



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**ESTRUCTURA GENÉTICA DEL COLIBRÍ DE
XANTUS (*Hylocharis xantusii*) ENDÉMICO DE LA
PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

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

Presenta

Georgina Morales Flores

La Paz, Baja California Sur, marzo de 2020

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 14 horas del día 13 del Mes de marzo del 2020, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

" ESTRUCTURA GENÉTICA DEL COLIBRÍ DE XANTUS (*Hylocharis xantusi*) ENDÉMICO DE LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA "

Presentada por el alumno:

Georgina Morales Flores

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Ecología de Zonas Áridas**

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

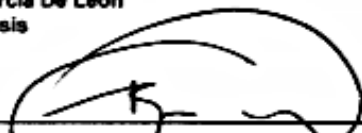
LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Francisco Javier García De León
Director de Tesis

R₁ = 1

Dr. Ricardo Rodríguez Estrella
Co-Tutor



Dr. Raúl Octavio Martínez Rincón
Co-Tutor



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos.

Conformación de comités

Comité tutorial

Dr. Francisco Javier García De León
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Director de tesis

Dr. Ricardo Rodríguez Estrella
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Co-Tutor

Dr. Raúl Octavio Martínez Rincón
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Co-Tutor

Comité revisor de tesis

Dr. Francisco Javier García De León

Dr. Ricardo Rodríguez Estrella

Dr. Raúl Octavio Martínez Rincón

Jurado de examen

Dr. Francisco Javier García De León

Dr. Ricardo Rodríguez Estrella

Dr. Raúl Octavio Martínez Rincón

Suplente

Dr. Pedro Cruz Hernández

Resumen

La diversidad y estructura genética de las poblaciones naturales son temas de gran importancia para comprender el estado de conservación ante cambios importantes del ecosistema. La estructura genética poblacional se puede medir empleando marcadores moleculares de ADN mitocondrial que permiten datar la estructura hasta millones de años atrás, o bien, con marcadores de ADN nuclear, como los microsatélites que son altamente variables y permiten conocer la estructura poblacional a escalas temporales más recientes relacionándola con mecanismos ecológicos y de comportamiento que influyen en el intercambio genético dentro y entre las poblaciones. *Hylocharis xantusii* es un colibrí endémico de la Península de Baja California (PBC), presenta tres poblaciones ancestrales ligadas a eventos vicariantes según el análisis con ADN mitocondrial. Esta especie muestra dimorfismo sexual entre las tres poblaciones. En el presente trabajo se buscó determinar y comprender la estructura genética poblacional actual de la especie. Para esto se usaron loci microsatélites y secuencias del ADN mitocondrial en individuos recolectados a lo largo de la distribución geográfica de la especie. Se emplearon análisis de agrupación bayesiana para determinar la estructura genética para todos los individuos y por sexos, con lo cual se determinaron dos poblaciones puras discontinuas y una zona de mezcla al sur de la PBC. Dicha estructura no es causada por las relaciones familiares, y los análisis por sexos establecieron que los machos determinan la estructura genética poblacional; la mayor capacidad de dispersión las hembras y el comportamiento territorial de los machos defendiendo áreas de alimentación y cortejo pueden explicar estos resultados. En la localidad de San José de Magdalena (SJM) al norte de la distribución de *H. xantusii*, el 40% de los individuos mostraron una composición genética específica a una de las poblaciones y el 60% restantes a otra la población, de acuerdo con los análisis genéticos se presume que estos individuos no se reproducen entre sí a pesar de estar en el mismo sitio, a diferencia del sur en donde se detectó individuos con mezcla genética de ambas poblaciones. Una hipótesis para explicar lo anterior se puede construir atendiendo al cortejo y los canales de comunicación sexual durante la reproducción de *H. xantusii*. Las poblaciones en SJM pueden mantenerse puras, mientras que en el sur los canales de comunicación durante el cortejo pueden verse afectados por factores ambientales que favorezcan las cruas entre las poblaciones. Finalmente, se observó una discordancia mito-nuclear que puede explicarse por la dispersión sesgada a uno de los sexos.

Palabras Claves: Estructura genética poblacional, loci microsatélites, dispersión sesgada al sexo, discordancia mito-nuclear.

Vo.Bo. Dr. Francisco Javier García De León
(Director de tesis)

Summary

Diversity and genetic structure of natural populations are topics of great importance to understand the state of conservation in the face of important changes in the ecosystem. The population genetic structure can be measured using molecular markers of mitochondrial DNA that allows the structure to millions of years ago, or with nuclear DNA markers, such as microsatellites that are highly variable and allow to know the population structure at more recent time scales relationship with ecological and behavioral mechanisms that influence genetic exchange within and between populations. *Hylocharis xantusii* is an endemic hummingbird of the Baja California Peninsula (BCP), it presents three ancestral populations linked to vicarious events according to mitochondrial DNA analysis. It presents sexual dimorphism among the three populations. In the present work we sought to determine and understand the current population genetic structure of this hummingbird. For this, microsatellite loci and mitochondrial DNA sequences were used in individuals collected throughout the geographical distribution of the species. Bayesian cluster analysis was used to determine the genetic structure by all individuals and by sex, thereby determining two discontinuous pure populations and a mixing zone on south of the PBC. This structure is not caused by family relationships, and sex analysis established that males determine the population genetic structure; the greater dispersal capacity of females and the territorial behavior of males defending feeding and courtship areas can explain these results. In the locality of San José de Magdalena (SJM) in north of the distribution of *H. xantusii*, 40% of the individuals showed a specific genetic composition to one of the populations and the remaining 60% to another population, according to the genetic analysis we presume that these individuals do not reproduce among themselves despite being in the same place, unlike the south where individuals with a genetic mixture of both populations were detected. A hypothesis to explain the above can be constructed based on courtship and sexual communication channels during the reproduction of *H. xantusii*. The populations in SJM can remain pure, while in the south the communication channels during courtship can be affected by environmental factors that favor crossings between populations. The populations in SJM can remain pure, while in the south the communication channels during courtship can be affected by environmental factors that favor crossings between populations. Finally, a mito-nuclear discordance was observed that could be explained by the sex-biased dispersion to one of the sexes.

Key words: Population genetic structure, microsatellite loci, sex-biased dispersal, mito-nuclear discordance



Vo.Bo. Dr. Francisco Javier García De León

(Director de tesis)

Dedicatoria

A todos aquellos pensantes con ánimos de avanzar y aprender más.

A la familia que no solo es familia de sangre, familia de aventuras e instantes precisos que ayudaron a inspirar y animar la búsqueda de nuevos conocimientos.



**A Jorge Morales, Amparo Flores, Omar y Víctor Hugo Morales,
quienes me han motivado a seguir.**

*Ni Dios, ni arcángel, ni demonio,
sólo... ¡Hombre!
Si ante la insistente gota de agua
la roca se perfora,
ante la tenacidad del hombre
la palabra “imposible” ¡se evapora!*

(José Luis Jiménez, ‘Hombre’)

En memoria de Jorge T. Morales Herrera

Agradecimientos

Al CIBNOR como mi hogar de formación para mis estudios de Posgrado y al CONACyT por la beca otorgada (CVU 856635) para poder realizar esta maestría y a su vez por el apoyo para el proyecto “Filogeografía Comparada en el Noreste de México” (CB-2008-01-106925) del cual forma parte este proyecto de investigación.

A mi director de tesis, el Dr. Francisco Javier García de León por ser mi mentor en todo el tiempo que duró esta maestría. Por dedicar el tiempo necesario al aprendizaje de sus alumnos y por compartir la emoción de hacer ciencia. Por el esfuerzo y consejos invertidos en mí.

A mis tutores, el Dr. Ricardo Rodríguez Estrella por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y sus valiosas observaciones. Al Dr. Raúl Octavio Martínez Rincón por su esfuerzo para apoyar en esta tesis, así como su disponibilidad y debidas revisiones.

Al Dr. José Luis León de la Luz por asesorarme en distintas dudas sobre plantas que me surgieron para la tesis. A la Dra. Yessica Rico por admitirme en una estancia en INECOL.

A Horacio Sandoval Gómez por facilitarme equipo de cómputo para realizar los análisis y obtener los resultados de este trabajo de investigación. También al personal del departamento de control escolar y de becas quienes me facilitaron los trámites necesarios para mi estancia en el CIB, así como el apoyo de vuelos para realizar una estancia.

A todos aquellos amigos que forman o formaron parte del Laboratorio de Genética para la Conservación, Verónica Mendoza, Adonají Orozco, Josué Martínez y Antonio, que me apoyaron en todo momento y despejaron muchas dudas. Especialmente a **Karen García**, mi hermana de estudios y aventuras, por al apoyo emocional además de académico que me ha brindado, y por el largo camino que hemos recorrido juntas.

A mis compañeros y amigos de la generación y CIB con quienes compartimos experiencias académicas y nos mantuvimos siempre unidos para concluir esta etapa, así como para salir a relajarnos a la playa, al malecón y muchos lugares más. A Oswaldo Rodríguez por el apoyo como amigo, vecino y compañero del CIB con sus consejos. A los Batiamigos (Víctor batman, Verónica, Carolina, Karen y Víctor) por las salidas y reuniones que ayudaron a amenizar mi estancia en La Paz. A Efraín Castillejos por los buenos consejos en este tiempo y por sus diversas enseñanzas.

A mi familia: Jorge T. Morales Herrera, Amparo de J. Flores Velasco, Víctor H. y Omar Morales Flores por el apoyo incondicional, siempre tendrán parte en mis logros. A Víctor E. García por todas las enseñanzas y alegrías que me ha permitido compartir, por la motivación que me ha otorgado y por creer en mí.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	v
Lista de figuras	vii
Lista de tablas	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Genética de poblaciones.....	4
2.2 Estructura genética poblacional	4
2.3 Marcadores genéticos.....	5
2.4 Área de estudio y trabajos realizados.....	7
2.5 Modelo de estudio	10
3. JUSTIFICACIÓN	13
4. HIPÓTESIS	14
5. OBJETIVOS	15
5.1 Objetivo general.....	15
5.2 Objetivos particulares.....	15
6. MATERIALES Y MÉTODOS	16
6.1 Calibración de loci microsatélites	17
6.2 Estructura genética.....	19
7. RESULTADOS	22
7.1 Calibración de loci microsatélites	22
7.2 Estructura genética.....	24

8. DISCUSIÓN	40
9. CONCLUSIONES	47
10. LITERATURA CITADA	48
11. ANEXOS	57

Lista de figuras

- Figura 1.** Principales oasis del centro y sur de la Península de Baja California (modificado de Rodríguez-Estrella, 2005).....8
- Figura 2.** Eventos vicariantes de la Península de Baja California (modificado de Riddle *et al.*, 2000b).....9
- Figura 3.** Colibrí de Xantus (*Hylocharis xantusii*). Izquierda foto de una hembra tomada por Steven Mlodinow. Derecha foto de un macho tomada por Ernesto Pérez Montes.11
- Figura 4.** Sitios de colecta de *Hylocharis xantusii* en la Península de Baja California. Ver acrónimos en Tabla I.17
- Figura 5.** Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 100 muestras genotipificadas con 16 loci microsátelites de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$, calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). Ver acrónimos en Tabla I.....26
- Figura 6.** Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 100 muestras genotipificadas con 16 loci microsátelites de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$, calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). Ver acrónimos en Tabla I.27
- Figura 7.** A la izquierda el gráfico de STRUCTURE obtenido a partir de 100 individuos genotipificados con 16 loci microsátelites de *Hylocharis xantusii* en la Península de Baja California; cada barra horizontal representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). A la derecha se presenta el mapa de la Península de Baja California mostrando los sitios de colecta de *Hylocharis xantusii*. Los gráficos pastel muestran los coeficientes de ancestría por población. Las localidades sombreadas de verde presentan algunos individuos con mayor mezcla genética y los gráficos de barras verticales indican el promedio de la proporción híbrida de esos individuos. Ver acrónimos en Tabla I.29
- Figura 8.** Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 65 muestras genotipificadas con 16 loci microsátelites de individuos machos de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$, calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). Ver acrónimos en Tabla I.32
- Figura 9.** Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 33 muestras genotipificadas con 16 loci microsátelites de individuos hembras de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$ y $K=4$,

calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras K=2 de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). **C)** Gráfico de barras K=4 de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado, cada color representa una K. Ver acrónimos en Tabla I. ...33

Figura 10. Análisis de aislamiento por distancia sin una correlación significativa ($r = 0.08441$, $P = 0.2573$) entre las distancias geográficas y distancias genéticas de *Hylocharis xantusii*.39

Lista de tablas

Tabla I. Localidades de colecta de <i>Hylocharis xantusii</i>	16
Tabla II. Frecuencia de alelos nulos presentes en cada uno de los 16 loci por localidad de <i>Hylocharis xantusii</i> obtenidos del programa FreeNA. En gris se presentan los valores mayores a 0.2. Ver acrónimos en Tabla I.	22
Tabla III. Valores de Hardy-Weinberg en cada uno de los 16 loci por localidad de <i>Hylocharis xantusii</i> . Valores marcados en gris son significativos según la corrección de Bonferroni = 0.0031, y valores en negritas coinciden con los datos que presentaron alelos nulos mayores a 0.2. Ver acrónimos en Tabla I.....	24
Tabla IV. Valores de F_{ST} (diagonal inferior) y valores de P (diagonal superior) obtenidos de 100 individuos genotipificados con 16 loci microsatélites de <i>Hylocharis xantusii</i> agrupados por localidad. En negritas valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0005$). Ver acrónimos en Tabla I.....	25
Tabla V. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y valores de P sobre la diagonal obtenidos de 100 individuos genotipificados con 16 loci microsatélites de <i>Hylocharis xantusii</i> agrupados por localidad. En negritas valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.00048$). Ver acrónimos en Tabla I.....	30
Tabla VI. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y P sobre la diagonal obtenidos de 100 individuos genotipificados con 16 loci microsatélites de <i>Hylocharis xantusii</i> agrupados por grupos genéticos. Todos los valores resultaron significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0083$).....	31
Tabla VII. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y valores de P sobre la diagonal obtenidos de 65 individuos machos genotipificados con 16 loci microsatélites de <i>Hylocharis xantusii</i> agrupados por localidad. En negritas valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0005$). Ver acrónimos en Tabla I.....	34
Tabla VIII. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y valores de P sobre la diagonal obtenidos de 33 individuos hembras genotipificados con 16 loci microsatélites de <i>Hylocharis xantusii</i> agrupados por localidad. Ningún valor fue significativo después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0006$). Ver acrónimos en Tabla I.....	34
Tabla IX. Individuos de <i>Hylocharis xantusii</i> emparentados como hermanos y medios hermanos con una probabilidad mayor a 0.7. Individuos marcados con letras negras se excluyeron para el análisis de STRUCTURE. Los nombres corresponden al ID de los individuos y las iniciales a la localidad que pertenecen.....	36
Tabla X. Valores de Φ_{ST} (diagonal inferior) y valores de P (diagonal superior) obtenidos de 75 individuos secuenciados con ADNmt de <i>Hylocharis xantusii</i> agrupados por localidad. No se observan valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0005$). Ver acrónimos en Tabla I.	37
Tabla XI. Valores de Φ_{ST} bajo la diagonal y P sobre la diagonal obtenidos de 75 individuos secuenciados con ADNmt de <i>Hylocharis xantusii</i> agrupados por poblaciones determinadas con loci microsatélites. Ningún valor resultó significativo después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0083$).....	38
Tabla XII. Resultado del análisis de AMOVA y porcentaje de variación explicado por cada marcador molecular.....	38

1. INTRODUCCIÓN

La diversidad y estructura genética de las poblaciones naturales son temas de gran importancia para comprender el estado de conservación que presentan (Frankham *et al.*, 2010). Se entiende por estructura genética a la heterogeneidad en las frecuencias alélicas en una especie influenciada por el flujo genético (Hamilton, 2011). La estructura genética poblacional se mide empleando técnicas moleculares basadas en ADN, como son marcadores moleculares de ADN mitocondrial (ADNmt) que permiten datar la estructura hasta millones de años atrás (debido a su tasa mutacional de $\sim 2.7 \times 10^{-5}$) (Parsons *et al.*, 1997); o bien, marcadores de ADN nuclear (ADNn), como los microsatélites que son altamente variables (con tasas mutacionales de 1×10^{-3} y 1×10^{-6}) y permiten conocer la estructura poblacional a escalas temporales más recientes relacionándola con mecanismos ecológicos y de comportamiento que influyen en el intercambio genético dentro y entre las poblaciones, así como en el establecimiento de linajes evolutivamente independientes (Cornejo *et al.*, 2014, Guillot *et al.*, 2005, Schluter, 2001).

