila melanogaster* (número de acceso GenBank AF200828.1) que corresponde a los aminoácidos 152 a 361, este fragmento de ADNmt se caracteriza por ser conservado en su composición de aminoácidos entre distintos taxa como *D. melanogaster*, *Phidippus aurantius* y las especies analizadas en esta parte del trabajo (Fig. 20).

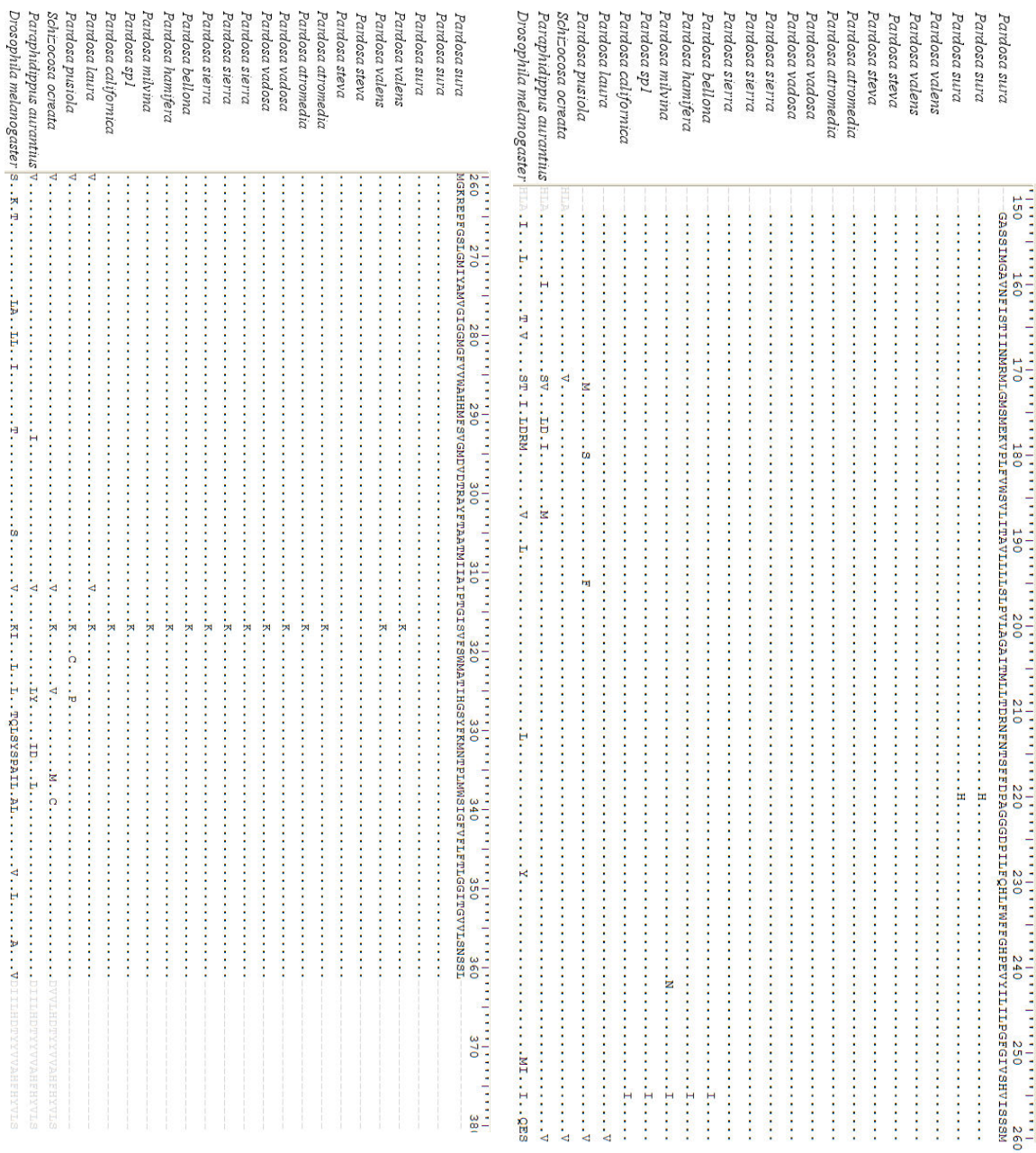


Figura 20 Alineamiento de secuencias de aminoácidos del fragmento de COI ADNmt de las especies de arañas pertenecientes a los grupos *lapidicina* y *milvina* con secuencias de *Drosophila melanogaster* y *Phidippus aurantius*.

Se confirma que la mayor parte de los cambios observados en esta parte del genoma de las especies del género *Pardosa*, se encuentran en la tercera posición del codón (Fig. 21).

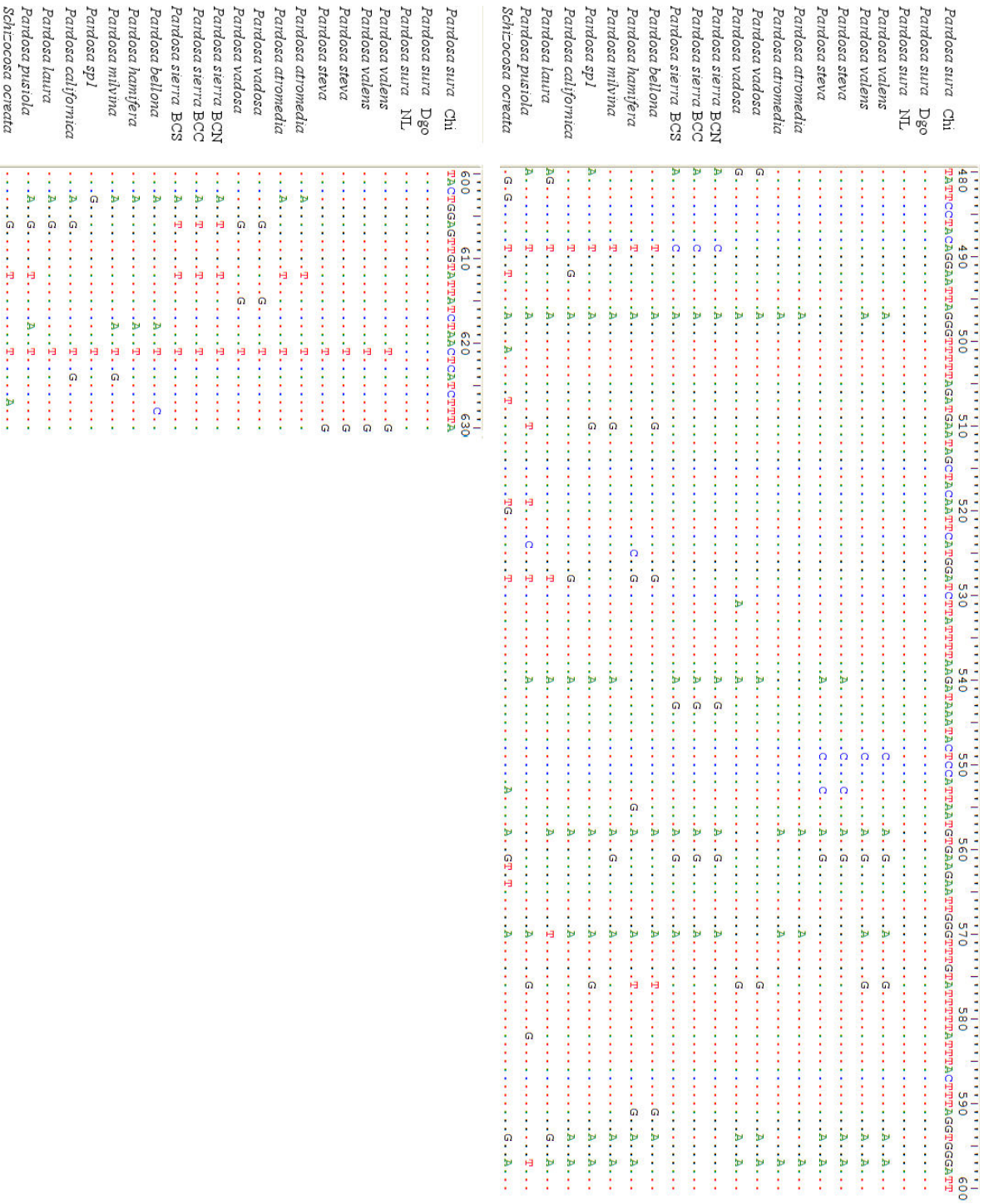


Figura 21 Continuación.

Para verificar las diferencias genéticas entre las especies del grupo *lapidicina*, se compararon los haplotipos del fragmento COI obtenidos con los haplotipos encontrados en GenBank (Cuadro XXVIII y XXIX) para las especies del género *Pardosa* aquí estudiadas (Cuadro I). Estas distancias genéticas calculadas mediante el modelo Kimura 2 parámetros, van desde el 2.4 % (*P. steva* y *P. valens*) hasta el 10.04 % (*P. pusiola* y *P. sierra*). Los resultados de estas comparaciones indican que estas especies muestran haplotipos mitocondriales distintos (Cuadro XXX), lo que corresponde concretamente a linajes divergentes distinto con una ancestría común al grupo de especies *lapidicina*, que está bien diferenciado de otras especies y grupos de especies como *milvina*.

VII.4.4 Selección del grupo externo

Como grupos externos se seleccionaron dos secuencias, una perteneciente al género *Pardosa* (*P. pusiola*) y la perteneciente al género *Schizocosa* (*S. ocreata*), ésta última por encontrarse en la subfamilia Lycosinae, subfamilia hermana de Pardosinae donde se ubica el género *Pardosa*, aunado a lo anterior la extensión de estas secuencias fue mayor a 630 PB.

VII.4.5 Método del vecino más cercano (N-J)

La Fig. 22 muestra la topología del cladograma obtenido usando el fragmento COI mediante el algoritmo del vecino más cercano (N-J). En dicho árbol se observan tres clados principales bien soportados (60%); uno incluye a los individuos del grupo *milvina* (en azul, Fig. 22) con un soporte del 79% donde se agrupa una nueva especie *Pardosa* sp1 recolectada en Ensenada, Baja California y que por caracteres morfológicos se encuentra dentro del grupo *milvina*. En el otro grupo (en rojo, Fig. 22), se encuentran las especies pertenecientes al grupo *lapidicina* con un soporte del 89%. Y finalmente otro clado donde se agrupa *P. californica* (grupo *salturia*, Oeste de Estados Unidos), con *P. laura* (grupo *amentata*, Rusia a Japón) con un soporte del 60 %. Dentro del clado *lapidicina* todas las especies estudiadas con más de una población son monofiléticas y con alto soporte (100 %).

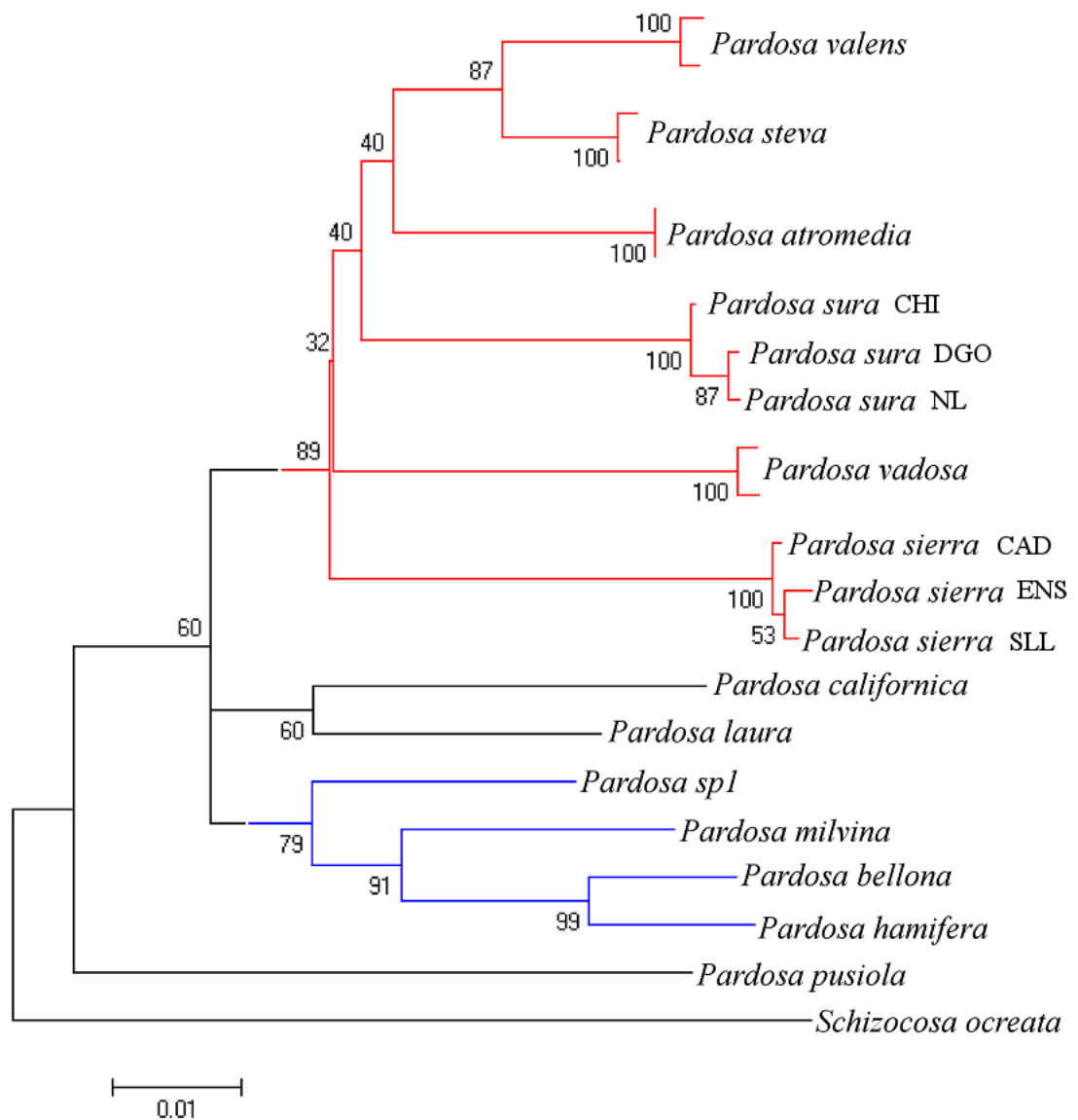


Figura 22 Topología del árbol filogenético construido mediante el algoritmo Neighbor-Joining (Kimura-2 parámetros) del gen COI del ADNmt para arañas lobo del género *Pardosa* recolectadas en este trabajo y obtenidas del GenBank (NCBI). El clado color rojo, contiene al grupo *lapidicina*; el clado color azul contiene al grupo *milvina*. Los números en los nodos representan el soporte estadístico (10,000 replicas de bootstrap) de los clados formados.

VII.4.6 Método de máxima parsimonia

El árbol consenso (Fig. 23) de un total de 1548 presentó 230 pasos, un índice de consistencia $CI = 0.619$ y un índice de retención $RI = 0.706$. La topología del árbol es similar al del N-J, donde se conformó un clado que incluye a las especies del grupo *lapidicina* con un soporte de 89 %, otro clado donde se incluye al grupo *milvina* soportado con el 79 %; estos dos tienen como grupo hermano al clado formado por las especies *P. californica* y *P. laura* con bajo soporte (44 %), sin embargo los tres clados están bien soportados (61%). La topología del árbol consenso indica que los clados de los grupos *milvina* y *lapidicina* son monofiléticos. Además dentro del clado *lapidicina* todos las especies estudiadas con más de una población son monofiléticas y con alto soporte (100%).

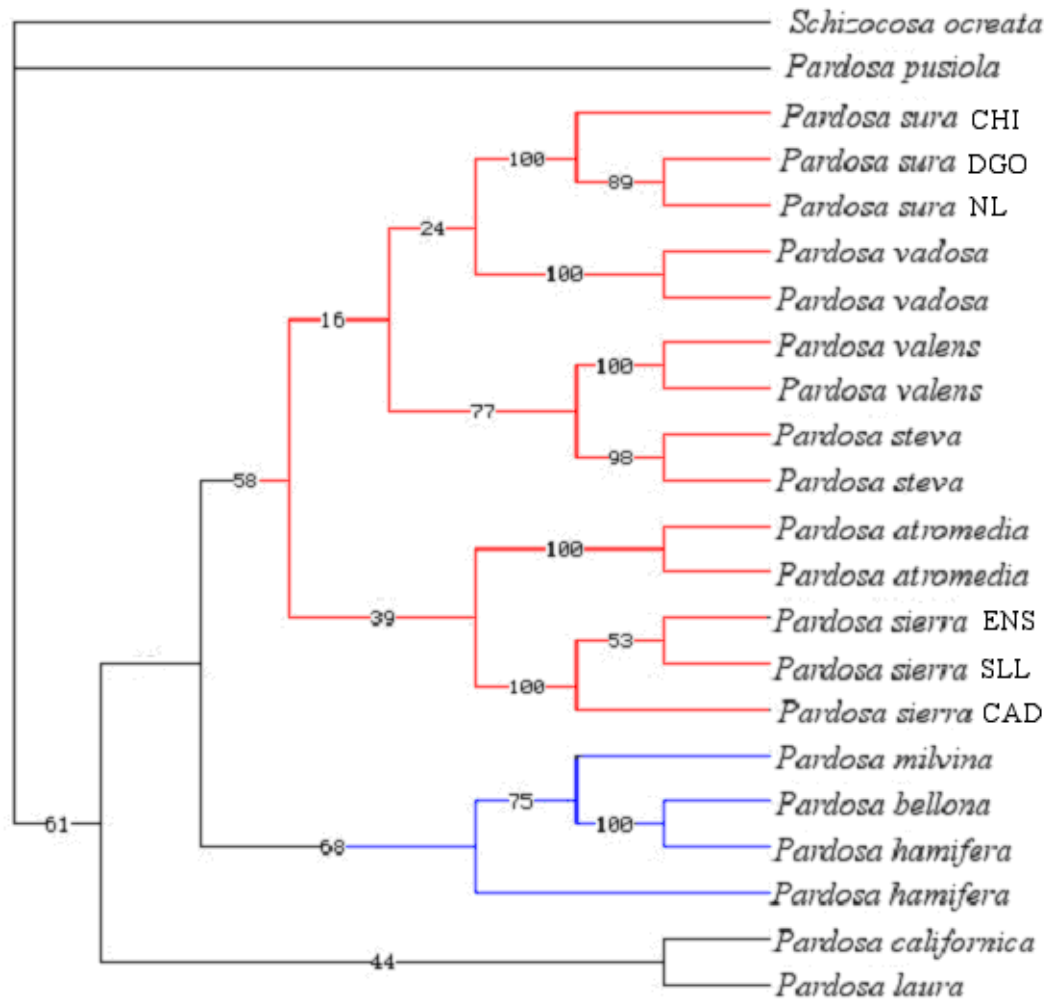


Figura 23 Árbol filogenético consenso construido mediante el algoritmo de máxima parsimonia. El árbol resultó con 320 pasos, un índice de consistencia CI = 0.619 y un índice de retención RI = 0.709. Los números en las ramas indican el soporte estadístico de los nodos obtenidos mediante bootstrap con 1,000 replicas. En este árbol el grupo *lapidicina* se encuentra resaltado en rojo y el grupo *milvina* en azul.

VII.4.7 Método de máxima verosimilitud

El análisis de máxima verosimilitud se realizó empleando el modelo de sustitución nucleotídica GTR+I+G con los parámetros siguientes: proporción de sitios no variantes (p-inv.) = 0.6380, distribución gama (gamma shape) = 1.1200, frecuencia de bases (A = 0.2831, C = 0.1264, G = 0.1565 y T = 0.4340) y parámetro kappa (K) = 52, determinado como el que mejor ajustó a los datos de acuerdo al programa de Model Test, el soporte de los nodos se determinó mediante bootstrap de 1,000 replicas. Los grupos de especies *lapidicina* y *milvina* vuelven a presentarse como monofiléticos, con valores de soporte de las ramas de 100 y 67 % respectivamente (Fig. 24). Nuevamente, *Pardosa* sp1 se une al grupo milvina en su base (67 %) mientras que *P. laura* y *P. californica* forman un grupo con un soporte importante del 71 %. Dentro del grupo *lapidicina* todas las especies en donde se estudio mas de una localidad son monofiléticas y con altos soportes (86-100%, Fig. 24).

