



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
SISTEMÁTICA

REEVALUACIÓN DE LOS LÍMITES DE ESPECIES EN EL ESCINCO *PLESTIODON*
***BREVIROSTRIS* CON BASE EN DATOS MULTI-LOCUS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CARLOS JOAQUÍN PAVÓN VÁZQUEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADRIÁN NIETO MONTES DE OCA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM
DR. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
SISTEMÁTICA

REEVALUACIÓN DE LOS LÍMITES DE ESPECIES EN EL ESCINCO *PLESTIODON*
***BREVIROSTRIS* CON BASE EN DATOS MULTI-LOCUS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CARLOS JOAQUÍN PAVÓN VÁZQUEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADRIÁN NIETO MONTES DE OCA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM
DR. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE, 2015



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/679/15

ASUNTO: Oficio de Jurado

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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **24 de agosto de 2015** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Sistemática** del (la) alumno (a) **PAVÓN VÁZQUEZ CARLOS JOAQUÍN** con número de cuenta **306727283** con la tesis titulada **"Reevaluación de los límites de especies en el escinco *Plestiodon brevirostris* con base en datos multi-locus"**, realizada bajo la dirección del (la) **DR. ADRIÁN NIETO MONTES DE OCA:**

Presidente: DR. MANUEL FERIA ORTIZ
Vocal: DRA. ROSARIO MATA LÓPEZ
Secretario: DR. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ
Suplente: DR. ALEJANDRO FRANCISCO OCEGUERA FIGUEROA
Suplente: DR. OSCAR ALBERTO FLORES VILLELA

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 14 de octubre de 2015

Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



MCAA/MJFM/ASR/mnm

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por mi formación académica.

Agradezco al CONACyT (no. de becario 292539) por el apoyo económico brindado durante la realización de este trabajo. El proyecto fue en parte financiado por un apoyo brindado al Dr. Adrián Nieto Montes de Oca por parte del CONACyT (no. de proyecto 154093).

Agradezco a mi Tutor Principal, Adrián Nieto Montes de Oca, y a mi Comité Tutor, integrado por Alejandro Zaldívar Riverón y Luis Medrano González, por la orientación brindada durante la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Agradezco a los miembros del jurado de mi examen de grado, Manuel Feria Ortiz, Oscar Flores Villela, Rosario Mata López, Luis Medrano González y Alejandro Ocegüera Figueroa, por su revisión de este trabajo, la cual lo mejoró sustancialmente; a Uri O. García Vázquez, Rubi N. Meza Lázaro y Marysol Trujano Ortega por criticar constructivamente este trabajo; a Uri O. García Vázquez, Eric Centenero Alcalá, José C. Arenas Monroy, Marysol Trujano Ortega, Arturo Arellano Covarrubias y Nicté Castresana Villanueva por el apoyo brindado en campo; a Eric Centenero Alcalá, Manuel Feria Ortiz, Itzue W. Caviedes Solís y Víctor H. Jiménez Arcos por el préstamo de tejidos y ejemplares; a Eric Centenero Alcalá, Uri O. García Vázquez e Israel Solano Zavaleta por permitirme usar sus fotografías; a Edmundo Pérez Ramos, Víctor H. Reynoso Rosales, Adriana J. X. González Hernández y Armando A. Borgonio Valencia por las facilidades prestadas para la revisión de ejemplares; y a Patrick Campbell y Jeffrey W. Streicker por el envío de fotografías del holotipo de *Plestiodon brevirostris*.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Agradezco especialmente a mi tutor el Profe Adrián por el apoyo incondicional que me ha brindado durante ya tantos años. Sin su orientación mi vida sería muy diferente y nada de esto posible.

Agradezco a todo el personal de la ECA, que me formó desde que era un niño y con quienes conviví por 11 años. A mis profesores de licenciatura y maestría, porque de todos aprendí algo valioso. A Oscar Flores y Luis Canseco por apoyarme desinteresadamente en todo momento. A Alejandro Zaldívar, Luis Medrano, Rosario Mata, Oscar Flores, Manuel Feria y Alejandro Ocegüera por su apoyo académico y personal.

Agradezco a mis compañeros y amigos del Museo y el Laboratorio: Rubi, María Elena, Israel, Itzue, Uri, Leslie, Mundo, Luis, Juan José, Atziri, Beto, Eric, Nicté, Manuel,

José Carlos, Chayo y Marysol, porque de todos aprendí algo. Particularmente a Uri y Rubi por ayudarme de manera desinteresada en tantas ocasiones y ser buenos amigos. A Steven Poe, Levi Gray y Adam Clause por su amistad y las colaboraciones presentes y futuras.

Agradezco a mis amigos del Pato Lucas, la ECA, el Colegio México, la Facultad, el Posgrado, mis clases de sistemática y de todos lados por acompañarme en este camino y colaborar en la construcción de mis logros. Particularmente a mis amigos de la ECA por su amistad persistente y fraternal.

Agradezco a toda mi familia (primos, tíos, sobrinos, etc.), en especial a mis padrinos Elsa y Jerónimo. Agradezco infinitamente y con mucho amor a: mis papás por su infinito amor y apoyo; mi mamá Silvia por iniciarme en la biología y apoyarme cuando nadie más lo hacía; mi papá Carlos por impulsarme a siempre superarme; mi abue Yolanda por su cariñosa orientación; mi abue Mary por ser como una segunda madre y brindarme un amor incondicional; la Cucha por ser mi mejor amigo y recordarme que la vida es un juego; Mariángel por ser la puerta a mundos especialmente bellos; y a la presencia que me da equilibrio.

Finalmente, pido perdón de la manera más hipócrita y sin sentido (ya que mi labor me exige que siga haciendo esto en el futuro) a todas las pequeñas criaturitas que han sido sacrificadas para poder llevar a cabo este y otros trabajos. Es en estos casos donde no estoy seguro si el fin justifica los medios.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS	1
LISTA DE FIGURAS	1
LISTA DE CUADROS	2
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
DELIMITACIÓN DE ESPECIES	3
EL GÉNERO <i>PLESTIODON</i>	6
ANTECEDENTES	7
OBJETIVOS	10
OBJETVO GENERAL	10
OBJETIVOS PARTICULARES	10
MÉTODOS	11
TRABAJO DE CAMPO	11
EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE DNA	12
MUESTREO DE TAXONES	13
EDICIÓN DE SECUENCIAS Y CONSTRUCCIÓN DE MATRICES	24
ANÁLISIS FILOGENÉTICOS	25
DELIMITACIÓN DE ESPECIES BASADA EN SECUENCIAS DE DNA	26
Delimitación de especies mediante WP	26
Delimitación de especies mediante GMYC	27
Delimitación de especies mediante BPP	29
IDENTIFICACIÓN DE BARRERAS PARA EL FLUJO GÉNICO	30
ANÁLISIS MORFOLÓGICO	31
CONCEPTO DE ESPECIE Y CONGRUENCIA ENTRE MÉTODOS	35
RESULTADOS	37
ANÁLISIS FILOGENÉTICOS	37
Relaciones filogenéticas de <i>Plestiodon brevirostris</i>	37
Estructura al interior de <i>Plestiodon brevirostris</i>	43
DELIMITACIÓN DE ESPECIES BASADA EN SECUENCIAS DE DNA	45

Delimitación de especies mediante WP	45
Delimitación de especies mediante GMYC	47
Delimitación de especies mediante BPP	50
IDENTIFICACIÓN DE BARRERAS PARA EL FLUJO GÉNICO	54
MORFOLOGÍA	56
Comparación con <i>Plestiodon indubitus</i> y <i>P. nietoi</i>	57
Esquema 1: <i>Plestiodon brevirostris</i> A y B	58
Esquema 2: WP	59
Esquema 3: GMYC	60
ADC	64
DISCUSIÓN	67
DIFERENCIACIÓN ENTRE LOS CLADOS A Y B DE <i>PLESTIODON BREVIROSTRIS</i>	67
LÍMITES DE ESPECIES AL INTERIOR DEL CLADO A	67
GO+OX	68
IJ	70
NE	72
LÍMITES DE ESPECIES AL INTERIOR DEL CLADO B Y CON <i>PLESTIODON SP. 3</i>	74
FLUJO GÉNICO ENTRE EL CLADO A Y LINAJES CERCANAMENTE RELACIONADOS	75
FLUJO GÉNICO ENTRE CLADO B + <i>PLESTIODON SP. 3</i> Y LINAJES CERCANAMENTE RELACIONADOS	77
IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN	77
CONCLUSIONES	78
LITERATURA CITADA	80
APÉNDICE I	97
EJEMPLARES EXAMINADOS	97
APÉNDICE II	100
CARACTERES EXAMINADOS	100
APÉNDICE III	105
FOTOGRAFÍAS DE <i>PLESTIODON BREVIROSTRIS (SENSU LATO)</i>	105
APÉNDICE IV	112

DIVERSIDAD DE TIPOS DE VEGETACIÓN OCUPADOS POR *PLESTIODON*
BREVIROSTRIS (SENSU LATO)..... 112

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de los tres subclados mitocondriales de <i>Plestiodon brevirostris</i> encontrados por Feria-Ortiz et al. (2011).	10
Figura 2. Localidades de colecta de las ejemplares de <i>Plestiodon brevirostris</i> examinados y/o de los cuales se obtuvo tejido.	11
Figura 3. Región mitocondrial secuenciada (esquina superior derecha) y su posición en el genoma mitocondrial.	13
Figura 4. Nomenclatura de la escutelación de la cabeza en <i>Plestiodon</i> (modificada de Taylor, 1935).	33
Figura 5. Nomenclatura de los caracteres de coloración en <i>Plestiodon</i> utilizada en este trabajo.	34
Figura 6. Árbol de MCC obtenido mediante el análisis del mtDNA.	38
Figura 7. Árbol de MCC obtenido mediante el análisis del gen <i>MKLI</i>	40
Figura 8. Árbol de MCC obtenido mediante el análisis del gen <i>R35</i>	41
Figura 9. Cladograma mostrando el árbol de especies de MCC obtenido mediante el análisis del mtDNA y los genes nucleares <i>MKLI</i> y <i>R35</i> asumiendo un modelo coalescente multi-especies como es implementado en *BEAST.	42
Figura 10. Hipótesis de límites de especies mediante WP.	46
Figura 11. Distribución geográfica de las especies propuestas mediante WP.	47
Figura 12. Delimitación de especies mediante GMYC para <i>Plestiodon brevirostris</i> y especies cercanamente relacionadas.	49
Figura 13. Distribución geográfica de las especies propuestas mediante GMYC.	50
Figura 14. Delimitación de especies mediante BPP para <i>Plestiodon brevirostris</i> y especies cercanamente relacionadas.	53
Figura 15. Barreras al flujo génico en <i>Plestiodon brevirostris</i> A propuestas por Barrier vs. 2.2.	55
Figura 16. Barrera al flujo génico en <i>Plestiodon brevirostris</i> B y <i>Plestiodon</i> sp. 3 propuesta por Barrier vs. 2.2.	56
Figura 17. Análisis multivariado de los caracteres morfológicos	66
Figura 18. Localidades de colecta de las especies del complejo <i>Plestiodon brevirostris</i> propuestas en este trabajo.	79
Figura 19. Presencia de contacto entre la interparietal y las nucales (izq.) y ausencia debida a que la interparietal se encuentra bordeada posteriormente por las parietales (der.).	100
Figura 20. Descripción gráfica de las mediciones de LHC (negro), longitud del tronco (azul) y longitud de la tibia (rojo).	102
Figura 21. Presencia de línea clara en las supralabiales separada del borde ventral de las mismas escamas por pigmentación oscura (izq.) y ausencia debida a la continuidad de la coloración clara en la zona supralabial (der.).	103
Figura 22. Descripción de las hileras de escamas ocupadas por la LCL al nivel de la mitad del cuello.	104
Figura 23. Conteo del número de hileras longitudinales de escamas ocupadas por la región dorsal clara a la mitad del cuerpo	104
Figura 24. Totalco (El Limón), Veracruz (UOGV 2607).	105

Figura 25. Huamantla, Tlaxcala (tomada de Feria-Ortiz, 2011).	106
Figura 26. Zoquitlán, estación de microondas, Puebla (ANMO 3948)).....	106
Figura 27. 4km al S Dde San Isidro Buenos Aires, Oaxaca (ANMO 3995).....	107
Figura 28. Macuiltianguis, Oaxaca (tomada de Feria-Ortiz, 2011).....	107
Figura 29. Ca. 0.5 km de Chalma y rumbo a Tlatlauquitepec, Guerrero (ANMO 3563)..	108
Figura 30. Omiltemi, Guerrero (tomada de Feria-Ortiz, 2011).....	108
Figura 31. Alrededores de Amatlán de Quetzalcóatl, Morelos (ejemplar no colectado). ..	109
Figura 32. Sierra de Huautla, cerca de la estación El Limón, Morelos (ANMO 3789).. ...	109
Figura 33. Xixila, Guerrero (ejemplar no catalogado).	110
Figura 34. 5.0 km (en línea recta) NE Santiago Tamazola, Oaxaca (ANMO 3858).....	110
Figura 35. Acercamiento de la cabeza de dos ejemplares de <i>Plestiodon brevirostris</i> (<i>sensu lato</i>) pertenecientes al clado A (arriba; 4km al S Dde San Isidro Buenos Aires, Oaxaca, ANMO 3998) y uno al clado B (abajo; 5.0 km en línea recta NE Santiago Tamazola, Oaxaca, ANMO 3858).....	111
Figura 36. Matorral xerófilo en Totalco (El Limón), Veracruz, ca. 2400 msnm..	112
Figura 37. Bosque de pino-encino en la estación de microondas de Zoquitlán, Puebla, ca. 2680 msnm.....	113
Figura 38. Ladera deforestada rodeada de bosque de encino 4 km al S de San Isidro Buenos Aires, Oaxaca, ca. 2070 msnm	113
Figura 39. Bosque de pino en los alrededores de Santiago Comaltepec, Oaxaca, ca. 2400 msnm.....	114
Figura 40. Bosque de pino-encino ca 1.5km al sur este de la desviacion a Santa María Jaltianguis sobre la Mx 175, Oaxaca, ca. 2270 msnm.....	114
Figura 41. Transición entre bosque tropical caducifolio y bosque de encino en Amatlán de Quetzalcóatl, Morelos, ca. 1700 msnm.....	115
Figura 42. Bosque de encino en Xixila, Guerrero, ca. 1500 msnm.....	115
Figura 43. Bosque de encino 5.0 km (en línea recta) NE Santiago Tamazola, Oaxaca, ca. 1630 msnm.....	116

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Muestras para las cuales se obtuvieron secuencias de DNA en este estudio.....	15
Cuadro 2. Variación morfológica en caracteres selectos para cada uno de los esquemas de análisis morfológico.....	63

RESUMEN

Plestiodon brevirostris es un taxón nominal de esquinco (Squamata: Scincidae) distribuido geográficamente en las zonas montañosas del centro de México. La especie muestra una evidente variación morfológica y estructuración genética a lo largo de su área de distribución. En este trabajo reevalúo los límites de especies al interior del taxón nominal *P. brevirostris* usando datos morfológicos y secuencias de DNA mitocondrial (mtDNA) y nuclear (nDNA). Generé las hipótesis primarias de especies mediante el análisis del mtDNA de dos maneras: usando el método basado en árboles y la procedencia geográfica de las muestras propuesto por Wiens y Penkrot (WP) y el método Coalescente de Yule Generalizado Mixto (GMYC, por sus siglas en inglés). Puse a prueba las hipótesis propuestas por estos dos métodos usando el método coalescente multi-*locus* implementado en el software Bayesian Phylogenetics and Phylogeography (BPP). Adicionalmente, detecté la presencia de barreras para el flujo génico basándome en una matriz de distancias generada a partir de las secuencias mtDNA. Finalmente, investigué la congruencia de las especies sugeridas por los métodos moleculares con la morfología mediante la búsqueda de caracteres morfológicos diagnósticos y la realización de un análisis discriminante canónico (ADC). Los resultados sugieren la presencia de al menos cuatro linajes distintos y evolutivamente independientes dentro de *P. brevirostris*. El descubrimiento de diversidad adicional en *P. brevirostris* recalca la importancia de la reevaluación de los límites de especies en taxones reconocidos y la necesidad de actualizar las estrategias de conservación en consecuencia.