Muchas especies pueden contener poblaciones altamente diferenciadas debido a procesos recientes de la deriva causada por la fragmentación del hábitat, o bien mediante selección ecológica causada por factores biológicos como cambios en el comportamiento social y/o la selección sexual, lo que promueve el aislamiento reproductivo y eventualmente la especiación (Edwards *et al.*, 2005). El comportamiento migratorio y reproductivo juegan un papel importante para definir la estructura genética de las poblaciones (Walker, 1998). En el marco reproductivo, existen especies que necesitan del cortejo (sistema de comunicación reproductiva que conduce al acto sexual) para lograr la reproducción, esto comúnmente se presenta en organismos con dimorfismo sexual (los machos y hembras exhiben características morfológicas distintas) en donde las aves son un buen modelo (West, 2009). Generalmente el macho porta caracteres llamativos que exhibe con patrones de cortejo (vuelo, danzas y vocalizaciones) para atraer a la hembra (Walker, 1998), sin embargo, cuando las señales de cortejo no se perciben correctamente entre especies con distintos patrones de cortejo, se da la intrusión reproductiva que promueve el entrecruzamiento causando la hibridación y/o aislamiento poblacional (Hochkirch *et al.*, 2007), lo que puede

modificar la estructura genética poblacional. En el caso de la migración en aves, las asimetrías sesgadas al sexo (filopatría o dispersión sesgada al sexo) son una más de las causas de la estructura genética de las poblaciones (Clarke *et al.*, 1997, Li y Merila, 2010). Diferentes estudios en aves han demostrado filopatría con sesgo masculino y dispersión con sesgo femenino (Greenwood, 1980, Rocha-Olivares y González-Jaramillo, 2014), mientras que en otros los machos tienen mayor dispersión que las hembras (Berg *et al.*, 2009, Harrison *et al.*, 2014); en este último caso, cuando las hembras se dispersan en menor medida, la estructura genética puede ser descubierta con marcadores del ADNmt (Spottiswoode *et al.*, 2011). Estos eventos de dispersión diferencial entre sexos pueden promover la introgresión genética, por ejemplo, la introgresión mitocondrial resultando en casos extremos en el reemplazamiento completo del genoma mitocondrial de una especie por otra (captura mitocondrial) (Toews y Brelsford, 2012). Un caso particular es la introgresión adaptativa del ADNmt que se ha supuesto en diferentes estudios (Toews y Brelsford, 2012), en el que el ADNmt se encuentra bajo selección respondiendo a factores ambientales (Pavlova *et al.*, 2013). La segregación incompleta de linajes mitocondriales y la hibridación son dos fenómenos que comúnmente confunden las relaciones genéticas y los procesos de especiación, resultando en un proceso conocido como discordancias mito-nucleares (Toews y Brelsford, 2012). Este fenómeno se ha observado en diferentes aves (Cheviron y Brumfield, 2009, Irwin *et al.*, 2005, Ribeiro *et al.*, 2011).

El colibrí de Xantus *Hylocharis xantusii* (Apodiformes: Trochilidae) conocido comúnmente como colibrí de Xantus, es un ave endémica de la península de Baja California (PBC), de la cual se sabe poco sobre la estructura genética actual. *H. xantusii* ocurre principalmente en oasis (Rodríguez-Estrella, 2005) y no constituye una población panmíctica a lo largo de la Península según lo revelado por marcadores del ADNmt, que indican que la especie está conformada por una población sureña, una central y una norteña (González-Rubio *et al.*, 2016a). Ambos sexos y las diferentes poblaciones genéticas muestran características morfológicas distintas. Mientras que los machos son más grandes y coloridos que las hembras, las diferencias entre las poblaciones están dadas por individuos de largas colas y picos anchos en la población del norte, cuerdas alares y picos más largos en la del centro y

la población del sur son en promedio más pequeños que el centro y el norte (González-Rubio *et al.*, 2017).

Tomando en cuenta la estructura poblacional histórica conocida de *Hylocharis xantusii* y el dimorfismo sexual presente en la especie (lo cual implica la existencia de cortejo sexual), este trabajo tiene como objetivo dilucidar la estructura genética poblacional actual del colibrí de Xantus con ayuda de marcadores altamente variables del tipo microsatélites, además de conocer si existen asimetrías sesgadas al sexo que puedan estar influyendo en la estructura genética de la especie; y si existe discordancia en la información generada por marcadores citoplásmicos (ADNmt) y nucleares (microsatélites) para la determinación de la estructura genética poblacional.

2. ANTECEDENTES

2.1 Genética de poblaciones

En genética de poblaciones, una población se define como un grupo de individuos de la misma especie que cohabitan y que pueden aparearse entre sí, por lo que cuentan con un acervo genético compartido (Templeton, 2006). La disciplina de Genética de Poblaciones se encarga de cuantificar la diversidad y la distribución de la variación genética de las poblaciones, así como su cambio a través del tiempo por causa de las fuerzas evolutivas (mutación, deriva genética, flujo de genes y selección natural) que aumentan, disminuyen y dan equilibrio a la variación genética (Hamilton, 2011). En esta disciplina, se emplea un modelo nulo llamado equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) en el que se supone la ausencia de las fuerzas evolutivas en donde la población mantendrá las frecuencias genotípicas y alélicas constantes, manteniendo una población panmíctica (donde todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse y el apareamiento es al azar) (Lowe y Allendorf, 2010). Esta hipótesis nula no se ajusta a la realidad en las poblaciones silvestres, lo que hace necesaria la formulación de hipótesis más realistas buscando responder ¿Qué factores afectan la genética de las poblaciones y cuáles son sus efectos? (Jacquard *et al.*, 2012). Por lo que es necesario tomar en cuenta que la influencia de las fuerzas evolutivas dependerá de características de la población misma, como el tamaño poblacional, la capacidad de dispersión, aspectos conductuales, y factores geográficos y ecológicos, que modificarán la estructura genética de las poblaciones (Templeton, 2006).

2.2 Estructura genética poblacional

En una población, la variación genética es descrita por la frecuencia de los alelos en cada locus y el grado en que estos alelos se establecen en combinaciones no aleatorias (Futuyma, 1986). Estas combinaciones no aleatorias dan lugar a diferentes grados de estructuración genética en las poblaciones naturales (Templeton, 2006). La estructura genética poblacional de una especie puede ser desde un modelo panmíctico, ya antes referido; el modelo de islas, que consiste en una serie de subpoblaciones en cierto grado aisladas genéticamente entre

ellas; y el modelo de aislamiento por distancia, en el que las poblaciones más cercanas serán genéticamente más similares que las poblaciones más lejanas (Hamilton, 2011).

Para estudiar la estructura genética poblacional es necesario obtener los valores de las frecuencias alélicas y analizarlas bajo la hipótesis nula del EHW (Freeland, 2005), empleando como hipótesis alternativa el modelo de islas o aislamiento por distancia. Una medida comúnmente utilizada para cuantificar la estructura genética poblacional es el índice de fijación (F_{ST}) que estima la diferenciación genética entre poblaciones con una medida de variación genética neutral siguiendo $F_{ST}=1/(4Nm + 1)$, en donde Nm =número de migrantes efectivos por generación. F_{ST} representa un balance entre flujo genético y deriva genética, valores altos ($F_{ST}=1$) indican que la variación se debe a la deriva genética (aislamiento genético) y valores bajos ($F_{ST}=0$) indican que la variación se debe al flujo genético (homogeneidad genética) (Wright, 1943). Así, el flujo genético es una de las fuerzas de gran influencia en la estructuración genética de las poblaciones. Al analizar la estructura genética es importante conocer la eficiencia de los marcadores moleculares que se utilizan para contar con estimaciones realistas.

Recientemente, también se usan aproximaciones bayesianas para estimar el número de poblaciones. Con el método bayesiano implementado en el programa STRUCTURE, se asignan a los individuos a diferentes grupos empleando un índice de membresía, en donde se busca la maximización del equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento genético dentro de los grupos (Falush *et al.*, 2003, Pritchard *et al.*, 2000).

2.3 Marcadores genéticos

En diferentes estudios la estructura genética de las poblaciones suele relacionarse con factores ambientales y/o geológicos con la finalidad de entender los procesos evolutivos por los que las poblaciones pueden pasar (Dolby *et al.*, 2015). El aumento de estudios genético-poblacionales ha permitido el desarrollo de herramientas moleculares necesarias en muchos campos de la biología como en ecología, evolución, bio-medicina, etc. Estas ayudan a probar hipótesis filogenéticas entre organismos, variación entre poblaciones y

adaptaciones evolutivas (Rentara-Alcántara, 2007). Estas herramientas moleculares son segmentos de ADN de los que se puede o no conocer su función y proporcionan información acerca de la variación allica (Schltterer, 2004), además permiten analizar patrones y procesos ecológico-evolutivos a diferentes escalas espaciales y temporales (especiación, adaptación, conducta animal, paternidad, diversidad genética) (Cornejo *et al.*, 2014).

Los marcadores de ADNmt son de herencia uniparental (materna, aunque existe dilema en esta afirmación, ver Luo *et al.*, 2018) y presentan tasas de mutación de $\sim 2.7 \times 10^{-5}$ que permiten analizar escalas de tiempo amplias y admiten invocar a eventos geológicos como los responsables de la estructura genética poblacional (Parsons *et al.*, 1997). Estos marcadores presentan una serie de características que los hacen ideales para estos estudios, entre estas estn: son haploides y carecen de estructuras presentes en el ADN nuclear (estructuras repetitivas, transposones e intrones) que dificultan su análisis; son de herencia materna; tienen una tasa evolutiva más rápida con respecto al ADN nuclear; y tiene menor tamaño efectivo respecto al nuclear, lo que favorece la fijación de mutaciones con mayor probabilidad que en el ADN nuclear; esto permite inferir relaciones filogenéticas al reducir la discordancia debida a una separación incompleta de linajes (Ballard y Rand, 2005).

Por otro lado, los marcadores microsatélites (de ADNn) son de herencia biparental, codominantes, neutrales y altamente variables (altamente polimórficos). Estos marcadores son secuencias repetidas en tándem de uno a seis pares de bases. El origen de las repeticiones en las secuencias de los microsatélites se atribuye a errores en la replicación del ADN a lo largo de su historia evolutiva, el número de repeticiones determina el tamaño de los fragmentos; estos fragmentos representan múltiples alelos para cada locus microsatélite (Selkoe y Toonen, 2006). Presentan tasas de mutación de 1×10^{-3} y 1×10^{-6} mutaciones por sitio por generación (Schltterer, 2000), estos valores varían según los tipos de repeticiones (di, tri y tetranucleótidos) y los tipos de microsatélites (perfecto -AAAA-, compuesto -AATT-) (Li *et al.*, 2002). Los marcadores microsatélites presentan tasas mutacionales más elevadas que el ADNmt, y por estas características, son adecuados para emplearse como marcadores a nivel poblacional (Zane *et al.*, 2002) y para asociarlos a

procesos ecológicos en escalas temporales más recientes (Guillot *et al.*, 2005). Sin embargo, para que su uso sea eficiente, los microsátélites deben presentar las siguientes cualidades: ser selectivamente neutros, que tengan baja frecuencia de alelos nulos y comprobar que segregan de manera mendeliana (Selkoe y Toonen, 2006). Para esto, se emplean distintos programas que ayudan a verificar su calidad y utilidad.

2.4 Área de estudio y trabajos realizados

La Península de Baja California cuenta con una extensión territorial de 143 396 km², con una longitud aproximada de 1250 km (INEGI, 2018). Esta península ha sido motivo de estudios geológicos para determinar su formación a causa de la actividad tectónica de las placas de Norteamérica y del Pacífico. Se dice que hace 12 millones de años la PBC comenzó a separarse del continente y tras eventos de elevación, inmersión y fragmentación geográfica se ha formado en una provincia con una historia evolutiva compleja (Grismer, 2000).

Los análisis filogeográficos han ayudado a revelar patrones en la estructura genética de muchas especies, respaldándola con algún evento histórico reciente (dispersión) o antiguo (vicarianza), sin embargo, existen aspectos especie-específicos más complejos a explicar, que pueden influir sobre la estructura genética y son muy diversos desde la preferencia del hábitat, la selección sexual, capacidad de dispersión y la heterogeneidad del ambiente (Nosil *et al.*, 2008, Templeton, 2006).

En la PBC se ha estudiado la estructura genética y/o patrón filogeográfico de especies de distintos grupos biológicos (invertebrados, plantas, mamíferos, reptiles, y aves), resaltando que los factores ambientales y/o geológicos son los responsables de tales patrones (Munguia-Vega, 2011, Dolby *et al.*, 2015). Esto se debe a que la Península es una región que presenta una variedad de hábitats y paisajes (Grismer, 2000, Riddle *et al.*, 2000a), presentando ecosistemas desde bosques templados hasta diferentes tipos de desiertos con presencia de oasis (Fig. 1) (González-Abraham *et al.*, 2010). Los oasis son relictos méxicos que se originaron en el Pleistoceno, son de gran importancia ecológica y biológica porque

albergan una gran riqueza de especies de plantas y animales (Rodríguez-Estrella, 2005). Las características antes mencionadas hacen posible la presencia de una gran cantidad de especies crípticas, vulnerables, y endémicas en la PBC (Riddle *et al.*, 2000a, Riddle *et al.*, 2000b, Munguia-Vega, 2011, Grismer, 2000).



Figura 1. Principales oasis del centro y sur de la Península de Baja California (modificado de Rodríguez-Estrella, 2005)

De los estudios realizados en la PBC, se han planteado dos hipótesis en las que se busca explicar los patrones geográficos y relaciones filogenéticas de la biota. Una de ellas es la de Riddle *et al.* (2000b) en la que propone cuatro eventos vicariantes principales que promovieron su divergencia alopátrica (Fig. 2): 1) la formación del Golfo de California (4 Ma.); 2) las intrusiones marinas en la parte superior del Golfo, 3) el Istmo de La Paz (estas dos últimas de 3 Ma.), y 4) el canal medio peninsular (<1.6 Ma.). La segunda hipótesis de dispersión, resalta la importancia del Último Máximo Glacial (~ 21 000 años) (UMG), en donde las especies vivieron en refugios que presentaban condiciones climáticas favorables, y posteriormente migraron y recolonizaron otras áreas cuando las condiciones climáticas mejoraron (modelo de expansión-contracción) (Provan y Bennett, 2008, Lindell *et al.*, 2006). Sin embargo, muchos de los estudios que invocan a los eventos vicariantes como los responsables de los patrones filogeográficos, no toman en cuenta que los factores

climáticos más recientes pudieron borrar las señales genéticas formadas durante esos procesos geológicos (Dolby *et al.*, 2015), y/o si existen procesos ecológico-conductuales que puedan estar interfiriendo en la estructura genética actual de las especies.

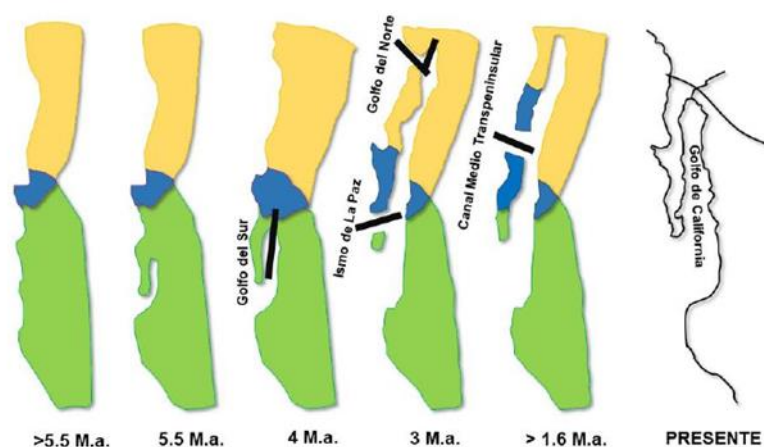


Figura 2. Eventos vicariantes de la Península de Baja California (modificado de Riddle *et al.*, 2000b).

Los estudios realizados en la PBC, en su mayoría se han enfocado en el análisis con marcadores moleculares como ADNmt y aloenzimas (revisión en Dolby *et al.*, 2015), y son pocos los realizados con microsatélites (González-Trujillo *et al.*, 2016, Valdivia-Carrillo *et al.*, 2017, Gutiérrez-Flores *et al.*, 2016). Dado que estos marcadores tienden a ser más informativos a escalas finas y recientes a comparación del ADNmt (Parsons *et al.*, 1997, Schlötterer, 2004), es necesario conjuntar análisis que ayuden a entender y explicar la evolución de la biota en la PBC, para conocer los factores que influyeron en el pasado, y los que influyen en el presente para comprender el estado de los linajes genéticos (Templeton, 2001) y de ese modo prever un uso sustentable.

Ninguno de los anteriores estudios en la PBC ha resaltado los factores bióticos como las preferencias sexuales, como agentes causales de una estructura genética. Sin embargo, es necesario profundizar el impacto de esos factores bióticos sobre la estructura genética de las poblaciones naturales. Uno de los factores importantes es la dispersión de los organismos. Particularmente, la dispersión sesgada al sexo ha sido un patrón estudiado con

atención, en donde se refiere a uno de los sexos como el más dispersivo, y al otro como el filopátrico (individuos de este sexo permanecen o regresan a su sitio natal para reproducirse) (Prugnolle y de Meeus, 2002). Diversos estudios en aves sugieren que en la mayoría de los casos las hembras son el sexo dispersivo y los machos presentan tendencia a la filopatría (Greenwood, 1980). La influencia de la dispersión sesgada al sexo sobre la estructuración genética de las poblaciones ha sido poco estudiada, sin embargo, quizá esta condición se presenta como una fuerza para evitar la endogamia (Prugnolle y de Meeus, 2002).