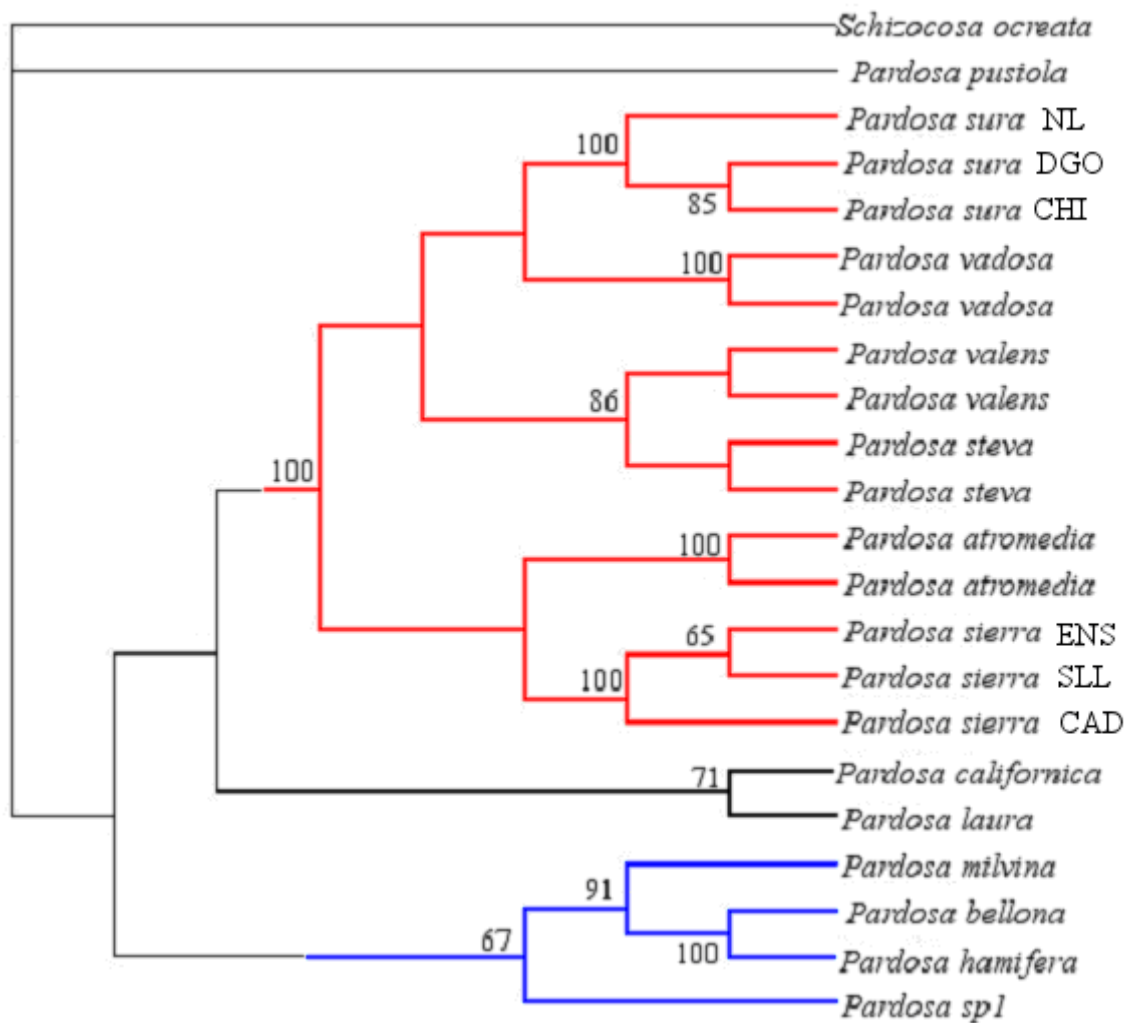


Figura 24 Filogenia parcial del género *Pardosa*, obtenido mediante el método de máxima verosimilitud empleando el modelo de evolución nucleotídica GTR+I+G (Posada y Crandall 1998). El soporte estadístico se calculó mediante bootstrap con 1,000 replicas.

VII.4.8 Método de inferencia bayesiana

Se confirma que el grupo de especies *lapidicina* y *milvina* forman clados independientes y monofiléticos (Fig. 25). El grupo de especies *lapidicina* con un soporte del 100 % y *milvina* con un soporte del 99 %, sin embargo, en este análisis la especie *Pardosa* sp1 se localizó hacia la base del clado principal, no agrupándose con el grupo *milvina*. El grupo formado por *P. laura* y *P. californica* presentó un soporte de 86 %. (Fig. 25). Asimismo, las especies del grupo *lapidicina* donde se estudió más de una localidad resultaron monofiléticas con soportes altos (81 a 100%, Fig. 25).

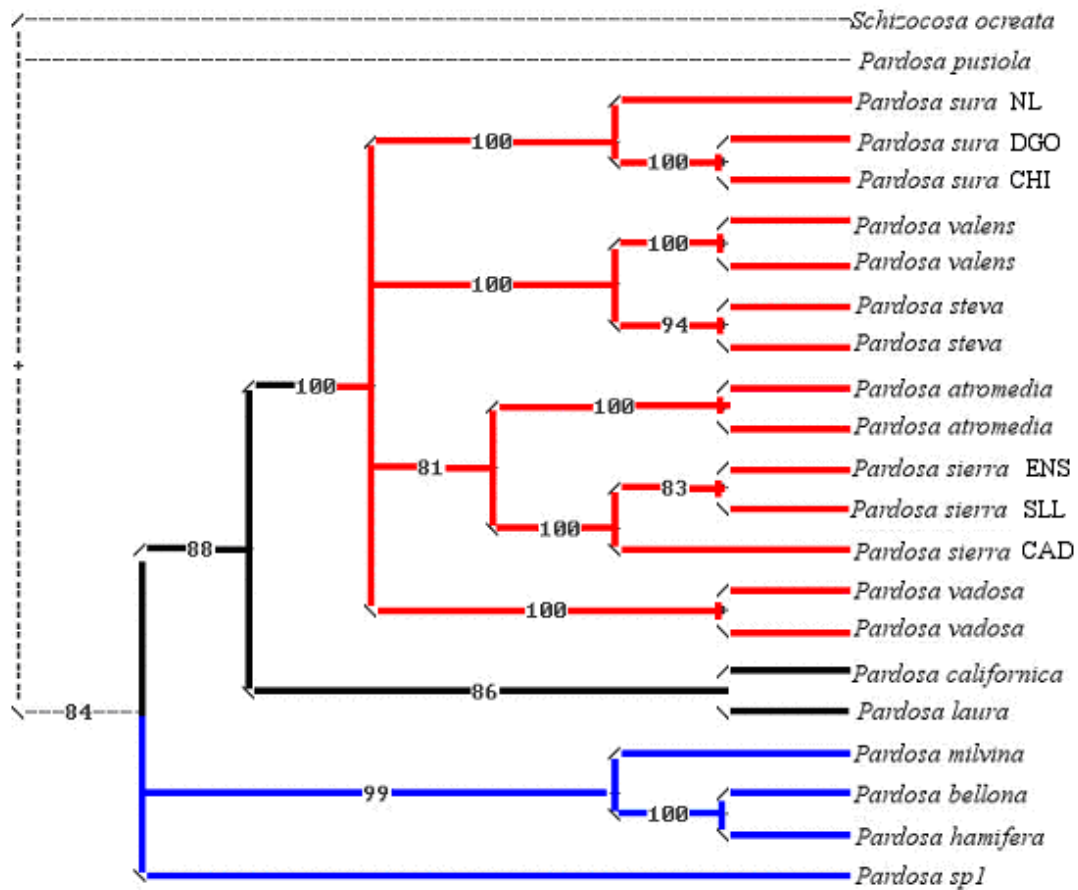


Figura 25 Árbol de relaciones filogenética construido mediante análisis de probabilidades posteriores, el análisis se condujo empleando el modelo más general de evolución nucleotídica Nst = 6 o GTR. El soporte de los nodos se calculó mediante las probabilidades posteriores expresadas en porcentaje. En color rojo, el clado compuesto por especies del grupo *lapidicina* y en azul, las especies del grupo *milvina*.

VII.4.9 Prueba de saturación

El fragmento del gen COI analizado (630 PB) en el género *Pardosa* no mostró evidencias de saturación de los cambios en composición de bases ($r = 0.724$, $P = 0.00$; Fig. 26).

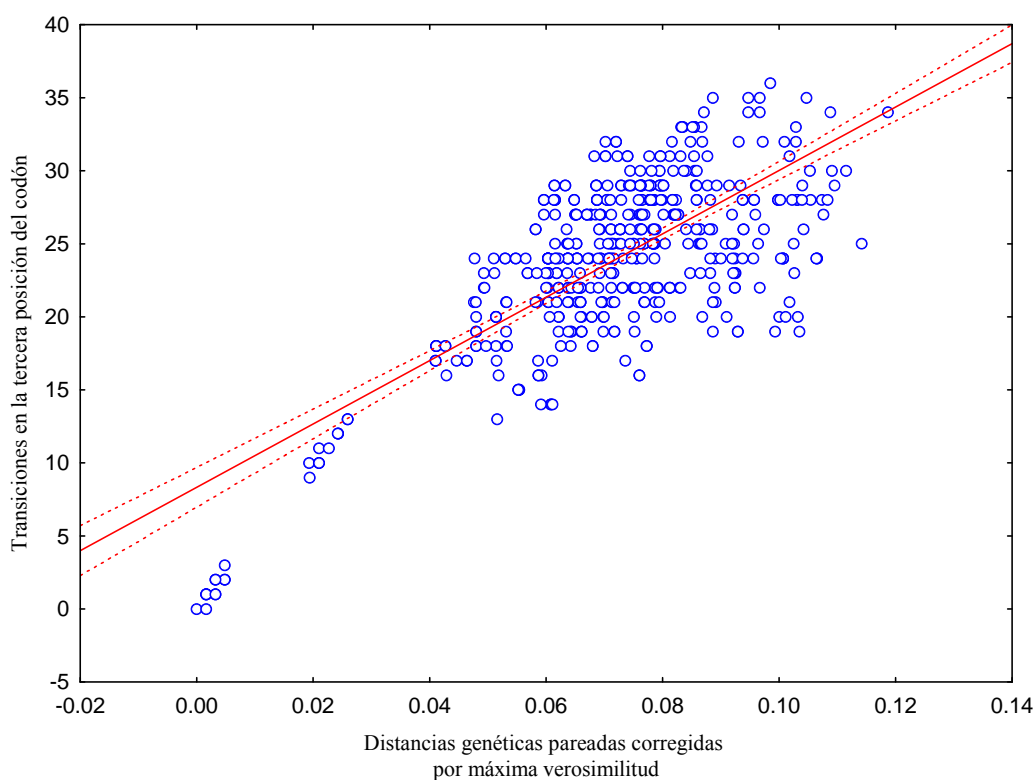


Figura 26 Gráfica de saturación del número de transiciones de la tercera posición del codón contra la distancia genética por par de secuencias corregidas por máxima verosimilitud entre especies del género *Pardosa*.

VII.4.10 Homogeneidad de la tasa evolutiva

Las pruebas de homogeneidad en la tasa evolutiva de las secuencias del fragmento del COI del ADNmt apoyan la hipótesis de una tasa constante de sustitución nucleotídica entre pares de especies: a) *P. sierra* y *P. vadosa* ($X^2 = 0.42$, $P = 0.516$) y b) *P. sierra* y *P. atromedia* ($X^2 = 03.13$ $P = 0.07710$), empleando como grupo externo primero un linaje cercano como *P. steva* y posteriormente uno lejano como *Schizocosa ocreata* (a)

$X^2 = 0.12$, $P = 0.73160$; b) $X^2 = 0.36$, $P = 0.54851$) o *P. pusiola* (a) $X^2 = 0.03$, $P = 0.86942$; b) $X^2 = 0.00$, $P = 1.00000$), todas estas pruebas con grados de libertad $g.l = 2$. Por lo tanto estos resultados permiten emplear las distancias genéticas como buenos estimadores de tiempos de divergencia entre las especies del género *Pardosa*.

VII.4.11 Relación entre la distancia genética y tiempos de divergencia

La ecuación de regresión obtenida entre la distancia genética (DG) y la edad del clado en millones de años (EC) fue $EC = -271 \times 10^3 + 8066 \times 10^2 * DG$ ($R^2 = 0.997$, $P = 0.00$), el resultado de la dispersión de datos y la línea de regresión se muestra en la Figura 27.

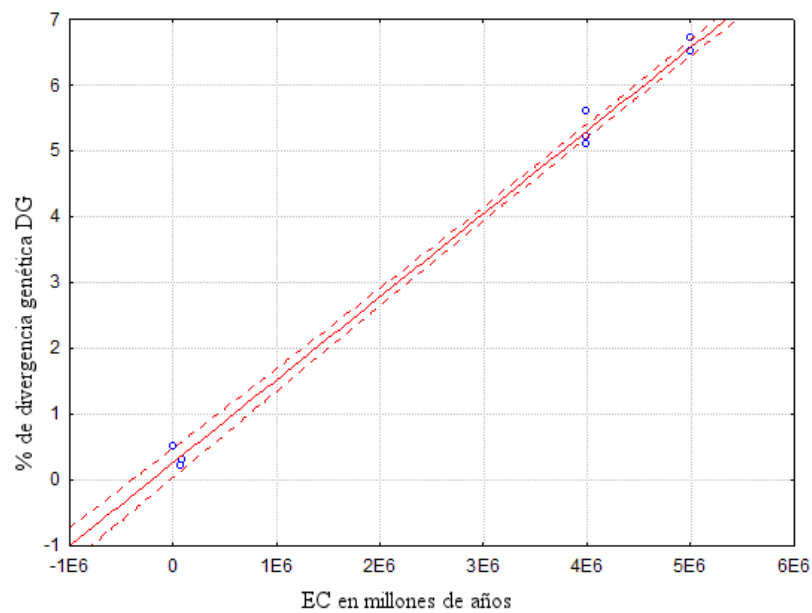


Figura 27 Relación entre el porcentaje de divergencia genética (DG) y edad del clado en millones de años (EC), $EC = -271 \times 10^3 + (8066 \times 10^2 * DG)$. Coeficiente de determinación $R^2 = 0.997$ ($P = 0.00$). Las líneas punteadas representan el intervalo de confianza al 95 %. Los puntos representan la divergencia entre los haplotipos de las distintas especies del grupo *lapidicina*.

El tiempo de divergencia calculado para cada par de especies fue: *P. sierra* y *P. vadosa* 5.72 millones de años; *P. sierra* y *P. atromedia* 4.53 millones de años; *P. atromedia* y *P. sura* 4.1 millones de años. Respecto a las poblaciones de *P. sierra* en la Península de Baja California, los tiempos de divergencia estimados fueron de: ENS/SLL de 8,000 años; ENS/CAD de 11,000 años y SLL/CAD de 9,500 años.

VII.4.12 Estimación de la tasa de mutación

La tasa de mutación estimada fue de 1.32 % de divergencia genética por millón de años.

VIII. DISCUSIÓN

VIII.1 Validez de *Pardosa sierra* como unidad taxonómica (especie)

Las diferencias morfológicas entre las hembras de especies del complejo *P. sierra*, son más conspicuas que las presentes entre los machos. Considerando esto y el hecho que en la taxonomía de los licosidos está basada en los pedipalpos de los machos probablemente llevó a Barnes (1959) a sinonimizar a *P. atromedia* y *P. sura* con *P. sierra*. En el presente estudio se identificaron diferencias entre las hembras de *P. sierra*, *P. sura* y *P. atromedia* sólo en su forma, no en sus medidas. Los caracteres morfológicos que fueron informativos son la forma de la pieza transversal, el conducto espermático, y las espermatecas en las hembras así como en el conductor, el émbolo, apófisis media, apófisis terminal y el esclerito accesorio medio en los machos (Cuadros XIV y XV). Estas estructuras muestran valor taxonómico para determinar las variaciones morfológicas corresponden a una diferenciación interespecífica, como se ha reportado en otras especies (Dondale y Redner 1984; Chang *et al.* 2007; Wiemers y Fiedler 2007; Dreyer y Brady 2008).

En la búsqueda del material tipo de las especies involucradas, no se encontraron ejemplares (holotipo o paratipos) identificados como *P. sura* que corroborara la descripción original de Chamberlin e Ivie (1941) por encontrarse extraviados. Sin embargo, sí se encontraron arañas designadas como sintipos en el MCZ, colectados e identificados por Banks en 1898 en la Sierra de La Laguna, que claramente empata con *P. sierra*. Asimismo, el análisis de dos ejemplares sintipos etiquetados como *P. sierra* también del MCZ y que previamente fueron identificados como *P. atromedia* por Banks en 1904, se ajustaron perfectamente a la descripción de *P. atromedia*.

Respecto a *P. sura*, el material tipo consistía de un holotipo y un paratipo depositados en la colección aracnológica del Museo de Historia Natural de Utah (Chamberlin y Ivie 1941). Esta colección fue trasladada en varias ocasiones a diferentes instituciones para finalmente ser depositada en la colección del AMNH, desafortunadamente durante el trayecto este material se perdió, por lo que se tuvo que asignar un neotipo, el cual fue descrito en Correa *et al.* (aceptado, Apéndice 3). En general mediante el análisis morfológico de los ejemplares se puede asegurar que hasta el momento el complejo de especies de *P. sierra* se encuentra formado por tres especies diferenciadas principalmente por la forma de las estructuras reproductoras de las hembras de cada especie.

El análisis de secuencias de un fragmento de COI del ADNmt mostró que las proporciones de nucleótidos (Cuadro XVI) de sitios variables confirman que esta región es un buen indicador, no sólo para la taxonomía del grupo, si no también como fuente de información filogenética, ya que no se registraron indicios de saturación como en otras especies de invertebrados (de Oliveira *et al.* 2005; Yassin 2009). La mayor parte de los cambios observados fueron silenciosos y sólo se detectó uno en la secuencia de aminoácidos que corresponde con una transversión (A/G) en la posición 497, en la segunda posición del codón AAG (K/S) de dos especies: *P. steva* y *P. sura* (Apéndice 1). A futuro, será necesario incluir a otras especies, para corroborar estos resultados (Roe y Sperling 2007) y poder hacer un estudio filogenético completo del grupo *lapidicina*.

El análisis de las diferencias en las distancias p entre categorías intra e interespecíficas fue positivo (+0,4), lo que indica que no existe un solapamiento entre categorías (Cuadro XVII y XVIII), la mínima variación de los valores de distancia p

entre las especies es mayor que la máxima variación dentro de las mismas. El valor mínimo de distancias *p* interespecíficas (2.46 %; *P. steva* y *P. valens* del grupo *lapidicina*) es mayor a las distancias genéticas registradas en un análisis poblacional del mismo fragmento en *P. astrigera* (2.06%), lo que hace suponer un valor "umbral" de divergencia en las secuencias relacionado con cambios en la morfología de los epiginios de las hembras (Hebert *et al.* 2003 y 2004, Barrett y Heber 2005; Astrin *et al.* 2006). La variación de los genitales de las hembras se correlacionó con los valores de distancias genéticas. La variación entre las especies fue mayor que el hipotético valor umbral mínimo de diferenciación de poblaciones en la que los genitales de las hembras no presentan cambios (Fig. 11) (Chang *et al.* 2007). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la actual *P. sierra* se compone de tres especies diferentes.

El análisis de secuencias de un fragmento del COI de ADNmt mostró que el rango de variación interespecífica de las distancias genéticas de las especies fue aproximadamente de ~ 5.7%, lo cual concuerda con la idea de que las especies están genéticamente bien diferenciadas (Hebert *et al.* 2003 y 2004; Paquin y Hedin 2004; Barrett y Hebert 2005; Astrin *et al.* 2006). Además, cuando las especies están estrechamente relacionadas, como en el caso de especies en un mismo grupo o consideradas como hermanas o crípticas como en otros grupos zoológicos, esos valores son indicativos de un fuerte divergencia filogenética (Artrópodos: Hajibabaei *et al.* 2006; Mamíferos: Clare *et al.* 2007; Aves: Kerr *et al.* 2007; Reptiles y Anfibios: Busack y Lawson. 2008). Los niveles de divergencia genética observados (Cuadros XVII y XVIII) indican que el fragmento del COI probado puede emplearse como códigos de barras para distinguir las especies del género *Pardosa*.

El dendograma del método del vecino más cercano (neighbour joining, NJ) mostró además que las especies representan diferentes grupos, posicionando en la base del grupo de especies a *P. sierra*, cerca de *P. vadosa* y *P. sura*, mientras que *P. atromedia* está cerca de *P. valens* y *P. steva* (Fig. 12). Este cladograma también indica que probablemente el muestreo de especies fue incompleto, es decir, faltó incluir especies de este grupo, aun cuando estos linajes se encuentran suficientemente separados como unidades reproductivas diferenciadas, estas forman, no obstante un complejo de especies morfológicamente similares (Fig. 12).

El análisis estadístico para la separación de los taxa, indica que la evidencia molecular coincide con la hipótesis morfológica donde se postula que los “morfotipos genitales” representan especies diferentes. Por lo tanto, la identificación de especies sobre la base de las secuencias de ADN demostró ser factible para corroborar la diferenciación de los genitales de las hembras de *P. sierra* (Huber 2004).

El uso de caracteres aportados por el ADN en un contexto de diagnóstico es totalmente compatible con la investigación taxonómica, con el se puede aceptar la hipótesis de que las diferentes morfologías observadas representan diferentes especies (DeSalle *et al.* 2005; Astrin *et al.* 2006; Vogler y Monaghan 2006; Bond y Stockman 2008).