ABSTRACT

Plestiodon brevirostris is a nominal taxon of skink (Squamata: Scincidae) geographically distributed in the mountainous areas of central Mexico. The species shows evident morphological variation and genetic structure throughout its range. In this work I reevaluate the species limits within *P. br evirostris* using morphological data and sequences of mitochondrial (mtDNA) and nuclear (nDNA) DNA. I generated the primary species hypotheses with the analysis of mtDNA in two ways: using the method based on trees and geographic origin proposed by Wiens and Penkrot (WP) and the coalescence-based method Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC). I tested the hypotheses proposed by both of these methods using the multi-*locus* coalescence-based method implemented in the software Bayesian Phylogenetics and Phylogeography (BPP). Additionally, I detected the presence of barriers to gene flow based on a distance matrix generated from the mtDNA sequences. I checked for congruence between the species suggested by the molecular methods and morphology through the search of diagnostic morphological characters and Discriminant Canonical Analysis (ADC). Results suggest the existence of at least four distinct, evolutionary independent lineages within *P. b revirostris*. The discovery of additional diversity in *P. b revirostris* highlights the importance of reevaluating species limits in known taxa and the need of updating conservation strategies accordingly.

INTRODUCCIÓN

DELIMITACIÓN DE ESPECIES

Las especies son las unidades fundamentales de los estudios sistemáticos, ecológicos y evolutivos y su descripción es imprescindible para responder algunas de las preguntas más básicas, importantes e interesantes sobre la diversidad biológica (Cracraft, 2002; Wheeler, 2010). Adicionalmente, las estrategias de conservación exitosas dependen del adecuado reconocimiento de la biodiversidad (Bickford et al., 2007). Es así que el descubrimiento y descripción de especies se vuelve una de las principales tareas de la sistemática (Wiens y Servedio, 2000). Con este fin se requiere que la sistemática cuente con métodos para delimitar objetiva y rigurosamente las especies presentes en la naturaleza (Sites y Marshall, 2003).

Mientras el tópico del concepto de especie ha sido materia constante de debate (Mayden, 1997), el problema de la delimitación práctica de las especies ha recibido poca atención (Wiens, 2007). Afortunadamente, en años recientes cada vez son más las publicaciones que tratan sobre el tema (Camargo et al., 2012). De igual manera, los datos moleculares han sido más fáciles y baratos de obtener, logrando con ello un gran aumento en el número y variedad de acercamientos metodológicos hacia la delimitación de especies (Carstens et al., 2013).

Tradicionalmente, la delimitación de especies ha sido llevada a cabo mediante el análisis morfológico. El enfoque más comúnmente utilizado es el descubrimiento de caracteres diagnósticos, entendidos como caracteres intraespecíficamente invariables o cuya variación en una especie no se superpone con la variación presente en otras especies (Wiens, 1999). Davis y Nixon (1992) formalizaron esta idea dando lugar al Análisis de Agregación de Poblaciones (AAP). El método consiste en agregar todas las poblaciones que sólo difieren en caracteres polimórficos y considerarlas una sola especie, mientras que poblaciones y/o conjuntos de poblaciones que muestren caracteres diagnósticos serán considerados como especies distintas. Esta metodología enfrenta dos problemas: se puede subestimar el número de especies si no se registran los caracteres suficientes (incluyendo algunos difíciles de registrar como caracteres fisiológicos, etológicos, de anatomía interna, etc.) y sobreestimarlos si el muestreo no incluye todo el intervalo de variación para una

especie (Davis y Nixon, 1992). Otro enfoque es considerar que los caracteres polimórficos contienen información de relevancia filogenética (Wiens, 1995, 1999; Wiens y Servedio, 2000). Es así que si un estado de carácter está presente por ejemplo en el 95% de los individuos de una población contra el 5% de los individuos en otra población se puede asumir que el flujo génico entre las dos poblaciones es inexistente o limitado (Wiens, 1999). Sin embargo, no existe una medida objetiva de lo que constituye una diferencia significativa entre las frecuencias de los distintos estados de carácter (Wiens, 1999). Adicionalmente, cuando el evento de especiación es reciente, la morfología entre las especies producidas puede no estar diferenciada (Gittenberger, 1991; Rowe et al., 2011; Rundell y Price, 2009; Wake, 2006; Yang y Rannala, 2010). Finalmente, una divergencia genética considerable puede no venir acompañada de una gran diferenciación morfológica. Esto puede ser explicado por fenómenos como el conservadurismo de nicho (Bond et al., 2001; Derkarabetian et al., 2011; Santos et al., 2006), convergencia (Losos et al., 1998; Serb et al., 2011; Revell et al., 2007; Stayton, 2006), selección estabilizadora (Gould, 2002; Hansen y Houle, 2004; Mitchell y Valone, 1990) y restricciones del desarrollo y/o genéticas (Erwin, 2007).

El advenimiento de datos moleculares ha dado como resultado el desarrollo de métodos de delimitación de especies basados en secuencias de ácidos nucleicos. En primera instancia se propuso que se pueden reconocer especies dado un porcentaje predeterminado de diferenciación genética (Highton, 1989, 1998). Sin embargo, esta aproximación no ha sido completamente aceptada debido a que depende de la aplicación de un umbral arbitrario (Frost y Hillis, 1990; Wake y Schneider, 1998). Enfoques adicionales basados en la genética de poblaciones buscan encontrar una relación entre el flujo génico y la especiación, pero se enfrentan con el problema del adecuado modelado del flujo génico y su detección en las poblaciones naturales (ver De Queiroz y Good, 1997). Más recientemente han surgido métodos de delimitación de especies que al contrario de los métodos anteriormente mencionados se basan en árboles filogenéticos. Wiens y Penkrot (2002) y Bond y Stockman (2008) propusieron métodos que toman como marco de referencia árboles creados a partir de secuencias de mtDNA. Sin embargo, cualquier método basado en las secuencias de un solo *locus* se enfrenta con varias limitaciones. Se ha demostrado que los árboles de genes no son iguales a los árboles de especies (Nichols,

2001; Edwards, 2009), y la discrepancia entre los resultados obtenidos mediante DNA mitocondrial y nuclear es común en varios niveles (Fisher-Reid y Wiens, 2011). Estas discrepancias, asumiendo neutralidad, se deben a procesos estocásticos, tasas de mutación desiguales, la ausencia casi total de recombinación en la mitocondria, inmunidad variable a la introgresión, diferencias en el tamaño efectivo poblacional y tasas de migración desiguales, además de problemas inherentes a los métodos filogenéticos (Fisher-Reid y Wiens, 2011; Rheindt y Edwards, 2011; Toews y Brelsford, 2012).

Un acercamiento a la cuestión de los árboles de genes incongruentes con el árbol de especies es el uso de los métodos coalescentes (Camargo et al., 2012; Knowles y Carstens, 2007). Si bien existen métodos coalescentes basados en secuencias de un solo *locus* (e.g. Pons et al., 2006; Zhang et al., 2013), actualmente existen varios métodos que incorporan datos provenientes de diferentes *loci* (e.g. Camargo et al., 2012; Ence y Carstens, 2011; Grummer et al., 2014; Yang y Rannala, 2010). Mientras que los métodos tradicionales de delimitación de especies basados en árboles de un solo gen requieren de monofilia recíproca entre las especies putativas evaluadas, los métodos coalescentes tienen un fundamento probabilístico que no requiere de monofilia recíproca ni de la presencia de caracteres diagnósticos (Fujita et al., 2011; Sites y Marshall, 2004). Adicionalmente, esta familia de métodos integra las dinámicas poblacionales que moldean la distribución de la diversidad genética con los métodos de inferencia filogenética, beneficiándose de ambos métodos y enriqueciéndolos (Hey, 2010; Edwards, 2009; Pinho y Hey, 2010). Sin embargo, los métodos coalescentes no carecen de limitaciones. No pueden ser aplicados a taxones fósiles, requieren de una inversión considerable de tiempo y dinero, son dependientes de un muestreo adecuado de la diversidad genética y tienen problemas al incorporar selección natural y flujo génico (Dayrat, 2005; Fujita et al., 2012; Hickerson et al., 2006; Valdecasas et al., 2008; Wu y Ting, 2004; Zhang et al., 2011).

Considerando las limitaciones inherentes a todos los métodos de delimitación de especies, actualmente se aboga por una taxonomía integrativa que reúna evidencia proveniente de diversas fuentes para soportar sus hipótesis (Dayrat, 2005; Padial et al., 2010; Valdecasas et al., 2008; Yeates et al., 2011). Esta evidencia puede ser ecológica, morfológica, proveniente de diversos métodos moleculares, etológica, fisiológica, etc.

En este trabajo utilizo la evidencia proveniente de la morfología, varios métodos de delimitación de especies basados en datos moleculares y la distribución geográfica para generar una hipótesis robusta de delimitación de especies en el escinco endémico de México *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae: Scincinae). Estudios previos (Feria-Ortiz, 2011; Feria-Ortiz et al., 2011) han encontrado estructura geográfica considerable al interior de la especie, encontrando varios clados en un análisis filogenético de mtDNA. Sin embargo, no lograron identificar caracteres diagnósticos para cada uno de ellos.

EL GÉNERO *PLESTIODON*

El género *Plestiodon* está conformado por alrededor de 45 especies de lagartijas de la familia Scincidae (escincos) con una distribución disyunta, estando presentes en el este de Eurasia, incluyendo a Japón y China (incluyendo Taiwán), Norte y Centroamérica y Las Bermudas (Brandley et al., 2011; Brandley et al., 2012; Kurita y Hikida, 2014). Ocupan una gran variedad de hábitats, incluyendo bosques caducifolios y hábitats subtropicales; a su vez varían en forma desde la típica forma fornida y de extremidades robustas de las lagartijas hasta formas alargadas, miniaturizadas y con reducción de extremidades (Griffith, 1991).

Anteriormente, las especies del género *Plestiodon* se encontraban dentro del género cosmopolita *Eumeces* (Griffith et al., 2000; Smith, 2005). Griffith et al. (2000) realizaron un análisis cladístico con base en caracteres morfológicos para este último género y encontraron que era parafilético. Los mismos autores sugirieron la división de *Eumeces* en diferentes géneros y la utilización del nombre *Eumeces* para las especies americanas, sugiriendo un cambio de especie tipo con respecto a una especie del norte de África. Sin embargo, Schmitz et al. (2004) consideraron que el cambio sería perjudicial para la taxonomía de las especies norafricanas. Tomando esto en cuenta, Smith (2005) propuso que se usara el nombre *Plestiodon* Duméril y Bibron (1839) para todas las especies americanas pertenecientes anteriormente a *Eumeces*, excepto por tres especies incluidas en el género *Mesoscincus*. *Plestiodon* es el primer nombre generico utilizado para una especie americana del género *Eumeces* (*sensu lato*) y contó con gran aceptación desde mediados del siglo XIX hasta inicios del siglo XX (Smith, 2005). Estudios moleculares recientes (Brandley, et al.,

2012; Pyron et al., 2013) han demostrado la monofilia del género *Plestiodon* y en este trabajo me apego a este descubrimiento.

ANTECEDENTES

El grupo *Plestiodon brevirostris*, definido por Taylor (1935) y Dixon (1969), se componía tradicionalmente por siete especies (Robinson, 1979): *P. brevirostris*, *P. colimensis*, *P. copei*, *P. dugesii*, *P. ocherrenae*, *P. parviauriculatus* y *P. parvulus*; agrupándose todas ellas porque la escama que bordea medialmente a la postgenial es más ancha que larga (Robinson, 1979). Este grupo presenta una distribución conjunta desde Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas hacia el sur y el este hasta Oaxaca, México (Dixon, 1969; Robinson, 1979). Todas las especies son de hábitos secretivos, pasando gran parte del tiempo ocultos entre la hierba, la hojarasca y otros tipos de escombro (Feria-Ortiz, 2011). La evidencia molecular recabada en años recientes indica que el grupo era parafilético con respecto a las especies *P. lynxe* y *P. sumichrasti* (pertenecientes anteriormente a los grupos *P. lynxe* y *P. sumichrasti*, respectivamente), por lo cual ambas especies son consideradas actualmente como miembros del grupo *P. brevirostris* (Feria-Ortiz et al., 2011; Brandley et al., 2012; Pyron et al., 2013). La adición de *P. sumichrasti* al grupo *P. brevirostris* extiende el límite meridional del grupo hasta Honduras (Lee et al., 2013).