Existen estudios en los que la dispersión sesgada al sexo se ha empleado para explicar las discordancias entre la información sobre la estructura genética aportada por marcadores del ADNmt y ADNn (discordancia mito-nuclear), pero también debido al modo de herencia de estos marcadores, es posible obtener la información genética de uno o ambos padres (Toews y Brelsford, 2012). De las causas más recurridas para explicar la discordancia mito-nuclear son la introgresión mitocondrial y contactos secundarios entre poblaciones alopátricas o genéticamente diferenciadas que generen eventos de introgresión. Particularmente interesante es el ADNmt que con su herencia materna, permite dilucidar la dispersión o filopatría con sesgo femenino (Spottiswoode *et al.*, 2011). Por lo tanto, el uso combinado de los marcadores de ADNmt y ADNn se pueden emplear para reconocer la dispersión sesgada al sexo, y esta última también ayude a explicar las discordancias mito-nucleares.

2.5 Modelo de estudio

Hylocharis xantusii (Apodiformes: Trochilidae) conocido comúnmente como colibrí de Xantus, es una especie de colibrí descrita por Lawrence en 1860. Es un ave endémica de la PBC, se distribuye desde el centro hacia el sur de la península y desde 0 hasta más de 1800 metros sobre el nivel del mar, principalmente en entornos mésicos, pero también ocurre en tierras bajas en matorrales del desierto y áreas con vegetación cerca de la costa (Howell y Howell, 2000). Se caracteriza por presentar una franja postocular blanca que contrasta con

una amplia máscara auricular negruzca, de cuerpo robusto, mediano y con vientre color canela. Esta especie presenta dimorfismo sexual, los machos presentan el pico de coloración rojo-naranja y un plumaje más colorido en comparación de las hembras (Fig. 3), tiene dos temporadas de reproducción por año (primavera-verano y otoño), generalmente empollan dos huevos por nido (González-Rubio *et al.*, 2017, Howell y Howell, 2000). En general, existe poca información publicada sobre la biología y los patrones de distribución de esta especie. No obstante, en un estudio se observó una fuerte asociación (simbiosis) con un arbusto comúnmente llamado madroño (*Arbutus peninsularis*), para el colibrí representa un fuente de néctar, y el madroño necesita del colibrí para su polinización (Arriaga *et al.*, 1990).



Figura 3. Colibrí de Xantus (*Hylocharis xantusii*). Izquierda foto de una hembra tomada por Steven Mlodinow. Derecha foto de un macho tomada por Ernesto Pérez Montes.

El colibrí de Xantus es simpátrica con el colibrí cabeza violeta (*Calypte costae*) en la PBC. Sin embargo, el colibrí de Xantus es la especie predominante y además presenta un mayor tamaño en relación con las otras especies. En la actualidad no hay información publicada sobre competencia entre especies, algunas de ellas con las que pueden competir, si bien no son residentes, migran a la PBC como el colibrí barbinegra *Archilochus alexandri* (Wilbur, 1987).

La filogenia de los colibríes es un tanto compleja. McGuire *et al.* (2007) realizaron un análisis filogenético con 151 especies, dos genes nucleares (AK1 y AK5) y dos genes mitocondriales (ND2 y ND4), y concluyen que algunos de los géneros presentan un origen parafilético con poco soporte para validarlos. En particular, para el género *Hylocharis* también se reportó un origen parafilético, aunque se observó que las especies *H. xantusii* y *H. leucotis* representaron un clado monofilético (Hemández-Baños *et al.*, 2014). Estas dos especies son alopátricas, una es peninsular (*H. xantusii*) y la otra es continental (*H. leucotis*).

Actualmente se conoce que *H. xantusii* presenta tres poblaciones ancestrales (determinadas con ADNmt) que divergieron hace 500 000 años, con una expansión poblacional hace 80 000 años (González-Rubio *et al.*, 2016a, Fig. 2). Los eventos geológicos (vicariantes) que dieron origen a las poblaciones y especies son: la formación del Golfo de California que separó la PBC del continente, provocando la separación de *H. xantusii* de su especie hermana *H. leucotis* hace aproximadamente 3.6 millones de años (Ma.), y el aislamiento temporal de la región sur en el istmo de La Paz hace 3 Ma. González-Rubio *et al.* (2016a) además, asociaron los cambios climáticos del Pleistoceno tardío que pudieron promover cambios demográficos de la población de esta ave; dicha explicación se asoció con las características ambientales de la Península y la distribución geográfica de los oasis en donde habita *H. xantusii*.

3. JUSTIFICACIÓN

Identificar áreas geográficas con potencial evolutivo con ayuda de análisis de diversidad genética es un reto y tiene una gran importancia para conocer si existen patrones generales en biotas co-distribuidas. Dicha aproximación permite, a su vez, evaluar escenarios futuros correlacionando la supervivencia de linajes con los cambios climáticos, lo cual ayuda a generar planes de conservación a largo plazo. Este conocimiento es relevante para predecir la persistencia de las poblaciones y representa además una herramienta de manejo para la conservación.

Hylocharis xantusii es una especie endémica de la PBC que presenta tres poblaciones ancestrales originadas tras eventos vicariantes y cambios climáticos que afectaron la PBC, sin embargo, se desconoce la estructura genética población actual. Al ser una especie polinizadora de plantas típicas de los oasis del desierto peninsular, se ubica en un papel ecológico importante. El conocimiento de la estructura poblacional actual permitirá entender los efectos de distintos factores bióticos y abióticos en la estructuración genética de las poblaciones en la península.

4. HIPÓTESIS

Si las secuencias de ADNmt evidencian diferentes poblaciones genéticas a lo largo de la distribución de la especie, la cual ha sido relacionada con los eventos históricos geológicos y climáticos, se espera que los niveles de variación genética de loci microsátélites mantengan una estructura genética en *H. xantusii*, y que dicha estructura se explique por procesos actuales (ecológicos, ambientales, comportamentales). Además, si existen discordancias mito-nucleares, podrían estar relacionadas con patrones de migración diferencial entre machos y hembras.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general.

Definir la estructura genética de *Hylocharis xantusii* en la Península de Baja California empleando loci microsatélites y secuencias del ADN mitocondrial.

5.2 Objetivos particulares.

1. Analizar la estructura genética poblacional del colibrí de Xantus con 16 loci microsatélites y tres genes mitocondriales concatenados (Cyt b, COI y ND2)
2. Definir la estructura genética por sexos de *H. xantusii*.
3. Analizar la discordancia mito-nuclear en la determinación de la estructura genética.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos empleados corresponden a 16 loci microsátélites de 100 individuos de *Hylocharis xantusii* correspondientes a 13 localidades de la PBC (Tabla I y Fig. 4), obtenidos de (González-Rubio *et al.*, 2016b)

Tabla I. Localidades de colecta de *Hylocharis xantusii*.

Localidad	Municipio	Abreviación	No. De individuos
Santiago	Los Cabos, BCS	SAN	11
San Dionisio	Los Cabos, BCS	SD	3
Sierra La Laguna	Los Cabos, BCS	SL	10
La Soledad	La Paz, BCS	SOL	13
San Javier	Comundú, BCS	SJA	5
San Miguel de Comundú	Comundú, BCS	SMI	6
San José de Comundú	Comundú, BCS	SJO	2
San Isidro	Comundú, BCS	SIS	7
Carambuche	Comundú, BCS	CAR	8
Estero San Nicolás	Loreto, BCS	ESN	8
San José de Magdalena	Mulegé, BCS	SJM	15
San Ignacio	Mulegé, BCS	SIN	3
Santa Gertrudis	Ensenada, BC	SG	9
Total de individuos			100

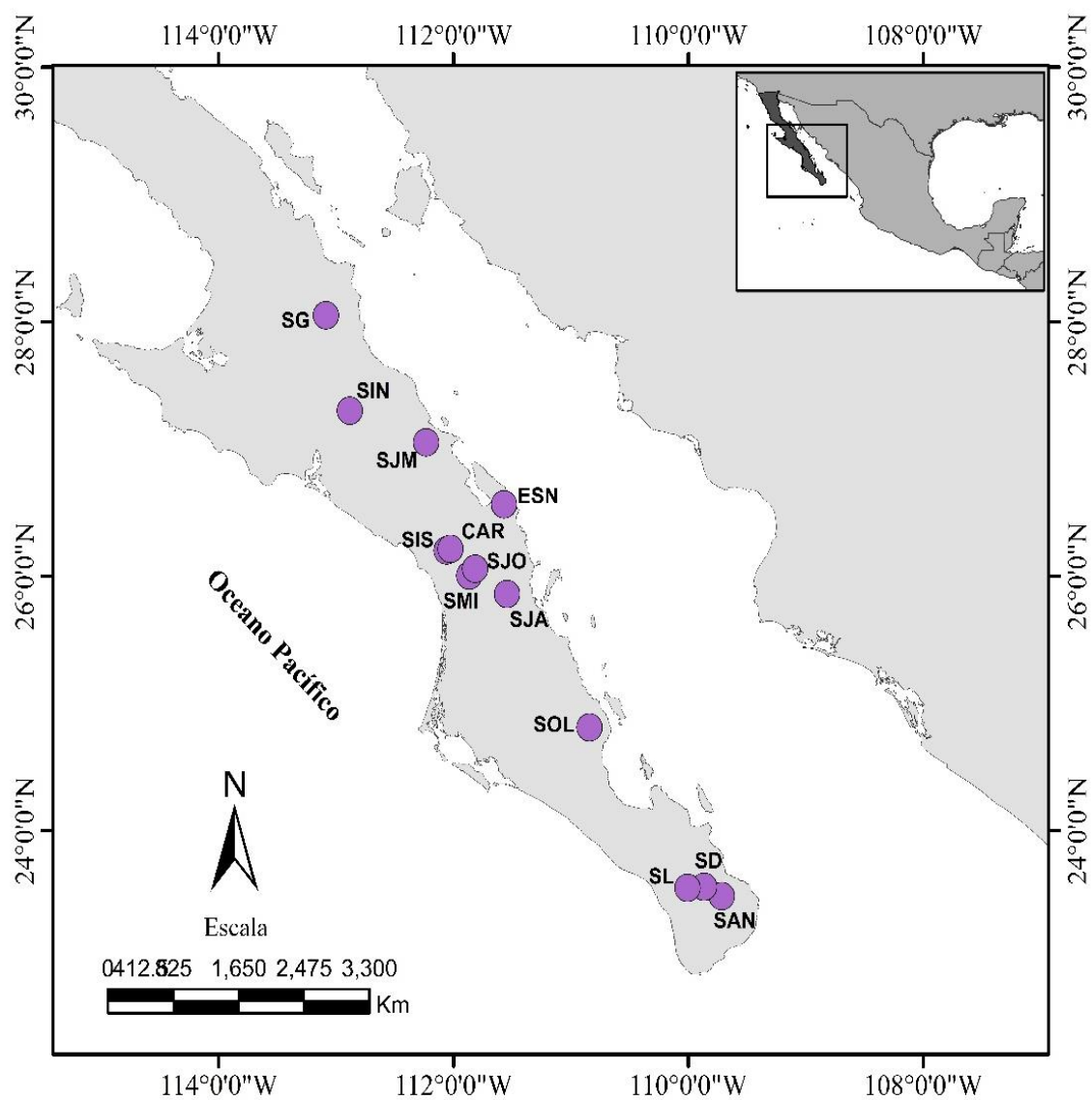


Figura 4. Sitios de colecta de *Hylocharis xantusii* en la Península de Baja California. Ver acrónimos en Tabla I.

6.1 Calibración de loci microsatélites

Para determinar la calidad de los marcadores genéticos que se emplearon, se realizaron una serie de análisis estadísticos que se recomiendan (Selkoe y Toonen, 2006):

Alelos nulos

Por definición, un alelo nulo es cualquier alelo en un locus microsatélite que consistentemente no logra amplificar a los niveles detectados a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Dakin y Avise, 2004). Los alelos nulos pueden aparecer por un apareamiento deficiente del iniciador debido a la divergencia de la secuencia de nucleótidos causada por mutaciones puntuales o indels y por la amplificación diferencial de alelos variantes de tamaño (priorizando a los más cortos) durante la PCR, esto puede llevar a la sobreestimación de la homocigosidad (Carlsson, 2008) y a su vez a la sobreestimación de la diferenciación poblacional (Chapuis y Estoup, 2006). Con ayuda del programa FreeNa (Chapuis y Estoup, 2006) se evaluó la presencia de alelos nulos en los loci microsatélites. También se empleó el programa MICROCHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004) para conocer si los alelos nulos ocurren por errores en la genotipificación, presencia de “tartamudeos” de la polimerasa, o pérdida de alelos grandes.

Desequilibrio de ligamiento

Es necesario comprobar que los loci a evaluar segreguen de manera independiente, ya que de manera contraria se puede subestimar la heterocigosidad en análisis posteriores. Con el uso del programa GENEPOP v4.0 (Rousset, 2008) se estimó la probabilidad de que los loci estén ligados o segreguen juntos, evaluando bajo una hipótesis de independencia de estos, en cada localidad. El programa emplea el estadístico de *log likelihood ratio*, obteniendo la probabilidad de que los pares de loci estén ligados; los valores de *p* mayores a 0.05 indican que no existe significancia en los resultados, por lo tanto, no hay desequilibrio de ligamiento.

Equilibrio de Hardy-Weinberg

Se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) con el programa ARLEQUIN v 3.5.1.2 (Excoffier y Lischer, 2010) para determinar si las frecuencias genotípicas y alélicas permanecen constantes, así mismo, este programa también ayudó a estimar los parámetros de diversidad genética, como el número de alelos por locus (*A*), la heterocigosidad observada (*H_o*), y la heterocigosidad esperada (*H_e*). El programa arroja valores de

probabilidad (valor de p) para evaluar la significancia de 0.05. Sin embargo, se realizó una corrección de Bonferroni en los datos para evitar tener errores del tipo I. Para corregir el valor de significancia se dividió el valor de significancia entre el total de loci: corrección de Bonferroni = $0.05/16$. Cuando los datos son significativos implican un desequilibrio de HW.

6.2 Estructura genética

Diferenciación genética

Se estimó el F_{ST} , el cual es un índice de diferenciación genética (Reynolds *et al.*, 1983) pareada por sitio de muestreo y por grupo genético determinado empleando el programa ARLEQUIN.

Análisis de agrupación bayesiana

Para determinar el número de poblaciones genéticas presentes en las muestras obtenidas en el campo, así como los coeficientes de ancestría de cada individuo, se emplearon métodos bayesianos con el programa STRUCTURE v 2.3.4 (Falush *et al.*, 2003, Pritchard *et al.*, 2000), en donde se usaron los parámetros de MCMC (Monte Carlo Cadena de Markov) de 1 000 000 con 100 000 de precalentamiento (burnin), con 10 iteraciones cada población (K) probable, probando de 1 a 13 K probables, y con frecuencias alélicas correlacionadas. Los resultados obtenidos de este análisis se sometieron a una prueba en el servicio en línea STRUCTURE HARVESTER (Earl, 2012) para evaluar la probabilidad acumulada y la probabilidad posterior para cada valor de K, y detectar el número de grupos con el estadístico ΔK de Evanno (Evanno *et al.*, 2005), que se basa en la tasa de cambio en la probabilidad de registro de datos entre valores sucesivos de K, en donde los valores más altos serán los más probables. Los gráficos de barras se obtuvieron del programa CLUMMP V 1.1.2 (Jakobsson y Rosenberg, 2007), que realizó el agrupamiento de resultados en las 10 corridas. En estos gráficos se observa la proporción de cada individuo de pertenecer a alguno de los grupos (q o coeficiente de ancestría), en donde sus valores de asignación van de 0 a 1. Para los resultados obtenidos en el programa se tomó el valor $q \geq$

0.8 para ser asignado a alguno de los grupos (Vähä *et al.*, 2007, Warnock *et al.*, 2010). Este análisis se realizó para el total de datos y por sexos.

Para descartar que las poblaciones genéticas detectadas por STRUCTURE no fueran una estructura debido a núcleos familiares, se utilizó el programa COLONY v 2.0.6.5 (Jones y Wang, 2010), el cual implementa un método de máxima verosimilitud para inferir hermandad y paternidad conjuntamente entre los individuos, utilizando genotipos individuales multilocus codominantes (Jones y Wang, 2010). Una vez detectados los individuos emparentados, se eliminaron aquellos que presentaron una probabilidad de relación de hermanos y medios hermanos mayor a 0.7. Se volvió a correr STRUCTURE sin los individuos emparentados para verificar si su relación familiar estaba influyendo en la estructura genética previa.

Discordancia mito-nuclear

Con la finalidad de revisar si los marcadores de ADNmt y loci microsatélites arrojan señales genéticas distintas, se emplearon las secuencias concatenadas de ADNmt (de los genes Cyt b, COI y ND2) publicadas por González-Rubio *et al.* (2016a). Para ello se usaron aquellos individuos que coincidieron con las muestras genotipificadas con loci microsatélites. Las secuencias se alinearon en el programa MEGA v7 (Kumar *et al.*, 2016). Se usó el programa DnaSP v5 (Librado y Rozas, 2009) para agrupar las secuencias por localidad y por grupos genéticos determinados con loci microsatélites. Se usó el programa ARLEQUIN para estimar los índices de diferenciación genética (Φ_{ST}) y para realizar un Análisis de varianza molecular (AMOVA) con el fin de calcular la variación explicada dentro y entre los grupos genéticos determinados con loci microsatélites por cada marcador. Si los marcadores arrojan distintos valores significativos de F_{ST} y Φ_{ST} , y si no explican semejante variación entre grupos, se concluye que ambos marcadores aportan señales genéticas distintas.