No obstante, es importante precisar que este método molecular no es un sustituto para la taxonomía tradicional (Costa *et al.* 2007). Se ha sugerido que esta herramienta es efectiva en aplicaciones para delimitar especies crípticas, hermanas y resolver aspectos ecológicos (Bonte y Maelfait 2001; Bonte *et al.* 2003; Bell *et al.* 2005; Bowler y Benton 2005).

Además el uso de secuencias del COI del ADN mitocondrial como código de barras es de interés en el estudio de la ecología de arañas, ya que muchos organismos que se dispersan aeroestáticamente, lo hacen en estadios inmaduros y casi siempre no es posible identificarlos a nivel de especie (Greenstone *et al.* 1987; Greenstone 2001), los mecanismos de dispersión y la eficacia de ellos en estos grupos, podrían ser establecidos empleando esta valiosa herramienta.

De acuerdo a los resultados, la distribución de *P. sierra* en sentido estricto, está restringida a la Península de Baja California; *P. atromedia* presenta una distribución en las partes meridional y central de California, mientras que lo que se reconoció como *P. sura* es la especie con más amplia distribución en los Estados Unidos y México. Sin embargo no se excluye la posibilidad de que esta última especie puede estar compuesta de un grupo de especies hermanas, difíciles de separar mediante morfología somática y genital (Cuadro XIV y XV), pero podrían ser diferenciadas con el uso de marcadores moleculares como los empleados en este trabajo (Figs. 11 y 12).

Un hecho interesante a resaltar fue la falta de registros de *P. sura* en Sinaloa y Sonora, tanto con las recolectas hechas en el presente estudio como los registros investigados en colecciones científicas. Una posible explicación de su ausencia en estos estados es la exclusión competitiva y/o segregación en el tiempo entre *P. sura* y *P. vadosa*, esta última fue la especie dominante en muestras recolectadas en la parte norte de Sinaloa y casi todo el territorio de Sonora (más de 400 muestras completamente identificadas provenientes de 13 puntos de muestreo a lo largo de este estado).

En general, se demostró la utilidad de caracteres moleculares para la taxonomía de los especies de arañas, la cual permitieron una mejor precisión en la definición de

unidades taxonómicas (especies), principalmente cuando la morfología tradicional presenta serias limitaciones por el parecido morfológico de las estas.

VIII.2 Obtención de marcadores genéticos tipo Microsatélites de *P. sierra*

VIII.2.1 Amplificación cruzada

Se probaron tres pares de iniciadores aislados previamente de la especie filogenéticamente más cercana reportada en la literatura (*Dolomedes plantarius*), sin embargo estos pares de iniciadores no mostraron señales de amplificación, debido probablemente a que los sitios de alineamiento de los iniciadores en el genoma de *P. sierra* han cambiado lo suficiente como para no producir productos de PCR. La relación filogenética de *D. plantarinus* con *P. sierra* es a nivel de familia, lo que hace poco probable que las amplificaciones cruzadas sean exitosas (Chambers y MacAvoy 2000; Zane *et al.* 2002).

VIII.2.2 Polimorfismo de loci especie-específicos

De los 10 loci microsatélites reportados aquí sólo el locus *Psier29* presentó desviaciones significativas EHW, esta desviación fue debida a un déficit de heterocigotos. Existen varias causas que se han propuesto para explicar el déficit de heterocigotos, entre ellas podemos comentar las siguientes; la reproducción entre parientes cercanos o endogamia, la presencia de alelos nulos, errores en la lectura de toma de datos (artefactos técnicos), mezcla de poblaciones o efecto Wahlum, la deriva, entre otros (Castric *et al.* 2002). Los errores de lectura por la presencia de bandas fantasma pueden ocurrir cuando se realiza una lectura errónea de un heterocigoto por homocigoto. Otra posible causa es la presencia de alelos nulos por la falla en la

amplificación de uno de los alelos en algunos individuos, lo cual es debido a la inespecificidad de uno de los iniciadores empleados, o a la presencia de mutaciones en el extremo 3' donde se alinea el iniciador a la cadena de ADN. Este exceso de homocigotos provocado por alelos nulos sólo afectará a uno o pocos loci. El programa Micro-Checker indicó que el exceso de homocigotos en el locus *Psier29* para la mayoría de sus clases de tamaño de los alelos ($P < 0.05$) se deba a alelos nulos. Otra causa de déficit de heterocigotos puede deberse a la deriva génica y ésta se manifiesta cuando existe una reducción drástica del tamaño de las poblaciones, produciendo cambios en las frecuencias alélicas de forma aleatoria (Sharma *et al.* 2007). Aunque no se puede descartar esta posibilidad, esta explicación parece poco probable dado que otros loci pudieron haber sido afectados por el mismo fenómeno, lo cual no fue el caso.

La endogamia cuando se presenta en una población es otro fenómeno que produce déficit de heterocigotos, sin embargo, dado que este fenómeno afecta a todo el genoma, todos los loci o la mayoría de ellos mostrarían deficiencia de ellos (Toth *et al.* 2000). Los resultados obtenidos en este primer experimento, se observó que la mayoría de los loci no muestran este patrón, por lo que es probable que la endogamia no sea la causa del déficit de heterocigotos observados en individuos de Cadejé para el locus *Psier29*.

El número de microsatélites aislados en este trabajo fue de 10 (Cuadro XX), que comparado con el número de clonas revisadas, representa aproximadamente el 12 % de clonas positivas del total de clonas aisladas (Cuadro XIX). A pesar de haber empleado un proceso de enriquecimiento de ADN con motivos tipo microsatélite, la eficiencia fue baja. La escasa literatura sobre el aislamiento de microsatélites en arañas, dificulta discernir si esta baja eficiencia en la tasa de producción de microsatélites se deba a que

este tipo de marcadores son realmente escasos en el genoma de las arañas o a problemas en la técnica de aislamiento.

En las arañas donde se han aislado este tipo de iniciadores, se reportaron microsatélites con motivos dinucleótidos, principalmente con secuencias CA (Rütten *et al.* 2001). En el presente trabajo se emplearon distintas sondas (CT₁₂₋₁₅ y GT₁₂₋₁₅), y la sonda que más clonas positivas generó fueron aquellas con el motivo GT₁₂₋₁₅ que corresponden a fragmentos de ADN tipo CA (Cuadro XIX), conteniendo en algunos casos más de una región microsatélite con otro tipo de motivos (CT y TA). Esto indica que, ciertamente los fragmentos repetitivos más frecuentes en el genoma de invertebrados terrestres tipo arañas son aquellos del tipo CA (Rütten *et al.* 2001; Zane *et al.* 2002).

Se considera necesario realizar pruebas de segregación mendeliana a los loci aislados en este trabajo, ya que esta es una manera segura de verificar la autenticidad de los alelos y ayudar a identificar la presencia de alelos nulos (Supungul *et al.* 2000), así como para determinar su utilidad en estudios de parentesco (Moore *et al.* 1999), aún cuando la probabilidad de exclusión del conjunto de loci fue alta (0.999).

En conclusión los marcadores microsatélites que aquí se presentan (Cuadro XX), ofrecen una herramienta robusta, de alta resolución para estudios genéticos eficientes, por ejemplo, para diferenciar los niveles actuales de variación genética y permitir el análisis de paternidad en las poblaciones de *P. sierra* en los oasis de la Península de Baja California.

VIII.3 Genética de poblaciones de *P. sierra* en la Península de Baja California

El grupo de las arañas es uno de los taxa más diversos en el mundo (Griswold *et al.* 1993; Blackledge *et al.* 2009; Platnick 2010), a pesar de ello, a la fecha no existen trabajos publicados donde se hayan empleado marcadores microsatélite para tratar de identificar la estructura genética en poblaciones de especies de arañas. Para estos fines se han empleado las isoenzimas (Ramirez y Froehling 1997; Ramirez y Chi 2004), el polimorfismo del ADN mitocondrial (Muster y Berendonk 2006), así como el uso de nuevos marcadores moleculares del tipo secuencias repetidas internas simples (ISSR, Machkour-M'Rabet *et al.* 2008).

VIII.3.1 Variación intrapoblacional

VIII.3.1.1 Diversidad genética

En el presente estudio se emplearon cinco loci microsatélites en siete poblaciones ubicadas a lo largo de la Península de Baja California. Los análisis de la variabilidad genética dentro de poblaciones de *P. sierra* indicaron un alto grado de polimorfismo tanto en los valores promedio de heterocigocidad como en la riqueza alélica (H_o : 5.66-0.814, H_e : 0.805-0.852, N_a : 7.2-15). Estos valores de diversidad genética (Cuadro XXIII) son comparables con los valores de diversidad genética de microsatélites reportados para otras especies de invertebrados, principalmente insectos como en escarabajos del género *Phyllodecta* (H_o : 0.4-0.8, R : 3.9-16.6; Batley *et al.* 2004), o la especie *Dendroctonus frontalis* (H_o : 0.62-0.92, R : 5.9-14.52; Schrey *et al.* 2008), así como en lepidópteros; *Cydia pomonella* (H_o : 0.5-0.8, N_a : 4-17; Fuentes-Contreras *et al.* 2008) e himenópteros *Apis mellifera* (H_o : 0.671-0.922, N_a : 3-14; De La Rúa *et al.* 2003). Muchas de estas especies se caracterizan por presentar grandes poblaciones, con

una alta homogeneidad genética asociado a sus altas tasas migratorias, principalmente en polillas (Fuentes-Contreras *et al.* 2008) y abejas (Franck *et al.* 1998 y 2001).

VIII.3.1.2 Frecuencias alélicas

En el presente estudio se detectaron altos niveles de variación alélica (Cuadro XXIII) en todas las localidades de *P. sierra* muestreadas (Fig. 3) empleando cinco loci microsatélite, sin embargo, el número de loci privados por localidad fue bajo así como su frecuencia (Apéndice 2). Bajo la hipótesis de aislamiento genético se esperaría una fijación de alelos exclusivos (Spruell *et al.* 2003), éstos resultados de la no ocurrencia de alelos exclusivos apoyan los hallazgos de la existencia de flujo genético (ver más adelante) observados entre las distintas localidades de recolecta de *P. sierra* a lo largo de su distribución.

VIII.3.1.3 Equilibrio Hardy-Weinberg

Sólo dos poblaciones mostraron desviaciones al equilibrio de HW en uno o dos loci (NOV, *Psier20* y SIS, *Psier04* y *Psier20*; $P < 0.00014$), debido a un déficit de heterocigotos ($P = 0$). Como se comentó anteriormente, existen varias fuerzas que pueden producir un déficit de heterocigotos; se puede mencionar: 1) la presencia de alelos nulos, 2) deriva genética, 3) la consanguinidad, 4) selección sexual y/o mezcla de poblaciones o efecto Wahlund, (Castric *et al.* 2002). Las pruebas realizadas con Micro-Checker (Van Oosterhout *et al.* 2004) y FreeNa (Chapuis y Estoup 2007) indican que la posible presencia de alelos nulos no es significativa, por lo que se podría descartar que la presencia de alelos nulos sean la causa del déficit de heterocigotos. Los descriptores de diversidad genética tales como la riqueza alélica indican que las poblaciones de *P.*

sierra en los oasis presentan valores altos comparables con las de otros artrópodos (Zayed y Packer 2007; Endersby *et al.* 2009), probablemente indicando poblaciones grandes, lo que reduce a un mínimo los potenciales efectos de la deriva. Además, se descarta la consanguinidad como causa del déficit de heterocigotos debido a que en general los valores de heterocigocidad observada (H_o) para la mayoría de las pruebas por locus por población no muestran desviaciones significativas a los valores de heterocigocidad esperada no sesgada o H_e , ya que como lo mencionan Kunin y Gaston (1997), Courchamp *et al.* (1999), Engen *et al.* (2001), Halliburton (2004), entre otros, es muy probable que si existe un efecto de consanguinidad, los loci en todas o casi todas las poblaciones deberían estar afectados por un proceso de depresión endogámica que tendría además un efecto inmediato en toda la población, mientras que la reducción de heterocigotos por otros factores impacta a más largo plazo (Frankham 2005).

El déficit de heterocigotos puede ser probablemente causado por los sistemas reproductivos de selección de pareja después de una mezcla de poblaciones (Rousset y Raymond 1995). La mezcla de poblaciones puede darse mediante la dispersión de organismos empleando métodos indirectos, principalmente viento y probablemente también a través de corrientes de agua, esto posiblemente durante la época de verano ya que es cuando en la Península de Baja California se presentan las mayores precipitaciones y los vientos más fuertes (http://weather.unisys.com/hurricane/e_pacific/2003/) que pudieran permitir a las arañas dispersarse con éxito a través de la barrera ecológica que representa el matorral sarcocaulé que existe entre los humedales (Salmon y Horner 1977; Zabka y Nentwig 2002; Bonte *et al.* 2003; Szymkowiak *et al.* 2007), esto además permitiría a las arañas

aeronautas el poder aterrizar en un ambiente no tan hostil por las condiciones de humedad para ellas y reemprender la migración (Bonte *et al.* 2003).

VIII.3.1.4 Equilibrio de ligamiento gamético

No se observó desequilibrio de ligamiento gamético entre los loci empleados en este trabajo, lo que permite concluir que los loci se segregan independientemente. Un desequilibrio gamético puede ocurrir por varias causas entre ellas se puede comentar; una mezcla de poblaciones, la selección o el ligamiento físico entre los loci (Batley *et al.* 2004). La prueba de independencia de loci permite eliminar la suposición de que alguno de los fenómenos antes mencionados esté afectando los loci en una o más localidades muestreadas.

VIII.3.2 Variación entre poblaciones

VIII.3.2.1 Análisis Factorial de Correspondencia

El Análisis Factorial de Correspondencia pudo separar parcialmente a las localidades de la Sierra de la Laguna, de CAD y ROS-ENS de las localidades PSP-SIS y NOV (Fig. 14). Asimismo, este análisis gráfico permitió detectar mezcla entre las poblaciones, la cual fue más pronunciada entre los puntos correspondientes a la parte central de la Península de Baja California (PSP-SIS y NOV), así como entre las localidades más norteñas (ROS-ENS). Sin embargo, este análisis exploratorio no proporciona un soporte estadístico riguroso para la definición de unidades genéticas discretas que permitan delinear con certidumbre la presencia de poblaciones independientes (Spruell *et al.* 2003).

VIII.3.2.2 Estadísticos F de Wright

Los valores F_{ST} entre poblaciones de artrópodos son en general bajos pero significativos; por ejemplo en *Pardosa monticola* el valor promedio de F_{ST} fue de 0.01 estimada mediante isoenzimas (Bonte *et al.* 2003); en *P. monticola* usando AFLP el valor de F_{ST} fue de 0.0316 (Lambeets *et al.* 2010); y para *Geolycosa pikey* usando aloenzimas fue 0.020 (Boulton *et al.* 1998). Usando marcadores del tipo microsatélites los valores de F_{ST} de 0.0241 y de 0.0275 para especies del género *Phyllodecta* (Batley *et al.* 2004); 0.0264 para *Cydia pomonella* (Fuentes-Contreras *et al.* 2008); y de 0.002 para *Dendroctonus frontalis* (Schrey *et al.* 2008). Todos los valores también son comparables a los observados en el presente trabajo *P. sierra* ($F_{ST} = 0.026$, $P = 0.0001$). Los artrópodos en general presentan una alta propensión a la dispersión en determinadas épocas de año así como también altas capacidades de dispersión (Batley *et al.* 2004; Fuentes-Contreras *et al.* 2008; Schrey *et al.* 2008), estas características pueden resultar en los valores de F_{ST} semejantes.

El cálculo de los valores F_{ST} pareados entre las diferentes localidades estudiadas en *P. sierra*, muestra que existe ligera diferenciación genética pero significativa (Cuadro XXV), excepto para los pares de poblaciones PSP-SIS ($F_{ST} = 0.0020$) y ROS-ENS ($F_{ST} = -0.01585$). Estos resultados apoyan la idea que *P. sierra* presenta altas capacidades de dispersión. Además, los valores no significativos de diferenciación genética entre las poblaciones de la Sierra de la Giganta (PSP-SIS) y la región norte (ROS-ENS), así como los valores más bajos pero significativos ($F_{ST} = 0.0092$ a 0.051), son evidencias de que los individuos de *P. sierra* se dispersan, no obstante, los mecanismos de dispersión aún son pobremente conocidos, estos resultados contradicen la suposición de que a mayor especialización del hábitat menor capacidad de dispersión

(Bonte *et al.* 2003). *Pardosa sierra* fue considerada como altamente dependiente de humedales y por lo tanto con alta especialización del hábitat.

VIII.3.2.3 Análisis de varianza molecular AMOVA

De las tres hipótesis probadas usando el análisis jerárquico de varianza molecular, la hipótesis de cinco grupos es la que maximizó la varianza entre grupos. No obstante, el mayor porcentaje de varianza se repartió entre de los individuos (Cuadro XXVI), esto puede deberse a que *P. sierra* muestra una gran variación alélica a pesar del tamaño de las muestras ($n = 10$ hasta $n = 52$, Cuadro II), sin embargo también es un indicio del movimiento de individuos entre las localidades de muestreo. Este mismo fenómeno de gran variación alélica se observa en otros artrópodos donde existe una débil señal de diferenciación genética como en *Aedes aegypti* (Endersby *et al.* 2009), *Cydia pomonella* (Fuentes-Contreras *et al.* 2008) y *Dendroctonus frontalis* (Schrey *et al.* 2008), que presentan grandes capacidades de dispersión a través de un paisaje complejo por la orografía y desfavorable en términos de hábitat disponible en la mayor parte de sus áreas de distribución.

VIII.3.2.4 Determinación de número de poblaciones

El número de poblaciones más probable de acuerdo a los análisis bayesianos de STRUCTURE para las localidades estudiadas en *P. sierra* es de cinco, un par de ellas agrupa dos localidades (San Pedro de la Presa y San Isidro); otra a El Rosarito y Ensenada, dejando como poblaciones individuales las localidades de Sierra de la Laguna, El Novillo y Cadejé (Fig. 16). Estos resultados se obtuvieron seleccionado en STRUCTURE el modelo de mezcla y correlación de frecuencias alélicas. También se

empleó el modelo de no mezcla y frecuencias alélicas independientes, y los resultados fueron similar, es decir, la máxima verosimilitud del modelo se alcanzó cuando $K = 5$. Para la estimación del numero de poblaciones (K) una estrategia es incrementar el número de repeticiones en las que se calcula K , esto permite minimizar la varianza de la verosimilitud y por ende ajustar el mejor valor de K (Pritchard *et al.* 2000; Pritchard 2007). El número de interacciones empleadas para correr las simulaciones en este estudio fueron las estándares para este tipo de análisis (15 repeticiones desde $K = 1$ hasta $K = 7$; Evanno *et al.* 2005; Batley *et al.* 2004). Además con un menor número de quemado e interacciones, la probabilidad de que el valor de la verosimilitud no alcanzará la asíntota es alta y por lo tanto las estimaciones de K podrían sesgarse (Pritchard y Wen 2004; Evanno *et al.* 2005), el número de interacciones por repetición usadas en este estudio fueron de 10,000 de quemado y 100,000 interacciones, lo cual también es una estrategia estándar. Aunado a lo anterior, el estadístico de Evanno (Evanno *et al.* 2005) indicó un cambio modal de la verosimilitud en $K = 5$, esto confirma los resultados de las simulaciones anteriores (Berry *et al.* 2004; Pritchard y Wen 2004; Evanno *et al.* 2005; Bergl y Vigilant 2007; Enderbys *et al.* 2009).

El método de Evanno *et al.* 2005 (Fig. 15) es apropiado solo cuando existe fuerte diferenciación genética, una tasas de flujo genético (Nm) de 5 inmigrantes efectivos, el empleo de loci con alta tasas de mutación (como microsatélites) y números adecuados de loci e individuos (Evanno *et al.* 2005; Waples y Gaggiotti 2006). En este estudio, STRUCTURE pudo ser capaz de detectar estas diferencias genéticas debido a que los valores de N_m en su mayoría fueron próximos a las condiciones ideales (0.508 a 5.378) en las que este programa puede generar resultados realistas, además se emplearon marcadores altamente polimórficos y tamaños de muestra razonables.

VIII.3.2.5 Reconstrucción filogenética

Los resultados de la reconstrucción filogenética (Fig. 17) confirman los hallazgos observados con los métodos anteriores, el algoritmo N-J obtenido muestra que el soporte estadístico es alto para la mayoría de las ramas (58 % a 99 %) excepto para la localidad de CAD (39 %), esto concuerda con los resultados de F_{ST} que indican poca diferenciación entre esta localidad y la de NOV, además también se observó que el número de alelos privados en la localidad (NOV) fue muy bajo. Vale la pena señalar que para la construcción del árboles, se empleó la frecuencia de los alelos en cada población para generar la matriz de distancias genéticas D_{CE} (Spruell *et al.* 2003), la cual no hace referencia a ningún modelo evolutivo, por lo que el único supuesto que se puede aplicar es el de una tasa de mutación constante entre loci.