Plestiodon brevirostris se distribuye en elevaciones medias (ca. 1,500 m) y altas (> 3,000 m) principalmente en bosques de pino y pino-encino, aunque también se le encuentra en matorral xerófilo y hábitats perturbados (Feria-Ortiz, 2011). La especie fue descrita originalmente por Günther (1860) como *Mabouia brevirostris*. La localidad tipo fue dada como “Oaxaca (Mexico)”, mientras que Smith y Taylor (1950) la restringieron a la ciudad de Oaxaca. Estudios posteriores dividieron a la especie en cinco subespecies (Dixon, 1969; Tanner, 1958): *P. b. brevirostris*, distribuida en los estados de México, Guerrero, Morelos, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala y Veracruz (Dixon, 1969; Fernández et al., 2006); *P. b. bilineatus*, distribuida desde el suroeste de Chihuahua hasta el norte de Jalisco (Dixon, 1969; Feria-Ortiz et al., 2011; Robinson, 1979; Tanner, 1958); *P. b. dicei*, del oeste-centro de Nuevo León y el oeste de Tamaulipas (Axtell, 1960; Dixon, 1969); *P. b. indubitus*, del norte de Morelos, el estado de México al oeste del Distrito Federal, el norte-centro de

Guerrero, el centro de Michoacán, el oeste-centro y sur de Jalisco y el oeste de Colima (Auth et al., 1997; Dixon, 1969; Feria-Ortiz, com. pers.; Flores-Villela y Hernández-García, 2006; Medica et al., 1975; Robinson, 1979); y *P. b. pineus* del sureste de Coahuila y la mitad sur de Nuevo León (Axtell, 1960; Dixon, 1969). Asimismo, se ha propuesto que hay intergradación entre algunas de estas subespecies: *P. b. dicei* y *P. b. pineus*, que confluyen en las cercanías de Gómez Farías y “Chihue”, Tamaulipas, y posiblemente en Santiago, Nuevo León (Axtell, 1960; Dixon, 1969); *P. b. brevirostris* y *P. b. i. ndubitus*, que intergradarían entre Cuernavaca y Tepoztlán y otras localidades en Morelos y el estado de México (Dixon, 1969); y finalmente *P. b. i. ndubitus* y *P. b. bilineatus*, las cuales intergradarían en una amplia región entre el sur de Durango y el norte de Jalisco (Robinson, 1979).

Actualmente, la evidencia morfológica y molecular indica que las subespecies de *Plestiodon brevirostris* en realidad representan linajes que han evolucionado independientemente por un tiempo considerable (Brandley et al., 2012; Feria-Ortiz et al., 2011). Richmond (2006) menciona que se estaban llevando a cabo estudios filogenéticos que sugerían que las subespecies presentaban divergencia para elevarlas a nivel específico, mostrando una profunda diferenciación genética. Sus estudios nunca fueron publicados. En años recientes, Feria-Ortiz et al. (2011) propusieron, con base en morfología y secuencias de mtDNA, que *P. brevirostris* está compuesto en realidad por al menos cinco especies distintas: *P. bilineatus*, *P. brevirostris*, *P. dicei* (con el cual sinonimizaron a *P. pineus*), *P. indubitus* (distribuido en Morelos y Guerrero) y una especie no descrita de Jalisco y Colima (anteriormente asignada a *P. b. i. ndubitus*). Asimismo, estos autores no encontraron evidencia de flujo génico entre *P. brevirostris* y *P. indubitus* y entre la especie no descrita (anteriormente referida como *P. b. i. ndubitus*) y *P. bilineatus*. Estas conclusiones fueron parcialmente corroboradas por Brandley et al. (2012) usando datos de nueve *loci*, tanto mitocondriales como nucleares. Al no incluir muestras de *P. pineus*, los autores mantienen su estado taxonómico como incierto.

Los estudios mencionados anteriormente han arrojado luz sobre la sistemática del género *Plestiodon* en general y del grupo *brevirostris*. Sin embargo, aún existen conflictos sin resolver al interior del grupo (e.g. el status de *P. pineus* y de la población de *P. bilineatus* de Bolaños, Jalisco). Otro problema lo constituye la incertidumbre acerca de los

límites de especies al interior del taxón nominal *P. brevirostris*. En la filogenia mitocondrial de Feria-Ortiz et al. (2011) *P. brevirostris* conforma un clado que a su vez se compone de tres subclados mitocondrialmente divergentes y con concordancia geográfica: un subclado de Guerrero, uno de Puebla y Tlaxcala y otro de Oaxaca (Fig. 1). Los autores reportaron que la muestra de Guerrero difería del resto de las muestras por tener una mayor proporción de individuos con el pigmento claro de la 5^{ta} y 6^{ta} supralabiales extendiéndose hasta el borde ventral de las supralabiales y con una línea clara dorsolateral corta. Feria-Ortiz (2011) encontró además un subclado adicional con muestras provenientes de las cercanías de Ixtlán de Juárez, Oaxaca. Feria-Ortiz (2011) y Feria-Ortiz et al. (2011) utilizaron el método WP para delimitar especies. A niveles de universalidad progresivamente más exclusivos y con tamaños de muestra pequeños el método no es efectivo para descartar flujo génico (Wiens y Penkrot, 2002), por lo cual los autores prefieren mantener *P. brevirostris* como una sola especie. Brandley et al. (2012) también mantienen a *P. brevirostris* como una sola especie, pero sólo incluyeron dos muestras: una de Huamantla, Tlaxcala y una de Maculitanguis, Oaxaca.

Feria-Ortiz (2011) y Feria-Ortiz et al. (2011) reportaron un ejemplar de *Plestiodon brevirostris* de Acatlipa, Morelos (CNAR 1774), que difería de la mayoría de los otros ejemplares que examinaron de la especie por mostrar la interparietal encerrada posteriormente por las parietales y no poseer una línea sobre la 5^{ta} y 6^{ta} supralabiales. Este ejemplar proviene de una localidad en la Depresión del Balsas a una elevación menor (1,200 msnm) que las elevaciones de las que provienen los otros ejemplares. De la misma provincia biogeográfica, Dixon (1967) reporta un ejemplar de *P. brevirostris* de las cercanías de Huajintlán, Morelos, pero no discute si existen diferencias entre este ejemplar en particular y otros. Adicionalmente, varios ejemplares de la misma región han sido catalogados como *P. brevirostris* en las colecciones herpetológicas del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias y la Colección Nacional de Anfibios y Reptiles. Finalmente, ejemplares identificados en campo como *P. brevirostris* han sido colectados recientemente en Xixila, Guerrero y la Sierra de Huautla, Morelos.

En este trabajo reevalúo los límites de especies al interior del taxón nominal *Plestiodon brevirostris* con base en secuencias de tres *loci*, uno mitocondrial y dos

nucleares, así como en la morfología. Hago uso de tres métodos de delimitación de especies basados en datos moleculares, dos de ellos basados en coalescencia.

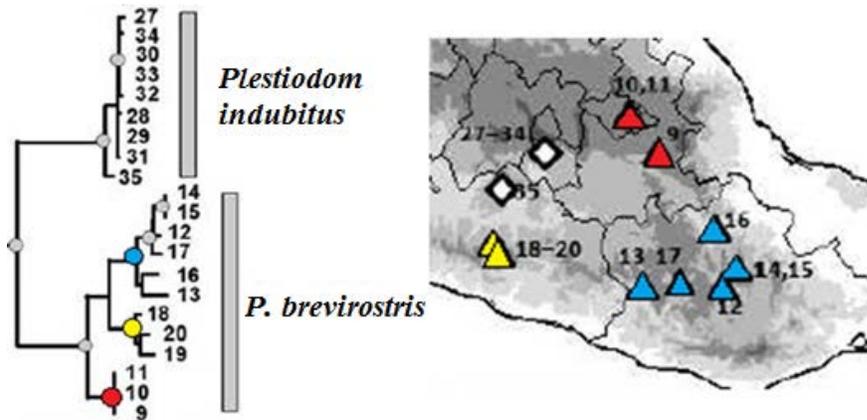


Figura 1. Distribución geográfica de los tres subclados mitocondriales de *Plestiodon brevirostris* encontrados por Feria-Ortiz et al. (2011). Los colores de los nodos corresponden con los colores en el mapa. Los rombos corresponden a muestras de *P. indubitus*.

OBJETIVOS

OBJETVO GENERAL

Reevaluar el estado taxonómico de las poblaciones del taxón nominal *Plestiodon brevirostris*.

OBJETIVOS PARTICULARES

Reevaluar los límites de especies al interior del taxón nominal *Plestiodon brevirostris* con base en datos moleculares provenientes de tres *loci*.

Esclarecer el estado taxonómico de poblaciones tentativamente asignadas a *Plestiodon brevirostris* de la Cuenca del Balsas.

En caso de que los métodos moleculares sugieran la existencia de varias especies al interior de *Plestiodon brevirostris*, determinar si las hipótesis de límites de especies basadas en datos moleculares son corroboradas por la variación en la morfología externa.

MÉTODOS

TRABAJO DE CAMPO

En este estudio incluí a las muestras utilizadas por Feria-Ortiz (2011) y Feria-Ortiz et al. (2011), así como muestras donadas por colaboradores o obtenidas en recolectas recientes (Fig. 2). Durante la realización del trabajo de campo, en los veranos de 2013 y 2014, enfoqué el esfuerzo de muestreo hacia las áreas intermedias entre las distribuciones geográficas de los tres clados mitocondriales encontrados por Feria-Ortiz et al. (2011). En total obtuve 37 ejemplares durante la realización del trabajo de campo para este trabajo, provenientes de los alrededores de los siguientes asentamientos humanos (número de ejemplares entre paréntesis): Chalma (9), Metlatónoc (5) y Xixila (2), en Guerrero; Estación Ecológica El Limón (1), en Morelos; San Isidro Buenos Aires (5) y Santiago Tamazola (1), en Oaxaca; Coyomeapan (2), San Juan del Valle (2) y Zoquitlán (4), en Puebla; y El Limón, Totalco (6), en Veracruz. Sacrifiqué los ejemplares obtenidos con sobredosis de pentobarbital sódico. Removí el hígado de cada ejemplar y lo coloqué en un tubo de 1.5 mL con etanol absoluto, el cual almacené a -60 °C. Posteriormente a la extracción del hígado, fijé los ejemplares con formaldehído al 10% y finalmente los preservé en etanol al 70%.

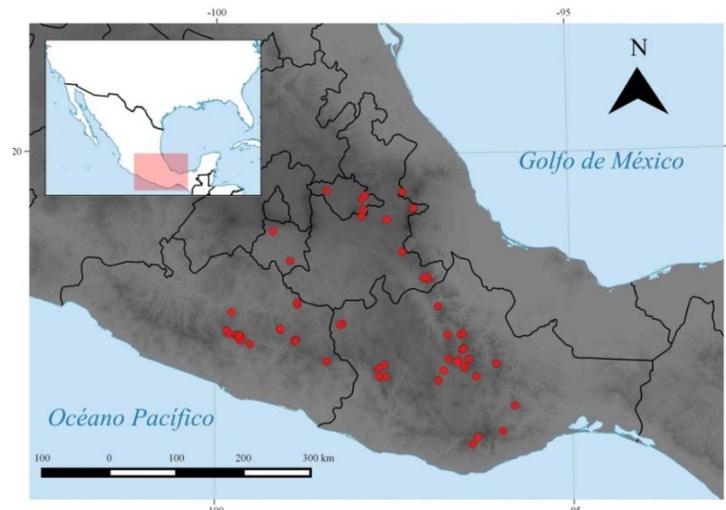


Figura 2. Localidades de recolecta de los ejemplares de *Plestiodon brevirostris* examinados y/o de los cuales se obtuvo tejido. Las líneas negras representan los límites estatales en el mapa principal y los límites nacionales en el recuadro. El color de fondo del mapa principal oscurece al aumentar la elevación.

EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE DNA

A partir de muestras de tejido almacenadas en etanol extraje el DNA genómico total con el método de fenol-cloroformo (Hillis et al., 1996), el método de acetato de amonio (Fetzner, 1999) o el DNeasy Blood & Tissue Kit de Qiagen®. Obtuve secuencias para un *locus* mitocondrial y dos nucleares. El fragmento de mtDNA incluye un segmento del gen que codifica para el RNA ribosomal 16S (*16S*), y los genes que codifican para la subunidad 1 de la NADH deshidrogenasa (*ND1*) y tRNAs asociados (Leu, Ile, Gln, and Met; Fig. 3). Asimismo, obtuve secuencias parciales de los genes nucleares que codifican para las proteínas leucemia megacarioblástica 1 (*MKLI*) y huella dactilar de RNA 35 (*R35*). Se han utilizado secuencias de estos *loci* con éxito para inferir las relaciones filogenéticas en escincos y en particular en *Plestiodon* (Brandley et al. 2005, 2011, 2012; Feria-Ortiz, 2011; Feria-Ortiz et al., 2011). Llevé a cabo la amplificación del fragmento mitocondrial con los oligonucleótidos 16aR2 (Reeder, 2003) y tMET (Leaché y Reeder, 2002), bajo las siguientes condiciones de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): ciclo de desnaturalización inicial a 94°C por 5 min seguido por 40 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30s, apareamiento de oligonucleótidos a 48°C por 30s y extensión a 72°C por 1:45 min, y finalmente extensión a 72°C por 10 min. La amplificación del gen nuclear *MKLI* la llevé a cabo con los oligonucleótidos MKL1_f1 y MKL1_r2 (Townsend et al., 2008) y la del gen nuclear *R35* con los oligonucleótidos R35_F y R35_R (Brandley et al., 2011). Amplifiqué ambos genes siguiendo un protocolo de PCR “Touch-Down” con las siguientes condiciones: un ciclo de desnaturalización inicial a 94°C por 1 min seguido por 5 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30s, apareamiento de oligonucleótidos a 61°C por 30s y extensión a 68°C por 1:30 min. Las condiciones de estos últimos ciclos se repetían 5 veces bajando la temperatura de apareamiento dos grados cada vez hasta alcanzar 57°C. Finalmente, el protocolo concluía con 25 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30s, apareamiento de oligonucleótidos a 50°C por 30s y extensión a 68°C por 1:30 min. Secuencié los productos de PCR con un secuenciador automático ABI 3730xl (Applied Biosystems, Inc.). Los oligonucleótidos que usé para la amplificación del *locus* mitocondrial fueron ND1-INTR2 (Schmitz et al., 2005) y F4-skink (5'-

TDGCMCAAACHATYTCMTAMGA-3’; Nieto-Montes de Oca, no publicado). Los oligonucleótidos que utilicé para secuenciar los genes nucleares fueron los mismos que los que usé para su amplificación.