Aislamiento por distancia

Se empleó la matriz de los valores de F_{ST} como distancias genéticas y una matriz de distancias geográficas de las localidades de colecta de *H. xantusii* para evaluar el patrón de aislamiento por distancia (IBD, *Isolation by Distance*) (Wright, 1943) usando una prueba de Mantel; la significancia se buscó con 999 permutaciones. El análisis se realizó en la plataforma de R (R Core Team, 2017) usando el paquete *vegan* (Oksanen *et al.*, 2019), y se aplicó para el total de datos y por sexos.

Desequilibrio de ligamiento

De un total de 1 516 pruebas de desequilibrio de ligamiento, y tras la corrección de Bonferroni, ninguno de los loci se mostró estar en desequilibrio ($p < 0.00003$). Con esto, se considera que los 16 loci microsatélites se segregan de manera independiente.

Equilibrio de Hardy-Weinberg

El 8.65% de los loci y localidades presentaron desequilibrio de Hardy-Weinberg (HW). El 53.84% de las localidades presentan al menos un locus con desviación del equilibrio de HW. Los loci que mostraron desequilibrio HW en una localidad fueron Hxan 07, Hxan 09, Hxan 13 y Hxan 14 (SJM, SG, SOL y SAN respectivamente). Loci con dos localidades en desequilibrio HW, Hxan 05 (ESN y SJM), Hxan 11 (SOL y SG), Hxan 15 (ESN) y SJM). Y loci con cuatro sitios en desequilibrio HW fueron Hxan 06 (SAN, SL, SOL y en SJM) y Hxan 17 (SOL, CAR, ESN y SJM). No se observó que el desequilibrio se concentrara en un locus o en alguna localidad en particular. De los 18 valores significativos encontrados, seis pueden ser explicados por alelos nulos (Tabla III), de acuerdo con los resultados de FreeNa (Tabla II).

Tabla III. Valores de Hardy-Weinberg en cada uno de los 16 loci por localidad de *Hylocharis xantusii*. Valores marcados en gris son significativos según la corrección de Bonferroni = 0.0031, y valores en negritas coinciden con los datos que presentaron alelos nulos mayores a 0.2. Ver acrónimos en Tabla I.

Loci\Loc.	SAN	SD	SL	SOL	SJA	SMI	SJO	SIS	CAR	ESN	SJM	SIN	SG
Hxan01	0.6358	1	0.0638	0.0513	0.6183	1	0.0018	0.3338	0.5567	0.7311	0.1321	1	0.5423
Hxan02	0.4385	-	1	1	-	1	1	-	1	1	0.2728	-	1
Hxan03	0.6889	1	0.7506	0.5271	0.8496	1	0.0303	0.3331	1	0.5568	0.0064	0.2	0.136
Hxan04	0.946	1	0.0076	0.3088	1	1	0.3436	0.3312	0.8808	0.0124	0.0051	0.4675	0.0275
Hxan05	0.0486	1	0.0168	0.013	0.0477	0.0307	0.0303	-	0.0156	0.0004	0	0.1992	0.123
Hxan06	0.0021	0.4707	0.0026	0.0012	0.02	0.6366	1	1	0.1064	1	0.0008	1	1
Hxan07	0.0759	0.4707	0.2531	0.0201	0.794	0.5636	0.1383	1	0.005	0.2472	0	1	0.36
Hxan09	0.0439	1	0.2907	0.0221	1	0.0219	1	-	0.0296	0.4099	0.0268	1	0
Hxan11	0.3063	1	1	0	0.6199	1	1	1	1	1	0.806	1	0.0037
Hxan12	0.171	1	0.0757	0.02	1	0.3084	0.0875	1	0.0894	1	0.0158	1	1
Hxan13	0.0115	1	0.0262	0.0002	1	0.0987	0.1866	0.3305	0.2012	1	0.0241	-	0.0125
Hxan14	0.0019	1	0.047	0.0497	0.0093	0.0062	0.0864	1	0.0175	1	0.0558	-	0.0061
Hxan15	0.1578	0.3331	0.6461	0.4981	0.3654	0.1404	1	0.334	0.0464	0.0007	0.0008	0.4643	0.0051
Hxan16	0.7421	1	0.1899	0.6106	1	0.2603	1	1	0.883	0.7622	0.2312	1	0.5264
Hxan17	0.9923	0.2	0.6988	0.002	0.0854	0.059	0.0434	0.3321	0.0009	0	0	-	0.3689
Hxan18	0.2536	1	0.3674	0.2659	1	0.8958	0.0731	1	0.1197	1	0.0042	1	0.0568

7.2 Estructura genética

Diferenciación genética

El rango de valores de F_{ST} significativos oscila de 0.055 (SOL-SAN) a 0.159 (ESN-SG). La localidad de Estero San Nicolás (ESN) fue la más distinta entre todas las comparaciones al presentar valores significativos con siete localidades, de los cuales seis presentan los valores más altos de 0.1. Santa Gertrudis (SG) presenta valores significativos con cinco localidades, sin embargo, su valor más alto es en la comparación con ESN (Tabla IV).

Tabla IV. Valores de F_{ST} (diagonal inferior) y valores de P (diagonal superior) obtenidos de 100 individuos genotipificados con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii* agrupados por localidad. En negritas valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0005$). Ver acrónimos en Tabla I.

	SAN	SD	SL	SOL	SJA	SMI	SJO	SIS	CAR	ESN	SJM	SIN	SG
SAN	0	0.009	0.045	0	0.003	0.0009	0.231	0.0029	0.003	0	0.015	0.007	0
SD	0.069	0	0.020	0.062	0.254	0.008	0.286	0.117	0.027	0	0.035	0.109	0.004
SL	0.017	0.072	0	0.0009	0.060	0	0.199	0	0.012	0.002	0.098	0.004	0
SOL	0.055	0.061	0.051	0	0.006	0.009	0.453	0.037	0.001	0	0	0.185	0
SJA	0.053	0.027	0.027	0.055	0	0.016	0.405	0	0.013	0.001	0.023	0.098	0
SMI	0.076	0.115	0.065	0.059	0.061	0	0.717	0.087	0.452	0	0.014	0.057	0.394
SJO	0.026	0.083	0.036	0.028	0.037	0	0	0.539	0.632	0.015	0.407	0.99	0.404
SIS	0.051	0.067	0.075	0.044	0.066	0.036	0.016	0	0.062	0	0.003	0.074	0.008
CAR	0.043	0.082	0.045	0.053	0.055	0.001	0.002	0.035	0	0	0.001	0.183	0.035
ESN	0.083	0.101	0.049	0.105	0.073	0.127	0.094	0.134	0.136	0	0.081	0.006	0
SJM	0.023	0.062	0.013	0.054	0.043	0.052	0.002	0.065	0.059	0.021	0	0.042	0.0009
SIN	0.048	0.143	0.068	0.084	0.068	0.063	0	0.068	0.036	0.136	0.063	0	0.041
SG	0.078	0.115	0.081	0.066	0.094	0.010	0.036	0.063	0.035	0.159	0.081	0.071	0

Análisis de agrupación bayesiana

En un primer análisis realizado con STRUCTURE y empleando las 13 localidades, los valores más altos de ΔK sugieren de dos a cuatro grupos (K) (Fig. 5A). En el gráfico de barras (Fig. 5B) se observa que los sitios de muestreo con una mayor asignación al grupo A (azul) son SIS, SJO, SMI, CAR, SIN y SG, mientras que ESN, SL y SD tienen una mayor asignación al grupo B (naranja). Los sitios SAN, SL, SOL, y SJA muestran individuos con mezcla genética, esta se caracteriza porque un mismo individuo tiene un coeficiente de ancestría de $q = 0.7$ o 0.6 de un grupo, y 0.3 o 0.4 de otro grupo.

SJM es un caso especial, ya que presentó individuos con $q \geq 0.89$ de uno y otro grupo genético. Debido a este resultado, se decidió separar a la localidad en SJM en dos sitios, SJM1 (individuos del grupo B) y SJM2 (individuos del grupo A). Con este nuevo agrupamiento se volvió a correr STRUCTURE con los mismos parámetros y a estimar los

F_{ST} (para microsatélites y ADNmt), quedando como 14 sitios de muestreo, por la división de SJM.

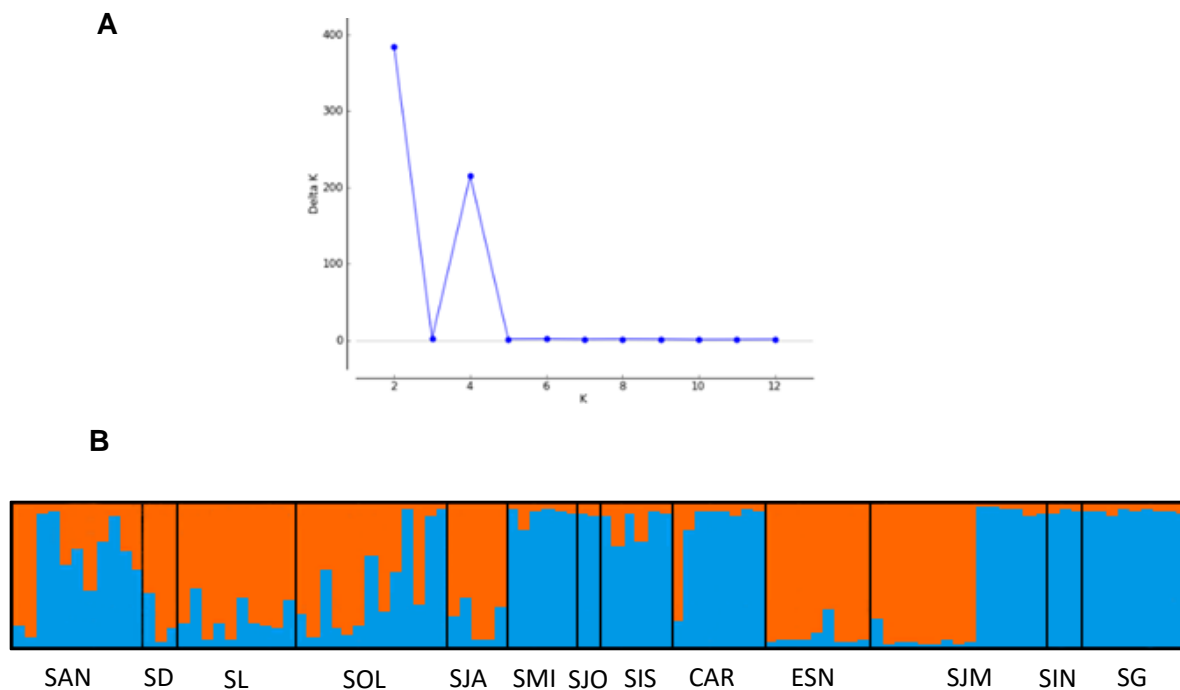


Figura 5. Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 100 muestras genotipificadas con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$, calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). Ver acrónimos en Tabla I.

En el segundo análisis STRUCTURE, el número más probable de K es de dos grupos, según el método de Evanno *et al.* (2005) (Fig. 6A). En el gráfico de barras de la Fig. 6B se observa que las localidades con más individuos asignados al grupo A son SAN, SMI, SJO, SIS, CAR, SJM2, SIN y SG, mientras que SJM1, ESN, SJA y SD presentan más individuos asignados al grupo B. En la mayoría de las localidades se presentan individuos mezclados, sin embargo, sólo en SAN, SL, SOL y SJA algunos individuos presentan proporciones de mezcla genética más altas. SAN presenta un individuo con $q=0.58$ para pertenecer al grupo

A y 0.42 para el B (proporción híbrida 0.58:0.42); SL contiene dos individuos con una q promedio de 0.44 para pertenecer a A y 0.56 a B (proporción híbrida 0.44:0.56); SOL presentó tres individuos con una q promedio de 0.46 de pertenecer a A y 0.54 de B (proporción híbrida 0.46:0.54) y SJA se observó un individuo con $q=0.21$ para pertenecer a A y 0.79 a B (proporción híbrida 0.21:0.79, Fig. 7, Anexo 1).

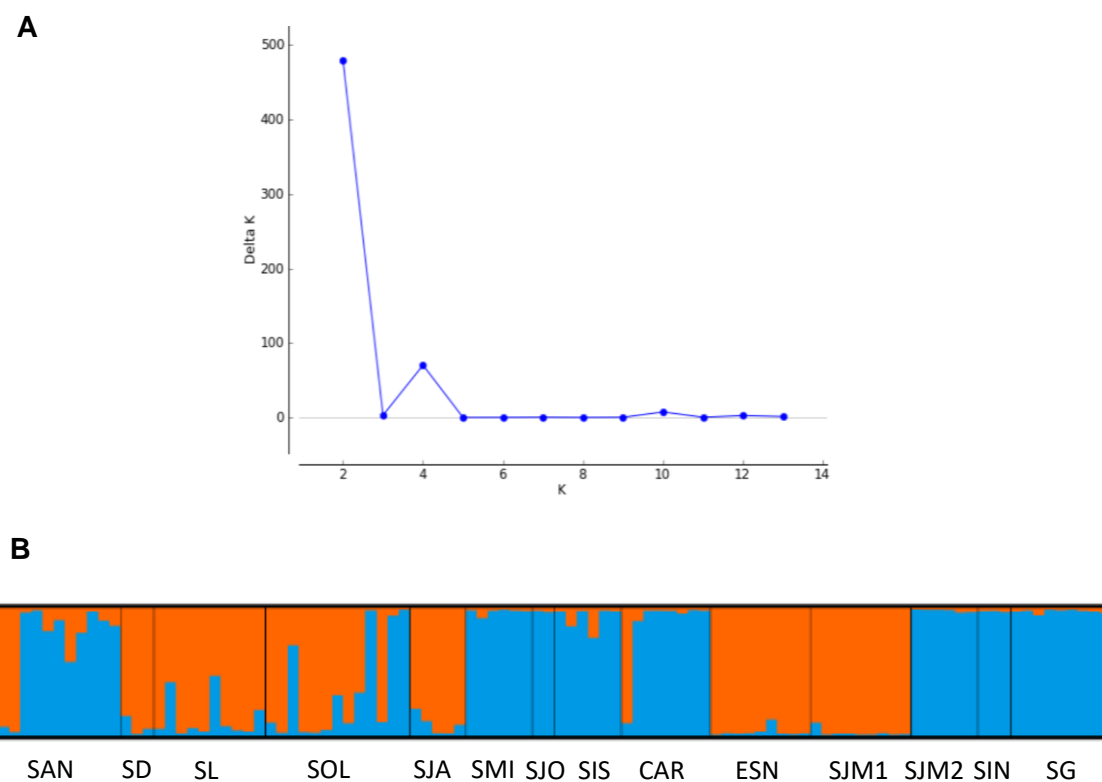


Figura 6. Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 100 muestras genotipificadas con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$, calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). Ver acrónimos en Tabla I.

En resumen, los resultados de estructura genética indican la existencia de dos grupos genéticos en *Hylocharis xantusii*, con individuos puros a lo largo de su distribución, que en adelante se denominarán como grupo A, a las localidades con individuos puros de color azul (SG, SIN, SJM2, CAR, SIS, SJO y SMI), grupo B, a las localidades con individuos puros de color naranja (SJM1, ESN y SD) y grupo C (SJA, SOL, SL y SAN) a las localidades que presentaron individuos con mayor grado de mezcla genética (introgresión) (Fig. 7).