VIII.3.2.6 Aislamiento por distancia

No se observó una relación significativa entre la distancia geográfica y la distancia genética (D_{CE}), lo cual indica que las localidades más cercanas geográficamente no necesariamente muestran mayor tasa de intercambio de migrantes (Fig. 18) (Waples 1998). En general los artrópodos con grandes capacidades de dispersión no presentan una correlación significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica, éste fenómeno se observa en mariposas *Cydia pomonella* (Fuentes-Contreras *et al.* 2008) y *Helicoverpa armigera* (Scott *et al.* 2006), así como en escarabajos *Dendroctonus frontalis* (Schrey *et al.* 2008), *Phyllodecta vulgatissima* y *P. vitellinae* (Batley *et al.* 2004) y en áfidos *Aphis glycines* (Michael *et al.* 2009). Los autores de estos trabajos señalan que las capacidades de desplazamiento de las especies, el flujo genético y la falta de barreras que eviten la dispersión son los principales factores que explican la

ligera estructuración entre las poblaciones y lo que ocasiona que las distancias genéticas sean independientes de las distancias geográficas. Los ejemplos de los artrópodos mencionados anteriormente son considerados como plagas, por lo que presentan diferentes densidades de individuos en distintas épocas del año siendo la más alta cuando surgen los adultos de las pupas (p. e. julio y agosto, Batley *et al.* 2004; Michael *et al.* 2009), que coincide con la época en que algunos de estas especies migran hasta 100 metros por día (Batley *et al.* 2004), de 100 a 500 metros (Schrey *et al.* 2008) y hasta varios kilómetros (Fuentes-Contreras *et al.* 2008; Michael *et al.* 2009). Asimismo, algunas de estas especies están asociadas a las actividades humanas, por lo que el fenómeno de sinantropía representa un potencial mecanismo para la migración de estados juveniles en las especies como las polillas de la manzana *C. pomonella* y áfidos de la soja *A. glycines* (Fuentes-Contreras *et al.* 2008; Michael *et al.* 2009). En el caso de las arañas, la migración ha sido reportada preferentemente en organismos juveniles como en las especies de la familia Lycosidae (Greenstone *et al.* 1987; Bell *et al.* 2005), pero no se puede descartar la posible dispersión de los adultos en *P. sierra*.

La falta de correlación entre distancia genética y distancia geográfica también se ha reportado en otras taxa tales como en peces; el bacalao (Knutzen *et al.* 2003) y el dorado (Tripp-Valdez *et al.* 2010), en cuyos casos se le atribuye a la alta capacidad de dispersión de las especies, a la falta de barreras geográficas, a la retención larvaria (Tripp-Valdez *et al.* 2010) así como a la escala a la que se realizaron los estudios (Pogson *et al.* 2001).

Todo parece indicar que *P. sierra* es una especie altamente dispersiva que evita el aislamiento por distancia (Fig. 18), y los factores que ocasionan este fenómeno

pueden ser los mismos anteriormente expuestos para otras taxa, es decir altas capacidades de dispersión y la no ocurrencia de barreras para la dispersión.

VIII.3.2.7 Flujo genético

En las especies de artrópodos la estructura genética poblacional se relaciona directamente con las capacidades de dispersión y los modos como ocurre ésta (Lambeets *et al.* 2010). La dispersión puede ser ya sea activa o pasiva; la dispersión activa hace referencia a la capacidad de los organismos de desplazarse de un sitio a otro de manera independiente (desplazamiento por medio propios como la locomoción), mientras que en la dispersión pasiva, los organismos dependen de un medio de transporte que está fuera de su control, así como la dirección de ésta (corrientes de agua, viento o por un tercer organismo como foresia y sinantropía en el caso de humanos). En la mayoría de las especies de arañas el medio de dispersión más comúnmente registrado es la dispersión pasiva por medio eólico y corrientes de agua (Szymkowiak *et al.* 2007), y en algunos casos configuran un aislamiento por distancia (Boulton *et al.* 1998; Lambeets *et al.* 2010).

Los valores de inmigrantes efectivos estimados a partir de los F_{ST} variaron entre 4.29 a infinito entre las localidades (Cuadro XXVII). Mientras que MIGRATE estimo el rango de migración de 0.508 y 5.378. No hay un acuerdo sobre el empleo de F_{ST} para el cálculo de inmigrantes efectivos, este método se basa en el modelo de islas de Wright (1978), en donde cada localidad recibe y dona inmigrantes en igual proporción (migración simétrica), hecho que no siempre se cumple en las poblaciones naturales (Withlock y McCauley 1999) y *P. sierra* no es la excepción. Una de las ventajas en utilizar un método como el de máxima verosimilitud para calcular las tasas de

migración (MIGRATE) es que usa algoritmos que no asumen que todas las poblaciones han sido muestreadas (Berli y Felsenstein 1999; Beerli 2004; Bergl y Vigilant 2007) y además emplear una tasa asimétrica de migración bajo el supuesto de que no todos los individuos de una población tienen igual oportunidad de alcanzar otras poblaciones (Berli y Felsenstein 1999; Beerli 2004). Los resultados del programa MIGRATE son considerados más robustos que los de F_{ST} (Manier y Arnold 2005), por tal razón aquí se discutirá el proceso de flujo genético a partir de los resultados obtenidos mediante MIGRATE (Cuadro XXVIII).

El Novillo y Sierra de la Laguna (3.333 y 3.613) y Cadejé y San Isidro (2.255 y 2.974) muestran flujos genéticos equivalentes por lo tanto pueden considerarse simétricos y por su cercanía geográfica intercambian inmigrantes a tasas moderadamente altas. San Pedro de la Presa y El Novillo (3.497 y 3.633) mostraron patrones de migración también simétricos y moderadamente altos, pero la situación fue relativamente diferente. El Novillo se encuentra a 121 Km de la localidad San Pedro de la Presa, pero tan solo a 19.7 Km. de donde finaliza la Sierra de la Giganta en la que se ubica San Pedro de la Presa. La Sierra de la Giganta es el sistema de montañas más largo en la zona centro y sur de la Baja California, con una extensión de 30,785.36 Km cuadrados, ubicándose entre los 26° 30'' N y 112° 13' 40" O en su parte norte y en su parte sur 24° 03' 28.88'' N y 110° 34' 23.52'' O, (INEGI 2006) y presumiblemente con alta conectividad ya que al interior de la sierra existen cuerpos de aguas semipermanentes que hacen posible la dispersión de arañas dentro de ese corredor montañoso, por lo que la localidad de El Novillo no estaría realmente alejada y con ello se explicaría los niveles moderadamente altos de flujo genético entre ellas.

Otras localidades con flujo genético simétrico pero con altas tasas de intercambio son El Rosarito y Ensenada (5.37/4.62) y San Pedro de la Presa y San Isidro (4.81/4.73); en el caso de San Pedro de la Presa y San Isidro aunque geográficamente distantes (180 Km.) se encuentran dentro del mismo sistema montañosos presumiblemente con alta conectividad, Sierra de la Giganta. Con respecto a El Rosarito y Ensenada a pesar de su alejamiento Geográfico (430 Km.) muestran niveles altos y simétricos de flujo genético, la época de fuertes vientos derivados de las tormentas y ciclones que afecta esta zona todos los años durante el verano (julio a septiembre) facilitaría el desplazamiento de organismos entre estas localidades y otras aledañas, como es reconocido por autores como Blandenier y Früst (1998) quienes señalan que las arañas tienden a preferir ciertos periodos del año donde se ven favorecidas para la dispersión aérea.

Como ya se comentaba la Sierra de la Giganta representa un sistema de montañas que permite la conectividad y como consecuencia resulta en un corredor facilitando la dispersión de *P. sierra* en la parte central y sur de la Península de Baja California. Sin embargo, Cadejé en los análisis obtenidos con STRUCTURE y AMOVA se separó como una población genéticamente independiente, ésta es una de las localidades más aisladas orográfica y geográficamente, pues se encuentra hacia la vertiente del Pacífico y a pesar de su cercanía con la localidad de San Isidro que se encuentra en la Sierra de la Giganta, muestra un flujo simétrico y con tasas moderadamente altas (2.97-2.25; Cuadro XXVIII).

La localidad de la Sierra de la Laguna se encuentra en el extremo más sureño del área de estudio, y presentó flujo genético asimétrico con respecto a las otras localidades, enviando inmigrantes con tasas más altas a las localidades relativamente cercanas (El

Novillo 3.333 y San Pedro de la Presa 3.382) y con tasas menores a localidades lejanas (San Isidro 1.65, Cadejé 1.24, El Rosarito 1.063 y Ensenada 1.086) pero recibe inmigrantes a tasas altas de localidades cercanas El Novillo 3.613 y aún lejanas como El Rosarito 3.316, Cadejé 2.127 y a tasas menores a localidades intermedias tales como de San Isidro 1.538, y San Pedro de la Presa 1.837. Es obvio que no se observa una relación con la distancia geográfica. Este patrón de migración puede parcialmente explicarse en el contexto de la altitud a la que se encuentra la localidad de la Sierra de la Laguna (1,800 msnm), lo cual permite a los organismos de esta población alcanzar con mayor facilidad las localidades que se encuentran a menor altitud como El Novillo y San Pedro de la Presa. Sin embargo, a pesar de encontrarse a 1,800 msnm recibe una gran cantidad de inmigrantes. En estas localidades es posible que otros mecanismos de dispersión alternativos podría estar actuando, uno de ellos podría ser la sinantropía que permitiría a *P. sierra* moverse en contrasentido. La región de la Sierra de la Laguna es una de las localidades de gran afluencia de grupos humanos a lo largo de año, y esta actividad puede estar modificando el patrón de migración de *P. sierra*.

Entre las localidades El Novillo, San Isidro, Cadejé y San Pedro de la Presa, se observa un flujo genético fuertemente asimétrico habiendo mayor intercambio de migrantes efectivos de San Isidro hacia El Novillo (3.352), de Cadejé hacia El Novillo (3.478) y Cadejé hacia San Pedro de la Presa (3.241) que en sentido contrario (El Novillo hacia San Isidro 1.496; El Novillo hacia Cadejé 1.295 y San Pedro de la Presa hacia Cadejé 1.677).

En contraste, entre las localidades más norteñas (El Rosarito y Ensenada) y las localidades del centro de la Península como Cadejé y San Isidro existe una potencial barrera contra la dispersión, esta es el desierto del Vizcaíno, en esta área no existen

hábitats propicios para descender y continuar con la migración hacia el sur, la barrea se extiende desde El Rosarito hasta la planicie de Magdalena (INEGI 2006; 28° N y 26° 30'' y 114° 13' 40" O), sin embargo hay flujo genético moderado y bajo (Cuadro XXVIII) que además resulta ser asimétrico con las poblaciones del centro, que reciben más de El Rosarito y Ensenada y éstas envían menos inmigrantes.

Bajo el contexto de la orografía, es no obstante difícil explicar como algunas localidades (Cadejé, San Pedro de la Presa y San Isidro) reciben un mayor número de migrantes que el resto de las poblaciones (Cuadro XXVIII; Fig. 16 y 19), por lo que otros factores aún no conocidos como la migración pasiva mediante foresia puede ser un factor que explicaría los resultados observados. Aunque la foresia es un mecanismo de dispersión para muchas especies, *P. sierra* no presentan estructuras especializadas para sujetarse a otros organismos, como ocurre con algunos ácaros y pseudoescorpiones en donde se ha reportado este fenómeno de forma recurrente, contrario al grupo de las arañas donde los registros de foresia son nulos (Szymkowiak *et al.* 2007). La hipótesis sinantropía podría igualmente ser una posible explicación a este complejo patrón de dispersión presente en estas localidades. Otras especies del género *Pardosa* se encuentran estrechamente asociadas a las actividades humanas tanto a los cultivos como a las viviendas (Durán-Barron *et al.* 2009).

La movilidad de *P. sierra* probablemente puede estar siendo favorecida durante el periodo de lluvias, en donde la tasa de dispersión aumenta a través de la matriz de hábitats inhóspitos conectándose con las abundantes lluvias a lo largo de la Península de Baja California. El hábitat típico de *P. sierra* es bajo piedras y muy próximo a los cuerpos de agua (ríos, arroyos o charcas), pero en la Sierra de la Laguna se le ha observado entre los pastos y no confinadas estrictamente al afluente del arroyo

(observación personal), esta observación apoyaría la hipótesis de que la especie también muestra una dispersión activa favorecida durante el periodo de lluvias.

Bajo la hipótesis de desplazamiento aéreo, Vugts y Van Wingerden (1976), Greenstone (1990), Bishop (1990) y Ramirez y Haakonsen (1999) mencionan que el paisaje puede facilitar la dispersión de las arañas si el ambiente ecológico contiene hábitats adecuados que permitan a las arañas “aterrizar” y poder nuevamente emprender el desplazamiento aéreo, ya que la dispersión aerostática por si sola, no confiere un intercambio ilimitado de inmigrantes entre las poblaciones (Ramirez y Haakonsen 1999).

Se requiere, profundizar en el conocimiento de la biología de *P. sierra*, particularmente en lo referente a la capacidad de dispersión y sinantropía, que permitan explicar la estructura genética de las poblaciones observadas en los oasis de la Península de Baja California.

VIII.3.2.8 Tamaño efectivo poblacional

La estimación del tamaño efectivo poblacional por localidad varió dependiendo del método empleado, siendo mayores los valores obtenidos a partir de la heterocigosidad (59,523.81 a 173,664.45; Cuadro XXVII), en comparación con los obtenidos por MIGRATE (22,063.49 a 74,682.54; Cuadro XXVIII), debido al modelo y algoritmo empleado para dichos cálculos. Sin embargo la tendencia de ambos métodos es la misma, ya que la localidad con el tamaño efectivo poblacional mayor fue Sierra de la Laguna, seguida de las localidades de El Novillo, San Pedro de la Presa, San Isidro y Cadejé que se pueden clasificarse como intermedias, mientras que las localidades que

presentaron un menor tamaño efectivo poblacional fueron las localidades norteñas Ensenada y El Rosarito.

Los trabajos donde se aborda la estructura poblacional y el cálculo indirecto de el tamaño efectivo poblacional de artrópodos son escasos, sin embargo todos coinciden con la idea de que los artrópodos presenta altas densidades poblacionales, ejemplos: *C. pomonella* (Fuentes-Contreras *et al.* 2008); *H. armigera* (Scott *et al.* 2006); *D. frontalis* (Schrey *et al.* 2008); *P. vulgatissima* y *P. vitellinae* (Batley *et al.* 2004); *A. glycines* (Michael *et al.* 2009) y *A. aegypti* (Endersby *et al.* 2009). Asimismo, *P. sierra* es una especie de artrópodo depredadora y presentó tamaños poblacionales grandes (Cuadro XXVII y XXVIII) semejantes a los reportados para *A. aegypti* ($N_e = 45,502$ a $168,672$) calculados por métodos indirectos y una tasa de mutación de 6.3×10^{-6} (Endersby *et al.* 2009).

Otro aspecto importante a resaltar es que los valores de flujo genético se han relacionado con la densidad de las poblaciones, en donde se señala que existe una relación directa entre tamaño efectivo poblacional pequeño y el flujo genético reducido (Knutsen *et al.* 2003). Estas evidencias apoyan los resultados observados en *P. sierra*. En el oasis de la Sierra de la Laguna se observaron los valores más altos de tamaño efectivo de población (74,682) de acuerdo a Frankham *et al.* (2004) el tamaño efectivo poblacional calculado por métodos indirectos representa aproximadamente el 11 % del tamaño real de la población, por lo que la abundancia total de *P. sierra* en el oasis de la Sierra de la Laguna sería del orden de 746 800 individuos. Es necesario desarrollar investigaciones que permitan profundizar sobre la dinámica de las poblaciones de arañas en los humedales para confirmar los resultados obtenidos a partir de las estimaciones indirectas del tamaño efectivo de las poblaciones.

En general, los resultados presentados en este estudio indican la ocurrencia de una ligera diferenciación genética significativa entre localidades mediada por un fuerte flujo genético. Esto es importante, ya que hasta el momento no existen estimaciones en la literatura para *P. sierra* que ayuden a entender la distribución espacial de la diversidad genética de esta especie en la Península de Baja California. Contrario a lo esperado, las pruebas realizadas en este trabajo demostraron de forma indirecta una alta probabilidad de que *P. sierra* se disperse entre los oasis de la Península (Fig. 19). El conocimiento de la ecología de la dispersión que se tenía de esta especie era que se encontraba restringida a los cuerpos de agua de los humedales de la Baja California, por lo que se esperaba encontrar una fuerte diferenciación genética entre poblaciones (Lowrie 1973; Bonte *et al.* 2003 y 2004). Con este estudio se concluye que indudablemente esta especie migra, muy probablemente de forma pasiva, ya sea con el viento (aerostático), corrientes de agua o con la ayuda de un tercer organismo (p. e. sinantropía), y aún de forma activa favorecida por los periodos de lluvia en la región. El patrón de migración no obstante, es complejo (Fig. 19) y aún requiere de mayor cobertura del muestreo y mayor número de loci a estudiar para entender completamente los mecanismos y factores reguladores de la dispersión.

VIII.4 Relaciones filogenéticas de los grupos *lapidicina* y *milvina* del género *Pardosa* (Lycosidae)

VIII.4.1 Diversidad nucleotídica

La composición nucleotídica de las secuencias analizadas tanto las generadas en este trabajo como las obtenidas del GenBank, fue homogénea en cuanto a la proporción de bases nitrogenadas complementarias, las secuencias del género *Pardosa* mostraron una proporción de A-T de 69.5 % y de G-C de 30.5 % muy similar a aquellas de otros invertebrados tales como arañas de la familia Pholcidae (A-T = 65 %, G-C = 35 %; Astrin *et al.* 2006); Salticidae *Paraphidippus auranus*, (A-T = 70.5 % y G-C = 29.5 %; Hedin y Maddison 2001) u otros grupos de insectos tales como los del género *Ophraella* (14 especies de escarabajos) (A-T = 70 %, G-C = 30 %; Funk *et al.* 1995). Lo que indica que esta molécula del ADNmt presenta el mismo comportamiento tanto entre las arañas como entre otros artrópodos. La Fig. 20 muestra las secuencias de aminoácidos que componen al fragmento de COI aquí analizado, no se aprecian cambios evidentes a nivel de organización de aminoácidos, por lo que la mayor parte de las sustituciones observadas en la tercera posición del codón del ADN (Fig. 21) son silenciosos, es decir no afectan la función de la molécula, por lo que tales sustituciones nucleotídicas a nivel del ADN son consideradas neutrales (Kimura 1983). Por lo anterior, se puede suponer que el fragmento empleado en esta parte del trabajo aporta información importante que puede ser empleada para realizar inferencias filogenéticas de las especies de interés (Pagel 1994) ya que es selectivamente neutral (Sanford *et al.* 2006; Forister *et al.* 2008).

VIII.4.2 Métodos de reconstrucción filogenética

Todos los análisis para reconstruir las relaciones filogenéticas realizados con el fragmento del gen COI en este estudio (Figs. 22 a 25), apoyan la hipótesis que el género *Pardosa* es monofilético. Esta hipótesis es congruente con los estudios filogenéticos de la familia Lycosidae realizados en otras latitudes y usando tanto un fragmento del 12S (Murphy *et al.* 2006; Park *et al.* 2007) como el 28S y NADH1 (Murphy *et al.* 2006). No obstante, el presente estudio es el primer trabajo que intenta revisar las relaciones filogenéticas a nivel molecular de dos grupos de especies americanos distribuidos en el noroeste mexicano. Las topologías derivadas de los cuatro distintos análisis no difieren en general en los nodos formados para los grupos *lapidicina* y *milvina* (distancias genéticas con el algoritmo de vecino más cercano, máxima parsimonia, máxima verosimilitud e inferencias bayesianas). Los soportes de los nodos fueron generalmente altos en todos lo análisis (> 58 %), sólo en el análisis bayesiano se observó que una de las especies del grupo *milvina* (*Pardosa* sp1) se ubicó como una politomía en la base del clado, esto puede ser el resultado de un fenómeno de atracción de ramas largas provocado principalmente por la falta de muestreo de especies dentro del grupo *milvina* (Sanderson *et al.* 2000; Kolaczkowski y Thornton 2009). Por lo que una de las soluciones sería aumentar el número de secuencias de especies distintas dentro del grupo (Sanderson *et al.* 2000). Sin embargo, es claro que *Pardosa* sp1 representa una especie nueva.