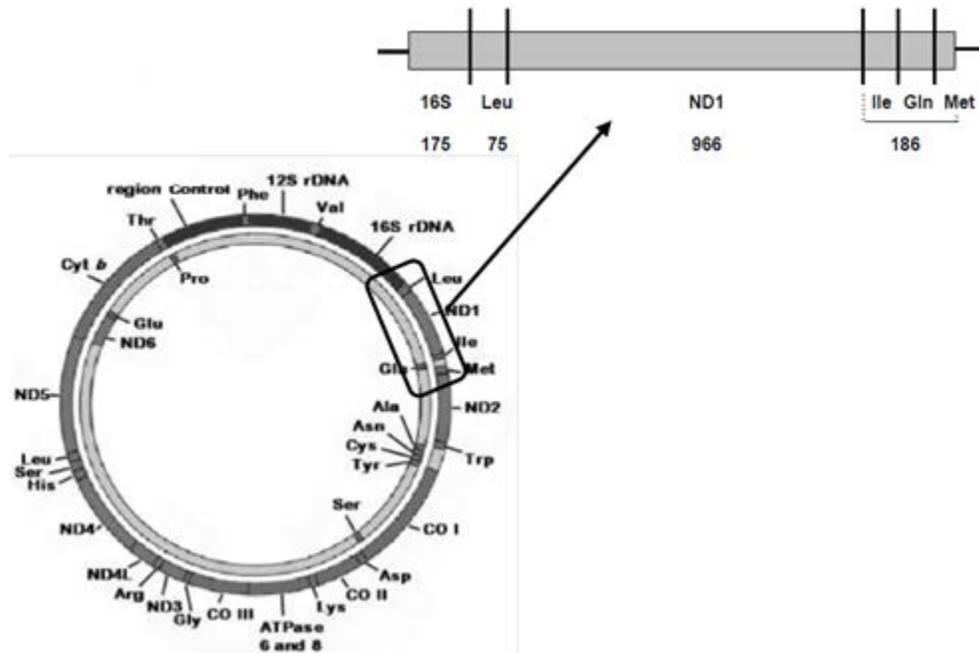


Figura 3. Región mitocondrial secuenciada (esquina superior derecha) y su posición en el genoma mitocondrial. Los números debajo de cada subsegmento indican la longitud en nucleótidos del mismo (tomada de Feria-Ortiz, 2011).

MUESTREO DE TAXONES

El muestreo se enfocó en *Plestiodon brevisrostris*, pero también se examinaron y obtuvieron secuencias de ejemplares de otras especies cercanamente relacionadas con *P. brevisrostris* con el fin de identificar caracteres diagnósticos, inferir sus relaciones filogenéticas y detectar hibridación –de existir ésta- con otras especies. Algunos ejemplares para los cuales se obtuvieron secuencias de DNA no pudieron ser examinados morfológicamente y viceversa.

Adicionalmente a las secuencias que generé en el laboratorio, descargué todas las secuencias de los *loci* de interés disponibles en GenBank para el grupo *Plestiodon brevisrostris* y de taxones utilizados como grupos externos. En total obtuve secuencias para 156 individuos (Cuadro 1). De éstos, obtuve secuencias de mtDNA para 149 individuos, de *MKL1* para 67, de *R35* para 68 y de los tres *loci* para 58. De las secuencias incluidas en este

trabajo yo generé personalmente 36 de mtDNA, 41 de *MKLI* y 42 de *R35*. Logré obtener secuencias para todos los taxones reconocidos del grupo *P. brevirostris*, excepto por la subespecie *Plestiodon lynxe furcistrostris*, de validez discutible (número de individuos secuenciados entre paréntesis): *P. bilineatus* (14), *P. brevirostris* (52), *P. colimensis* (1), *P. copei* (10), *P. dicei* (12), *P. dugesii* (6), *P. indubitus* (14), *P. lynxe bellii* (4), *P. l. lynxe* (7), *P. nietoi* (4), *P. ochoterenae* (2), *P. parviauriculatus* (4), *P. parvulus* (6) y *P. sumichrasti* (1). No corroboré la identidad del ejemplar de *P. colimensis*, por lo cual los resultados concernientes a esa especie aquí mostrados deben ser considerados con reserva. Adicionalmente, obtuve secuencias para cuatro especies potencialmente nuevas de *Plestiodon* del grupo *brevirostris*: *Plestiodon* sp. 1 (2), *Plestiodon* sp. 2 (3), *Plestiodon* sp. 3 (1) y *Plestiodon* sp. 4 (3). La primera y la tercera fueron reportadas por Feria-Ortiz (2011) de las cercanías de Pluma Hidalgo, Oaxaca, y Arcelia, Guerrero, respectivamente; la segunda es una especie previamente confundida con *P. indubitus* reconocida por Feria-Ortiz (2011), Feria-Ortiz et al. (2011) y Brandley et al. (2012) de Colima, Jalisco y Michoacán; y la cuarta se encuentra actualmente en proceso de descripción y proviene de las cercanías de Malinaltepec, Guerrero (García-Vázquez et al., en preparación). Para enraizar los árboles y poner a prueba la monofilia del grupo *P. brevirostris* obtuve además secuencias de especies de *Plestiodon* de otros grupos y de otros géneros de Scincidae: *P. lagunensis* (1), *P. longirostris* (2), *P. skiltonianus* (2), *Acontias kgalagadi* (1), *Eurylepis taeniolata* (2) y *Scincella silvicola caudaequinae* (2).

Revisé la morfología externa de 134 ejemplares morfológicamente asignables a *Plestiodon brevirostris* (Apéndice I). Adicionalmente revisé ejemplares de especies morfológicamente similares a *P. brevirostris* y para las cuales los análisis filogenéticos basados en mtDNA (ver abajo) y estudios previos (Feria-Ortiz, 2011; Feria-Ortiz et al., 2011, Brandley et al., 2012) han sugerido una cercana relación con *P. brevirostris* (número de ejemplares entre paréntesis): *P. indubitus* (32), *P. nietoi* (13) y *Plestiodon* sp. 3 (1; Apéndice I). La comparación con las otras especies del grupo *P. brevirostris* se realizó consultando la literatura relevante en cada caso. No me fue posible revisar el holotipo de *P. brevirostris*, pero me fue posible registrar el estado de ciertos caracteres gracias al envío de fotografías del mismo.

Cuadro 1. Muestras para las cuales se obtuvieron secuencias de DNA en este estudio. Los taxones, estados de procedencia y números de voucher aparecen en orden alfabético siguiendo esa jerarquía. Cuando una muestra no proviene de México junto al estado se indica entre paréntesis el país de origen. Las siglas CIBM, LSUMZ, MZFC, MVZ, UTA y ZFMK corresponden a colecciones listadas en Sabaj Pérez (2014). El resto de las siglas corresponde a números de campo de ejemplares por catalogar en el MZFC.

Taxón	Estado	Localidad	Voucher	ID	Genes secuenciados	
<i>Acontias kgalagadi</i>	Ngamiland (Botsuana)	Tsodilo Hills	ZFMK 60582	1	<i>NDI</i>	
<i>Eurylepis taeniolata</i>	Semnan (Irán)	2.85 km north-west of Delbar Field Station, Touran Protected Area, ~120 km (by air) ESE of Shahrud	MVZ 246017	2	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
	– (Pakistán)	Pakistán	MVZ 250452	3	<i>NDI, R35</i>	
<i>Plestiodon bilineatus</i>	Chihuahua	Namiquipa, Balleza	MZFC 25341	4	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			MZFC 25536	5	<i>NDI</i>	
	Durango	Ejido Chavarría Viejo, Pueblo Nuevo	MZFC 25338	6	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			MZFC 25340	7	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			Santiago Papasquiaro	MZFC 25342	8	<i>NDI</i>
			3 km N El Salto, Pueblo Nuevo	MZFC 25399	9	<i>NDI</i>
			Ejido La Ciudad, carretera El Salto-Mazatlán, Pueblo Nuevo	MZFC 25400	10	<i>NDI</i>
			El Salto, Pueblo Nuevo	MZFC 25401	11	<i>NDI</i>
			Ejido La Ciudad, carretera El Salto-Mazatlán, Pueblo Nuevo	MZFC 25402	12	<i>NDI</i>

		Carretera El Salto-Mazatlán, Pueblo Nuevo	MZFC 25403	13	<i>NDI</i>	
	Jalisco	Highway Bolaños-Tuxpan de Bolaños, Bolaños	UTA 52706	14	<i>NDI</i>	
			UTA 53300	15	<i>NDI</i>	
	Zacatecas	Las Crucitas, Ejido Mimbres y Trojes, Valparaíso	FMQ 3881	16	<i>NDI</i>	
			MZFC 25537	17	<i>NDI</i>	
<i>P. brevirostris</i>	Guerrero	Cerca de Chalma, Atlixnac	ANMO 3563	18	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
		Ca. 0.5 km de Chalma y rumbo a Tlatlauquitepec	ANMO 3565	19	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			ANMO 3575	20	<i>NDI</i>	
		Xixila	ANMO 3656	21	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			ANMO 3657	22	<i>NDI</i>	
			2.75 km (en línea recta) NW Cabecera Municipal de Metlaltónoc, Cochoapa el Grande	ANMO 3901	23	<i>MKLI, NDI, R35</i>
				ANMO 3902	24	<i>R35</i>
				CJPV 1	25	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			Xixila	ECA 384	26	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			Xixila	ECA 390	27	<i>NDI</i>
			Balzamar, arriba de Carrizal de Bravo	MZFC 25382	28	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			Omiltemí	MZFC 25383	29	<i>NDI</i>
			Sierra de Alquitrán, cerca de Chilpancingo al W	MZFC 25384	30	<i>NDI</i>
	Morelos	Sierra de Huautla, cerca de la estación El Limón	ANMO 3789	31	<i>NDI, R35</i>	

Oaxaca	La Unión Altamira Monteverde, Santa Lucía Monteverde, Putla	ANMO 822	32	<i>MKLI, NDI, R35</i>
	Campamento Las Flores, Santa María Jaltianguis	ANMO 2171	33	<i>NDI</i>
	Aprox. 1.2 km al E (en línea recta) de Santa María Las Nieves, San Pedro Yolox	ANMO 2304	34	<i>NDI</i>
		ANMO 2305	35	<i>MKLI, NDI, R35</i>
	5.0 km (en línea recta) NE Santiago Tamazola	ANMO 3858	36	<i>MKLI, NDI, R35</i>
	4 km SE San Isidro Buenos Aires	ANMO 3995	37	<i>NDI</i>
		ANMO 3996	38	<i>MKLI</i>
		ANMO 3997	39	<i>MKLI, NDI</i>
		ANMO 3998	40	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		ANMO 4009	41	<i>MKLI, R35</i>
	San Juan Mixtepec	FMQ 3974	42	<i>NDI</i>
	Ixtlán de Juárez	FMRP 143	43	<i>NDI</i>
	Ca. 1.5 km SE desviación a Santa María Jaltianguis sobre la MX 175	ICS 431	44	<i>NDI</i>
	Santa Inés del Monte, Zaachila	IDLH 111	45	<i>MKLI, NDI, R35</i>
	Carretera La Venta-Cerro Nevería	JAC 21388	46	<i>MKLI, NDI, R35</i>
	Carretera Teotitlán del Valle-Benito Juárez	JAC 21499	47	<i>NDI</i>
	Santo Tomás Teipan	MZFC 15568	48	<i>NDI</i>
	2 km de la carretera Ixtlán-San Pablo Macuiltianguis, San Pablo Macuiltianguis	MZFC 25385	49	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		MZFC 25386	50	<i>MKLI, NDI, R35</i>

		14 mi. NE Díaz Ordaz	MZFC 25390	51	<i>NDI</i>
		4 km SE San Isidro Buenos Aires	MZFC 25538	52	<i>NDI</i>
		Santa Inés del Monte, Distrito de Zaachila	MZFC 25539	53	<i>NDI</i>
		Aproximadamente 1.5 km SE de la desviación a Santa María Jaltianguis, sobre la MX175	MZFC 27174	54	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		Ca. 2km SE de Santiago Comaltepec sobre el camino de terracería hacia la carretera MX176	MZFC 27179	55	<i>NDI</i>
Puebla		Ixtlán de Juárez	RWB 507	56	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		Zoquitlán, estación de microondas	ANMO 3948	57	<i>NDI</i>
		Zoquitlán, camino al río	ANMO 3953	58	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			ANMO 3954	59	<i>MKLI</i>
			ANMO 3955	60	<i>MKLI, R35</i>
		Carr. Zoquitlán-Coyomeapan	ANMO 4226	61	<i>NDI</i>
		Alrededores de Zoquitlán	MZFC 16480	62	<i>MKLI, NDI, R35</i>
Tlaxcala		El Seco, San Salvador El Seco	MZFC 25346	63	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		San Miguel Calixitla, Chilchotla	MZFC 25348	64	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		Cerro Tecoa, aproximadamente 12 km N Huamantla, Huamantla	MZFC 25343	65	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			MZFC 25344	66	<i>NDI</i>
Veracruz		Totalco (El Limón)	UOGV 2607	67	<i>NDI</i>
			UOGV 2610	68	<i>MKLI, R35</i>
			UOGV 2611	69	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>P. colimensis</i>	–	–	"colimensis"	70	<i>MKLI, R35</i>

<i>P. copei</i>	Distrito Federal	Desierto de los Leones, Cuajimalpa	AMH 315	71	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			AMH 324	72	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
	México	Huixquilucan	EMD 163	73	<i>NDI</i>	
			Road between Avándaro and San Francisco Oxtotilpan	JAC 27454	74	<i>NDI</i>
			1 mile west of Río Frío on old road to Puebla	MVZ 143455	75	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			Río Frío	UOGV (A)	76	<i>NDI</i>
	Michoacán	Pátzcuaro	UOGV (B)	77	<i>NDI</i>	
			DGM 33	78	<i>NDI</i>	
			MFO 340	79	<i>NDI</i>	
	Puebla	San Juan Tetla	MZFC 14113	80	<i>NDI</i>	
Chiautzingo						
<i>P. dicei</i>	Coahuila	14 km E San Antonio de las Alazanas	MZFC 18779	81	<i>NDI</i>	
		Los Lirios, Arteaga	MZFC 25366	82	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
	Nuevo León	Pabllillo	MZFC 18769	83	<i>NDI</i>	
		Parque Ecológico Chipinqué, Santiago	MZFC 25351	84	<i>NDI</i>	
			MZFC 25353	85	<i>NDI</i>	
		Rancho El Manzano, carretera a Santiago, Santiago	MZFC 25356	86	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
	Tamaulipas	Ejido La Cima, Hotel El Pino, Reserva El Cielo	MZFC 25359	87	<i>NDI</i>	
			UPO 9	88	<i>NDI, R35</i>	
			MZFC 18763	89	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			MZFC 18764	90	<i>NDI</i>	
			1 km E Marmolejo, Sierra de San Carlos	MZFC 18767	91	<i>NDI</i>
				MZFC 18768	92	<i>NDI</i>