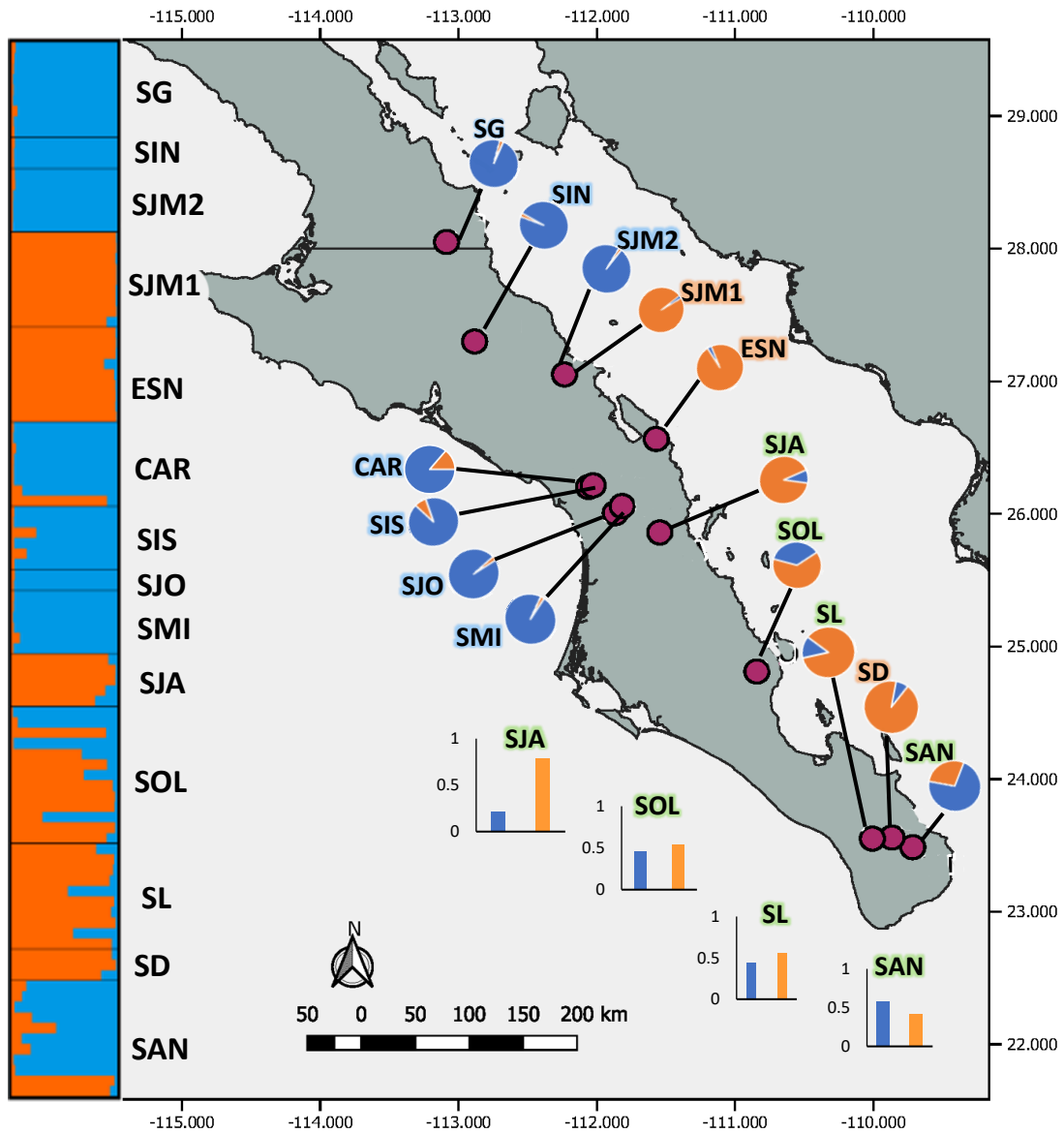


Figura 7. A la izquierda el gráfico de STRUCTURE obtenido a partir de 100 individuos genotificados con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii* en la Península de Baja California; cada barra horizontal representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). A la derecha se presenta el mapa de la Península de Baja California mostrando los sitios de colecta de *Hylocharis xantusii*. Los gráficos pastel muestran los coeficientes de ancestría por población. Las localidades sombreadas de verde presentan algunos individuos con mayor mezcla genética y los gráficos de barras verticales indican el promedio de la proporción híbrida de esos individuos. Ver acrónimos en Tabla I.

La segunda estimación de F_{ST} por localidad para loci microsatélites, indica que las comparaciones entre las localidades pertenecientes al grupo A presentan valores de 0.079 y 0.91 (promedio de 0.085), entre las localidades del grupo B presentan valores de 0.095 y 0.117 (promedio 0.106), y el grupo C muestra valores de 0.051 a 0.080 (promedio 0.066) (Tabla V). La mayor diferenciación genética se presenta entre SG, SJM2 y SMI (grupo A) contra ESN (grupo B) con valores de F_{ST} de 0.242, 0.219 y 0.193 respectivamente, y entre SG (grupo A) contra SJM1 (grupo B) con un valor de F_{ST} de 0.218. Los valores de F_{ST} son más bajos para las localidades del mismo grupo que entre los grupos.

Tabla V. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y valores de P sobre la diagonal obtenidos de 100 individuos genotipificados con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii* agrupados por localidad. En negritas valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.00048$). Ver acrónimos en Tabla I.

	SAN	SD	SL	SOL	SJA	SMI	SJO	SIS	CAR	ESN	SJM1	SJM2	SIN	SG
SAN	-	0.009	0.144	0	0	0	0.162	0	0	0	0	0.018	0.027	0
SD	0.089	-	0.045	0.315	0.333	0.009	0.532	0.171	0.063	0	0	0.018	0.063	0.009
SL	0.020	0.056	-	0	0.162	0	0.342	0	0.018	0	0.027	0	0.072	0
SOL	0.068	0.041	0.051	-	0.081	0.009	0.793	0.207	0.036	0	0	0	0.216	0
SJA	0.080	0.023	0.029	0.046	-	0	0.45	0.018	0.009	0	0	0.018	0.180	0
SMI	0.125	0.151	0.100	0.069	0.100	-	0.496	0.252	0.405	0	0	0	0.117	0.072
SJO	0.036	0.060	0.032	0	0.030	0	-	0.856	0.631	0.018	0.018	0.468	0.991	0.405
SIS	0.062	0.025	0.070	0.030	0.040	0.031	0	-	0.288	0	0	0.027	0.441	0.045
CAR	0.064	0.088	0.049	0.040	0.056	0.001	0	0.021	-	0	0	0.018	0.405	0.225
ESN	0.115	0.117	0.046	0.137	0.088	0.193	0.125	0.117	0.177	-	0.496	0	0.009	0
SJM1	0.100	0.095	0.033	0.112	0.087	0.172	0.082	0.103	0.157	0	-	0	0	0
SJM2	0.069	0.129	0.088	0.071	0.130	0.091	0.019	0.074	0.060	0.219	0.186	-	0.324	0
SIN	0.062	0.098	0.061	0.057	0.058	0.070	0	0.016	0.010	0.203	0.174	0.016	-	0.225
SG	0.113	0.141	0.104	0.071	0.131	0.034	0.039	0.065	0.018	0.242	0.218	0.079	0.036	-

El valor de F_{ST} entre el grupo A y el grupo B fue más alto (0.141) que las comparaciones entre A-C = 0.040 o B-C = 0.058 (Tabla VI).

Tabla VI. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y P sobre la diagonal obtenidos de 100 individuos genotipificados con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii* agrupados por grupos genéticos. Todos los valores resultaron significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0083$).

	A	B	C
A	-	0	0
B	0.141	-	0
C	0.040	0.058	-

Análisis de agrupación bayesiana por sexos

Para el análisis de estructura genética por sexos se usaron datos de 65 machos y 33 hembras (dos individuos sin registro del sexo), los cuales no estuvieron homogéneamente distribuidos en las diferentes localidades, y en el caso de las hembras no hubo muestras en las localidades de SD, CAR y SJO. Para los machos, la estimación del método de Evanno *et al.* (2005) arroja una $K=2$ como la más probable con $\Delta K=259.04$ (Fig. 8A), observando una separación de los individuos muy similar a los análisis con los 100 individuos (Fig. 8B).

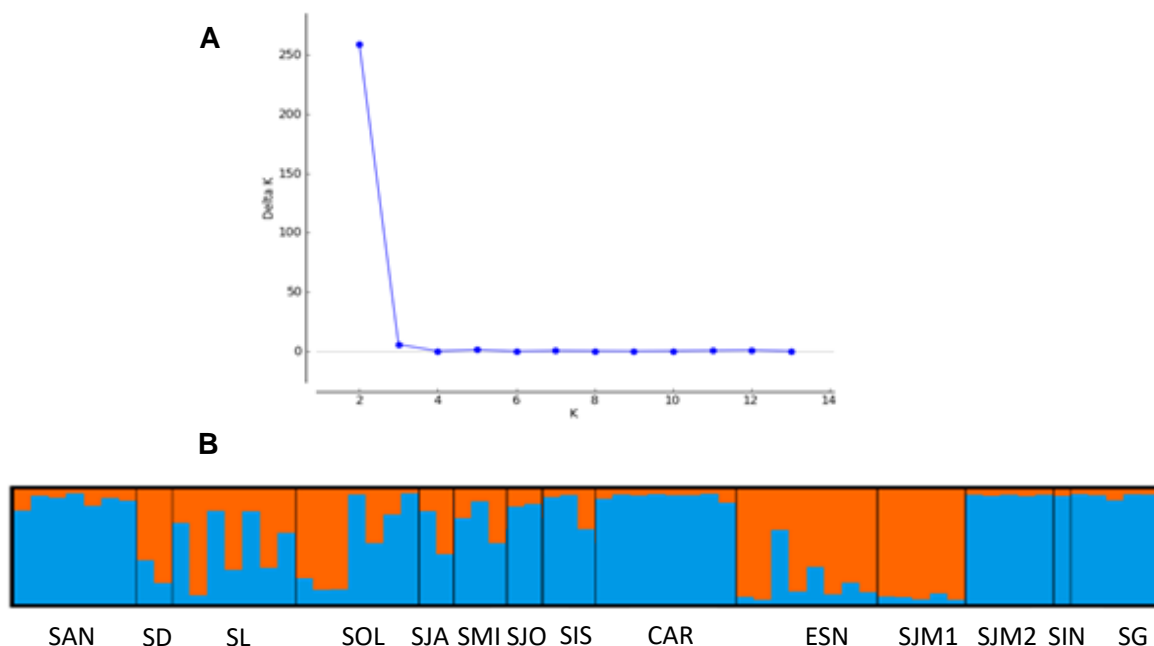


Figura 8. Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 65 muestras genotipificadas con 16 loci microsatélites de individuos machos de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$, calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). Ver acrónimos en Tabla I.

Para el caso de las hembras, la estimación del método de Evanno *et al.* (2005) arroja una $K=2$ y $K=4$, con valores de ΔK de 15.81 y 22.99, respectivamente (Fig. 9A). Los valores de ΔK son muy bajos en comparación con los análisis anteriores, y esto se ve reflejado en la falta de separación de individuos en grupos genéticamente homogéneos (Fig. 9B).

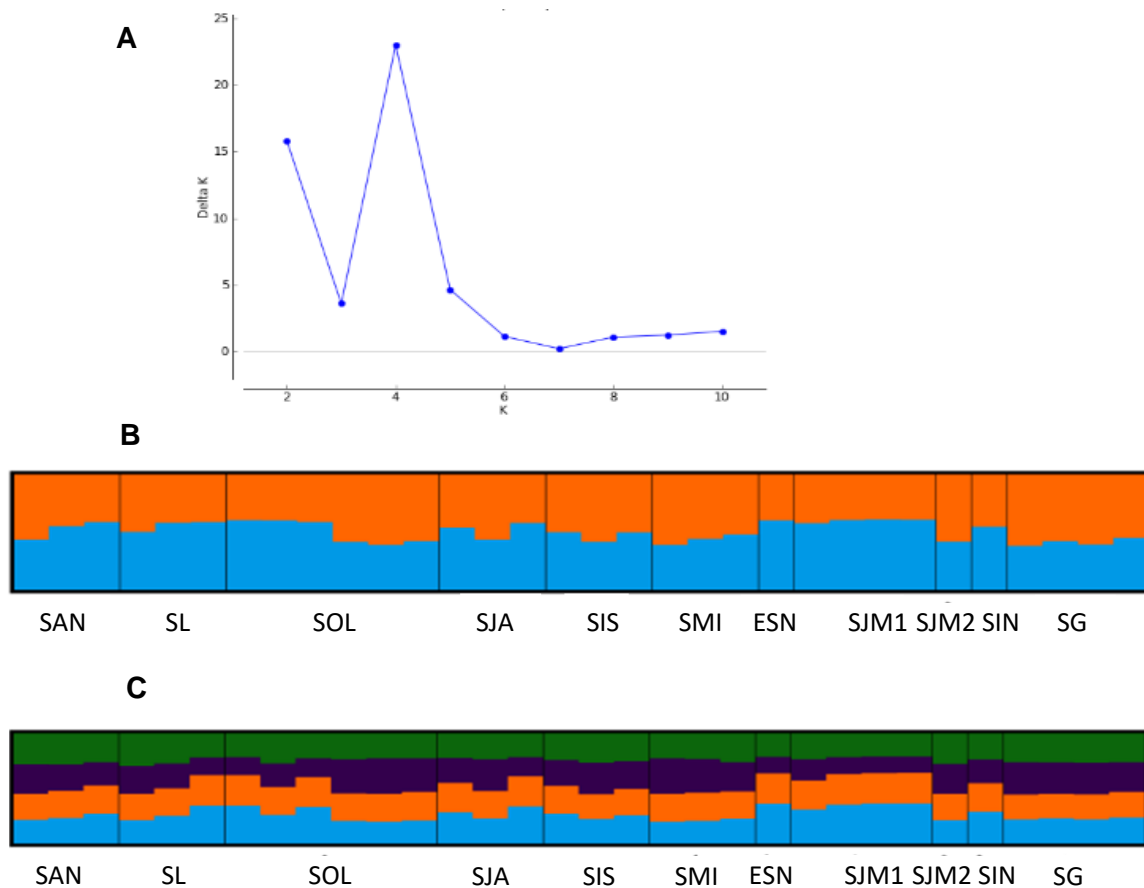


Figura 9. Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 33 muestras genotipificadas con 16 loci microsatélites de individuos hembras de *Hylocharis xantusii*. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$ y $K=4$, calculado a partir de la ΔK . **B)** Gráfico de barras $K=2$ de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). **C)** Gráfico de barras $K=4$ de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado, cada color representa una K . Ver acrónimos en Tabla I.

Los valores de F_{ST} para los machos, solo fueron significativos las comparaciones SOL-ESN ($F_{ST} = 0.099$; grupos C y B) y CAR-ESN ($F_{ST} = 0.174$; grupos A y B) (Tabla VII). Para el caso de las hembras, ningún valor de F_{ST} fue significativo (Tabla VIII).

Tabla VII. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y valores de P sobre la diagonal obtenidos de 65 individuos machos genotipificados con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii* agrupados por localidad. En negritas valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0005$). Ver acrónimos en Tabla I.

	SAN	SD	SL	SOL	SJA	SMI	SJO	SIS	CAR	ESN	SJM1	SJM2	SIN	SG
SAN	-	0.180	0.038	0.002	0.028	0.007	0.232	0.018	0.003	0.002	0.001	0.070	1.000	0.005
SD	0.046	-	0.108	0.667	0.330	0.098	0.674	0.344	0.089	0.057	0.052	0.296	1.000	0.094
SL	0.037	0.083	-	0.097	0.377	0.016	0.343	0.008	0.022	0.031	0.008	0.001	1.000	0.001
SOL	0.083	0.023	0.041	-	0.174	0.238	0.860	0.621	0.109	0.000	0.001	0.152	1.000	0.190
SJA	0.101	0.093	0.017	0.088	-	0.104	0.661	0.127	0.155	0.086	0.049	0.096	1.000	0.046
SMI	0.168	0.199	0.106	0.056	0.177	-	0.605	0.225	0.415	0.008	0.016	0.019	1.000	0.302
SJO	0.038	0.007	0.035	0.000	0.093	0.000	-	0.543	0.636	0.054	0.048	0.616	1.000	0.714
SIS	0.088	0.069	0.084	0.005	0.112	0.052	0.046	-	0.148	0.021	0.036	0.047	1.000	0.160
CAR	0.081	0.075	0.044	0.043	0.060	0.010	0.000	0.037	-	0.000	0.001	0.065	1.000	0.357
ESN	0.095	0.097	0.050	0.099	0.083	0.210	0.120	0.108	0.174	-	0.589	0.002	1.000	0.001
SJM1	0.142	0.119	0.073	0.108	0.133	0.231	0.150	0.114	0.218	0.000	-	0.008	1.000	0.008
SJM2	0.049	0.058	0.086	0.047	0.122	0.097	0.009	0.098	0.050	0.205	0.225	-	1.000	0.112
SIN	0.065	0.181	0.067	0.033	0.228	0.140	0.000	0.038	0.027	0.228	0.277	0.000	-	0.660
SG	0.115	0.123	0.093	0.050	0.156	0.034	0.001	0.047	0.009	0.229	0.278	0.051	0.014	-

Tabla VIII. Valores de F_{ST} bajo la diagonal y valores de P sobre la diagonal obtenidos de 33 individuos hembras genotipificados con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii* agrupados por localidad. Ningún valor fue significativo después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0006$). Ver acrónimos en Tabla I.

	SAN	SD	SL	SOL	SJA	SMI	SIS	ESN	SJM1	SJM2	SIN	GER
SAN	-	1.000	0.708	0.230	0.198	0.201	0.202	1.000	0.030	1.000	1.000	0.115
SD	0.101	-	1.000	0.861	1.000	0.505	0.251	1.000	0.194	1.000	1.000	0.197
SL	0.002	0.000	-	0.232	0.498	0.204	0.198	1.000	0.056	1.000	1.000	0.120
SOL	0.052	0.027	0.069	-	0.527	0.251	0.106	1.000	0.010	1.000	1.000	0.024
SJA	0.086	0.000	0.044	0.017	-	0.308	0.203	1.000	0.030	1.000	1.000	0.031
SMI	0.067	0.004	0.050	0.039	0.039	-	0.195	1.000	0.029	1.000	1.000	0.147
SIS	0.061	0.112	0.104	0.087	0.048	0.054	-	1.000	0.028	1.000	1.000	0.087
ESN	0.232	0.167	0.081	0.211	0.067	0.129	0.149	-	0.405	1.000	1.000	0.199
SJMA	0.084	0.128	0.044	0.115	0.078	0.099	0.111	0.000	-	1.000	1.000	0.029
SJMB	0.134	0.176	0.051	0.111	0.146	0.000	0.079	0.223	0.144	-	1.000	0.193
SIN	0.146	0.074	0.051	0.168	0.098	0.057	0.176	0.560	0.216	0.262	-	0.198
GER	0.097	0.158	0.110	0.099	0.139	0.052	0.156	0.366	0.205	0.157	0.147	-

COLONY detectó 22 pares de individuos que resultaron emparentados, 17 como hermanos y 5 como medios hermanos (Tabla IX). Con esta información se volvió a correr el análisis de STRUCTURE eliminándose 19 individuos en lugar de 22, debido a que los individuos SAN40, SL04 y SOL148 se repiten en los medios hermanos. El resultado sin los individuos emparentados (Anexo 2) no fue diferente al análisis realizado con la base de datos completa y que se muestra en la Fig. 6. Con este análisis, se descartó que los individuos emparentados puedan influir en la estructura genética detectada para la especie en la PBC.