Las especies *Pardosa lapidicina*, *P. mercuriales* y *P. fallax* que también forman parte del grupo de especies *lapidicina* no fueron analizadas en este estudio a pesar de ello, el grupo de especies estudiadas (*P. sierra*, *P. atromedia*, *P. sura*, *P. steva*, *P. valens* y *P. vadosa*) formaron un clado monofilético, estos resultados son congruentes

con los análisis morfológicos realizados por Barnes (1959) que indica que estas especies están relacionadas por los caracteres que se encuentran en los pedipalpos de los machos (apófisis media y terminal, émbolo y conductor) y los epiginios de las hembras (forma y posición de los escleritos laterales de la pieza media, forma de los conductos espermáticos y forma de las espermatecas). Lo mismo ocurre para el grupo de especies *milvina* aquí analizadas (*P. milvina*, *P. bellona* y *P. hamifera*). Asimismo estos resultados concuerdan con la hipótesis de monofilia de este grupo derivado de los análisis morfológicos realizados por Dondale y Redner (1984) en base a caracteres como la apófisis media y terminal, émbolo y conductor en el caso de los machos y en los epiginios de las hembras son la forma y posición de la pieza media, forma de los conductos espermáticos y forma de las espermatecas. Confirmando también la monofilia para este grupo de arañas en cuanto a la filogenia molecular. Además se resalta que la posición del clado *milvina* dentro de los árboles filogenéticos de los distintos métodos permite suponer que es un clado ancestral con respecto a *lapidicina*.

A nivel de relaciones filogenéticas dos aspectos importantes resaltan. Por un lado *P. sierra* está relacionada con *P. vadosa* y *P. sura*, de la parte continental mexicana (Chihuahua, Durango y Nuevo León) mientras que *P. atromedia* está más relacionada con las especies *P. steva* y *P. valens* aparentemente más recientes que el resto del grupo *lapidicina* (Cuadro XXXI), por presentar la menor distancia genética entre ellas que con respecto al resto de las especies del grupo y situarse en las ramas más externas del clado *lapidicina* (Figs. 22 a 25).

En general, el fragmento del gen COI de ADNmt de especies del género *Pardosa* es conservado y muestra una tasa de mutación constante por lo que aporta información relevante para la construcción de hipótesis de ancestría descendencia entre

las especies aquí estudiadas, por lo que podemos concluir que los análisis indican que los grupos *lapidicina* y *milvina* son monofiléticos, siendo probablemente éste último más anterior que el primero. Es recomendable, incluir en futuros análisis un mayor número de especies americanas para poder establecer las relaciones filogenéticas de todas las especies de los grupos *milvina* y *lapidicina* así como de otros grupos de araña americanos.

VIII.4.3 Homogeneidad de la tasa evolutiva

La prueba de no saturación observada en la molécula del COI en *Pardosa sierra* se ve soportada por las pruebas de homogeneidad en la tasa evolutiva de las secuencias y ambas pruebas apoyan la hipótesis de una tasa constante de sustitución nucleotídica (Fig. 27). Brower (1994) menciona que para el COI esta tasa es del orden de 1.1 a 1.2 % de divergencia por millón de años para especies del género *Heliconius* de mariposas sudamericanas y otras especies de animales (Brower 1994; Arbogast *et al.* 2002; Weir y Schluter 2008), este valor es cercano a 1.32 % de divergencia genética por millón de años estimado para especies del género *Pardosa*.

VIII.4.4 Relación entre la distancia genética y tiempos de divergencia

El noreste de México es un área geográfica dinámica que ha sufrido grandes cambios geológicos y climáticos que han permitido la formación de eventos vicariantes funcionando como verdaderas barreas para la dispersión de la fauna y flora, favoreciendo el asilamiento genético y por ende la especiación (Riddle *et al.* 2000a; Riddle y Hafner 2006). Dentro de estos eventos vicariantes se puede mencionar la formación del Golfo de California ocurrida durante y hacia finales del Mioceno (Riddle

et al. 2000a; Riddle y Hafner 2006), la hipotética trasgresión marina norteña de finales del Plioceno (Riddle *et al.* 2000a; Riddle y Hafner 2006), el incremento del caudal del Río Colorado por el embasamiento o inundación de San Gregorio ocurrida hacia el inicio del Pleistoceno (Riddle y Hafner 2006) y el proceso de desertificación que ha afectado al noroeste de México desde el Pleistoceno (Riddle *et al.* 2000a; Murphy 1983). Usando estos argumentos geológicos y climáticos, puede ser posible calibrar los tiempos de divergencia de las especies de arañas pertenecientes al grupo *lapidicina* (*P. sierra*, *P. atromedia* y *P. sura*). Sin embargo, uno de los puntos medulares del reloj molecular es el de contar con evidencia fósil (Levinton 2008) para contrastar los resultados de los análisis genéticos, que para el caso de las arañas y en particular para los pares de especies *P. sierra* y *P. vadosa*, *P. sierra* y *P. atromedia* y *P. atromedia* y *P. sura*, no se cuenta. Por lo que la alternativa usada en este estudio fue el uso de la molécula del COI sin saturación en la composición nucleotídica (Fig. 26) y una tasa constante de mutación (distancia genética de 1.32 % por millón de años), así como el empleo de las relaciones filogenéticas entre las especies de *Pardosa* americanas, la distribución actual de dichas especies y los eventos vicariantes antes mencionados.

La distancia genética de 6.9 % entre el par de especies *P. sierra* y *P. vadosa* permitió estimar un tiempo de divergencia de 5.72 millones de años, estas especie se distribuyen en la Península de Baja California y en la parte continental mexicana (Sonora y Sinaloa) respectivamente. Mientras que *P. atromedia* de distribución norteña (endémica de California Estados Unidos) se diferencia de *P. sierra* con una distancia genética de 5.5 % que corresponde a 4.53 millones de años de divergencia. Para las especies *P. atromedia* y *P. sura*, con una distancia genética de 5 % entre ellas, el tiempo de divergencia estimado fue de 4.1 millones de años. A su vez las poblaciones de

Pardosa sierra (ENS, CAD y SLL) mostraron distancias genéticas no mayores a 0.5 %, estas distancias genéticas corresponden a un intervalo de 8,000-11,000 años de divergencia.

Estos tiempos de divergencia entre las especies de *Pardosa* coinciden con la ocurrencia de eventos geológicos y climáticos que pudieron permitir el aislamiento genético. Por ejemplo, la formación del Golfo de California ocurrió hace 5 millones de años (Riddle *et al.* 2000a) el cual concuerda con la separación de las especies *P. sierra* y *P. vadosa*. La posible existencia de una trasgresión norteña durante el Plioceno tardío (4 a 4.5 millones de años, Riddle *et al.* 2000a) podría explicar el proceso de especiación entre *P. atromedia* y *P. sierra*. Así como el incremento del Río Colorado ocurrido durante el Plioceno tardío y Pleistoceno temprano (3.5 a 4.0 millones de años, Riddle *et al.* 2000b; y Riddle y Hafner 2006) ayudaría a entender el proceso de especiación entre *P. atromedia* y *P. sura*.

Como se mencionó *P. sierra* en la Baja California es una especie que requiere de ambientes húmedos para sobrevivir, por lo que el proceso de desertificación que afectó al noroeste de México puede representar una barrera para la dispersión. Las distancias genéticas entre las poblaciones de *P. sierra* nunca fueron mayores de 0.5 % que representan según el reloj molecular usado una divergencia de entre 8 a 11 mil años, el cual es justo el tiempo en el que el proceso de desertificación comenzó (Riddle y Hafner 2006).

Estos patrones filogeográficos han sido observados en otros taxa. Por ejemplo, la formación del Golfo de California ha sido invocado para explicar la divergencia de especies de anfibios *Bufo punctatus* (Jaeger *et al.* 2005); pequeños mamíferos *Peromyscus eremicus* (Riddle *et al.* 2000b); artrópodos como las especies de arañas

Homalonychus theologus y *H. selenopoides* (Crews y Hedin 2006), moscas *Drosophila mettleri* y *D. nigrospiracula* (Castrezana y Markow 2008) y plantas *Euphorbia lomelii* (Garrick *et al.* 2009). Respecto a la trasgresión norteña, es un evento que ha sido reconocido como barrera geográfica antigua en el patrón filogeográfico de especie de araña *Homalonychus selenopoides* (Crews y Hedin 2006); moscas *Drosophila pachea* y *Drosophila nigrospiracula* (Hurtado *et al.* 2004); anfibios *Bufo punctatus* (Riddle *et al.* 2000a); pequeños mamíferos *Thomomys bottae* (Alvarez-Castañeda y Patton 2004) y plantas *Euphorbia lomelii* (Garrick *et al.* 2009).

Asimismo el proceso de desertificación de la Península de Baja California, afectó los patrones filogeográficos de anfibios *Scaphiopus couchi* (Murphy 1983); reptiles *Eridiphes slevini* (Murphy 1983); especies de arañas *Homalonychus theologus* (Crews y Hedin 2006); especies de moscas *Drosophila nigrospiracula* (Hurtado *et al.* 2004) y plantas *Euphorbia lomelii* (Garrick *et al.* 2009).

Por otra parte, la regionalización en provincias biogeográficas de floras y faunas establecidas por Morafka *et al.* (1992), Morrone (2001), Morrone (2002) y (Zink 2002), concuerda con la distribución y divergencia de las especies del grupo *lapidicina*, estos autores reconocen las siguientes provincias; la provincia Californiana, la provincia de Baja California y la Arizonica (Sonora y Arizona). *P. sierra* se restringe a la provincia de Baja California; *P. atromedia* se limita a la provincia Californiana. *P. sura* se sitúa en la provincia denominada Arizonica, todas ellas como parte de la región Neártica.

En conclusión, los resultados obtenidos con secuencias de un fragmento del COI muestran homogeneidad y constancia en su tasa de mutación, apoyan la hipótesis de que la diversificación de las especies del género *Pardosa* del grupo *lapidicina* pudo haber sido el resultado de eventos vicariantes que han afectado el noroeste de México desde su

conformación. Los hallazgos independientes sobre los patrones filogenéticos y filogeográficos observados en otras especies de artrópodos, vertebrados y plantas confirmar esta suposición. Asimismo se corrobora la utilidad de este fragmento de ADNmt como fuente de información taxonómica, ya que fue posible confirmar la presencia de una nueva especie del género *Pardosa* del grupo *milvina* (*Pardosa* sp1) del noroeste de México que requiere ser descrita para la ciencia.

CONCLUSIONES

- La especie tipológica de *Pardosa sierra* a lo largo de su distribución geográfica está compuesta por al menos tres especies (*Pardosa sierra*, *P. atromedia* y *P. sura*) delimitadas por diferencias morfológicas observadas en los genitales de las hembras y por diferencias genéticas de un fragmento del gen COI del ADNmt.
- *Pardosa sierra* es endémica de la península de Baja California, *Pardosa atromedia* se encuentra restringida a la porción central y sur de California y *P. sura* se distribuye desde Oregon en Estados Unidos, hasta la parte sur de México (Veracruz y Oaxaca).
- *Pardosa sierra* distribuida desde Ensenada, Baja California hasta la región de los Cabos presenta escasa diferenciación genética en un fragmento del COI del ADNmt (distancias genéticas < 0.05 %).
- Se desarrolló una batería de 10 loci microsatélites para el estudio de ecología molecular de *Pardosa sierra*. Los niveles de variabilidad genética de cinco de estos marcadores expresados en número de alelos, alelos efectivos y heterocigocidad encontrados en *P. sierra*, fueron altos y similares a los reportados en la literatura para otros Artrópodos.
- Los valores de diferenciación genética encontrados entre las poblaciones a lo largo de la Península de Baja California fueron pequeñas pero significativas (F_{ST} global = 0.026, $P = 0.0001$).
- *Pardosa sierra* no está constituida por una población panmíctica a lo largo de la Península de Baja California, pues se detectaron al menos cinco poblaciones homogéneas y diferentes entre sí: 1) Sierra de la Laguna, 2) El Novillo, 3) San Pedro de la Presa-San Isidro, 4) Cadejé y 5) El Rosarito-Ensenada.

- No se detectó un aislamiento por distancia estadísticamente significativa, lo que puede implicar una tasa asimétrica de migrantes entre localidades.
- En general, los valores de flujo genético fueron altos en las localidades donde se recolectó *P. sierra* a pesar de ser una especie dependiente de la presencia de agua y circunscribirse a los oasis de la Península de Baja California, por lo que muestra mecanismos de dispersión pobremente entendidos.
- Los valores de tamaño efectivo poblacional detectados mediante los métodos empleados si bien difieren en sus cantidades se asemejan en sus tendencias, indican que Sierra de la Laguna fue la de mayor tamaño efectivo poblacional siguiéndole en importancia; El Novillo; San Pedro de la Presa-San Isidro; Cadejé y El Rosarito-Ensenada. Estos resultados coinciden con poblaciones grandes propias de los Artrópodos.
- Se determinó que la tasa de mutación de un fragmento del COI del ADNmt en las especies del género *Pardosa*, es constante a través del tiempo y corresponde a una razón de cambio de 1.32% de divergencia genética por millón de años.
- Mediante la prueba de saturación se determinó que el fragmento de ADNmt usado en este estudio no se encuentra saturado, por lo que las similitudes no representan homoplasias.
- Se corroboró que éste marcador genético (COI) es fuente de información filogenética confiable.
- Los grupos de especies *lapidicina* y *milvina* son monofiléticos siendo el grupo *milvina* probablemente más anterior.
- Las especies del grupo *lapidicina* por ser monofiléticas, probablemente reflejan parte de la historia que ha ocurrido en las zonas que habitan, ya que los procesos

vicariantes que se han propuesto para la zona para otros grupos biológicos, concuerdan con el patrón y el tiempo de diversificación del clado.

- Los tiempos de divergencia estimados para los pares de especies *P. vadosa* y *P. sierra* fueron de 5.7 millones de años, siendo el establecimiento del Golfo de California el evento vicariante responsable de dicha divergencia; *P. atromedia* y *P. sierra* se separaron hace 4.53 millones de años presumiblemente debido a la trasgresión marina en la parte norte de la península de California; *P. atromedia* y *P. sura* se separaron hace 4.1 millones de años presuntamente por el embasamiento de San Gregorio y aumento de caudal del Río Colorado. Las poblaciones de *P. sierra* presentaron tiempos de divergencia de 8,000 (ENS/SLL), 9,500 (CAD/SLL) y 11,000 años (ENS/CAD), posiblemente debido a un fenómeno de desertificación que comenzó hace 15,000 años.
- Se corroboró la utilidad de un fragmento del COI como fuente de información taxonómica, ya que se pudo confirmar la presencia de una nueva especie de araña del género *Pardosa* del grupo *milvina* de Baja California.

LITERATURA CITADA

- Allendorf, F. W. y G. Luikart. 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Published, USA. 642 p.
- Aljanabi, S. M. y I. Martinez. 1997. Universal and rapid salt –extraction of high quality genomic DNA for PCR–based techniques. *Nucleic Acids Research* 25:4692–4693.
- Alvarez–Castañeda, S. T., y J. L. Patton. 2004. Geographic genetic architecture of pocket gopher (*Thomomys bottae*) populations in Baja California, Mexico. *Molecular Ecology* 13:2287–2301.
- Arbogast, B. S., S. V. Edwards, J. Wakeley, P. Beerli y J. B. Slowinski. 2002. Estimating divergence times from molecular data on phylogenetic and population genetic timescales. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 707–740.
- Armour, J. A. L., A. A. Alegre, S. Miles, L. J. Williams y R. M. Badje. 1999. Minisatellite and mutation processes in tandemly repetitive DNA. En: *Microsatellites, Evolution and applications*. Goldstein D. B. y C. Schlötterer Editores. Oxford University Press 24–33 pp.
- Astrin, J. J., B. A. Huber, B. Misof y C. F. C. Klutsch. 2006. Molecular taxonomy in pholcid spiders (Pholcidae, Araneae): evaluation of species identification methods using CO1 and 16S rRNA. *Zoologica Scripta* 35:441–457.
- Balloux, F. y J. Goudet. 2002. Statistical properties of population differentiation estimators under stepwise mutation in a finite island model. *Molecular Ecology* 11: 771–783.

- Banks, N. 1898. Arachnida from Baja California and other parts of Mexico. Proceedings of the California Academy of Science 1:205–308.
- Banks, N. 1904. Some Arachnida from California. Proceedings of the California Academy of Science 3:331–376.
- Barnes, R. D. 1959. The *lapidicina* Group of the Wolf Spider Genus *Pardosa* (Araneae, Lycosidae). American Museum Novitates 1960:20 p.
- Barthel, J. y O. v. Helversen, 1990. *Pardosa wagleri* (Hahn 1822) and *Pardosa saturator* Simon 1937, a pair of sibling species (Araneae, Lycosidae). Bulletin de la societe Europeenne d'Arachnologie 1:17–23.
- Barrett, R. D. H. y P. D. N. Hebert. 2005. Identifying spiders through DNA barcodes. Canadian Journal of Zoology 83:481–491.
- Batley, J., K. J. Edwards, J. H. A. Barker, K. J. Dawson, C. W. Wiltshire, D. M. Glen y A. Karp. 2004). Population structure of the beetle pests *Phyllodecta vulgaticissima* and *P. vitellinae* on UK willow plantations. Insect Molecular Biology 13: 413–421.
- Berli, P. y J. Felsenstein. 1999. Maximum–Likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using a coalescent approach. Genetics 152: 763–773.
- Berli, P. 2004. Effect of unsampled populations on the estimation of population sizes and migration rates between sampled populations. Molecular Ecology 13:827–836.
- Belkhir, K., P. Borsa, J. Goudet y F. Bonhomme, 1999. Genetix program package version 4.0. Laboratoire Génome et Populations. USTL. Université de Montpellier II, Montpellier (Francia).

- Bell, J. R., D. A. Bohan, E. M. Shaw y G. S. Weyman. 2005. Ballooning dispersal using silk: World fauna, phylogenies, genetics and models. *Bulletin of Entomological Research* 95: 69–114.
- Benbouza, H, J–M. Jacquemin, J–P. Baudoin y G. Mergeai. 2006. Optimization of a reliable, fast cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnology Agronomic Society and Environment* 10: 77–81.
- Bergl, R. A. y L. Vigilant. 2007. Genetic analysis reveals population structure and recent migration within the highly fragmented range of the Cross River gorilla (*Gorilla gorilla diehli*). *Molecular Ecology* 16:501–516.
- Berry, V. y O. Gascuel. 2000. Inferring evolutionary trees with strong combinatorial evidence. *Theoretical Computer Science* 240: 271–298.
- Berry, O., M. D. Tocher y S. D. Sarre. 2004. Can assignment tests measure dispersal? *Molecular Ecology* 13: 551–561.
- Bishop, L. 1990. Meteorological aspects of spider ballooning. *Environmental Entomology* 19: 1381–1387.
- Bishop, L. y S. E. Riechert. 1990. Spider colonization of agroecosystems: mode and source. *Environmental Entomology* 19:1738–1745.
- Blackledge, T. A., N. Scharff, J. A. Coddington, T. Szűts, J. W. Wenzel, C. Y. Hayashi e I. Agnarsson. 2009. Reconstructing web evolution and spider diversification in the molecular era. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 5229–5234.
- Blandenier, G. y P. A. Früst. 1998. Ballooning spiders caught by suction trap in an agricultural landscape in Switzerland. In: *Proceedings of the 17th European*

- Colloquium of Arachnology (Selden P. A., Eds.), Edinburgo, Burnham Beeches, British Arachnological Society 177–186.
- Bond, J. E. y A. K. Stockman. 2008. An integrative method for delimiting cohesion species: finding the population–species interface in a group of Californian trapdoor spiders with extreme genetic divergence and geographic structuring. *Systematic Biology* 5:628–646.
- Bonnet, P. 1958. *Bibliographia araneorum*. Toulouse 2:3027–4230.
- Bonte, D. y J.–P. Maelfait. 2001. Life history, habitat use and dispersal of a dune wolf spider (*Pardosa monticola* (Clerck, 1757) Lycosidae, Araneae) in the Flemish coastal dunes (Belgium). *Belgian Journal of Zoology* 131: 141–153.
- Bonte, D., N. Vandenbroecke, L. Lens, J. Maelfait, M. Hoffmann y E. Kuijken. 2003. Patch quality and connectivity influence spatial dynamics in a dune wolfspider. *Oecologia* 135: 227–233.
- Bonte, D. y J.–P. Maelfait. 2004. Colour variation and crypsis in relation to habitat selection in the males of the crab spider *Xysticus sabulosus* (Hahn, 1832) (Araneae: Thomisidae). *Belgian Journal of Zoology* 134: 3–7.
- Bonte, D., B. J. Vanden, L. Lens y J.–P. Maelfait. 2006. Geographic variation in wolfspider dispersal behaviour is related to landscape structure. *Animal Behavior* 72: 655–662.
- Boulton, A. M., M. G. Ramirez and C. P. Blair, 1998. Genetic structure in a coastal dune spider (*Geolycosa pikei*) on Long Island, New York barrier islands. *Biological Journal of the Linnean Society* 64: 69–82.