<i>P. dugesii</i>	Jalisco	Ca. 3 km S Atemajac de Brizuela	IDLH 105	93	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			IDLH 106	94	<i>NDI</i>	
	Michoacán	Queréndaro		MCB 1054	95	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			Rancho Los Lobos, 5 km NE Nuevo San Juan Parangaricutiro	MZFC 25327	96	<i>NDI, R35</i>
			Carretera Playitas-La Torre, Tumbiscatío	MZFC 25328	97	<i>MKLI, R35</i>
		MZFC 25425	98	<i>NDI</i>		
<i>P. indubitus</i>	Guerrero México	Landa, a un lado de Taxco	MZFC 25471	99	<i>NDI</i>	
		Valle de Bravo	IDLH 330	100	<i>NDI</i>	
			IDLH 331	101	<i>NDI</i>	
			MFO 363	102	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			MFO 364	103	<i>NDI</i>	
	Morelos	Tepoztlán		MZFC 25443	104	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			Ca. 2 km S Tres Marías, Km. 56 carretera Tres Marías-Cuernavaca	MZFC 25460	105	<i>NDI</i>
			Km. 61 carretera Tres Marías-Cuernavaca	MZFC 25461	106	<i>NDI</i>
			Ca. 1 km N Huitzilac	MZFC 25468	107	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			Ca. 2 km S Tres Marías, Km. 56 carretera Tres Marías-Cuernavaca	MZFC 25469	108	<i>NDI</i>
			Km. 61 carretera Tres Marías-Cuernavaca	MZFC 25470	109	<i>NDI</i>
			Ca. 1 km N de Biomédicas (UAEM), Cuernavaca	MZFC 25472	110	<i>NDI</i>
				MZFC 25473	111	<i>NDI</i>
	8 km S de Tres Marías	UOGV 2524	112	<i>NDI</i>		

<i>P. lagunensis</i>	Baja California Sur	Sierra Guadalupe, San José de Magdalena	CIBM 151	113	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
<i>P. longirostris</i>	Castle Island (Bermudas)	Castle Island	SK 1	114	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			SK 2	115	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
<i>P. lynxe belli</i>	–	–	RH 19	116	<i>NDI, R35</i>	
	Nayarit	La Yesca	JAC 23420	117	<i>NDI</i>	
			JAC 23455	118	<i>NDI</i>	
			JAC 23481	119	<i>NDI</i>	
<i>P. lynxe lynxe</i>	Hidalgo Puebla Querétaro	Hidalgo Zacatlán de las Manzanas Atotonilco, El Grande	LSUMZ H14966	120	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			GPP 18	121	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			JJW 91	122	<i>NDI</i>	
			JJW 92	123	<i>NDI</i>	
	San Luis Potosí	San Luis Potosí	San Joaquín	MZFC 17839	124	<i>NDI</i>
				MZFC 17840	125	<i>NDI</i>
				LSUMZ H14823	126	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>P. nietoi</i>	Guerrero	El Filo, El Balcón La Llave, El Balcón, Ajuchitán del Progreso	MZFC 22247	127	<i>MKLI, NDI, R35</i>	
			MZFC 22250	128	<i>NDI</i>	
		El Moreno, El Balcón	MZFC 22252	129	<i>NDI</i>	
			MZFC 22254	130	<i>NDI</i>	
<i>P. ochoteranae</i>	Guerrero	Agua de Obispo, Chilpancingo	MZFC 25454	131	<i>MKLI, NDI, R35</i>	

			MZFC 25467	132	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>P. parviauriculatus</i>	Sinaloa	Badiraguato	UOGV 1311	133	<i>NDI</i>
		Sonora	Los Álamos	EPR 1393	134
			IDLH 84	135	<i>NDI</i>
			IDLH 85	136	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>P. parvulus</i>	Colima	Ca. 1.4–2.4 km E La Central, Manzanillo	MZFC 25370	137	<i>MKLI, NDI</i>
			MZFC 25371	138	<i>NDI</i>
	Michoacán	Pueblo Nuevo (sobre carr. 200 La Placita-Manzanillo), Aquila	ANMO 1141	139	<i>MKLI, NDI, R35</i>
	Nayarit	Santa Cruz, San Blas	ANMO 1142	140	<i>NDI</i>
			ANMO 1191	141	<i>NDI</i>
			ANMO 1192	142	<i>NDI</i>
<i>P. skiltonianus</i>	California (E.U.A.)	San Diego County 1 mile west of junction Route S6 on Route S7	MVZ 162089	143	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		Mendocino County 6.6 miles west of Willits on Highway 20	MVZ 162314	144	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>P. sumichrasti</i>	Veracruz	Ixhuatlán del Café	JLAL 141	145	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>Plestiodon</i> sp. 1	Oaxaca	Pluma Hidalgo	ICS 50	146	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			ICS 51	147	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>Plestiodon</i> sp. 2	Michoacán	Carretera Playitas-La Torre, Tumbiscatío	MZFC 25429	148	<i>NDI</i>

Continúa Cuadro 1...

	Jalisco	Loma del Cuervo, Ranchería El Fresnito, terracería al albergue del Nevado de Colima, unos 10 km SE Ciudad Guzman	MZFC 25449	149	<i>MKLI, NDI, R35</i>
			MZFC 25451	150	<i>NDI</i>
<i>Plestiodon</i> sp. 3	Guerrero	Cañada El Limón, Campo Morado, Arcelia	MZFC 19787	151	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>Plestiodon</i> sp. 4	Guerrero	Ca. 0.73 km (en línea recta) al S de Portezuelo, desviación a Xochiatenco	MZFC 28875	152	<i>NDI</i>
		Paraje Montero, a 3km de comisaria municipal, sobre camino hacia río	MZFC 28876	153	<i>MKLI, NDI, R35</i>
		Paraje Montero, Entrada de Xochiatenco a 4km de comisaria municipal sobre carretera Tlapa-San Luis	MZFC 28877	154	<i>MKLI, NDI, R35</i>
<i>Scincella silvicola caudaequinae</i>	Tamaulipas	Gómez Farías	MZFC 647	155	<i>NDI</i>
			MZFC 19501	156	<i>NDI</i>

EDICIÓN DE SECUENCIAS Y CONSTRUCCIÓN DE MATRICES

Edité las secuencias de los productos de PCR que conseguí en el laboratorio a partir de los cromatogramas generados por el secuenciador en el software Sequencher 4.1.4 (Gene Codes Corporation, 2000). Realicé el alineamiento múltiple con el algoritmo Muscle (Edgar, 2004) y después lo afiné manualmente en MEGA6 (Tamura et al., 2013). Los alineamientos tuvieron las siguientes longitudes: 1373 bp para el mtDNA (*16S*, 149 bp; *tRNA-Leu*, 79 bp; *ND1*, 969 bp; *tRNA-Ile*, 81 bp; *tRNA-Gln*, 71 bp; y *tRNA-Met*, 24 bp), 891 bp para *MKLI* y 648 bp para *R35*. Construí tres matrices correspondientes al mtDNA, *MKLI* y *R35*, con 149, 67 y 68 terminales. Adicionalmente creé una matriz concatenada con todos los *loci* con 58 terminales. En esta matriz incluí un menor número de muestras, ya que sólo incluí las muestras para las cuales obtuve secuencias de todos los *loci*. Con el software PartitionFinder 1.1 encontré simultáneamente el esquema de particiones que mejor se ajusta a cada matriz y el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajusta a cada partición (Lanfear et al., 2012). El esquema inicial a partir del cual se calcularon los esquemas subsecuentes fueron: *16S*, *tRNA-Leu*, cada posición de codón de *ND1* y por separado cada uno de los *tRNAs* restantes, para el mtDNA; y cada posición de codón para cada uno de los genes nucleares. El algoritmo de búsqueda que utilicé fue el algoritmo heurístico “greedy”. Para la selección de los modelos de sustitución me basé en el Criterio de Información Bayesiano (CIB). Reevalué la selección de particiones y modelos para la matriz que incluye a todos los *loci* al incluir un conjunto diferente de terminales. PartitionFinder 1.1 (Lanfear et al., 2012) sugirió agrupar en una sola partición regiones pertenecientes a *loci* diferentes (ver abajo), pero ya que en este trabajo utilizo un esquema de análisis multi-*locus* diferente a la simple concatenación decidí particionar la matriz de manera que cada *locus* sea independiente (ver abajo). Evalué el modelo que mejor se ajusta a cada una de estas particiones en jModelTest 2.1 (Darriba et al., 2012). Finalmente, creé otras matrices incluyendo sólo a *P. b revirostris* y las especies más cercanamente relacionadas: unas incluyendo las secuencias de mtDNA (para la implementación de GMYC) y otras las muestras para las cuales tenía secuencias de todos los *loci*, excepto por una muestra de Sierra de Huautla, Morelos, para la cual falta la secuencia de *MKLI* (para la implementación del BPP; ver abajo). Evalué el esquema de particiones y el modelo de

sustitución que mejor se ajusta a cada una de ellas para la matriz usada en GMYC en PartitionFinder 1.1 (Lanfear et al., 2012).

ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Con el fin de evaluar la monofilia de *Plestiodon brevirostris* y de inferir sus relaciones filogenéticas para definir cuales terminales incluir en los análisis de delimitación de especies, realicé análisis filogenéticos con Inferencia Bayesiana. Utilicé el código de ambigüedad correspondiente para las secuencias heterócigas, ya que no existe forma clara de concatenar los alelos diferentes, así como también las estrategias diferentes de concatenación resultan en distribuciones posteriores de árboles muy diferentes entre sí (Weisrock et al., 2012). Realicé los análisis filogenéticos usando Inferencia Bayesiana como es implementada en el software MrBayes 3.2 (Ronquist et al., 2012). Realicé análisis separados para cada uno de los genes, uno para el mtDNA y uno para cada gen nuclear, con la finalidad de detectar congruencia o incongruencia entre los árboles de los *loci* individuales. Cada análisis consistió de dos corridas independientes y verifiqué que se hubiera alcanzado convergencia basándome en la media de la desviación estándar de las frecuencias divididas. Cada corrida individual consistió de 10×10^7 generaciones, con muestreo cada 10,000. La información de ambas corridas fue acoplada usando LogCombiner 1.8 (Rambaut y Drummond, 2013). A partir de los parámetros obtenidos mediante la combinación de ambas corridas construí el árbol de máxima credibilidad de clados (MCC) en TreeAnnotator 1.8 (Rambaut y Drummond, 2013) con un burn-in del 25%.

Analicé la matriz incluyendo todas las muestras para las cuales hay secuencias de todos los *loci* bajo el modelo del coalescente multi-especies tal y como es implementado en *BEAST 1.8 (Drummond et al., 2012), con la finalidad de obtener una hipótesis más robusta de las relaciones filogenéticas de *Plestiodon brevirostris* que las generadas a partir los *locus* individuales. Asignando cada individuo a una especie de acuerdo a su morfología construí el árbol de especies asignando como *prior* el modelo de Yule. Ligué los árboles de las particiones contenidas en cada *locus* y desligué el reloj para cada partición. Fijé la tasa del reloj como 1 para una de las particiones y la tasa para el resto de las particiones se

calculó a partir de ésta. Ya que la finalidad de este trabajo no es la datación de los eventos de divergencia, no calibré el reloj empíricamente con otras fuentes de información. Forcé la monofilia de *Plestiodon* y del grupo *P. brevirostris* ya que estudios previos la soportan (Brandley et al., 2011, 2012; Feria-Ortiz, 2011; Feria-Ortiz et al., 2011; Pyron et al., 2013). Conduje dos corridas independientes, cada una consistiendo de 10×10^7 generaciones, con muestreo cada 10,000. Los parámetros y árboles de ambas fueron acopladas con LogCombiner 1.8 (Rambaut y Drummond, 2013) y analizadas en Tracer 1.6 (Rambaut y Drummond, 2009) para verificar que hubo suficiente muestreo y convergencia entre ambas corridas. Creé el árbol de MCC en TreeAnnotator 1.8 (Rambaut y Drummond, 2013) con un burn-in del 25% y la altura de los nodos establecida a partir de la media posterior para cada nodo. Tanto para los análisis de los *loci* individuales como del árbol de especies considero como significativamente apoyados a nodos con una probabilidad posterior (PP) mayor que 0.95 (Felsenstein, 2004).

DELIMITACIÓN DE ESPECIES BASADA EN SECUENCIAS DE DNA

Delimitación de especies mediante WP

Basándome en el árbol de MCC obtenido mediante el análisis de Inferencia Bayesiana del mtDNA realicé hipótesis de delimitación de especies como es propuesto por Wiens y Penkrot (2002). El uso del término “basal” es inadecuado para referirse a solo uno de los clados resultantes de la divergencia más temprana dentro de un grupo monofilético: los nodos de un árbol al girarse no alteran la topología y la riqueza actual de un clado no necesariamente refleja su riqueza a escala geológica (Krell y Cranston, 2004). En este estudio uso el término “clados basales” para referirme a los grupos hermanos como resultado de la divergencia más temprana dentro de un clado. En WP la especie de interés y a la cual se aplica el análisis de delimitación de especies es llamada “especie focal”. La evidencia inicial de que la especie focal representa a una sola especie consiste en que en una filogenia de haplotipos no recombinantes sus haplotipos forman un clado exclusivo con respecto a los de especies cercanamente relacionadas, exclusivos a su vez. También es probable que sea una sola especie si a pesar de aparecer como parafilética existe flujo

génico entre los clados basales asignados a esa especie. Posteriormente se evalúa la presencia de varias especies al interior de la especie focal. Si sus clados basales son exclusivos y tienen congruencia geográfica, esto se considera como evidencia de que no existe flujo génico entre ellos. De esa manera se puede ir avanzando hacia clados cada vez más anidados dentro del árbol evaluando la posibilidad de que exista flujo génico entre los subclados que lo componen, siempre y cuando el muestreo lo permita. WP no especifica hasta que nivel está inequívocamente justificado seguir separando linajes. A niveles de universalidad más bajos, la separación incompleta de linajes, la dispersión basada en los machos, la filopatría de las hembras y la coalescencia de poblaciones temporalmente aisladas puede confundir los resultados de este método basado en mtDNA (Hoelzer, 1997; Meza-Lázaro y Nieto-Montes de Oca, 2015; Neigel y Avise, 1986). Adicionalmente, el muestreo deficiente puede evitar la detección de flujo génico existente (Wiens y Penkrot, 2002). Sin embargo, la morfología dentro de *Plestiodon brevirostris* es variable de acuerdo a la procedencia geográfica de los especímenes y existe distinción de hábitat congruente con la filogenia (ver abajo) en clados muy anidados dentro del árbol, por lo cual emplear el método en estos niveles parece justificado. Adicionalmente, consideraré varios acercamientos y fuentes de información para la delimitación de especies, por lo cual los resultados de WP no serán definitivos. Consideraré como especies potenciales todos aquellos clados basales, exclusivos, congruentes con la geografía, significativamente apoyados ($PP > 0.95$) y con un tamaño de muestra igual o mayor que dos que se encuentren anidados dentro de clados con las mismas propiedades.