Cabe destacar que el análisis en COLONY detectó hermandad entre individuos con una separación de hasta 400 km de distancia (Tabla IX), sugiriendo que *H. xantusii* puede desplazarse grandes distancias.

Tabla IX. Individuos de *Hylocharis xantusii* emparentados como hermanos y medios hermanos con una probabilidad mayor a 0.7. Individuos marcados con letras negras se excluyeron para el análisis de STRUCTURE. Los nombres corresponden al ID de los individuos y las iniciales a la localidad que pertenecen.

Individuos emparentados	Probabilidad	Distancias euclidianas entre localidades (km)
Hermanos		
SAN01 SL02	0.997	30.68
SL07 SL08	0.995	0
SL04 ESN121	0.988	371.02
SJM105 SJM115	0.988	0
SL09 SL134	0.985	0
SOL143 SOL144	0.983	0
SG153 SG154	0.979	0
ESN117 SJM112	0.978	84.62
SMI71 SJO72	0.957	7.81
ESN118 SJM108	0.956	84.62
SOL139 SOL146	0.914	0
SD127 SJA129	0.858	307.28
SJM96 SJM97	0.84	0
SIS12 SJM102	0.839	96.04
SOL148 SG155	0.818	424.25
SIS30 SIS32	0.81	0
CAR62 SJM95	0.81	95.35
Medios hermanos		
SAN40 SOL137	0.879	186.78
SOL148 SMI69	0.734	168.10
SAN38 SAN40	0.732	0
SL04 SJA130	0.706	300.36
SOL140 SOL143	0.7	0

Discordancia mito-nuclear

Para este análisis se recuperaron 75 secuencias concatenadas del ADN mitocondrial que también fueron genotipadas con loci microsatélites; sin embargo, no secuenciaron los individuos del sitio SJM2. Los valores de Φ_{ST} no mostraron diferencias significativas por comparaciones por pares de sitios de colecta (Tabla X). Al realizar las agrupaciones genéticas obtenidas con loci microsatélites (A, B y C), tampoco se obtuvieron valores significativos de Φ_{ST} (Tabla XI). Estos resultados resaltan que la variación genética de las secuencias mitocondriales no apoya la separación de los grupos genéticos obtenidos con loci microsatélites.

Tabla X. Valores de Φ_{ST} (diagonal inferior) y valores de P (diagonal superior) obtenidos de 75 individuos secuenciados con ADNmt de *Hylocharis xantusii* agrupados por localidad. No se observan valores significativos después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0005$). Ver acrónimos en Tabla I.

	SAN	SD	SL	SOL	SJA	SMI	SJO	SIS	CAR	ESN	SJMI	SIN	GER
SAN	-	0.073	0.299	0.036	0.155	0.365	1.000	0.361	0.048	0.046	0.870	0.522	0.114
SD	0.354	-	0.149	0.048	0.133	0.138	1.000	0.197	0.034	0.675	0.111	0.102	0.106
SL	0.011	0.117	-	0.052	0.105	0.493	1.000	0.117	0.061	0.214	0.361	0.474	0.211
SOL	0.227	0.274	0.142	-	0.161	0.029	1.000	0.175	0.005	0.007	0.062	0.043	0.271
SJA	0.113	0.490	0.191	0.135	-	0.169	1.000	1.000	0.023	0.026	0.303	0.145	0.084
SMI	-0.020	0.149	-0.023	0.205	0.206	-	1.000	0.418	0.465	0.131	0.406	0.907	0.249
SJO	-0.122	0.600	-0.213	0.222	0.231	-0.375	-	0.247	0.428	0.424	0.744	0.753	0.402
SIS	0.006	0.493	0.139	0.132	-0.291	0.096	0.120	-	0.011	0.012	0.462	0.409	0.130
CAR	0.201	0.336	0.109	0.354	0.509	0.004	0.035	0.461	-	0.228	0.089	0.423	0.085
ESN	0.237	-0.065	0.043	0.321	0.489	0.073	0.077	0.459	0.068	-	0.039	0.336	0.073
SJMA	-0.091	0.274	0.009	0.157	0.031	-0.007	-0.225	-0.086	0.197	0.215	-	0.488	0.091
SIN	-0.021	0.538	-0.036	0.356	0.413	-0.144	0.143	0.364	0.025	0.069	0.027	-	0.144
GER	0.146	0.123	0.042	0.023	0.255	0.063	0.048	0.201	0.105	0.128	0.120	0.179	-

Tabla XI. Valores de Φ_{ST} bajo la diagonal y P sobre la diagonal obtenidos de 75 individuos secuenciados con ADNmt de *Hylocharis xantusii* agrupados por poblaciones determinadas con loci microsatélites. Ningún valor resultó significativo después de la corrección de Bonferroni ($P < 0.0083$).

	A	B	C
A	-	0.323	0.049
B	0.006	-	0.097
C	0.049	0.046	-

AMOVA determinó que la variación entre grupos genéticos (A, B y C) es explicada en un 5.84% con los loci microsatélites, y solo el 0.17 por el ADNmt. El mayor porcentaje de variación se explica dentro de las localidades con ambos marcadores (Tabla XII).

Tabla XII. Resultado del análisis de AMOVA y porcentaje de variación explicado por cada marcador molecular

Fuente de variación	ADNmt¹	Microsatélites
	% variación (índice de fijación)	% variación (índice de fijación)
Entre grupos	0.17	5.84
Entre localidades dentro de los grupos	13.19	3.79
Dentro de localidades	86.65	90.37

¹ADNmt = ADN mitocondrial

Aislamiento por distancia

No se obtuvo un patrón de IBD entre localidades ($P > 0.05$) con el total de datos (Fig. 10). Tampoco se encontró IBD por sexos (Anexos 3 y 4).

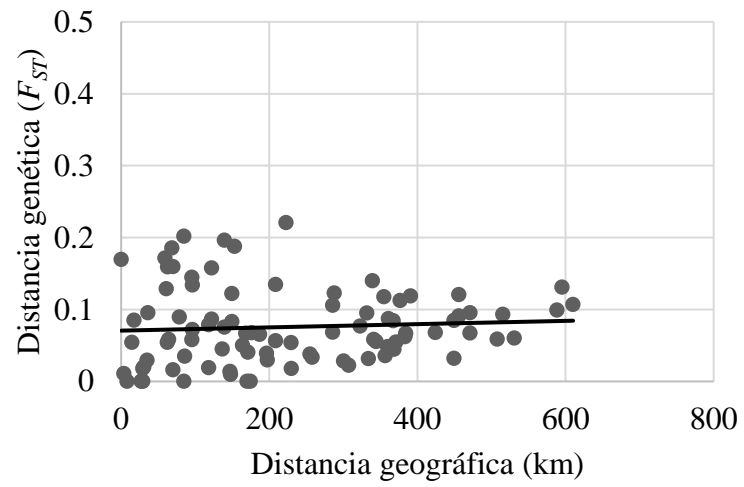


Figura 10. Análisis de aislamiento por distancia sin una correlación significativa ($r = 0.08441$, $P = 0.2573$) entre las distancias geográficas y distancias genéticas de *Hylocharis xantusii*.

8. DISCUSIÓN

En la actualidad, el uso de marcadores genéticos que ayuden a dilucidar la estructura genética de las poblaciones ha sido de gran utilidad para conocer el estado de conservación en que se encuentran, incluso para conocer la respuesta genética de las poblaciones ante cambios ambientales recientes (Schlötterer, 2000). Para esto es necesario emplear marcadores que proporcionen señales contemporáneas como los microsátélites. Sin embargo, al utilizar este tipo de marcadores es necesario descartar errores debido a los métodos de análisis. Es necesario, por ejemplo, poner a prueba el modelo de desequilibrio de ligamiento y equilibrio de Hardy-Weinberg. Con estos análisis se puede detectar si alelos nulos o errores en la genotipificación repercuten en las interpretaciones finales. En el presente estudio, a pesar de la frecuencia alta de alelos nulos encontrada en los loci Hxan 05 y Hxan17 en 4 y 5 localidades respectivamente de las 13 localidades, estos loci se continuaron utilizando en los análisis de estructura genética ya que se hicieron pruebas omitiéndolos y los resultados no se modificaron. En cuanto al desequilibrio de ligamiento, ninguno de los loci se mostró ligado a otro, comprobando la segregación independiente. Y para el EHW no se observó que el desequilibrio se concentrara en un locus o en alguna localidad en particular. Debido a lo anterior la información genética generada por los loci y localidades tiene calidad aceptable que eventualmente no afecta las conclusiones (Selkoe y Toonen, 2006).

Estructura genética

La estructura genética observada de *Hylocharis xantusii* consiste en dos poblaciones discontinuas con individuos con alto grado de pureza (grupos genéticos A y B), y un grupo con individuos mezclados en SAN, SL, SOL y SJA (grupo genético C). Se comprobó que la estructura genética no presenta influencia familiar al eliminar a los individuos emparentados, sin embargo, se observaron individuos hermanos y medios hermanos con separaciones de hasta 400 km de distancia. Se conoce poco sobre la capacidad de dispersión del colibrí de Xantus, sin embargo, COLONY implementa un método robusto de probabilidad de pedigrí completo para inferir simultáneamente la hermandad y la paternidad entre individuos usando datos de genotipo multilocus y ha sido considerado un

programa eficiente para estas estimaciones (Ackerman *et al.*, 2017, Wang y Santure, 2009), por lo que los resultados del presente estudio sugieren que esta especie de colibrí puede presentar desplazamientos a grandes distancias. Un resultado que deberá ser corroborado por métodos de marcaje y recaptura. Por otra parte, y aunque algo circunstancial, existen registros de presencia de colibrí de Xantus fuera de la distribución conocida, en San Diego, CA (1988) y en British Columbia, Canadá (1998) (Howell y Howell, 2000), estos registros aunque antiguos, permiten apreciar el potencial de dispersión de la especie.

La estructura genética encontrada es básicamente determinada por los machos, los cuales presentaron una estructura semejante a la general. Lo cual sugiere que las hembras son más dispersivas que los machos, debido a que el sexo dispersante presenta menor estructuración genética (Goudet *et al.*, 2002) (resultados de F_{ST} y AMOVA). Es posible que los machos presenten un comportamiento territorial. A pesar de no existir datos publicados de dispersión del colibrí de Xantus, se conoce que en otras especies de colibríes (ejemplo la tribu Mellisugini), los machos protegen territorios de alimentación y cortejo (Clark *et al.*, 2018, Pitelka, 1942, Arizmendi y Berlanga, 2014), permitiendo de forma selectiva que las hembras se alimenten. Esta conducta territorial, sugiere que los machos no se reproducen (o se reproducen en menor medida) con hembras de otra población, a diferencia de las hembras que pueden presentar una tendencia a desplazarse a mayores distancias (como en la mayoría de las aves) (Greenwood, 1980) para buscar oportunidades de alimentación y reproducción, generando así poblaciones mezcladas, como las observadas en el sur de la Península de Baja California. Estas diferencias entre los machos y hembras sobre la estructura genética, se han observado en otras aves, en los que atribuyen las asimetrías sesgadas al sexo (Clarke *et al.*, 1997, Greenwood, 1980, Rocha-Olivares y González-Jaramillo, 2014). Un ejemplo es el trabajo de van Dijk *et al.* (2015) sobre el tejedor republicano (*Philetairus socius*) en donde combinando la captura y recaptura de individuos con datos genéticos de loci microsatélites encontraron relaciones genéticas mayores entre machos a comparación de los hembras; así mismo la dispersión fue sesgada a las hembras.

Resulta interesante resaltar el sitio de muestreo San José de Magdalena (SJM). Esta localidad presenta predominantemente vegetación riparia, de matorral sarcocaulé y flora exótica riparia (Ruiz-Campos *et al.*, 2014); los individuos muestreados en este sitio se obtuvieron en el mes de junio empleando dos redes de niebla separadas por 100m aproximadamente, y tras los análisis genéticos se encontró que nueve de los 15 individuos tuvieron un genotipo característico del grupo A y seis individuos mostraron un genotipo típico del grupo B. Una pregunta relevante es ¿Por qué esos individuos estando tan cerca unos de otros no se reproducen? Y ¿por qué los que están en las localidades de SJA, SOL, SL y SAN muestran algunos individuos con altos índices de mezcla (hibridación) que presupone eventos de reproducción reciente? Al no encontrar un aislamiento por distancia (Figura 11), habrá que reflexionar sobre qué otros mecanismos pueden estar determinando una estructura genética como la observada. Una posibilidad está dentro del fenómeno de la selección sexual. Para ello es importante considerar la existencia de patrones de cortejo diferentes entre los machos y hembras de los grupos genéticos puros del norte y centro de la PBC, grupos A y B respectivamente. Si bien aún no existen estudios sobre los patrones de cortejo en el colibrí de Xantus, se conoce que esta especie muestra dimorfismo sexual, y aunque es ampliamente debatido, una de las posibles causas del dimorfismo sexual en aves es la selección sexual (Punzalan y Hosken, 2010), por lo que es posible invocar al comportamiento reproductivo como un mecanismo que pueda influir en la estructuración genética de la especie.

Para el cortejo, los machos necesitan de estrategias de cortejo para atraer a las hembras y emplean canales de comunicación visual y auditiva, en donde exhiben patrones de vuelo con la intención de lucir sus plumas coloridas y generar sonidos constantes que atraerán a la hembra (Hogan y Stoddard, 2018, Clark, 2011). Estos patrones de cortejo pueden variar en cada especie como se ha comprobado para el clado de los colibrí abeja (Clark *et al.*, 2018). El éxito reproductivo durante el cortejo puede verse afectado cuando alguna de las señales de comunicación para el encuentro de pareja no es bien recibida por alguno de los sexos (Hochkirch *et al.*, 2007). En los colibríes la transmisión de las señales auditivas y visuales dependen del macho y es la hembra la receptora de dichas señales, esta comunicación

depende a su vez de las características del ambiente, como la disponibilidad de luz, como se ha demostrado para otros colibríes que aprovechan la luz del sol para exhibir el cambio de coloración de sus plumas (Simpson y McGraw, 2018, Simpson, 2018). También se ha señalado en otras especies de aves (ejemplo *Cyanistes caeruleus*) que las frecuencias vocales pueden verse afectadas por la densidad de la vegetación disponible en el hábitat o por el tamaño del individuo, en donde una mayor vegetación podría incitar al ave a producir frecuencias de canto más altas para que el sonido no se pierda, o bien, los individuos más pequeños pueden producir cantos con frecuencias más altas en comparación con individuos de mayor tamaño (Doutrelant *et al.*, 1998, Kroodsma *et al.*, 2012). En el sur de la PBC, los individuos del grupo C con mayor proporción de mezcla (localidades San Javier, La Soledad, Sierra La Laguna y Santiago) se recolectaron en un hábitat que cuenta con más vegetación a comparación de los hábitat del norte y centro de la PBC, en especial Sierra La Laguna que cuenta con bosques de encino y encino-pino en las zonas más altas, y un clima templado; vegetación riparia, palmares, escasos álamos, y mezquitales en las zonas bajas (Ortega-Rubio *et al.*, 2015), además de flora endémica a la que se ha visto a *H. xantusii* altamente asociado, como el madroño (*Arbutus peninsularis*) (Arriaga *et al.*, 1990) y *Lepechinia hastata* (León de la Luz com. pers.). Estas condiciones ambientales en el sur de la PBC podrían ser responsables de que la percepción de las señales durante el cortejo por las hembras se vea interferida, permitiendo a los machos reproducirse con hembras del grupo genético contrario. Aunque especulativa, esta idea podría ser corroborada dada la evidencia presente en SJM en donde los individuos de diferentes poblaciones no se están reproduciendo a pesar de estar en simpatria.

Discordancia mito-nuclear

Los resultados obtenidos en este trabajo difieren del trabajo de González-Rubio *et al.* (2016a) con ADNmt, en donde reportan la existencia de tres poblaciones claramente separadas en norte, centro y sur. No obstante, es preciso aclarar que los objetivos y métodos planteados en el estudio de González-Rubio *et al.* (2016a), están encaminados para explicar patrones filogeográficos bajo hipótesis históricas, tanto geológicas como climáticas. La estructura genética poblacional encontrada en este trabajo se obtuvo con marcadores con

tasas de mutación más elevada, y reconocidos por su capacidad de determinar los efectos de los procesos ecológicos recientes en la estructuración genética de las poblaciones (Cornejo *et al.*, 2014). Además, aunque se usaron los mismos datos del ADN mitocondrial, estos fueron analizados bajo una perspectiva de la genética poblacional.