- Bowler, D. E. y T. G. Benton. 2005. Causes and consequences of animal dispersal strategies: Relating individual behaviour to spatial dynamics. *Biological Reviews* 80: 205–225.
- Busack, S y R. Lawson. 2008. Morphological, mitochondrial DNA and allozyme evolution in representative amphibians and reptiles inhabiting each side of the Strait of Gibraltar. *Biological Journal of the Linnean Society* 94: 445–461.
- Brohede, J. y H. Ellegren. 1999. Microsatellite evolution: polarity of substitutions within repeats and neutrality of flanking sequences. *Proceedings of the Royal Society of London Series B — Biological Sciences* 266: 825–833.
- Brower, A.V.Z. 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:6491–6495.
- Bruvo–Madaric, B., B. A. Huber, A. Steinacher y G. Pass. 2005. Phylogeny of pholcid spiders (Araneae: Pholcidae): Combined analysis using morphology and molecules. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 661–673.
- Caetano, L., T. D. Silveira y S. L. Boniato. 2009. Isolation and characterization of 12 dinucleotide microsatellite loci in *Paratrechalea galianoae* (Araneae, Trechaleidae), a nuptial gift–spider. *Molecular Ecology Resources* 9: 539–541.
- Callen D. F., A. D. Thompson, Y. Shen, H. A. Phillips, R. I. Richards, J. C. Mulley y G. R. Sutherland. 1993. Incidence and origin of “null” alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *American Journal of Human Genetics* 52: 922–927.

- Carreño A.L. y J. Helenes. 2002. Geology and ages of the islands. En: TJ Case, ML Cody, E Ezcurra (eds.), *A New Island Biogeography of the Sea of Cortes*. Oxford University Press, Oxford 14–40 p.
- Castrezana, S. J. y T. A. Markow. 2008. Sexual isolation and mating propensity among allopatric *Drosophila mettleri* populations. *Behavioral Genetics* DOI 10.1007/s10519-008-9209-0.
- Castric, V., L. Bernatchez, K. Belkhir y F Bonhomme. 2002. Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr *Salvelinus Fontinalis* Mitchell (Pisces, Salmonidae): a test of alternative hypotheses. *Heredity* 89: 27–35.
- Cavalli-Sforza, L. L. y A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution* 32: 550–570.
- Chamberlin, R. V. y W. Ivie. 1941. Spiders collected by L. W. Saylor and others, mostly in California. *Bulletin of the University of Utah* 31: 1–49.
- Chambers, G. K. y E. S. MacAvoy. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 126: 455–476.
- Chang, J., D. Song y K. Zhou. 2007. Incongruous nuclear and mitochondrial phylogeographic patterns in two sympatric lineages of the wolf spider *Pardosa astrigera* (Araneae: Lycosidae) from China. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 104–121.
- Chapuis, M.P., y A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24: 621–631.
- Charitonov [Kharitonov], D.E. 1932. Katalog rousskich paoukow. *Iejiegod Zoologicheskogo muzeya Akademii Naouk SSSR* 32: 1–207.

- Chakraborty, R., M. Kimmel, D. N. Stivers, L. J. Davison, y R. Deka. 1997. Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite loci. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 94: 1041–1046.
- Cheng, H. H. y L. B. Crittenden. 1994. Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poultry Science* 73: 539–46.
- Cheung, W. Y., Hubert, N. y Landry, B. S. 1993. A Simple and Rapid DNA Microextraction Method for Plant, Animal, and Insect Suitable for RAPD and Other PCR Analyses. *PCR Methods and Applications* 3: 69–70.
- Clare, E.L., B.K. Lim, M.D. Engstrom, J.L. Eger y P.D.N. Hebert. 2007. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes* 7: 184–190.
- Cockerham, C. C. 1969. Variance of gene frequencies. *Evolution* 23: 72–83.
- Cockerham, C.C. 1973. Analyses of gene frequencies. *Genetics* 74: 679–700.
- Costa, F. O., J. R. deWaard, J. Boutillier, S. Ratnasingham, R.T. Dooh, M. Hajibabaei y P. D. N. Hebert. 2007. Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 64:272–295.
- Correa, R. M. M. 2004. Estudio comparativo de las familias Anyphaenidae, Araneidae, Mimetidae, Tetragnathidae y Theridiidae (Arachnida: Araneae) en los Humedales San Isidro y San José Comondú, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones biológicas del Noroeste. México 113 p.
- Courchamp, F., T. Clutton–Brock y B. Grenfell. 1999. Inverse density dependence and the Allee effect. *Trends In Ecology And Evolution* 14: 405–410.

- Crews, S. C. y M. Hedin. 2006. Studies of morphological and molecular phylogenetic divergence in spiders (Araneae: Homalonychus) from the American southwest, including divergence along the Baja California Peninsula. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 470–487.
- Crisci, J. V. 2001. The voice of historical biogeography. *Journal of Biogeography* 28: 157–168.
- Crow, J. F. y M. Kimura. 1970. An introduction to population genetics theory. Evanston y London (Eds.). Harper and Row Publishers. New York 83–98 pp.
- Cruz, H. P. 2003. Identificación, caracterización y herencia de microsatélites y su aplicación como marcadores moleculares en un programa de mejoramiento de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Doctorado. Centro de Investigaciones biológicas del Noroeste. México 132 p.
- Cunningham, C. W. 1997. Is congruence between data partitions a reliable predictor of phylogenetic accuracy? Empirically testing an iterative procedure for choosing among phylogenetic methods. *Systematic Biology* 46: 464–478.
- Dallas J. F. 1992. Estimation of microsatellite mutation rates in recombinant inbred strains of mouse. *Mammal Genome* 3: 452–456.
- De La Rúa P., J. Galián, J. Serrano y R. F. A. Moritz. 2003. Genetic structure of Balearic honeybee populations based on microsatellite polymorphism. *Genetics, Selection and Evolution* 35: 339–350.
- De Luna, E., J. A. Guerrero y T. Chew–Taracena. 2005. Sistemática biológica: avances y direcciones en la teoría y los métodos de la reconstrucción filogenética. *Hidrobiología* 15: 351–370.

- Dempster, A. P., N. M. Laird, y D. B. Rubin. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* 39: 1–38.
- De Oliveira M.T., de Azeredo–Espin A.M.L. y A.C. Lessinger. 2005. Evolutionary and structural analysis of the cytochrome *c* oxidase subunit I (COI) gene from *Haematobia irritans*, *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) mitochondrial DNA. *Mitochondrial DNA* 16: 156–160.
- De Queiroz, K. y S. Poe. 2003. Failed refutations: further comments on parsimony and likelihood methods and their relationship to Popper’s degree of corroboration. *Systematic Biology* 52: 352–367.
- DeSalle, R., M.G. Egan y M. Siddall. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Series B – Biological Sciences* 360: 1905–1916.
- DeWoody, J. A. y J. C. Avise. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56: 461–473.
- Dondale C. D. y J. H. Redner. 1981. Classification of two North American species of *Pirata*, with a description of a new genus (Araneae, Lycosidae). In: *Contributions to Arachnid Systematics in Honor of Willis J. Gertsch*. Bulletin of the American Museum of Natural History. New York 170:106–110.
- Dondale, C. D. y J. H. Redner. 1984. Revision of the *milvina* group of the wolf spider genus *Pardosa* (Araneae: Lycosidae). *Psyche, Cambridge*. 91: 67–117.
- Dondale, C.D. 1986. The subfamilies of the wolf spiders (Araneae:Lycosidae). *Actas X Congreso Internacional de Aracnología*. Jaca/España. 1: 327–332.

- Dondale, C. D. y J. H. Redner. 1990. The insects and arachnids of Canada Part 17. The wolf spiders, nurseryweb spiders and lynx spiders of Canada and Alaska (Araneae: Lycosidae, Pisauridae, and Oxyopidae). Research Branch Agriculture. Canada Publication 1856: 1–383.
- Dreyer, J. M. y A. R. Brady. 2008. *Trochosa sepulchralis*, a senior synonym of *Trochosa acompa*, and the restoration of *Trochosa abdita* (Araneae, Lycosidae). *Journal of Arachnology* 36:65–75.
- Duftner, N., K. M. Sefc, S. Koblmüller, B. Nevado, E. Verheyen, H. Phiris y C. Sturmbauer. 2006. Distinct population structure in a phenotypically homogeneous rock-dwelling cichlid fish from Lake Tanganyika. *Molecular Ecology* 15: 2381–2395.
- Dusfour, I., J. R. Michaux, R. E. Harbach y S. Manguin. 2007. Speciation and phylogeography of the southeast Asian *Anopheles sundaicus* complex. *Infection, Genetics and Evolution* 7: 484–493.
- Durán-Barron, C. G., O. S. Francke y T. M. Pérez-Ortiz. 2009. Diversidad de arañas (Arachnida: Araneae) asociadas con viviendas de la ciudad de México (Zona Metropolitana). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 55–69.
- Eisen, J. A. 1999. Mechanistic basis for microsatellite instability. en D. Goldstein y C. Schlotterer. Eds. *Microsatellites: evolution and applications*. Oxford University Press, Oxford, England 34–48 Pp.
- Ellegren, H. 1995. Mutation rates at porcine microsatellite loci. *Mammal Genome* 6: 376–377.
- Ellegren, H. 2000. Heterogeneous mutation processes in human microsatellite DNA sequences. *Nature genetics* 24: 400–402.

- Engen, S., B. E. Saether y A. P. Moller. 2001. Stochastic population dynamics and time to extinction of a declining population of barn swallows. *Journal of Animal Ecology* 70: 790–797.
- Endersby, N. M., A. A. Hoffmann, V. L. White, S. Lowenstein, S. Ritchie, P. H. Johnson, L. P. Rapley, P. A. Ryan, V. S. Nam, N. T. Yen, P. Kittiyapong y A. R. Weeks. 2009. Genetic Structure of *Aedes aegypti* in Australia and Vietnam Revealed by Microsatellite and Exon Primed Intron Crossing Markers Suggests Feasibility of Local Control Options. *Journal of Medical Entomology* 46: 1074–1083.
- Escalante, P. y J. Llorente. 1985. Riqueza y endemismo de aves y mariposas como un criterio para determinar áreas de reserva. En: *Memorias del Primer Simposium Internacional de Fauna Silvestre I*: 335–363.
- Evanno, G., S. Regnaut y J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE : a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611–2620.
- Evans, T. A. y M. A. D. Goodisman. 2002. Nest mate relatedness and population genetic structure of the Australian social crab spider *Diaea ergandros* (Araneae: Thomisidae). *Molecular Ecology* 11: 2307–2316.
- Excoffier, L., P. E. Smouse y M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47–50.

- Falush, D., M. Stephens y J. K. Pritchard. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567–1587.
- Felstein J. 2001. Phylip (Phylogeny Inference Package), version 3.6 (alpha). Department of Genetics, University of Washington: Seattle, Washington.
- Fernández–Montraveta, C. y M. Simó. 2002. Male pedipalpal stridulatory devices in neotropical wolf spiders and their possible role In systematics. *Journal of Arachnology* 30: 475–480.
- Flores–Villela, O. y P. Gerez. 1999. Biodiversidad y conservación en México: vertebrados, vegetación y uso de suelo. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 349 p.
- Flores–Villela, O., K. M. Kjer, M. Benabib y J. W. Sites. 2000. Multiple data sets, congruence, and hypothesis testing for the phylogeny of basal groups of the lizard genus *Sceloporus* (Squamata, Phrynosomatidae). *Systematic Biology* 49: 713–739.
- Forbes, S. H., J. T. Hogg, F. C. Buchanan, A. M. Crawford y F. W. Allendorf. 1995. microsatellite evolution in congeneric mammals: Domestic and Bighorn sheep. *Molecular Biology and Evolution* 12: 1106–1113.
- Forister, M. L., C. C. Nice, J. A. Fordyce, Z. Gompert y A. M. Shapiro. 2008. Considering evolutionary processes in the use of single-locus genetic data for conservation, with examples from the Lepidoptera. *Journal of Insect Conservation* 12:3 7–51.
- Föelix, R. F. 1999. *Biology of Spiders*. Oxford University Press 336 p.

- Fuentes–Contreras, E., J. L. Espinoza, B. Lavandero, y C. C. Ramírez. 2008. Population Genetic Structure of Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) from Apple Orchards in Central Chile. *Journal of Economic Entomology* 101: 190–198.
- Franck, P., L. Garnery, M. Solignac y J.–M. Cornuet. 1998: The origin of West European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution* 52: 1119–1134.
- Franck, P, L. Garnery, A. Loiseau, B. P. Oldroyd, H. R. Hepburn, M. Solignac y J.–M. Cornuet. 2001. Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity* 86: 420–430.
- Frankham, R., J. D. Ballou y D. A. Briscoe. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University press, Cambridge UK.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126:131–140.
- Freeland, J. R. 2005. *Molecular Ecology*. J. Wiley & Sons, Ltd. 388 p.
- Froufe, E., I. Knizhin, M.T. Koskinen, C. R. Primmer y S. Weiss. 2003. Identification of reproductively isolated lineages of Amur grayling (*Thymallus grubii* Dybowski 1869): concordance between phenotypic and genetic variation. *Molecular Ecology* 12: 2345–2355.
- Funk, D. J., D. J. Futuyma, G. Orti y A. Meyer. 1995: A history of host associations and evolutionary diversification for *Orphraella* (Coleóptera: Chrysomelidae): new evidence from mitochondrial DNA. *Evolution* 49: 1008–1017.
- García de León, F. J., L. Chikhi y F. Bonhomme. 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology* 6: 51–62.

- Garrick, R. C., J. D. Nason, C. A. Meadows y R. J. Dyer. 2009. Not just vicariance: phylogeography of a Sonoran Desert euphorb indicates a major role of range expansion along the Baja peninsula. *Molecular Ecology* 18: 1916–1931.
- Gascuel, O. y M. Steel. 2006. Neighbor-joining revealed. *Molecular Biology and Evolution* 23: 1997–2000.
- Gertsch, W.J. 1934. Notes on American Lycosidae. *American Museum Novitates* 693:1–25.
- Giribet, G. 2003. Molecules, development and fossils in the study of metazoan evolution; Articulata versus Ecdysozoa revisited. *Zoology* 106: 303–326.
- Glenn, T. C., y N. A. Schable. 2005. Isolating microsatellite DNA loci. *Methods in Enzymology* 395: 202–222.
- Goldman, N., J. P. Anderson y A. G. Rodrigo. 2000. Likelihood-based tests of topologies in phylogenetics. *Systematic Biology* 49: 652–670.
- Goldstein, D.B., A. Ruiz Linares, L.L. Cavalli-Sforza, y M.W. Feldman. 1995. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics* 139:463–471.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 1.2): a computer program to calculate *F*-statistics. *Journal of Heredity* 86: 485–486.
- Goudet, J. 2002. Fstat vs. 2.9.3.2. Institute of Ecology Biology Building. UNIL CH-1015. Lausanne, Switerland.
- Graham, A. K., C. M. Buddle y J. R. Spence. 2003. Habitat affinities of spiders living near a freshwater pond. *The Journal of Arachnology* 31: 78–89.

- Gonzalez, E. G. y R. Zordoya. 2007. Relative role of life history traits and historical factors in shaping genetic population structure of sardines (*Sardina pilchardus*). *Evolutionary Biology* 7:197–209.
- Gonzalez, E. G., P. Beerli y R. Zordoya. 2008. Genetic structuring and migration patterns of Atlantic bigeye tuna, *Thunnus obesus* (Lowe, 1839). *Evolutionary Biology* 8: 252–266.
- González, M.A., J.R. Eberhard, I.J. Lovette, S.L. Olson y E. Bermingham. 2003. Mitochondrial DNA phylogeography of the Bay Wren (Troglodytidae: *Thryothorus nigricapillus*). *The Condor* 105: 228–238.
- Greenstone, M.H., C. E. Morgan y A.–L. Hultsh. 1987. Ballooning spiders in Missouri of the United States of America, and New South Wales, Australia: family and mass distributions. *Journal of Arachnology* 15:163–170.
- Greenstone, M. H. 1990. Meteorological determinants of spider ballooning: the roles of thermals vs. the vertical windspeed gradient in becoming airborne. *Oecologia* 84: 164–168.
- Greenstone, M.H. 2001. Spiders in wheat: First quantitative data for North America. *BioControl* 46: 439–454.
- Greenstone, M. H., D. L. Rowley, U. Heimbach, J. G. Lundgren, R. S. Pfannenstiel y S. A. Rehner. 2005. Barcoding generalist predators by polymerase chain reaction: carabids and spiders. *Molecular Ecology* 14: 3247–3266.
- Grismer, L. L. y J. A. McGuire, 1993. The oases of Central Baja California, México. Part I. A preliminary account of the relict mesophilic herpetofauna and status of oases. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences* 92: 2–24.

- Griswold, C. E. 1993. Investigations into the phylogeny of the lycosoid spiders and their kin (Arachnida, Araneae, Lycosoidea). *Smithsonian Contributions Zoology*. 539: 1–39.
- Guo, S. y E. Thompson, 1992. Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometric* 48:361–372.
- Hajibabaei, M., D. H. Janzen, J. M. Burns, W. Hallwachs y P. D. N. Hebert. 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 3: 968–971.
- Hall, T. A. 2007. BioEdit: a user–friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Ver. 7.0.9. *Nucleic Acids Symposium Series*.
- Hafner, D. J. y B. R. Riddle. 2005. Mammalian phylogeography and evolutionary history of northern Mexico's deserts. En *Biodiversity, ecosystems and conservation in Northern Mexico* (J-L. Catron, G. Ceballos, R. S. Felger, eds.) Oxford University Press, New York.
- Hancock, J.M. 1999. Microsatellites and other simple sequences: Genomic context and mutational mechanisms, en D.B. Goldstein & C. Schlötterer (Eds.), *Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford University Press, New York 368p.
- Harris, H. 1966. Enzyme polymorphism in man. *Proceedings of the Royal Society of London* 1964: 298–310.
- Harrison, C. J. y J. A. Langdale. 2006. A step by step guide to phylogeny reconstruction. *The Plant Journal* 45: 561–572.

- Hebets, E. A. y C. J. Vink. 2007. Experience leads to preference: experienced females prefer brush-legged males in a population of syntopic wolf spiders. *Behavioral Ecology* 18: 1010–1020.
- Hebert, P. D., S. Ratnasingham y J. R. deWaard. 2003. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B — Biological Sciences* 270: S96–S99.
- Hebert, P. D., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen y W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 14812–14817.
- Hepner, M. y Milasowszky, N. 2006. The separation of Central European *Trochosa* females (Araneae: Lycosidae). *Arachnologische Mitteilungen* 31: 1–7.
- Hoefler, C. D., M. H. Persons y A. L. Rypstra. 2008. Evolutionarily costly courtship displays in a wolf spider: a test of viability indicator theory. *Behavioral Ecology* 19: 974–979.
- Hollander, J. y Dijkstra, H. 1974. *Pardosa vlijmi* sp. nov. a new ethospecies sibling *Pardosa proxima* (C. L. Koch, 1848), from France, with description of courtship display (Araneae, Lycosidae). *Beaufortia* 289: 57–65.
- Holm, Å. y T. Kronestedt. 1970. A taxonomic study of the wolf spiders of the *Pardosa pullata*-group (Araneae, Lycosidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 67: 408–428.

- Hosseini, R., M. A. Keller, O. Schmidt y V. W. Framenau. 2007. Molecular identification of wolf spiders (Araneae: Lycosidae) by multiplex polymerase chain reaction. *Biological Control* 40:128–135.
- Huber, B. A. 2004. The significance of copulatory structures in spider systematics, Pp. 89–100. *In* Biosemiotik–praktische Anwendung und Konsequenzen für die Einzelwissenschaften. (J. Schult, ed.). VWB Verlag, Berlin.
- Hurtado, L. A., T. Erez, S. Castrezana, T. A. Markow. 2004. Contrasting population genetic patterns and evolutionary histories among sympatric Sonoran Desert cactophilic *Drosophila*. *Molecular Ecology* 13: 1365–1375.
- Huelsenbeck, J. P. y F. Ronquist. 2001. MrBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754–755.
- Huelsenbeck, J. P., B. Larget, R. E. Miller y F. Ronquist. 2002. Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. *Systematic Biology* 51: 673–688.
- Huelsenbeck, J. P., F. Ronquist, R. Nielsen y J. P. Bollback. 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* 294: 2310–2314.
- Hulseay, C. D., F. J. García de León, Y. Sanchez–Johnson, D. A. Hendrickson y T. J. Near. 2004. Temporal diversification of mesoamerican cichlid fishes across a major biogeographic boundary. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 754–764.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1995. Síntesis geográfica del estado de baja california sur y Anexo Cartográfico México.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 2006. página de internet. <http://www.inegi.gob.mx/inegi/default.asp>

- Jaeger, J. R., B. R. Riddle y D. F. Bradford. 2005. Cryptic Neogene vicariance and Quaternary dispersal of the red-spotted toad (*Bufo punctatus*): insights on the evolution of North American warm desert biotas. *Molecular Ecology* 14: 3033–3048.
- Jarne, P. y P. J. L. Lagoda. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 424–429.
- Ji, Y. J., E. Smith, D. X. Zhang y G. M. Hewitt. 2004. Ten polymorphic microsatellite DNA loci for paternity and population genetics analysis in the fen raft spider (*Dolomedes plantarius*). *Molecular Ecology* 4: 274–276.
- Jiménez, M. L. 1989a. Aspectos etológicos de las arañas. Cap. 10. La Sierra de La Laguna de Baja California Sur. C.I.B. 149–164.
- Jiménez, M. L. 1989b. Las arañas araneomorphae de San Francisco Oxtotilpan Estado de México. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM. 303p.
- Jacobsen, B. H., M. M. Hansen y V. Loeschcke. 2005. Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox lucius* L.) populations: insights into the genetic structure and demographic history of genetically depauperate species. *Biological Journal of the Linnean Society* 84: 91–101.
- Johanesen, J y S. Toft. 2002. A test for reproductive separation of alternate generations in a biennial spider, *Araneus diadematus* (Araneae: Araneidae). *The Journal of Arachnology* 30: 65–69.
- Johnson, R. A. y P. S. Ward. 2002. Biogeography and endemism of ants (Hymenoptera: Formicidae) in Baja California, México: a first overview. *The Journal of biogeography* 29: 1009–1026.