Delimitación de especies mediante GMYC

Utilizando las matrices de mtDNA de *Plestiodon brevirostris* y las especies más cercanamente relacionadas, llevé a cabo la delimitación de especies mediante el método GMYC (Pons et al., 2006). Este método distingue entre los patrones de ramificación resultado de especiación y resultado de divergencia intraespecífica en un árbol ultramétrico de sólo un *locus* (Fujita et al., 2012; Pons et al., 2006). Se espera que los procesos de especiación sigan el modelo de Yule mientras que los procesos intraespecíficos sigan el modelo coalescente (Fujita et al., 2012; Pons et al., 2006). La longitud de las ramas del

árbol ultramétrico debe estar escalada con respecto al tiempo (Pons et al., 2006). GMYC es considerado un método de descubrimiento ya que no requiere de hipótesis de especies establecidas *a priori* (Carstens et al., 2013).

Para crear el árbol ultramétrico utilicé el software BEAST 1.8 (Drummond et al., 2012). GMYC es muy sensible a los parámetros utilizados para crear el árbol ultramétrico (Ceccarelli et al., 2012). En este trabajo abogaré por los parámetros que tiendan a producir delimitaciones con menor número de especies, ya que el método tiende a sobreestimarlos (Lohse, 2009). Adicionalmente, es generalmente aceptado que es mejor para la taxonomía y la conservación fallar al identificar linajes no descritos que sobre-separar linajes (Frankham et al., 2012; Fujita et al., 2012; Zachos y Lovari, 2013; Zachos et al., 2013). La inflación taxonómica puede causar que se comprometa la conservación de las especies al confundir el cálculo de la riqueza y endemismo de una región en particular y al ocasionar que la diversidad genética de metapoblaciones consideradas erróneamente como especies distintas sea descartada para incrementar la diversidad genética a nivel específico en programas de entrecruzamiento (Zachos y Lovari, 2013; Zachos et al., 2013). El *prior* que utilicé para el reloj fue el log-normal no correlacionado, ya que es el más conservador (Barej et al., 2015). Fijé la tasa del reloj para una de las particiones y el resto fueron calculadas tomando ésta como referencia. La forma de la distribución elegida para el reloj tiene gran influencia en la estimación de la longitud de las ramas (Baele et al., 2012). La distribución que elegí para este *hyperprior* fue gamma difusa (forma = 0.001, escala = 1,000). Esto favorece la mezcla de las Cadenas de Markov (Beale et al., 2012). El prior que seleccioné para el árbol fue el coalescente de tamaño constante ya que el modelo nulo del GMYC es la presencia de una sola especie (Monaghan et al., 2009; Vuataz et al., 2011), y adicionalmente porque en este análisis sólo incluí terminales de divergencia muy reciente y entre las cuales incluso se ha propuesto hibridación. Realicé dos análisis individuales para cada matriz, que consistieron de 10×10^7 generaciones, con muestreo cada 10,000. Acoplé los parámetros y árboles de ambas con LogCombiner 1.8 (Rambaut y Drummond, 2013) y analizados en Tracer 1.6 (Rambaut y Drummond, 2009) para verificar que hubo suficiente muestreo y convergencia. Creé el árbol de MCC en TreeAnnotator 1.8 (Rambaut y Drummond, 2013) con un burn-in del 25% y la altura de los nodos establecida a partir de la media posterior para cada nodo (Ceccarelli et al., 2012). Implementé el GMYC de umbral único con el paquete “splits”

(Ezard et al., 2009) en R (R development Core Team 2015) usando el árbol de MCC como archivo de entrada.

Delimitación de especies mediante BPP

La delimitación de especies usando datos multi-*locus* la llevé a cabo mediante Inferencia Bayesiana como es implementada en el software BPP 3.1 (Yang, 2015a). BPP considera el conflicto entre los árboles de genes y el árbol de especies causado por la separación incompleta de linajes y lo incorpora en el marco del coalescente multi-especies (Yang y Rannala, 2010). El programa calcula la probabilidad de una hipótesis dada de delimitación de especies a partir de la PP de los árboles enraizados para el conjunto de especies de esa hipótesis. Hice uso del algoritmo que estima simultáneamente el árbol de especies y una hipótesis de delimitación de especies mediante Monte Carlo vía Cadenas de Markov de Salto Reversible (rjMCMC; análisis A11 de Yang, 2015b). Diversos análisis sugieren que los datos utilizados en BPP arrojan mayor información sobre las hipótesis de delimitación de especies que sobre su filogenia, por lo cual se prefiere dar flexibilidad a la filogenia sin fijar un árbol guía (Yang y Rannala, 2014; Yang 2015b). BPP utiliza como archivo de entrada las secuencias de cada *locus* y la asignación de individuos a cada especie. Ya que alelos diferentes de un mismo individuo tienen un patrón coalescente diferente, BPP después “olvida” la asignación de los individuos a las especies y sólo toma en cuenta las secuencias para cada especie (Yang, 2015a).

El programa intenta unir a varias de las “especies” propuestas por el usuario en una sola, pero nunca separarlas. Por lo tanto, BPP se considera un método de validación, ya que requiere de hipótesis de especies definidas *a priori* (Carstens et al., 2013). Asimismo, en presencia de flujo génico significativo entre especies potencialmente distintas tiende a considerar éstas como una sola especie. Por tanto, BPP cae dentro de la categoría de métodos “agrupadores”, pudiendo subestimar el número de especies (Yang y Rannala, 2010). De cualquier manera, si el flujo génico es mínimo el método propondrá la existencia de dos especies. Adicionalmente, la presencia de flujo génico considerable entre poblaciones tradicionalmente consideradas como especies distintas puede ser tomado como evidencia de que solo se trata de una especie (Yang y Rannala, 2010; Zhang et al., 2011).

Para el análisis de BPP utilicé las matrices que contienen las muestras de *P. brevis* y las especies más cercanamente relacionadas para las cuales tenía secuencias de todos los *loci* (ver abajo). La razón de esto es que BPP asume que las secuencias son muy cercanas entre sí asignándoles el modelo evolutivo JC (Yang, 2015a). Reconstruí los haplotipos correspondientes a las secuencias heterocigotas del nDNA usando el algoritmo PHASE (Stephens et al., 2001) implementado en DnaSP 5 (Librado y Rozas, 2009). Todas las bases de todos los haplotipos fueron recuperadas con un nivel de confianza de 0.95.

Puse a prueba con BPP las hipótesis de delimitación de especies obtenidas mediante WP y GMYC. Probé dichas hipótesis variando la distribución gamma $G(\alpha, \beta)$ de los priores para el tamaño poblacional (θ) y tiempo de divergencia (τ), donde α / β equivale a la media y α / β^2 a la varianza de G. Consideré tres (1, 2 y 3) escenarios evolutivos siguiendo a Leaché y Fujita (2010): 1) tamaños poblacionales ancestrales grandes y divergencias profundas con los priores $\theta \sim G(1, 10)$ y $\tau \sim G(1, 10)$; 2) tamaños poblacionales ancestrales pequeños y divergencias recientes con los priores $\theta \sim G(2, 2000)$ y $\tau \sim G(2, 2000)$; y 3) tamaños poblacionales grandes y divergencias recientes con los priores $\theta \sim G(1, 10)$ y $\tau \sim G(2, 2000)$. Este último escenario es el más conservador, favoreciendo hipótesis con menor número de especies (Leaché y Fujita, 2010). El árbol inicial para cada análisis se basó en el árbol de mtDNA. Corrí dos análisis independientes para cada escenario por 500,000 generaciones, con un periodo de burn-in de 10,000 generaciones y muestreo cada 5. Los resultados entre ambas corridas fueron consistentes y la PP de los parámetros varió por menos de una décima. El valor de la PP reportada para cada parámetro equivale al promedio de la PP de ambas corridas. Reporto el modelo (conjunto del árbol de especies y las especies recuperadas) con mayor PP y sobre éste la PP para cada especie. Considero a las poblaciones que fueron propuestas como especie con una PP igual o mayor a 0.99 como especies potenciales (Leaché y Fujita, 2010; Rannala y Yang, 2013).

IDENTIFICACIÓN DE BARRERAS PARA EL FLUJO GÉNICO

Con ayuda del software Barrier vs. 2.2 (Manni et al., 2004) identifiqué las barreras para el flujo génico. A partir de las coordenadas de muestreo, el programa crea un mapa donde delimita el vecindario de cada punto de colecta mediante teselaciones de Voronoï y la

triangulación de Delaunay asociada que une a todos los puntos. Posteriormente, se asocia a cada borde de la triangulación un valor equivalente a algún índice de disimilitud entre las muestras conectadas por el borde. La matriz de disimilitud puede ser generada a partir de una variedad de datos, e.g. genéticos, morfológicos o ecológicos. Finalmente, se computan las barreras que marcan los ejes entre los cuales las diferencias entre pares de poblaciones son mayores. Las barreras empiezan a ser dibujadas a través del borde de la triangulación de Delaunay con un valor mayor de disimilitud, se extienden cruzando los bordes que le sigan sucesivamente al primero en valor de disimilitud y terminan al llegar a los límites de la triangulación o al encontrarse con otra barrera o con ellas mismas. Este procedimiento es conocido como algoritmo de Monmonier (Manni et al., 2004).

Obtuve el mapa inicial para la identificación de las barreras al flujo génico en *Plestiodon brevirostris* ingresando en Barrier vs. 2.2 (Manni et al., 2004) las coordenadas de las localidades de colecta para las cuales cuento con secuencias de mtDNA. Posteriormente, ajusté los bordes de los polígonos de la teselación de Voronoï mediante la adición y edición de puntos virtuales, con el fin de conseguir un mapa de distribución con forma de polígono convexo, ideal para el cálculo de las barreras. Para realizar la estimación de las barreras calculé la distancia genética no corregida (p) entre las secuencias de mtDNA. Agrupé a las secuencias provenientes de una misma localidad de colecta y calculé la media de p entre los grupos con ayuda del software MEGA6 (Tamura et al., 2013). Consecutivamente, estimé el número de barreras necesario para observar el mayor número de especies sugeridas por los métodos moleculares de delimitación de especies. Barrier vs. 2.2 (Manni et al., 2004) ordena jerárquicamente a las barreras de acuerdo al valor de disimilitud entre las muestras que las barreras reflejan. Finalmente, superpuse el mapa obtenido en Barrier vs. 2.2 (el cual contiene los puntos de muestreo, la triangulación de Delaunay asociada y las barreras ordenadas jerárquicamente) sobre un mapa de relieve de la República Mexicana.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO

En este trabajo sigo a Taylor (1935) para nombrar las escamas, a excepción de las supralabiales e infralabiales (Fig. 4). Estas últimas escamas fueron referidas por Taylor

(1935) como “upper labials” y “lower labials”, respectivamente. Conté las laminillas subdigitales bajo el dígito IV del pie. Para la nomenclatura de los caracteres de coloración sigo a Dixon (1969) y con región dorsal clara (RDC) me referiré al área dorsal comprendida entre ambas líneas oscuras primarias laterales (LOPL; Fig. 5). Cuando señalo que la RDC involucra a x número de hileras longitudinales de escamas dorsales, el número de escamas completamente ocupadas por la RDC es de $x - 2$, mientras que las otras dos son las hileras más laterales y la RDC sólo ocupa su mitad superior. En algunos ejemplares la línea oscura secundaria superior (LOSS) se hace más angosta y se desvía medialmente. Usualmente, cuando esto ocurre hay entre una y tres líneas oscuras longitudinales delgadas entre la porción angosta de ambas LOSS. Estas líneas fueron llamadas líneas oscuras dorsales (“dorsal dark lines”) por Dixon (1969). Cuando reporto la extensión posterior de la LOSS sólo lo reporto para la porción que no se desvía de la trayectoria que seguía en las porciones anteriores del cuerpo. La revisión de la escutelación se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Registré los caracteres bilaterales en ambos lados. Las mediciones las realicé con un calibrador digital o con un micrómetro adaptado al ocular del microscopio. Medí la longitud hocico-cloaca (LHC) desde el eje medial de la escama rostral hasta el borde posterior de la cloaca con un calibrador digital. Medí la longitud de la cabeza desde el eje medial de la rostral hasta el borde posterior del oído. Todas las dimensiones de las escamas fueron medidas a su máximo. En total revisé 42 caracteres para cada ejemplar: 7 binarios, 9 cualitativos, 14 merísticos y 12 morfométricos. Se calcularon 8 proporciones a partir de los caracteres morfométricos registrados. De la totalidad de los caracteres, 11 corresponden a caracteres de coloración: 1 binario, 8 cualitativos, 1 merístico y 1 morfométrico. Enlisto los caracteres examinados en el Apéndice II.