Las características intrínsecas de cada marcador genético pueden generar señales diferentes sobre la estructura genética en una misma especie, como ya se comentó en antecedentes este fenómeno es conocido como discordancia mito-nuclear (Toews y Brelsford, 2012). Esta discordancia se podría explicar por el modo de herencia de cada marcador, o a la forma en que se transmite cuando dos poblaciones o especies estrechamente emparentadas que viven en alopatria y se ponen en contacto secundario, generan una introgresión nuclear y mitocondrial diferencial (Toews y Brelsford, 2012); es decir, el movimiento de los genes de una población a otra a causa de la hibridación seguida de un retrocruzamiento. Un caso especial de discordancia mito-nuclear es debido a la selección actuando directamente sobre el ADNmt (Pavlova *et al.*, 2013). Las asimetrías sesgadas al sexo también pueden dar respuesta a la discordancia mito-nuclear (Harrison *et al.*, 2014, Pavlova *et al.*, 2013). Currat *et al.* (2008) y Petit y Excoffier (2009) sugieren que el flujo de genes de ADNmt en sistemas con dispersión sesgada por el macho será mayor en comparación con aquellos sistemas con dispersión sesgada por la hembra, debido a que el marcador dominante estacionario tendrá más posibilidades de presentar la introgresión. Por ejemplo, la dispersión sesgada por las hembras o las disparidades en el rango de tamaño o abundancia entre los grupos de hibridación pueden promover la dispersión de ADNmt en ausencia de un movimiento concordante de ADNn (Funk y Omland, 2003). En este estudio, la hipótesis de la dispersión sesgada al sexo podría explicar los resultados observados, los análisis de STRUCTURE para las hembras usando microsatélites no mostraron una estructura genética, mientras que los machos determinan la estructura de la especie (datos de machos y hembras), por lo que se interpreta que las hembras presentan una mayor dispersión, conduciendo a generar homogeneidad genética. Además, los análisis con el ADNmt no apoyan la separación de los grupos obtenidos con loci microsatélites.

Incertidumbres e hipótesis para el trabajo futuro

Pese a que el uso de loci microsatélites presenta desventajas al no tener claro el mecanismo mutacional subyacente del polimorfismo de cada locus, y la homoplasia es un fenómeno que podría subestimar las estimaciones de estructura genética (Selkoe y Toonen, 2006), el uso de estos marcadores ha sido amplio y se ha comprobado su efectividad mediante simulaciones (Haasl y Payseur, 2011). Así mismo, los resultados generados bajo estos análisis permitieron reflexionar sobre una hipótesis no antes vislumbrada para explicar la estructura poblacional de este colibrí endémico de Baja California, la cual invocó mecanismos de selección sexual.

De acuerdo con esta hipótesis, los individuos de SJM de cada población mantienen sus patrones de cortejo sexual específicos, evitando cruza entre poblaciones puras, pero en las localidades de SAN, SL, SOL y SJA, esos patrones de cortejo se verían afectados por alguna variable ambiental como la disponibilidad de luz o densidad de la vegetación, que afectan los canales de comunicación visual y auditivo durante el cortejo permitiendo cruza entre poblaciones. Se requieren estudios bioacústicos, conductuales y genéticos para observar el patrón de cortejo de *H. xantusii* además de determinar los factores ambientales y biológicos que puedan influir en la selección de pareja con relación a los grupos genéticos encontrados. Por otro lado, es necesario realizar análisis de migración (marcaje y recaptura) para conocer la dirección e intensidad del flujo genético entre los grupos observados. También se sugiere realizar simulaciones en los que se pueden modificar datos poblacionales como el tamaño efectivo poblacional, la tasa de mutación, el modelo mutacional y tasas de migración de la población o por sexos para observar cómo los datos empíricos se ajustan a los datos simulados.

A partir de este trabajo se da lugar a nuevas preguntas de investigación relacionadas a factores ecológicos y comportamentales de la especie, que en conjunto con los datos genéticos pueden ayudar a entender las posibles causas de la estructuración genética actual. Los esfuerzos por conocer los efectos de distintos factores bióticos y abióticos en la

estructuración genética de las poblaciones en la península permitirán entender el estado de conservación y/o potencial evolutivo de la especie.

9. CONCLUSIONES

Con el presente estudio se determina la estructura genética poblacional actual de *Hylocharis xantusii*. Las principales conclusiones son:

1. La estructura genética poblacional de *Hylocharis xantusii* consiste en dos poblaciones discontinuas en su distribución, y un grupo de individuos mezclados en San Javier, La Soledad, Sierra de La Laguna y Santiago.
2. La estructura genética encontrada no presenta influencia familiar, y está determinada por los machos. Se sugiere una dispersión sesgada a las hembras y se presume que los patrones de cortejo, la territorialidad y la heterogeneidad ambiental afectan la selección sexual que a su vez impacta la estructura genética poblacional.
3. La discordancia mito-nuclear se explica por la dispersión sesgada a las hembras.

10. LITERATURA CITADA

- Ackerman, M. W., B. K. Hand, R. K. Waples, G. Luikart, R. S. Waples, C. A. Steele, B. A. Garner, J. McCane, M. R. Campbell. 2017. Effective number of breeders from sibship reconstruction: empirical evaluations using hatchery steelhead. *Evol. Appl.* 10(2): 146-160.
- Arizmendi, M. d. C., H. A. Berlanga 2014. Colibríes de México y Norteamérica. Hummingbirds of Mexico and North America. CONABIO. México. 160 p.
- Arriaga, L., R. Rodriguez-Estrella, A. Ortega-Rubio. 1990. Endemic hummingbirds and madrones of Baja: are they mutually dependent? *Southwest. Nat.* 35(1): 76-79.
- Ballard, J. W. O., D. M. Rand. 2005. The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 621-642.
- Berg, E. C., J. Eadie, T. A. Langen, A. F. Russell. 2009. Reverse sex-biased philopatry in a cooperative bird: genetic consequences and a social cause. *Mol. Ecol.* 18(16): 3486-3499.
- Carlsson, J. 2008. Effects of microsatellite null alleles on assignment testing. *J. Hered.* 99(6): 616-623.
- Clark, C. J. 2011. Wing, tail, and vocal contributions to the complex acoustic signals of courting Calliope hummingbirds. *Curr. Zool.* 57(2): 187-196.
- Clark, C. J., J. A. McGuire, E. Bonaccorso, J. S. Berv, R. O. Prum. 2018. Complex coevolution of wing, tail, and vocal sounds of courting male bee hummingbirds. *Evolution.* 72(3): 630-646.
- Clarke, A. L., B. E. Saether, E. Roskaft. 1997. Sex biases in avian dispersal: A reappraisal. *Oikos.* 79(3): 429-438.
- Cornejo, R., D. Serrato, A. Rendón, M. Rocha 2014. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. México, CDMX. 256 p.
- Currat, M., M. Ruedi, R. J. Petit, L. Excoffier. 2008. The hidden side of invasions: massive introgression by local genes. *Evolution.* 62(8): 1908-1920.
- Chapuis, M.-P., A. Estoup. 2006. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 24(3): 621-631.

- Cheviron, Z. A., R. T. Brumfield. 2009. Migration-selection balance and local adaptation of mitochondrial haplotypes in rufous-collared sparrows (*Zonotrichia capensis*) along an elevational gradient. *Evolution*. 63(6): 1593-1605.
- Dakin, E., J. Avise. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. 93(5): 504.
- Dolby, G. A., S. E. K. Bennett, A. Lira-Noriega, B. T. Wilder, A. Munguia-Vega. 2015. Assessing the Geological and Climatic Forcing of Biodiversity and Evolution Surrounding the Gulf of California. *J Southwest*. 57(2-3): 391-455.
- Doutrelant, C., T. Aubin, S. Hitier, M. M. Lambrechts. 1998. Two distinct song populations of blue tit *Parus caeruleus* in the French Mediterranean. *Bioacoustics*. 9(1): 1-16.
- Drouhet, E., L. Mercier-Soucy, S. Montplaisir. 1975. Sensitivity and resistance of pathogenic yeasts to 5-fluoropyrimidines. I. Relation between the phenotypes of resistance to 5-fluorocytosine, the serotype of *Candida albicans* and the ecology of various species of *Candida* of human origin (author's transl). *Ann. microbiol.* 126B(1): 25-39.
- Earl, D. A. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Gente. Resour.* 4(2): 359-361.
- Edwards, S. V., S. B. Kingan, J. D. Calkins, C. N. Balakrishnan, W. B. Jennings, W. J. Swanson, M. D. Sorenson. 2005. Speciation in birds: genes, geography, and sexual selection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102(1): 6550-6557.
- Evanno, G., S. Regnaut, J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14(8): 2611-2620.
- Excoffier, L., H. E. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10(3): 564-567.
- Falush, D., M. Stephens, J. K. Pritchard. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*. 164(4): 1567-1587.

- Frankham, R., J. D. Ballou, D. A. Briscoe 2010. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. Reino Unido. 618 p.
- Freeland, J. R. 2005. Molecular Ecology. John Wiley and Sons, Inc. Reino Unido. 400 p.
- Funk, D. J., K. E. Omland. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34(1): 397-423.
- Futuyma, D. J. 1986. Evolutionary biology. Sinauer Associates. Estados Unidos, MI. 600 p.
- González-Abraham, C. E., P. P. Garcillán, E. Ezcurra. 2010. Ecorregiones de la península de Baja California: una síntesis. *B. Soc. Bot. Mex.* (87): 69-82.
- González-Rubio, C., F. J. García-De León, R. Rodríguez-Estrella. 2016a. Phylogeography of endemic Xantus' hummingbird (*Hylocharis xantusii*) shows a different history of vicariance in the Baja California Peninsula. *Mol. Phylogenet. Evol.* 102265-277.
- González-Rubio, C., F. J. García-de León, R. Rodríguez-Estrella. 2017. Morphological dimorphism varies across the endemic Xantus' hummingbird (*Hylocharis xantusii*) genetic populations in the Baja California Peninsula. *Acta Zool. Mex.* 33(3): 431-442.
- González-Rubio, C., R. Rodríguez-Estrella, O. A. Lozano-Garza, F. J. García-De-León. 2016b. Genetic Diversity of the Endemic Xantus' Hummingbird Using 16 Novel Polymorphic Microsatellite Loci, and Their Cross Amplification between Six Related Species. 6(01): 19-27.
- González-Trujillo, R., M. M. Correa-Ramírez, E. Ruiz-Sanchez, E. M. Salinas, M. L. Jiménez, F. J. García-De León. 2016. Pleistocene refugia and their effects on the phylogeography and genetic structure of the wolf spider *Pardosa sierra* (Araneae: Lycosidae) on the Baja California Peninsula. *J Arachnol.* 44(3): 367-380.
- Goudet, J., N. Perrin, P. Waser. 2002. Tests for sex-biased dispersal using bi-parentally inherited genetic markers. *Mol. Ecol.* 11(6): 1103-1114.
- Greenwood, P. J. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Anim. Behav.* 28(4): 1140-1162.

- Grismer, L. L. 2000. Evolutionary biogeography on Mexico's Baja California peninsula: A synthesis of molecules and historical geology. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97(26): 14017-14018.
- Guillot, G., A. Estoup, F. Mortier, J. F. Cosson. 2005. A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics.* 170(3): 1261-1280.
- Gutiérrez-Flores, C., F. J. García-De León, J. H. Cota-Sánchez. 2016. Microsatellite genetic diversity and mating systems in the columnar cactus *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Perspect. Plant Ecol. Syst.* . 221-10.
- Haasl, R. J., B. A. Payseur. 2011. Multi-locus inference of population structure: a comparison between single nucleotide polymorphisms and microsatellites. *Heredity.* 106(1): 158-171.
- Hamilton, M. 2011. *Population Genetics.* Wiley-Blackwell. Reyno Unido. 424 p.
- Harrison, X. A., J. E. York, A. J. Young. 2014. Population genetic structure and direct observations reveal sex-reversed patterns of dispersal in a cooperative bird. *Mol. Ecol.* 23(23): 5740-5755.
- Hemández-Baños, B. E., L. E. Zamudio-Beltrán, L. E. Eguiarte-Frums, J. Klicka, J. García-Moreno. 2014. The *Basilinna* genus (Aves: Trochilidae): an evaluation based on molecular evidence and implications for the genus *Hylocharis*. *Rev. Mex. Biodivers.* 85(3): 797-807.
- Hochkirch, A., J. Gröning, A. Bücken. 2007. Sympatry with the devil: reproductive interference could hamper species coexistence. *76(4):* 633-642.
- Hogan, B. G., M. C. Stoddard. 2018. Synchronization of speed, sound and iridescent color in a hummingbird aerial courtship dive. *Nat. Commun.* 9(5260): 1-8.
- Howell, C. A., S. N. Howell. 2000. Xantus's Hummingbird (*Hylocharis xantusii*), version 2.0 [Online]. Ithaca, NY, USA: Cornell Lab of Ornithology. Available: <https://doi.org/10.2173/bna.554>.
- INEGI, I. N. d. E. y. G. 2018. Anuario de estadísticas por entidad federativa. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. 639 p.
- Irwin, D. E., S. Bensch, J. H. Irwin, T. D. Price. 2005. Speciation by distance in a ring species. *Science.* 307(5708): 414-416.

- Jacquard, A., B. Charlesworth, D. Charlesworth 2012. *The Genetic Structure of Populations*. Springer Berlin Heidelberg. Estados Unidos, N.Y. 572 p.
- Jakobsson, M., N. A. Rosenberg. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*. 23(14): 1801-1806.
- Jones, O. R., J. Wang. 2010. COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Mol. Ecol. Resour.* 10(3): 551-555.
- Kroodsma, D. E., E. H. Miller, H. Ouellet 2012. *Acoustic Communication in Birds: Production, Perception and Design Features of Sounds*. Elsevier Science. E.U.A. 360 p.
- Kumar, S., G. Stecher, K. Tamura. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33(7): 1870-1874.
- Li, M. H., J. Merila. 2010. Extensive linkage disequilibrium in a wild bird population. *Heredity*. 104(6): 600-610.
- Li, Y. C., A. B. Korol, T. Fahima, A. Beiles, E. Nevo. 2002. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Mol. Ecol.* 11(12): 2453-2465.
- Librado, P., J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25(11): 1451-1452.
- Lindell, J., A. Ngo, R. W. Murphy. 2006. Deep genealogies and the mid-peninsular seaway of Baja California. *J. Biogeogr.* 33(8): 1327-1331.
- Lowe, W. H., F. W. Allendorf. 2010. What can genetics tell us about population connectivity? *Mol. Ecol.* 19(15): 3038-3051.
- Luo, S., C. A. Valencia, J. Zhang, N.-C. Lee, J. Slone, B. Gui, X. Wang, Z. Li, S. Dell, J. Brown. 2018. Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115(51): 13039-13044.
- McGuire, J. A., C. C. Witt, D. L. Altshuler, J. Remsen. 2007. Phylogenetic systematics and biogeography of hummingbirds: Bayesian and maximum likelihood analyses of partitioned data and selection of an appropriate partitioning strategy. *Syst. Biol.* 56(5): 837-856.

- Munguia-Vega, A. 2011. Habitat fragmentation in small vertebrates from the Sonoran Desert in Baja California. Doctor of Philosophy. Estados Unidos, AZ. The University of Arizona. 316 p.
- Nosil, P., S. P. Egan, D. J. Funk. 2008. Heterogeneous genomic differentiation between walking-stick ecotypes: "isolation by adaptation" and multiple roles for divergent selection. *Evolution*. 62(2): 316-336.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, D. McGlinn, P. R. Minchin, R. B. O'Hara, G. L. Simpson, P. Solymos, M. H. H. Stevens, E. Szoecs, H. Wagner. 2019. *vegan: Community Ecology Package*. [Online]. Available: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Ortega-Rubio, A. O., P. Galina-Tessaro, G. A. Arnaud-Franco, A. M. Breceda-Solís, P. C. Cortés-Calva, S. C. Díaz-Castro, A. Castellanos-Vera, J. L. León de La Luz, M. D. C. Blazquez-Moreno. 2015. Investigación científica del CIBNOR en Áreas Naturales Protegidas del noroeste de México: pasado, presente y futuro. 1(6): 63-81.
- Parsons, T. J., D. S. Muniec, K. Sullivan, N. Woodyatt, R. Alliston-Greiner, M. R. Wilson, D. L. Berry, K. A. Holland, V. W. Weedn, P. Gill. 1997. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. *Nat. Genet.* 15(4): 363.
- Pavlova, A., J. N. Amos, L. Joseph, K. Loynes, J. J. Austin, J. S. Keogh, G. N. Stone, J. A. Nicholls, P. Sunnucks. 2013. Perched at the mito-nuclear crossroads: divergent mitochondrial lineages correlate with environment in the face of ongoing nuclear gene flow in an Australian bird. *Evolution*. 67(12): 3412-3428.
- Petit, R. J., L. Excoffier. 2009. Gene flow and species delimitation. *Trends Ecol. Evol.* 24(7): 386-393.
- Pitelka, F. A. 1942. Territoriality and related problems in North American hummingbirds. *Condor*. 44(5): 189-204.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155(2): 945-959.