- Kashi, Y., D. King, M. Soller. 1997. Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. *Trends in Genetics* 13: 74–78.
- Kashi, Y. y M. Soller. 1999. Functional roles of microsatellites and minisatellites. In: Goldstein DB, Schlotterer C (eds) *Microsatellites: Evolution and Application*, Oxford University Press: Oxford 10–23 pp.
- Kalinowski, S. T., M. L. Taper, y T. C. Marshall. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16: 1099–1006.
- Kerr, K. C. R., M. Y. Stoeckle, C. J. Dove, L. A. Weigt, C. M. Francis y P. D. N. Hebert. 2007. Comprehensive DNA Barcode coverage of North American Birds. *Molecular Ecology Notes* 7:535–543.
- Kimura, M. 1953. “Stepping–stone” model of population. *Annual Report National Institute of Genetics, Japan* 3: 62–63.
- Kimura, M. y J. F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725–738.
- Kimura, M., y T. Ohta. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 75: 2868–2872.
- Kimura, M. 1983. *The neutral theory of molecular evolution*, Cambridge University Press, Cambridge United Kingdom.
- Kingsford, M. J. y A. Defires. 1999. The ecology and fisheries for *Coryphaena spp.* in the water around Australia and New Zeland. *Scientia Marina* 63: 267–275.
- Koch, C. L. 1833. Arachniden. In Herrich–Schäffer, G. A. W., *Deutschlands Insekten Heft* 119–121.

- Koskinen, M. T., J. Nilsson, A. J. Veselov, A. G. Potutkin, E. Ranta y C. R. Primmer. 2002. Microsatellite data resolve phylogeographic patterns in European grayling, *Thymallus thymallus*, Salmonidae. *Heredity* 88: 391–401.
- Kronstedt, T. 1981. Studies on species of Holarctic *Pardosa* groups (Araneae, Lycosidae), II. Redescriptions of *Pardosa modica* (Blackwall), *Pardosa labradorensis* (Thorell), and *Pardosa sinistra* (Thorell). In: Contributions to Arachnid Systematics in Honor of Willis J. Gertsch. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 170:111–124.
- Kronstedt, T. 1990. Separation of two species standing as *Alopecosa aculeata* (Clerck) by morphological, behavioural and ecological characters, with remarks on related species in the *pulverulenta* group (Araneae, Lycosidae). *Zoologica Scripta* 19: 203–225.
- Kronstedt, T. 1992. The identity of *Pardosa alacris* (C. L. Koch 1833) (Arachnida: Araneae: Lycosidae). *Senckenbergiana Biologica* 72:179–182.
- Kronstedt, T. 2007. A new species of wolf spider from the Pyrenees, with remarks on other species in the *Pardosa pullata*-group (Araneae, Lycosidae). *Zootaxa* 1650: 25–40.
- Kruglyak, S., R. Durrett, D. Schug, y C. Aquadro. 1998. Equilibrium distributions of microsatellite repeat length resulting from a balance between slippage events and point mutations. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 95: 10774–10778.
- Kumar, S., K. Tamura, y M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150–163.

- Kunin, W. E. y K. J. Gaston. 1997. The Biology of rarity: causes and consequences of rare common differences. Chapman & Hall, Londres, UK.
- Lambeets K., P. Breyne y D. Bonte. 2010. Spatial genetic variation of a riparian wolf spider *Pardosa agricola* (Thorell, 1856) on lowland river banks: the importance of functional connectivity in linear spatial systems. *Biological Conservation* 143: 660–668.
- Levinton, J. S. 2008. The cambrian explosion: How do we use the evidence. *BioScience* 58: 855–864.
- Lewontin, R. C. y J. L. Hubby. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54: 595–609.
- Li, Y. C., A. B. Korol, T. Fahima, A. Beiles, E. Nevo. 2002. Microsatellites: Genomic distribution, putative functions, and mutational mechanisms (a review). *Molecular Ecology* 11: 2543–2565.
- Li, C. y G. Ortí. 2007. Molecular phylogeny of Clupeiformes (Actinopterygii) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 386–398.
- Liljeström, G., E. Minervino, D. Castro y A. Gonzalez. 2002. La Comunidad de Arañas del Cultivo de Soja en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Neotropical Entomology* 31: 197–210.
- Litt, M., J. Luty, A. Am y J. Hum. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44: 397–401.

- López–Legentil, S. y X. Turon. 2005. How do morphotypes and chemotypes relate to genotypes? The colonial ascidian *Cystodytes* (Polycitoridae). *Zoologica Scripta* 34: 3–14.
- Lowrie, D. C. 1973. The microhabits of western wolf spiders of the genus *Pardosa*. *Entomological News*. 84: 103–116.
- Lowrie, D. C. y C. D. Dondale. 1981. A revision of the *nigra* group of the genus *Pardosa* in North America (Araneae, Lycosidae). In: Contributions to Arachnid Systematics in Honor of Willis J. Gertsch. *Bulletin of the American Museum of Natural History New York*. 170:125–139.
- Lubin, Y. D. y R. H. Crozier. 1985. Electrophoretic evidence for population differentiation in a social spider *Achaearanea wau* (Theridiidae). *Insectes Society*. 32: 297–304.
- Machkour–M’Rabet, S., Y. Hénaut, A. Dor, G. Pérez–Lachaud, C. Pélissier, C. Gers y L. Legal. 2009. ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) as molecular markers to study genetic diversity in tarantulas (Araneae, Mygalomorphae). *Journal of Arachnology* 37: 10–14.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209–220.
- Markmann, M. y D. Tautz. 2005. Reverse taxonomy: an approach towards determining the diversity of meiobenthic organisms based on ribosomal RNA signature sequences. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B — Biological Sciences* 360: 1917–1924.

- Marshall, T. C., J. Slate, L. Kruuk y J. M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7: 639–655.
- Marshall, C. J. y J. K. Liebherr. 2000. Cladistic biogeography of the Mexican transition zone. *Journal of Biogeography* 27: 203–216.
- Mabee, P. M. 1989. Assumptions underlying the use of ontogenetic sequences for determining character state order. *Transactions of the American Fisheries Society* 118: 151–158.
- Manier, M. K., y S. J. Arnold. 2005. Population genetic analysis identifies source–sink dynamics for two sympatric garter snake species (*Thamnophis elegans* and *Thamnophis sirtalis*). *Molecular Ecology* 14: 3965–3976.
- Masta, S. E. 2000. Mitochondrial Sequence Evolution in Spiders: Intraspecific Variation in tRNAs Lacking the T ψ C Arm. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1091–1100.
- Milasowszky, N., M.E. Herberstein y K.P. Zulka. 1998. Morphological separation of *Trochosa robusta* (Simon, 1876) and *Trochosa ruricola* (De Geer, 1778) females (Araneae: Lycosidae). P. A. Selden (ed.). *Proceedings of the 17th European Colloquium of Arachnology, Edinburgh 1997*: 91–96.
- Miller, G.L., G.E. Stratton, P.E. Miller y E. Hebets. 1998. Geographical variation in male courtship behaviour and sexual isolation in wolf spiders of the genus *Schizocosa*. *Animal Behavior* 56: 937–951.
- Minch, E. 1998. MICROSAT Version 1.5b. University of Standford.
- Morafka, D. J., G. A. Adest, L. M. Reyes, G. Aguirre y S. S. Lieberman. 1992. Differentiation of North American deserts: A phylogenetic evaluation of a

- vicariance model. *Tulane Studies in Zoology and Botany*, Supplementary Publication 1: 195–226.
- Morrone, J. J. 2001. *Biogeografía de América Latina y el Caribe*, volumen 3. Manuales y Tesis SEA, Zaragoza. 148 p.
- Morrone, J. J. 2002. El espectro del dispersalismo: de los centros de origen a las áreas ancestrales. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 61: 1–14.
- Moore, S. S., V. Whan, G. P. Davis, K. Byrne, D. J. S. Hetzel, y N. Preston. 1999. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 173: 19–32.
- Mullis, K. y F. Faloona. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. *Methods in Emzymology* 55: 335–350.
- Muster, C. y T. U. Berendonk. 2006. Divergente and diversity: lessons from an artic–alpine distribution (*Pardosa salturia* group, Lycosidae). *Molecular Ecology* 15: 2921–2933.
- Murphy, R. W. 1983. Paleobiogeography and genetic differentiation of the Baja California herpetofauna. *Occasional Papers of the California Academy of Science* 137: 1–48.
- Murphy, N. P., V. W. Framenau, S. C. Donnellan, M. S. Harvey, Y–C. Park y A. D. Austin. 2006. Phylogenetic reconstruction of the wolf spiders (Araneae: Lycosidae) Using sequences from the 12S rRNA, 28S rRNA and NADH1. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 583–602.
- Neff, B. D. y M. R. Gross. 2001. Dynamic adjustment of parental care in response to perceived paternity. *Proccedings of the Royal Society of London Series B — Biological Sciences* 268: 1559–1565.

- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283–292.
- Nei, M. 1973. *Molecular evolutionary genetics*. Clumbia University Press, New York.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. *Genetics* 89: 583–590.
- Nieto, C. I. G. 2004. Arañas edáficas (Caponiidae, Gnaphosidae, Lycosidae, Miturgidae y Oonopidae (Arachnida: Araneae)) asociadas a humedales de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones biológicas del Noroeste. México. 121 pp.
- Ortí, G., D. E. Pearse y J. C. Avise. 1997. Phylogenetic assessment of length variation at a microsatellite locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 94: 10745–10749.
- Paquin, P. y M. Hedin. 2004. The power and perils of ‘molecular taxonomy’: a case study of eyeless and endangered *Cicurina* (Araneae: Dictynidae) from Texas caves. *Molecular Ecology* 13: 3239–3255.
- Park, Y. C., M. P. Schwarz y J-P. Kim. 2007. Molecular phylogeny of East Asian wolf spiders (Araneae: Lycosidae) inferred from 12S ribosomal DNA. *Systematics* 100: 1–8.
- Parri, S., R.V. Alatalo, J. Kotiaho y J. Mappes. 1997. Female choice for male drumming in the wolf spider *Hygrolycosa rubrofasciata*. *Animal Behavior* 53: 305–312.
- Papura, D., J.-C. Simon, F. Halkett, F. Delmotte, J.-F. Le Gallic y C. A. Dedryve. 2003. Predominance of sexual reproduction in Romanian populations of the aphid *Sitobion avenae* inferred from phenotypic and genetic structure. *Heredity* 90: 397–404.

- Pemberton J. M., J. Slate, D. R. Bancroft y J. A. Barret. 1995. Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology* 4: 249–252.
- Paetkau D. y C. Strobeck. 1995. The molecular basis and evolutionary history of a microsatellite null allele in bears. *Molecular Ecology* 4: 519–520.
- Petrunkévitch, A. 1911. A synonymic index–catalogue of spiders of North, Central and South America with all adjacent islands, Greenland, Bermuda, West Indies, Terra del Fuego, Galapagos, etc. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 29: 1–791.
- Posada, D. y K. A. Crandall. 2001. Selecting the best–fit model of nucleotide substitution. *Systematic Biology* 50: 580–601.
- Posada, D. 2003. Selecting models of evolution. En: M. Salemi y A. M. Vandemme y (Eds.). *The phylogenetic handbook*. Cambridge University Press. Pp. 256–282.
- Posadas P., J. V. Crisci y L. Katinas. 2006. Historical biogeography: A review of its basic concepts and critical issues. *Journal of Arid Environments* 66: 389–403.
- Platnick, N. I. 2010. The world spider catalog, version 10.5. American Museum of Natural History, online at <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>
- Pritchard, J. K., M. Stephens, M., y P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Pritchard J. y W. Wen. 2004. Documentation for structure software: version 2. Department of Human Genetics, University of Chicago, Chicago.
- Pritchard, J. K. 2007. Documentation for STRUCTURE software: Ver. 2.2. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure22/readme.pdf>

- Primmer CR, Raudsepp T, Chowdhary BP, Moller AP, Ellegren H. 1997. Low frequency of microsatellites in the avian genome. *Genome Research* 7:471–482.
- Punzo, F. y C. Farmer. 2006. Life history and ecology of the wolf spider *Pardosa sierra* Banks (Araneae: Lycosidae) in southeastern Arizona. *The Southwestern Naturalist* 51: 310–319.
- Ramirez, M.G. y L.B. Fandino. 1996. Genetic variability and gene flow in *Metepeira ventura* (Araneae, Araneidae). *The Journal of Arachnology* 24: 1–8.
- Ramirez, M. G. y J. L. Froehlig. 1997. Minimal genetic variation in a coastal dune arthropod: the trapdoor spider *Aptostichus simus* (Cyrtauchenidae). *Conservation Biology* 11: 256–259.
- Ramirez, M. G. y B. Chi. 2004. Criptic speciation, genetic diversity and gene flow in the California turret spider *Atypoidae riversi* (Araneae: Antrodiaetidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 27–37.
- Ramirez, M. G. y K. E. Haakonsen. 1999. Genetic Flow among habitat patches on a fragmented landscape in the spider *Argiope trifasciata* (Araneae: araneidae). *Heredity* 83: 580–5.
- Rannala, B. y Z. Yang. 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: A new method of phylogenetic inference. *Journal of Molecular Evolution* 43: 304–311.
- Raymond, M. y F. Rousset. 2001. *GENEPOP* (version 3.3). updated version of GENEPOP (v. 1.2) described in: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248–249.
- Richter, C. J. J. 1970. Aerial dispersal in relation to habitat in eight wolf spider species (*Pardosa*, Araneae, Lycosidae). *Oecologia* 5: 200–214.

- Reiskind, J., y P. E. Cushing. 1996. Study of a narrow hybrid zone between two wolf spiders, *Lycosa ammophila* and *Lycosa ericeticola* in North Florida (Araneae, Lycosidae). *Revue Suisse de Zoologia* 1: 543–554.
- Reynolds, J., B. S. Weir y C. C. Cockerham, 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767–779.
- Roe, A. D. y F. A. H. Sperling. 2007. Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome *c* oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 325–345.
- Roewer, C. F. 1954. *Katalog der Araneae von 1758 bis 1940*. Bruxelles 2: 1–1751.
- Ronquist, F. 1997. Dispersal–vicariance analysis: a new approach to the Quantification of historical biogeography *Systematic Biology* 46: 195–203.
- Riddle, B. R., D. J. Hafner, L. F. Alexander y J. R. Jaeger. 2000a. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California peninsular desert biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 14438–14443.
- Riddle, B. R., D. J. Hafner y L. F. Alexander. 2000b. Phylogeography and systematics of the *Peromyscus eremicus* species group and the historical biogeography of North American warm regional deserts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17: 145–160.
- Riddle, B. R. y D. J. Hafner. 2006. Biogeografía histórica de los desiertos cálidos de Norteamérica. Vázquez-Domínguez, E y D. J. Hafner (Editores). *Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro*. New Mexico Museum of Natural History and Science Bulletin 32: 57–65.
- Rice, W. R., 1989. Analysis tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223–225.

- Rosenberg, N. A. 2004. Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4: 137–138.
- Rowe, G., T. J. C. Beebee, y T. Burke. 1998. Phylogeography of the natterjack toad *Bufo calamita* in Britain: genetic differentiation of native and translocated populations. *Molecular Ecology* 7: 751–760.
- Rozen, S. y H. J. Skaletsky. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S, Misener S (eds) *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press. Totowa, NJ 365–386 pp.
- Rütten, K. B., I. Schulz, K. Olek y G. sUhl. 2001. Polymorphic microsatellite markers in the spider *Pholcus phalangioides* isolated from a library enriched for CA repeats. *Molecular Ecology Notes* 1: 255–257.
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406–425.
- Saiki, R. K; Schare, S; F. Faloona; K. Mullis; G. Horn; H. A. Erlich y N. Arneheim. 1985. Enzymatic amplification of b-globin genomic and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230: 1350–1354.
- Salmon, J. T. y N. V. Horner. 1977. Aerial dispersion of spiders in North Central Texas. *The Journal of Arachnology* 5: 153–157.
- Sanford, E., S.B. Holzman, R.A. Haney, D.M. Rand, y M.D. Bertness. 2006. Larval tolerance, gene flow, and the northern geographic range limit of fiddler crabs. *Ecology* 87: 2882–2894.

- Schrey, N. M., A. W. Schrey, E. J. Heist y J. D. Reeve. 2008. Fine-scale genetic population structure of southern pine beetle (Coleoptera: Curculionidae) in Mississippi forest. *Molecular Ecology and Evolution* 37: 271–276.
- Segraves, K. A. y O. Pellmyr. 2001. Phylogeography of the yucca moth *Tegeticula maculate*: the role of historical biogeography in reconciling high genetic structure with limited speciation. *Molecular Ecology* 10: 1247–1253.
- Scheffer, S. J., G. W. Uetz y G. E. Stratton. 1996. Sexual selection, male morphology, and the efficacy of courtship signaling in two wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 38: 17–23.
- Schlötterer, C., y D. Tautz. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research* 20: 211–215.
- Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? *National Review of Genetics* 5: 63–69.
- Schug, M. D., C. M. Hutter, M. A. F. Noor, and C. F. Aquadro. 1998a. Mutation and evolution of microsatellites in *Drosophila melanogaster*. *Genetica* 102: 359–367.
- Schug M. D., C. M. Hutter, K. A. Wetterstrand, M. S. Gaudette, T. F. Mackay, C. F. Aquadro. 1998b. The mutation rates of di-, tri- and tetranucleotide repeats in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Biology and Evolution* 5: 1751–1760.
- Sharma, P. C., A. Grover y G. Kahl. 2007. Mining microsatellites in eukaryotic genomes. *Trends in Biotechnology* 25: 490–498.
- Shriver, M. D., L. Jin, E. Boerwinkle, R. Deka, R. E. Ferrell y R. Chakraborty. 1995. A novel measure of genetic distance for highly polymorphic tandem repeat loci. *Molecular Biology and Evolution* 12: 914–920.

- Sibly, R. M., A. Meade, N. Boxall, M. Wilkinson, D. W. Corne y J. C. Whittaker. 2003. The structure of interrupted human AC microsatellites. *Molecular Biology and Evolution* 20: 453–459.
- Sirkin, L., S. Pedrín–Avilés, G. Padilla–Arredondo y E. Díaz–Rivera. 1994. Holocene vegetation and climate of Baja California Sur, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 11:79–86.
- Slate J, Marshall T. C. y Pemberton J. M. 2000. A retrospective assessment of the accuracy of the paternity inference program CERVUS. *Molecular Ecology* 9: 801–808.
- Slatkin, M. L. y Excoffier, 1996. Testing of linkage disequilibrium in genotypic data using the EM algorithm. *Heredity* 76: 377–383.
- Smith, D. R. R. 1986. Population genetics of *Anelosimus eximius* (Araneae, Theridiidae). *Journal of Arachnology* 14: 201–217 .
- Smith, R., A. 2002. A comparison of the diversity and composition of ground–active spiders in mkomazi game reserve, tanzania and etosha national park, Namibia. *Journal of Archnology* 30: 383–388.
- Smith, M. A., N. E. Woodley, D. H. Janzen, W. Hallwachs y P. D. N. Hebert. 2006. DNA barcodes reveal cryptic host–specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 3657–3662.
- Spruell, P., A. R. Hemmingsen, P. J. Howell, N. Kanda y F. W. Allendorf. 2003. Conservation genetics of bull trout: Geographic distribution of variation at microsatellite loci. *Conservation Genetics* 4: 17–29.