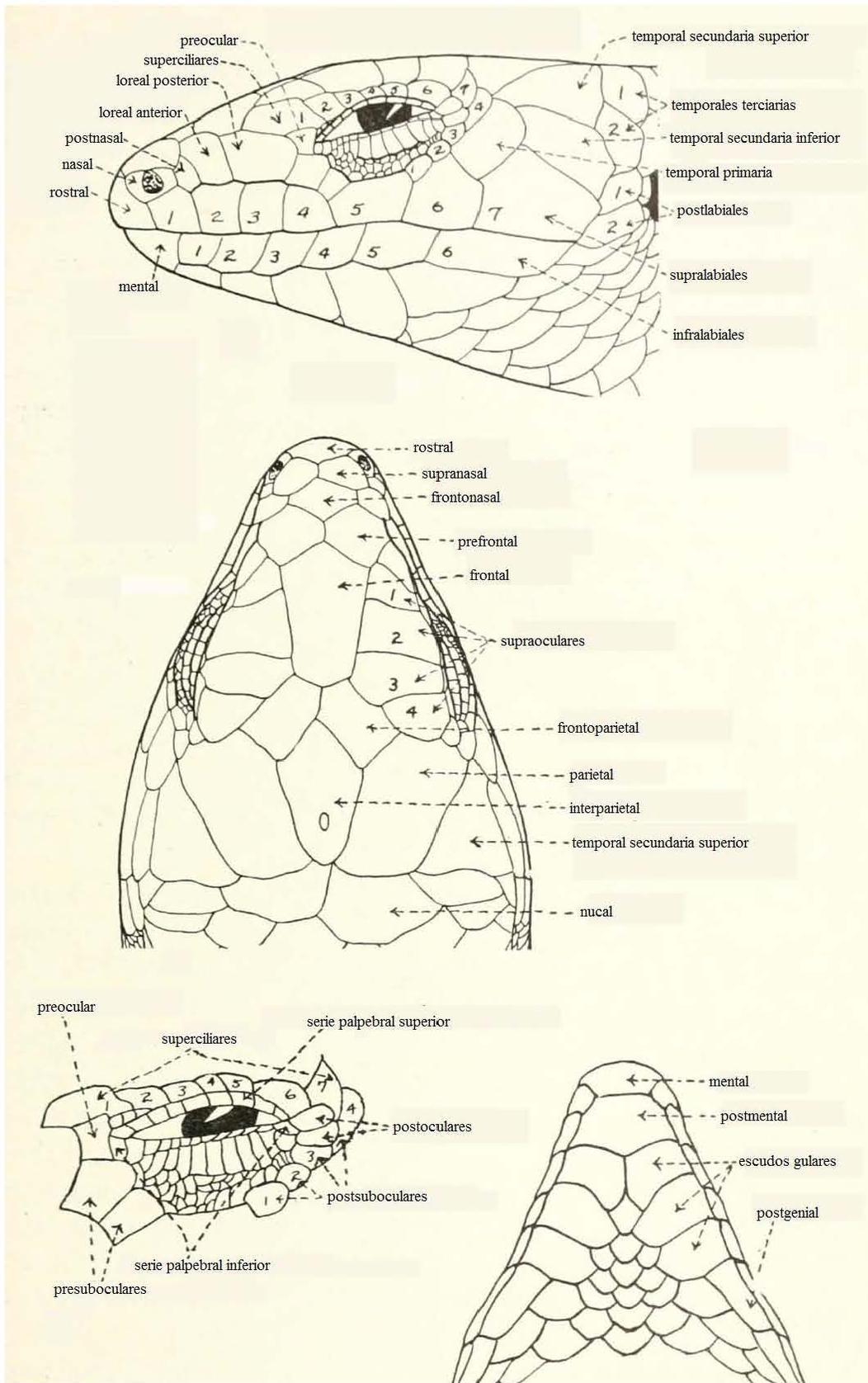


Figura 4. Nomenclatura de la escutelación de la cabeza en *Plestiodon* (modificada de Taylor, 1935).

Analicé los caracteres morfológicos de dos maneras distintas. La primera fue la evaluación de diferencias entre las frecuencias de los estados de carácter entre las especies potenciales sugeridas por WP y GMYC. La segunda fue un ADC. Tradicionalmente, se ha considerado que dos muestras mostrando estados de carácter fijos desiguales (100% vs. 0%) representan a dos especies (Davis y Nixon, 1992; Eldredge y Cracraft, 1980). Sin embargo, esta metodología es problemática, ya que se puede subestimar el número de especies si no se registran los caracteres suficientes y sobreestimarlos si el muestreo no es adecuado (Davis y Nixon, 1992). En este trabajo sigo a Feria-Ortiz et al. (2011) al considerar como diagnósticos aquellos caracteres que se encuentran en proporción 9:1 entre dos muestras. Comparé a *Plestiodon brevirostris* con *P. indubitus* y *P. nietoi*, especies con las que *P. brevirostris* está crecanamente emparentada (Brandley et al., 2012; Feria-Ortiz, 2011; Feria-Ortiz y García-Vázquez, 2012; Feria-Ortiz et al., 2011). Adicionalmente, dividí los ejemplares de *P. brevirostris* en conjuntos para su comparación de tres maneras distintas: entre dos clados mitocondriales principales (Esquema 1), de acuerdo a la delimitación de especies sugerida por WP (Esquema 2) y de acuerdo a la delimitación de especies propuesta por GMYC (Esquema 3).

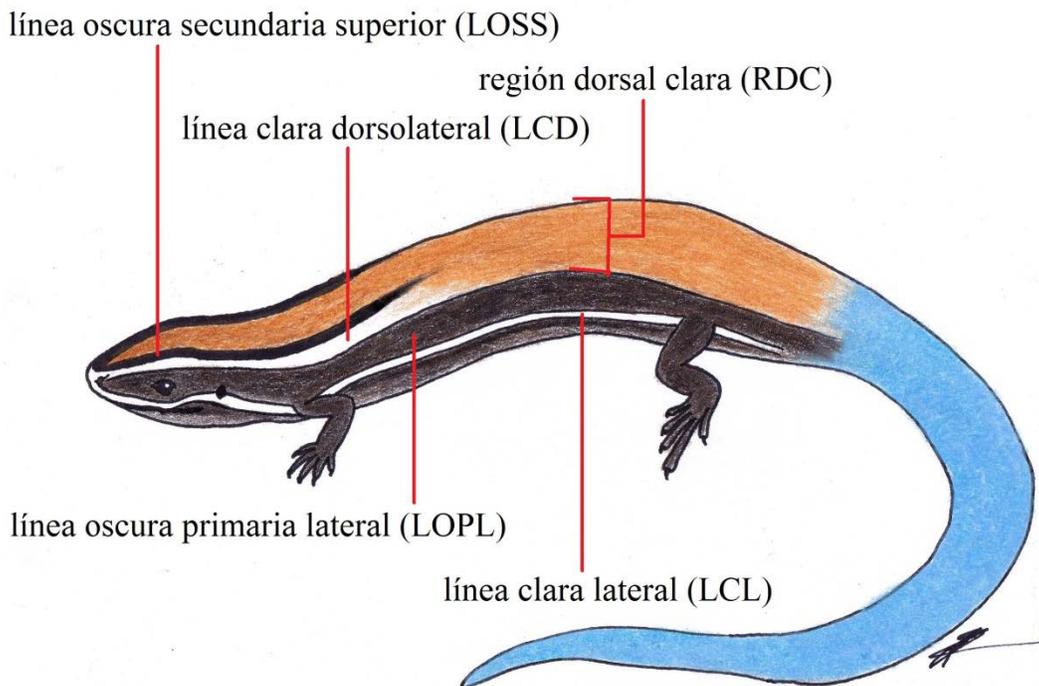


Figura 5. Nomenclatura de los caracteres de coloración en *Plestiodon* utilizada en este trabajo.

El ADC es un método muy relacionado con el análisis de componentes principales (ACP) y al igual que éste busca las combinaciones lineales de variables que mejor explican la varianza (Martínez y Kak, 2001). El ACP busca los vectores (componentes) que mejor describen la varianza en la totalidad de las observaciones sin tomar en cuenta las agrupaciones de individuos (Martínez y Kak, 2001). Al contrario, el ADC incorpora hipótesis de asignación de los individuos a grupos y modela los vectores que maximicen las diferencias entre los grupos (Martínez y Kak, 2001). Una ventaja del ADC con respecto al ACP es que la precisión en la asignación de los individuos a cada uno de los grupos puede ser reportada en una matriz de confusión. En ésta se tabula la asignación de los individuos a cada uno de los grupos *a priori* contra la asignación según el modelo (Kohavi y Provost, 1998). Los individuos encontrados por arriba y por debajo de la diagonal son aquellos que según el modelo se congregan con otro grupo (Kohavi y Provost, 1998). En el ADC incluí todos los caracteres merísticos y morfométricos registrados. Incluí en los análisis solo ejemplares de *Plestiodon brevirostris* y el ejemplar de *Plestiodon* proveniente de Arcelia, Guerrero (MZFC 19787), ya que *P. b. brevirostris* es discernible morfológica y molecularmente del resto de los taxones del grupo *P. brevirostris* (Feria-Ortiz, 2011; Feria-Ortiz y García-Vázquez, 2012; Feria-Ortiz et al., 2011). El ejemplar de Acatlipa, Morelos (CNAR 1774), no fue incluido debido a que presenta daño considerable en la cabeza y cuerpo, impidiendo el cotejo de la mayoría de los caracteres merísticos y morfométricos. Llevé a cabo los análisis en el programa PAST 3 (Hammer et al., 2001). Agrupé a los ejemplares de acuerdo a los tres esquemas mencionados en el párrafo anterior. Reporto las dos variables que aportan más a la separación de los grupos. Grafiqué el diagrama de dispersión entre los dos ejes que contienen la mayor parte de la varianza. Para facilitar la visualización de los grupos grafiqué la envolvente convexa de cada uno.

CONCEPTO DE ESPECIE Y CONGRUENCIA ENTRE MÉTODOS

Históricamente, el uso de un concepto de especie en particular depende del criterio del investigador (Templeton, 1989). De Queiroz (2007) propone que esto se debe a que se ha confundido el problema de la conceptualización de las especies con el de su delimitación,

ya que la mayoría de los conceptos de especie se basan en una forma utilitaria de reconocerlas. De Queiroz (2007) rescata que los conceptos tradicionales de especie coinciden en que le confieren la propiedad de linaje evolutivo y propone un concepto unificado de especie, definiendo a la especie como “linaje de metapoblaciones que evoluciona independientemente”. De esa manera, los criterios tradicionales para definir a las especies (e.g. aislamiento reproductivo, diagnosticabilidad morfológica, compartición de nicho) pasarían a ser criterios para reconocer linajes. La ausencia de ellos no significa que las unidades estudiadas no sean especies, pero la presencia de ellos es evidencia de que lo son. En este trabajo me apegaré al concepto unificado de especie y para reconocer a los linajes independientes me basaré en los resultados de los análisis moleculares de delimitación de especies y del análisis morfológico. En conjunto, los métodos permiten evaluar la existencia de varios de los criterios considerados como evidencia para reconocer linajes independientes (e.g. aislamiento reproductivo, presencia de caracteres diagnósticos, monofilia).

En este trabajo consideraré como especies a aquellos grupos con dos o más miembros muestreados que cumplan con los siguientes tres criterios:

1. Haber sido propuestos como especies por uno o ambos métodos de descubrimiento (WP o GMYC).
2. Ser soportados como especies distintas con una PP alta (> 0.99) por el método de validación (BPP).
3. Conformar muestras morfológicamente distinguibles de otras muestras.

La combinación de análisis moleculares realizados parece adecuada ya que incluye un método que toma en cuenta la procedencia geográfica de las muestras y la incertidumbre causada por el muestreo (WP), un método de descubrimiento que tiende a sobreestimar la diversidad (GMYC) y un método de validación que tiende a subestimarla (BPP). La implementación de un método de descubrimiento y su posterior validación con BPP ha sido llevada a cabo por varios autores (e.g. Barrett y Freudenstein 2011; Setiadi et al., 2011). Adicionalmente, consideraré aspectos ecológicos y geográficos para dar mayor sustento a las hipótesis de delimitación de especies generadas.

RESULTADOS

ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Relaciones filogenéticas de Plestiodon brevirostris

En el mejor esquema de particiones para el fragmento mitocondrial, las particiones y los modelos de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaron a éstas (entre paréntesis) fueron los siguientes: *16S*, *tRNA*'s y 1^{ra} posición de codón del *ND1* (HKY+I+G); 2^{da} posición de codón del *ND1* (HKY+I+G); y 3^{ra} posición de codón del *ND1* (GTR+G). El árbol obtenido mediante el análisis bayesiano del mtDNA (Fig. 6) es muy similar al obtenido por Feria-Ortiz (2011) mediante el mismo método. La monofilia de *Plestiodon* y del grupo *P. brevirostris* se encuentra bien apoyada (PP = 1). Las muestras asignadas a *P. brevirostris* no conforman un grupo monofilético. Con las muestras adicionales incluidas en este estudio, es posible identificar dos clados principales de *P. brevirostris* en el árbol de mtDNA: un clado (Clado A) hermano a *P. nietoi* (relación significativamente apoyada, PP = 0.97) y otro (Clado B) compuesto por las muestras de la Cuenca del Balsas y hermano de *Plestiodon* sp. 3 (relación significativamente apoyada, PP = 1). La relación como taxones hermanos significativamente apoyada del Clado A y de *P. nietoi* también fue recuperada por Feria-Ortiz (2011). *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4 conforman un clado con un valor de apoyo alto (PP = 1). A su vez, como grupo hermano al Clado A y *P. nietoi* aparece *P. indubitus* con un valor de apoyo alto (PP = 1), mientras que como grupo hermano al Clado B y *Plestiodon* sp. 3 aparece un clado conformado por *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4 con un valor de apoyo alto (PP = 1).