- Provan, J., K. Bennett. 2008. Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends Ecol. Evol.* 23(10): 564-571.
- Prugnolle, F., T. de Meeus. 2002. Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools: a review. *Heredity.* 88(3): 161-165.
- Punzalan, D., D. J. Hosken. 2010. Sexual dimorphism: why the sexes are (and are not) different. *20(22):* R972-R973.
- R Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing [Online]. Vienna, Austria. Available: <https://www.R-project.org/>.
- Rentaría-Alcántara, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. *In: Eguiarte, L. E., V. Souza, X. Aguirre (eds.) Ecología molecular. SEMARNAT-CONABIO. México.* 541-562.
- Reynolds, J., B. S. Weir, C. C. Cockerham. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics.* 105(3): 767-779.
- Ribeiro, Â. M., P. Lloyd, R. C. K. Bowie. 2011. A tight balance between natural selection and gene flow in a southern african arid-zone endemic bird. *Evolution.* 65(12): 3499-3514.
- Riddle, B. R., D. J. Hafner, L. F. Alexander. 2000a. Phylogeography and systematics of the *Peromyscus eremicus* species group and the historical biogeography of North American warm regional deserts. *Mol. Phylogenet. Evol.* 17(2): 145-160.
- Riddle, B. R., D. J. Hafner, L. F. Alexander, J. R. Jaeger. 2000b. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert biota. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97(26): 14438-14443.
- Rocha-Olivares, A., M. González-Jaramillo. 2014. Population genetic structure of Mexican Magnificent Frigatebirds: an integrative analysis of the influence of reproductive behavior and sex-biased dispersal. *Rev. Mex. Biodivers.* 85(2): 532-545.
- Rodríguez-Estrella, R. Terrestrial birds and conservation priorities in Baja California Peninsula. *In: Ralph, C. John; Rich, Terrell D., editors 2005. Bird Conservation Implementation and Integration in the Americas: Proceedings of the Third International Partners in Flight Conference. 2002 March 20-24; Asilomar,*

- California, Volume 1 Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-191. Albany, CA: US Dept. of Agriculture, Forest Service, Pacific Southwest Research Station: p. 115-120, 2005.
- Rousset, F. 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resour.* 8(1): 103-106.
- Ruiz-Campos, G., A. Andreu-Soler, M. V.-A. Gutiérrez, J. Delgadillo-Rodríguez, M. Suárez-Alonso, C. González-Abraham, V. Luja 2014. Catálogo de humedales dulceacuícolas de Baja California Sur. *Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, Semarnat, México, DF.* México: INECC-SEMARNAT.
- Schlötterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma.* 109(6): 365-371.
- Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? *Nat. Rev. Genet.* 5: 63-64.
- Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? *Nat. Rev. Genet.* 5: 563.
- Schluter, D. 2001. Ecology and the origin of species. *Trends in ecology & evolution.* 16(7): 372-380.
- Selkoe, K. A., R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol. Lett.* 9(5): 615-629.
- Simpson, R. K. 2018. The evolution of hummingbird coloration and courtship displays. Doctor of Philosophy. E.U.A., Arizona. Arizona State University. 117 p.
- Simpson, R. K., K. J. McGraw. 2018. It's not just what you have, but how you use it: solar-positional and behavioural effects on hummingbird colour appearance during courtship. *Ecol. Lett.* 21(9): 1413-1422.
- Spottiswoode, C. N., K. F. Stryjewski, S. Quader, J. F. Colebrook-Robjent, M. D. Sorenson. 2011. Ancient host specificity within a single species of brood parasitic bird. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108(43): 17738-17742.
- Templeton, A. R. 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Mol. Ecol.* 10(3): 779-791.
- Templeton, A. R. 2006. Population genetics and microevolutionary theory. John Wiley & Sons. Estados Unidos, NJ. 720 p.
- Toews, D. P. L., A. Brelsford. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Mol. Ecol.* 21(16): 3907-3930.

- Vähä, J. P., J. Erkinaro, E. Niemelä, C. R. Primmer. 2007. Life-history and habitat features influence the within-river genetic structure of Atlantic salmon. *Mol. Ecol.* 16(13): 2638-2654.
- Valdivia-Carrillo, T., F. J. García-De León, M. C. Blázquez, C. Gutiérrez-Flores, P. González Zamorano. 2017. Phylogeography and ecological niche modeling of the desert Iguana (*Dipsosaurus dorsalis*, Baird & Girard 1852) in the Baja California peninsula. 108(6): 640-649.
- van Dijk, R. E., R. Covas, C. Doutrelant, C. N. Spottiswoode, B. J. Hatchwell. 2015. Fine-scale genetic structure reflects sex-specific dispersal strategies in a population of sociable weavers (*Philetairus socius*). *Mol. Ecol.* 24(16): 4296-4311.
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D. P. Wills, P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes.* 4(3): 535-538.
- Walker, S. F. 1998. Animal Communication. *In: Mey, J. (ed.) Concise Encyclopedia of Pragmatics.* Elsevier. Amsterdam. pp. 26-35.
- Wang, J., A. W. Santure. 2009. Parentage and sibship inference from multilocus genotype data under polygamy. *Genetics.* 181(4): 1579-1594.
- Warnock, W. G., J. B. Rasmussen, E. B. Taylor. 2010. Genetic clustering methods reveal bull trout (*Salvelinus confluentus*) fine-scale population structure as a spatially nested hierarchy. *Conserv. Genet.* 11(4): 1421-1433.
- West, K. 2009. *Animal Courtship.* Facts On File, Incorporated. New York, N.Y. 121 p.
- Wilbur, S. R. 1987. *Birds of Baja California.* University of California Press. Los Angeles, California. 253 p.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics.* 28(2): 114.
- Zane, L., L. Bargelloni, T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Mol. Ecol.* 11(1): 1-16.

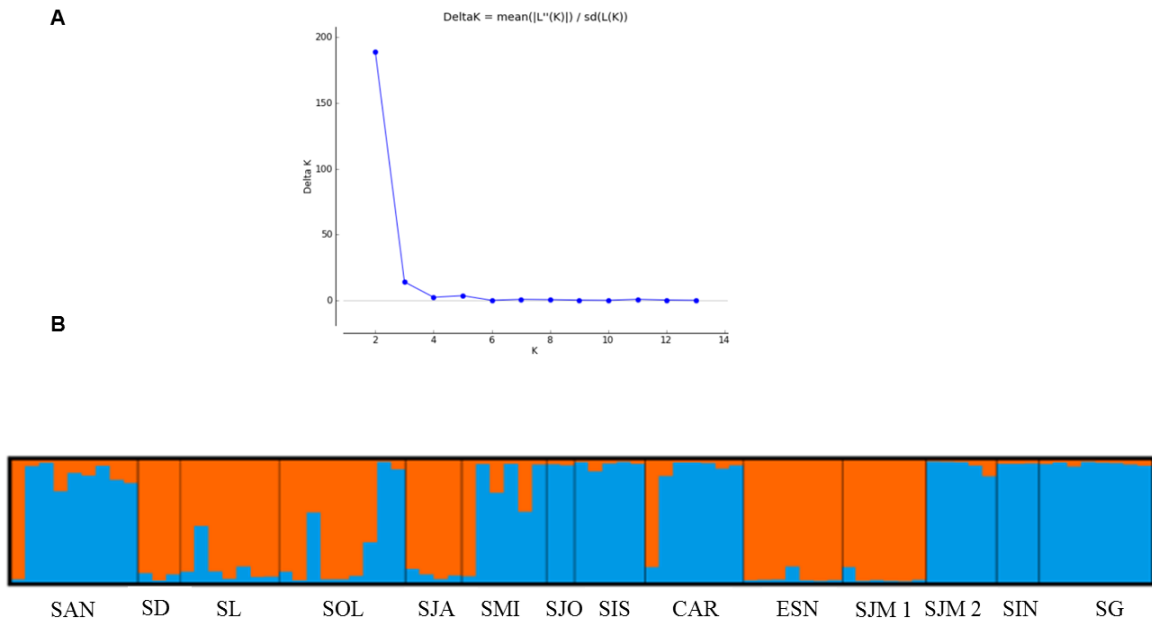
11. ANEXOS

Anexo 1. Coeficientes de ancestría (q) de cada individuo en las localidades estudiadas y proporción híbrida o promedio de proporción híbrida de individuos con más alta mezcla genética (valores sombreados) de *Hylocharis xantusii*. Ver acrónimos en Tabla I.

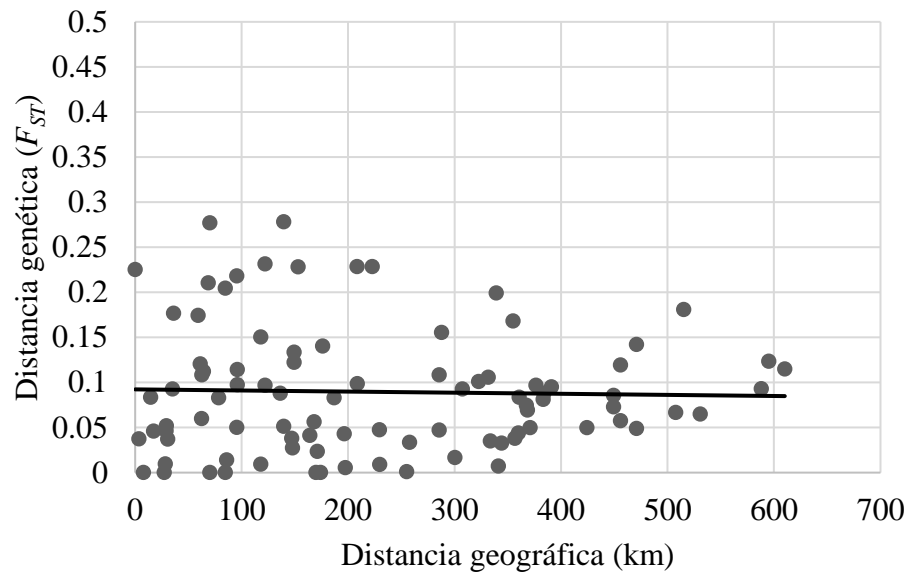
Localidad	ID	(q) Población A (azules)	(q) Población B (naranjas)	Promedio de proporción de mezcla (proporción híbrida)	
				Grupo Azul	Grupo Naranja
SAN	SAN01	0.07	0.93	0.58	0.42
SAN	SAN15	0.029	0.971		
SAN	SAN34	0.969	0.031		
SAN	SAN36	0.985	0.015		
SAN	SAN38	0.819	0.181		
SAN	SAN39	0.907	0.093		
SAN	SAN40	0.577	0.423		
SAN	SAN41	0.81	0.19		
SAN	SAN42	0.973	0.027		
SAN	SAN43	0.906	0.094		
SAN	SAN44	0.859	0.141		
SD	SD126	0.157	0.843		
SD	SD127	0.011	0.989		
SD	SD128	0.057	0.943		
SL	SL02	0.055	0.945	0.44	0.56
SL	SL03	0.419	0.581		
SL	SL04	0.016	0.984		
SL	SL05	0.061	0.939		
SL	SL07	0.033	0.967		
SL	SL08	0.465	0.535		
SL	SL09	0.073	0.927		
SL	SL132	0.041	0.959		
SL	SL133	0.034	0.966		
SL	SL134	0.198	0.802		
SOL	SOL135	0.103	0.897	0.46	0.54
SOL	SOL136	0.024	0.976		
SOL	SOL137	0.708	0.292		
SOL	SOL138	0.027	0.973		
SOL	SOL139	0.024	0.976		
SOL	SOL140	0.045	0.955		

SOL	SOL141	0.32	0.68		
SOL	SOL143	0.101	0.899		
SOL	SOL144	0.339	0.661		
SOL	SOL145	0.986	0.014		
SOL	SOL146	0.111	0.889		
SOL	SOL147	0.94	0.06		
SOL	SOL148	0.991	0.009		
SJA	SJA124	0.214	0.786	0.21	0.79
SJA	SJA125	0.114	0.886		
SJA	SJA129	0.019	0.981		
SJA	SJA130	0.016	0.984		
SJA	SJA131	0.087	0.913		
SMI	SMI64	0.986	0.014		
SMI	SMI65	0.924	0.076		
SMI	SMI66	0.981	0.019		
SMI	SMI69	0.989	0.011		
SMI	SMI70	0.982	0.018		
SMI	SMI71	0.977	0.023		
SJO	SJO72	0.981	0.019		
SJO	SJO73	0.972	0.028		
SIS	ESN12	0.974	0.026		
SIS	SIS28	0.863	0.137		
SIS	SIS29	0.978	0.022		
SIS	SIS30	0.771	0.229		
SIS	SIS31	0.983	0.017		
SIS	SIS32	0.976	0.024		
SIS	SIS33	0.097	0.903		
CAR	CAR50	0.901	0.099		
CAR	CAR52	0.983	0.017		
CAR	CAR53	0.983	0.017		
CAR	CAR55	0.98	0.02		
CAR	CAR57	0.96	0.04		
CAR	CAR59	0.988	0.012		
CAR	CAR62	0.983	0.017		
CAR	CAR63	0.01	0.99		
ESN	ESN116	0.017	0.983		
ESN	ESN117	0.013	0.987		

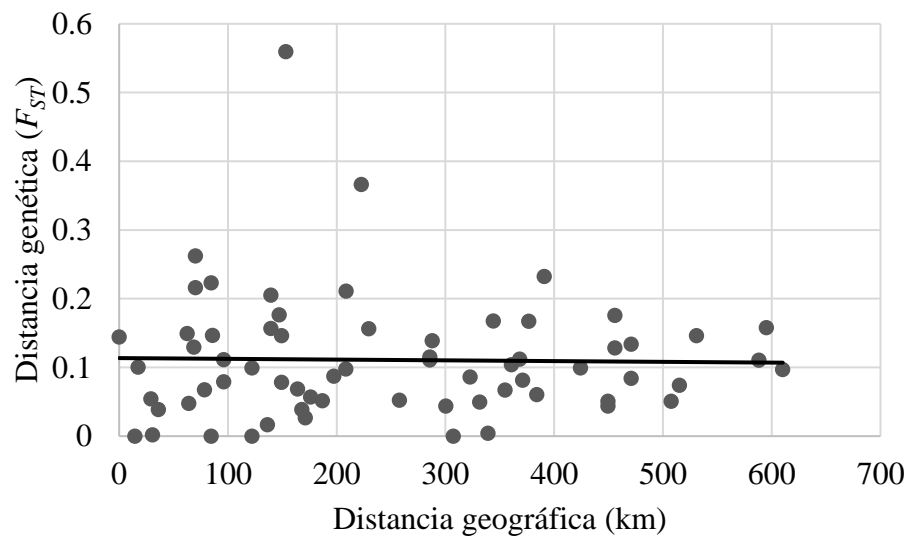
ESN	ESN118	0.019	0.981
ESN	ESN119	0.033	0.967
ESN	ESN120	0.126	0.874
ESN	ESN121	0.013	0.987
ESN	ESN122	0.011	0.989
ESN	ESN123	0.015	0.985
SJM1	SJMA101	0.103	0.897
SJM1	SJMA102	0.01	0.99
SJM1	SJMA103	0.012	0.988
SJM1	SJMA104	0.012	0.988
SJM1	SJMA105	0.009	0.991
SJM1	SJMA107	0.008	0.992
SJM1	SJMA108	0.019	0.981
SJM1	SJMA112	0.008	0.992
SJM1	SJMA115	0.011	0.989
SJM2	SJMB93	0.992	0.008
SJM2	SJMB95	0.99	0.01
SJM2	SJMB96	0.989	0.011
SJM2	SJMB97	0.986	0.014
SJM2	SJMB98	0.967	0.033
SJM2	SJMB99	0.969	0.031
SIN	SIN79	0.978	0.022
SIN	SIN81	0.98	0.02
SIN	SIN82	0.969	0.031
SG	SG149	0.971	0.029
SG	SG150	0.983	0.017
SG	SG151	0.946	0.054
SG	SG152	0.99	0.01
SG	SG153	0.985	0.015
SG	SG154	0.99	0.01
SG	SG155	0.982	0.018
SG	SG156	0.974	0.026
SG	SG157	0.966	0.034



Anexo 2. Gráfico de STRUCTURE generado a partir de 81 muestras genotipificadas con 16 loci microsatélites de *Hylocharis xantusii* sin individuos emparentados. **A)** Número de grupos genéticos homogéneos encontrados como más probables $K=2$, calculado a partir de la ΔK ($\Delta K=188.78$). **B)** Gráfico de barras de los coeficientes de ancestría de cada individuo muestreado. Cada barra vertical representa un individuo con su coeficiente de ancestría de pertenecer a la población A (azul) o B (naranja). Ver acrónimos en Tabla I.



Anexo 3. Análisis de aislamiento por distancia sin una correlación significativa ($r = 0.0008$, $P = 0.56$) entre las distancias geográficas y distancias genéticas de 65 individuos machos de *Hylocharis xantusii*.



Anexo 4. Análisis de aislamiento por distancia sin una correlación significativa ($r = 0.0004$, $P = 0.537$) entre las distancias geográficas y distancias genéticas de 33 individuos hembra de *Hylocharis xantusii*.