- Steel, M. y D. Penny. 2000. Parsimony, likelihood and the role of models in molecular phylogenetics. *Molecular Biology and Evolution* 17: 839–850.
- Steiner, W.W. M., M. H. Greenstone, y G. E. Stratton. 1992. Variation in *Schizocosa* (Araneae: Lycosidae), *Metaphidippus* and *Phidippus* (Araneae: Salticidae). *The Journal of Arachnology* 20: 35–9.
- Strand, M., T. A. Prolla, R. M. Liskay, T. D. Petes. 1993. Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature* 365: 274–276.
- Stratton, G.E. 1991. *Schizocosa stridulans* (Araneae: Lycosidae) a new species of wolf spider. *Journal of Arachnology* 18:29–39.
- Stratton, G.E. y G.W. Uetz. 1981. Acoustic communication and reproductive isolation in two species of wolf spiders (Araneae:Lycosidae). *Science* 214: 575–577.
- Supungul, P., Sootanan P., Klinbunga S., Kamonrat W., Jarayabhand P. y Tassanakajon A., 2000. Microsatellite polymorphism and the population structure of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand. *Marine Biotechnology* 2: 339–347.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends In Ecology And Evolution* 15: 199–203
- Swofford, D.L., 2000. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods) Sinauer Associates, Saunderland, MA.
- Swofford, D. L., Waddell, P.J., Huelsenbeck, J.P., Foster, P.G., Lewis, P.O., Rogers, J.S., 2001. Bias in phylogenetic estimation and its relevance to the choice between parsimony and likelihood methods. *Systematic Biology* 50: 525–539.

- Szymkowiak, P., G. Górsk y D. Bajerlein. 2007. Passive dispersal in arachnids. *Biological Letters* 44: 75–101.
- Tajima, F. 1993. Simple methods for testing molecular clock hypothesis. *Genetics* 135: 599–607.
- Takezaki, N. y M. Nei. 1996. Genetic distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389–399.
- Tautz, D. y M. Renz. 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research* 12: 4127–4138.
- Tautz, D., M. Trick, G. Dover. 1986. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature* 322: 652–653.
- Tautz, D., and C. Schlötterer. 1994. Simple Sequences. *Current Opinion in Genetics and Development* 4: 832–837.
- Templeton, A. R. 1983. Phylogenetic inference from restriction endonuclease cleavage site maps with particular reference to the evolution of humans and apes. *Evolution* 37: 221–244.
- Templeton, A. R. 1998. Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history. *Molecular Ecology* 7: 381–397.
- Toledo, V.M. 1982. Pleistocene changes of vegetation in tropical México. En: G.T. Prance (ed). *Biological diversification in the tropics*. Cap. 9 Columbia Univ. Press., N.Y. 93–111 p.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin y D. G. Higgins. 1997. The ClustalX Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25:4876–4882.

- Tongiorgi, P. 1966a. Italian wolf spiders of the genus *Pardosa* (Araneae: Lycosidae). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 134:275–334.
- Tongiorgi, P. 1966b. Wolf spiders of the *Pardosa monticola* group (Araneae, Lycosidae). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 134:335–359.
- Thorne J, H. Kishino y I. Painter. 1998. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Molecular Biology and Evolution* 15:1647–57.
- Töpfer–Hofmann, G., D. Cordes y O. V. Helversen. 2000. Cryptic species and behavioural isolation in the *Pardosa lugubris* group (Araneae, Lycosidae), with description of two new species. *Bulletin of the British Arachnological Society* 11:257–274.
- Toth, G., Z. Gaspari y J. Jurka. 2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research* 10: 967–81.
- Ubick, D., P. Paquin, P. E. Cushing y V. Roth, eds. 2004. *Spiders of North America: An Identification Manual*. American Arachnological Society.
- Uetz, G. W. y E. I. Smith. 1999. Asymmetry in a visual signaling character and sexual selection in a wolf spider. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45: 87–93.
- Uetz G. W. y J. A. Roberts. 2002. Multisensory cues and multimodal communication in spiders: insights from video/audio playback studies. *Brain Behavioral Evolution* 9: 222–230.
- Vandergast A. G., R. G. Gillespie y G. K. Roderick. 2004. Influence of volcanic activity on the population genetic structure of Hawaiian Tetragnatha spiders: fragmentation, rapid population growth and the potential for accelerated evolution. *Molecular Ecology* 13: 1729–1743.

- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills y P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535–538.
- Vences, M., M. Thomas, R. M. Bonett y D.R. Vieites. 2005. Deciphering amphibian diversity through DNA barcoding: chances and challenges. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B — Biological Sciences* 360: 1859–1868.
- Vialette, A., C. A. Dedryver, J. C. Simon, M. Galman y M. Plantegenest. 2005. Limited genetic exchanges between populations of an insect pest living on uncultivated and related cultivated host plants. *Proceedings of the Royal Society, Series B – Biological Sciences* 1567: 1075–1082.
- Vogel, B.R. 2004. A review of the spider genera *Pardosa* and *Acantholycosa* (Araneae, Lycosidae) of the 48 contiguous United States. *Journal of Arachnology* 32:55–108.
- Vogler, A. P. y M. T. Monaghan. 2006. Recent advances in DNA taxonomy. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 45:1–10.
- Vink, C. J., A. D. Mitchell y A. M. Peterson. 2002. A preliminary molecular analysis of phylogenetic relationships of Australasian wolf spider genera (Araneae, Lycosidae). *Journal of Arachnology* 30: 227–237.
- Vugts, H. F. y W. K. R. E. van Wingerden. 1976. Meteorological aspects of aeronautic behaviour of spiders. *Oikos* 27: 433–444.
- Waples, R. S. 1998. Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity* 89: 438–450.

- Waples, R. S. y O. Gaggiotti. 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology* 15: 1419–1439.
- Ward, P. I. 2000. Sperm length is heritable and sex-linked in the yellow dung fly *Scathophaga stercoraria*. *Journal of Zoology* 251: 349–353.
- Ward, R. D., T.S. Zemlak, B. H. Innes, P. R. Last y P. D. N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B —Biological Sciences* 360: 1847–1857.
- Weber, J. L. y P. E. May. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics* 44: 388–396.
- Weber J. L. y C. Wong. 1993. Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics* 2: 1123–1128.
- Weir, B. S. y C. C. Cockerham, 1984. Estimation F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358–1370.
- Weir, J. T. y D. Schluter. 2008. Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology* 17: 2321–2328.
- Wells, P. V. 2000. Pleistocene macrofossil records of four-needled Pinyon or Juniper encinal in the northern Vizcaino desert, Baja California del Norte. *Madroño* 47: 189–194.
- Wenninger, E. J. y W. F. Fagan. 2000. Effect of river flow manipulation on wolf spider assemblages at three desert riparian sites. *The Journal of Arachnology* 28: 115–122.

- Wernersson, R. y A. G. Pedersen. 2003. RevTrans: multiple alignment of coding DNA from aligned amino acid sequences. *Nucleic Acids Research* 31: 3537–3539.
- Wiemers, M. y K. Fiedler. 2007. Does the DNA barcoding gap exist? – a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology* 4: 8
doi:10.1186/1742-9994-4-8.
- Withlock M. C. , D. E. McCauley. 1999. Indirect measures of gene flow and migration: F_{ST} not equal $1/(4Nm + 1)$. *Heredity* 82: 117–125.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations.* University of Chicago Press, Chicago.
- Wunderlich, J. 1984. Seltene und bisher unbekannte Wolfspinnen aus Mitteleuropa und Revision der *Pardosa saltuaria*-Gruppe (Arachnida: Araneae: Lycosidae). *Verhandlungen des Naturwissenschaftlicher Verein* 27: 417–442.
- Xu, Z., A. K. Dhar, J. Wyrzykowski y A. Alcivar-Warren. 1999. Identification of abundant and informative microsatellites from shrimp (*Penaeus monodon*). *Animal Genetics*. 30: 150–156.
- Yassin, A. 2009. Phylogenetic relationships among species subgroups in the *Drosophila saltans* group (Diptera: Drosophilidae): Can morphology solve a molecular conflict? *Zoological Research* 30:225–232.
- Zane, L., L. Bargelloni, y T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11, 1–16.
- Zardoya, R., D. M. Vollmer, C. Craddock, J. T. Streebman, S. Karl y A. Meyer. 1996. Evolutionary conservation of microsatellite flanking regions and their use in resolving the phylogeny of cichlid fishes (Pisces: Perciformes). *Proceedings of the Royal Society of London Series B — Biological Sciences* 263: 1589–1598.

- Zayed, A. y L. Packer. 2005. Complementary sex determination substantially increases extinction proneness of haplodiploid populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 742–10 746.
- Zehethofer, K. y C. Sturmbauer. 1998. Phylogenetic relationships of Central European wolf spiders (Araneae: Lycosidae) inferred from 12S Ribosomal DNA sequences. *Molecular. Phylogenetics and Evolution* 10:391–398.
- Zhang, D. X., F. C. Leung, D. K. O. Chan, Y. Chen y C. Wu. 2002. Comparative Analysis of Allozyme, Random Amplified Polymorphic DNA, and Microsatellite Polymorphism on Chinese Native Chickens. *Poultry Science* 81:1093–1098.
- Zhang, D. X. y G. M. Hewitt. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology* 12: 563–584.
- Zhu, Y., J. E. Strassmann y D. C. Queller. 2000. Insertions, substitutions, and the origin of microsatellites. *Genetics Research* 76: 227–236.
- Zink, R. M. 2002. Methods in comparative phylogeography, and their application to studying evolution in the North American aridlands. *Integrative and Comparative Biology* 42: 953–959.
- Zischler, H., I. Nanda, R. Schäfer, M. Schmid y J. T. Epplen. 1989). Digoxigenin oligonucleotide probes specific for simple repeats in DNA fingerprinting and hybridization *in situ*. *Human Genetics* 82: 227–233.

Apéndice 1 Cambio observado donde se detectó un cambio en la secuencia de aminoácidos que corresponde a una transversión (A/G) en la posición 497, en la segunda posición del codón AAG (K/S) de dos especies: *P. steva* y *P. sura*

<i>Pardosa vadosa</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G	
<i>Pardosa vadosa</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa valens</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa valens</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa steva</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa steva</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sura Dgo</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sura NL</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sura Chi</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa atronedia</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa atronedia</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sierra BCN</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sierra BCC</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sierra BCC</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sierra BCS</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa sierra BCS</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa bellona</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G
<i>Pardosa hamifera</i>	T	T	C	C	C	T	A	C	A	G	G	A	A	T	T	A	A	A	A	G	G	T	T	T	T	T	T	A	G	A	T	G	A	A	T	A	G

497

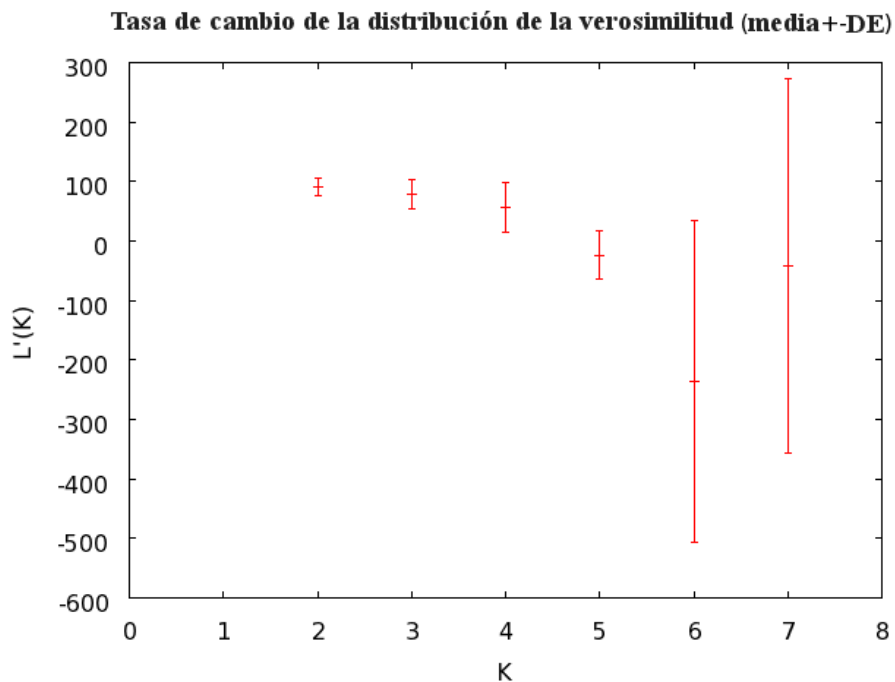
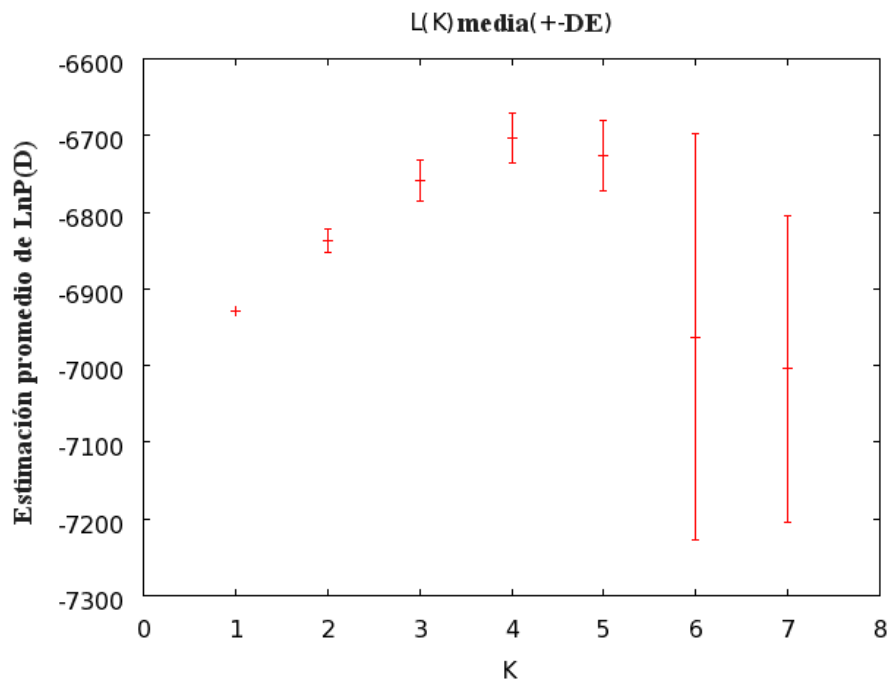
Apéndice 2 Cuadros de Frecuencias alélicas por sitio de recolecta para ejemplares de *P. sierra* en la península de Baja California y resultados del estadístico de Evanno et al. (2005) para determinar el número real de poblaciones, dependiendo de las condiciones de los modelos.

Frecuencias alélicas por población para el locus Psier17 en siete localidades muestreadas de *P. sierra* a lo largo de la península de Baja California. T, tamaño del alelo; n, número de muestras por población. SLL, Sierra de la Laguna; NOV, El Novillo; SPP, San Pedro de la Presa; CAD, Cadejé; ROS, El Rosarito; ENS, Ensenada.

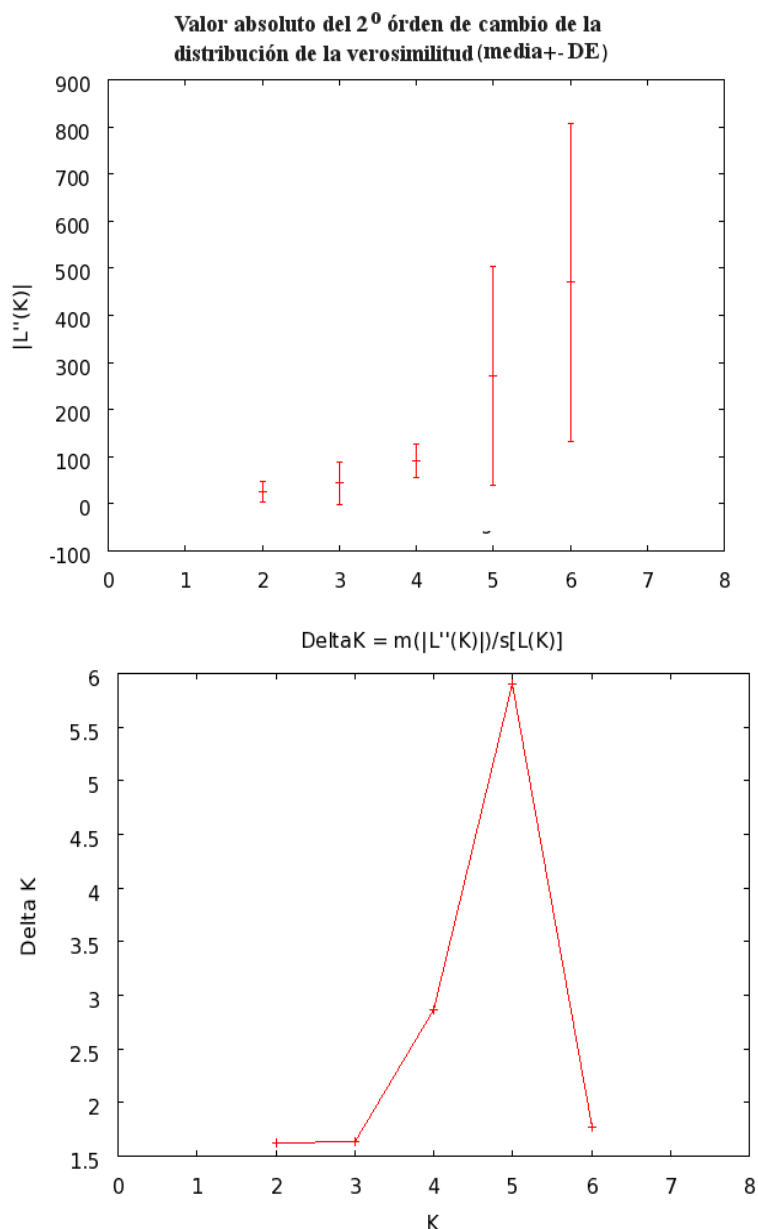
	T	SLL	NOV	SPP	SIS	CAD	ROS	ENS
n		52	52	51	52	49	9	25
208	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
210	0.000	0.010	0.020	0.019	0.000	0.000	0.000	0.060
212	0.048	0.106	0.069	0.048	0.153	0.167	0.060	
214	0.000	0.058	0.078	0.010	0.092	0.111	0.120	
216	0.058	0.173	0.000	0.048	0.010	0.167	0.000	
218	0.106	0.173	0.225	0.087	0.235	0.000	0.120	
220	0.096	0.000	0.010	0.000	0.010	0.000	0.000	
222	0.048	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	
224	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	
228	0.000	0.029	0.010	0.048	0.000	0.111	0.240	
230	0.048	0.000	0.000	0.038	0.031	0.000	0.140	
232	0.029	0.038	0.010	0.000	0.041	0.111	0.140	
234	0.087	0.240	0.176	0.356	0.194	0.222	0.000	
236	0.144	0.135	0.216	0.288	0.133	0.000	0.020	
238	0.106	0.010	0.039	0.000	0.041	0.000	0.020	
240	0.096	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
242	0.067	0.000	0.010	0.010	0.000	0.000	0.000	
244	0.029	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	
246	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	
248	0.010	0.000	0.039	0.000	0.010	0.000	0.080	
250	0.010	0.019	0.000	0.010	0.000	0.111	0.000	
252	0.000	0.000	0.010	0.000	0.010	0.000	0.000	
256	0.000	0.000	0.039	0.010	0.010	0.000	0.000	
258	0.019	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	
260	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	
268	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	

Frecuencias alélicas por población para el locus Psier21 en siete localidades muestreadas de *P. sierra* a lo largo de la península de Baja California. T, tamaño del alelo; n, número de muestras por población. SLL, Sierra de la Laguna; NOV, El Novillo; SPP, San Pedro de la Presa; CAD, Cadejé; ROS, El Rosarito; ENS, Ensenada.

	SLL	NOV	SPP	SIS	CAD	ROS	ENS
n	52	52	52	51	51	10	26
74	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000
80	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000
84	0.000	0.000	0.000	0.000	0.029	0.000	0.000
86	0.019	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000
88	0.231	0.202	0.279	0.265	0.235	0.050	0.212
92	0.490	0.490	0.442	0.529	0.245	0.500	0.596
94	0.212	0.154	0.202	0.167	0.294	0.250	0.135
96	0.038	0.144	0.048	0.020	0.108	0.200	0.058
98	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000
100	0.000	0.010	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000
102	0.010	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000
106	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000



Número de poblaciones inferidas (K) de *P. sierra* a partir del cálculo de LnP(D), mediante el programa STRUCTURE 2.2 (Prichard et al. 2000) a partir del cálculo de LnP(D). Tasa de cambio de la función de verosimilitud respecto a K (K =2 hasta K = 7) o L'K. Ambas gráficas, bajo el supuesto de que las localidades de recolecta presentan frecuencias alélicas correlacionadas.



Valor absoluto de las diferencias entre valores sucesivos de $L'(K)$, denotado como $L''K$, que corresponde al segundo orden de magnitud de cambio de $L(K)$ respecto a K con valores de $K = 2$ hasta $K = 7$. Estimación de ΔK como el valor promedio de los valores de $L''K$ promediados de 13 simulaciones por cada K ($K = 2$ hasta $K = 7$), que representa el valor modal de la distribución de ΔK y que se interpreta como el valor real de grupos formados, mediante el programa STRUCTURE (Prichard et al. 2000). Ambas gráficas, bajo el supuesto de que las localidades de recolecta presentan frecuencias alélicas correlacionadas.