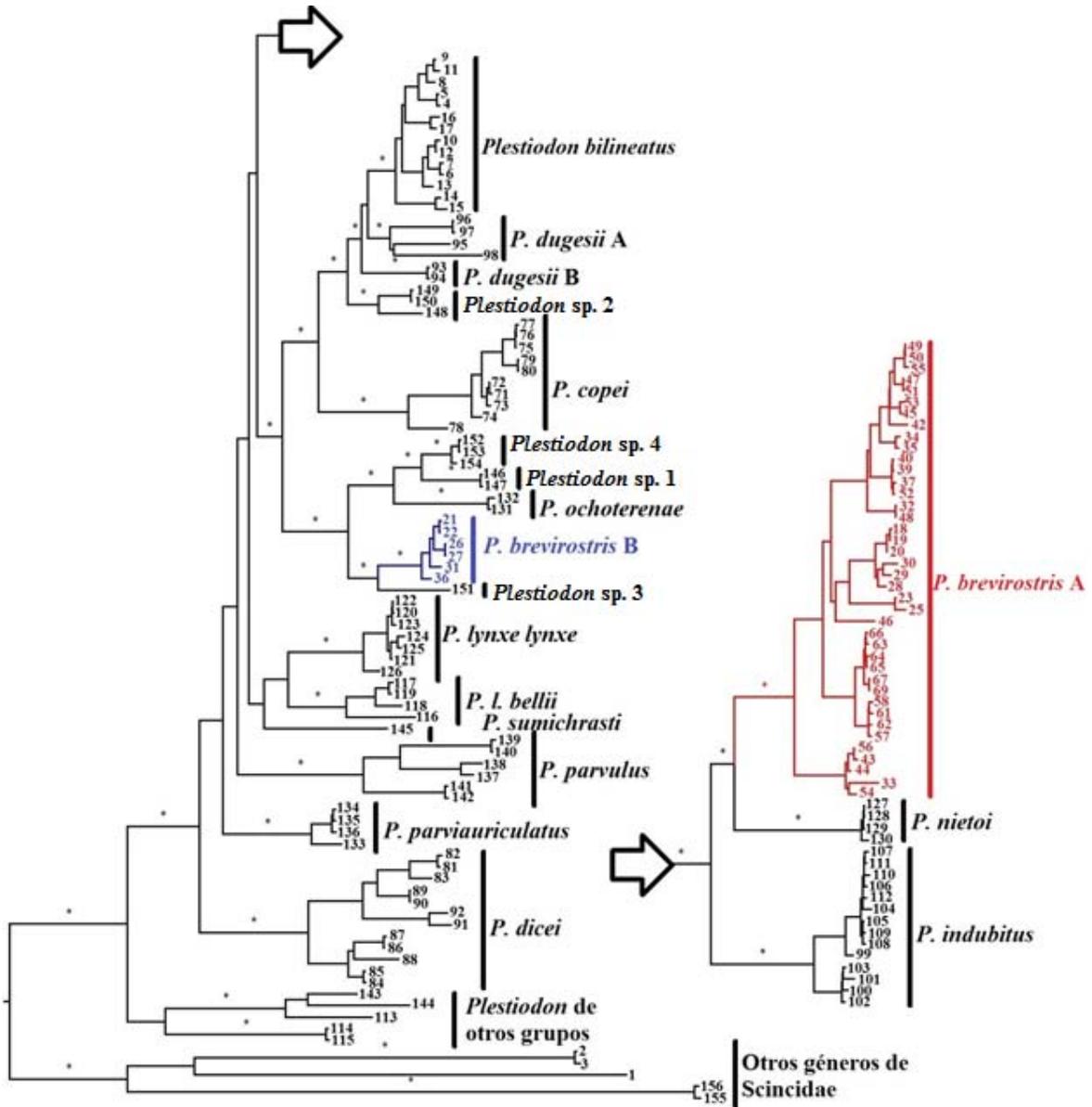


Figura 6. Árbol de MCC obtenido mediante el análisis del mtDNA. Los números corresponden a los del Cuadro 1. Los nodos con asteriscos representan relaciones con una PP mayor que 0.95. En rojo y azul se indican los clados A y B de *Plestiodon brevisrostris*, respectivamente.

Los árboles generados a partir de los análisis de los genes nucleares individuales resultaron en general con bajos valores de apoyo. Sin embargo, el apoyo para la monofilia de *Plestiodon* (PP = 1) y del grupo *P. brevirostris* es significativo (PP = 1 y 0.97, en los árboles de *MKLI* y *R35*, respectivamente). Las particiones en el mejor esquema de particiones y el modelo de sustitución que mejor se ajustó a cada una (entre paréntesis) para la matriz correspondiente al *MKLI* fueron los siguientes: 1ra y 2da posición de codón (K80+G) y 3ra posición de codón (K80). En el árbol correspondiente al gen *MKLI* (Fig. 7) se recuperan nuevamente los clados A y B de *P. brevirostris* con PP de 0.61 y 0.86, respectivamente. De nuevo, se forma un clado que incluye a *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1, y *Plestiodon* sp. 4 (PP = 1), aunque ninguna de estas especies conforma un clado exclusivo. Nuevamente, el Clado A aparece cercanamente relacionado con *P. indubitus* y *P. nietoi* (PP = 0.99), aunque en esta ocasión *P. indubitus* y *P. nietoi* aparecen como grupos hermanos (PP = 0.90). El Clado B aparece de nuevo como grupo hermano de *Plestiodon* sp. 3, aunque con un valor de apoyo bajo (PP = 0.23).

Las particiones en el mejor esquema de particiones y el modelo de sustitución que mejor se ajustó a cada una (entre paréntesis) para la matriz correspondiente al *R35* fueron los siguientes: 1ra y 2da posición de codón (K80+I) y 3ra posición de codón (HKY+G). El árbol correspondiente al gen *R35* (Fig. 8) en general tiene bajos valores de apoyo. Aun así, el Clado B de *P. brevirostris* se recupera con un valor de apoyo alto (PP = 1), así como su relación de grupos hermanos con *Plestiodon* sp. 3, aunque con un valor de apoyo menor (PP = 0.79). Las muestras pertenecientes al Clado A de *P. brevirostris* se encuentran dispersas a lo largo del árbol. Un clado conformado por las muestras de *P. duge sii*, *P. bilineatus* y una muestra de *P. brevirostris* de Macuiltianguis, Oaxaca (ID = 49), tiene un valor de apoyo alto (PP = 0.97). El resto de los clados anidados dentro del grupo *P. brevirostris* tiene valores de apoyo bajos (PP < 0.95).

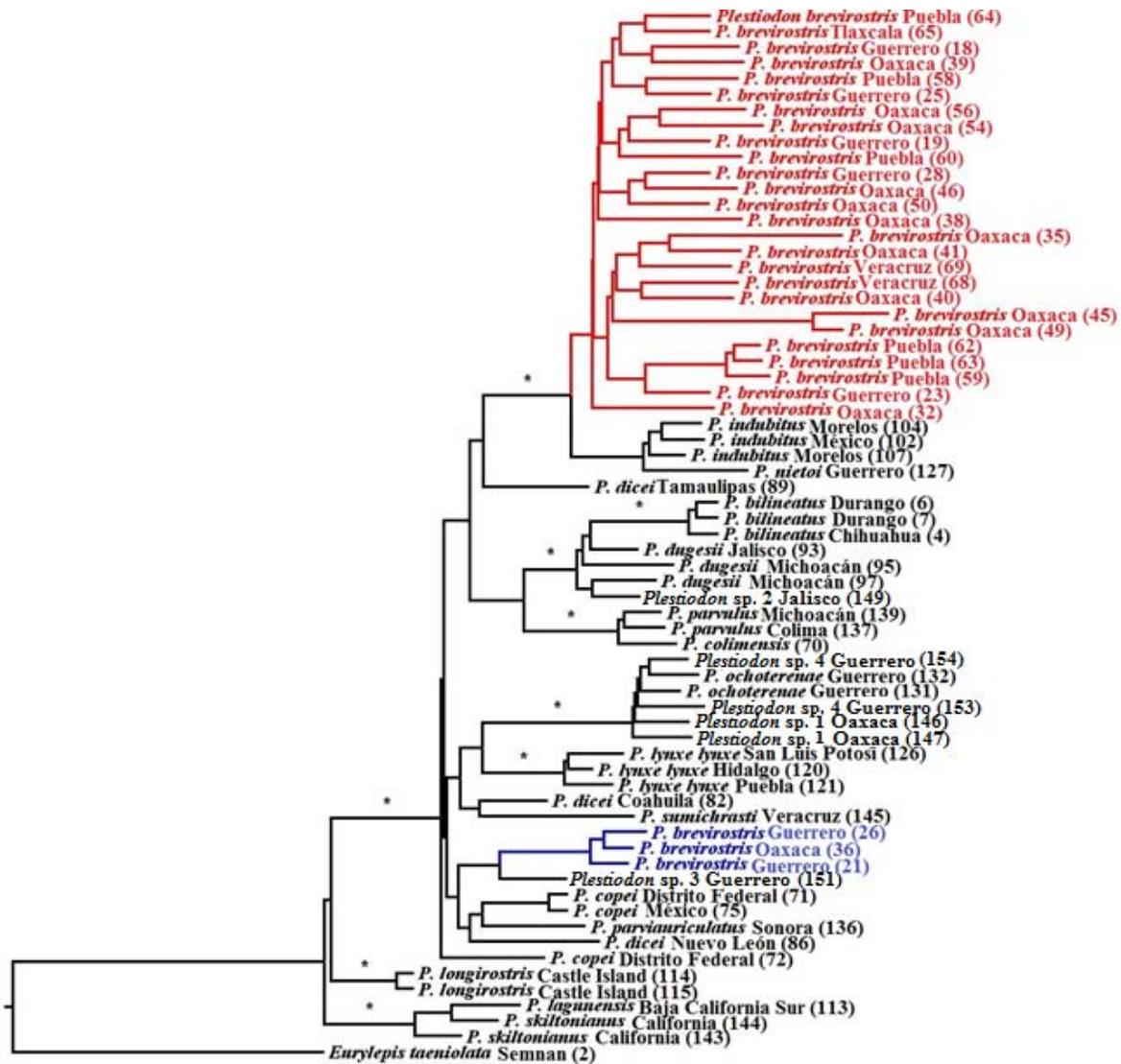


Figura 7. Árbol de MCC obtenido mediante el análisis del gen *MKL1*. El formato es igual al de la Figura 5.

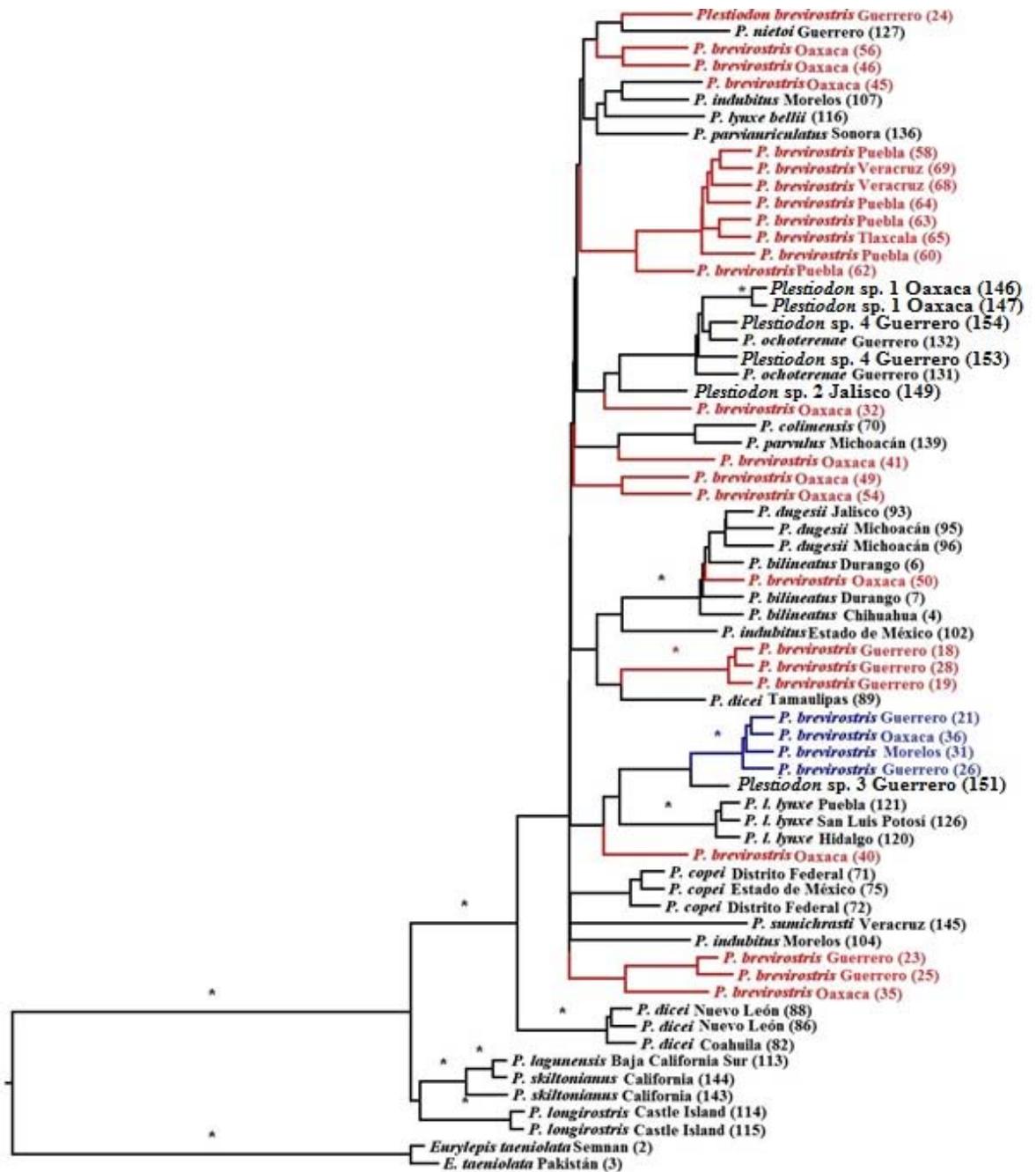


Figura 8. Árbol de MCC obtenido mediante el análisis del gen *R35*. El formato es igual al de la Figura 5.

Para la matriz que incluye a todos los terminales para los cuales secuencié todos los *loci*, PartitionFinder 1.1 (Lanfear et al., 2012) sólo sugirió dos particiones: una correspondiente a la 3^{ra} posición de codón del *ND1* y una correspondiente al resto de los sitios, incluyendo los genes nucleares. Ya que en este trabajo utilizo un esquema de análisis

multi-*locus* diferente a la concatenación, decidí particionar la matriz en cuatro de manera que cada *locus* sea independiente (modelo de sustitución entre paréntesis): una partición para la 3^{ra} posición de codón del *ND1* (TN93+G), una para el resto del mtDNA (K80+I+G), una para el *MKLI* (K80) y una para el *R35* (K80+G). El árbol de especies obtenido en *BEAST es muy similar al obtenido mediante el análisis del mtDNA (Fig. 9). Los clados con valor de apoyo alto son los mismos clados con alto valor de apoyo encontrados en el árbol de mtDNA. El Clado A de *Plestiodon brevirostris* aparece nuevamente cercanamente relacionado con *P. indubitus* y *P. nietoi*, aunque esta vez estas dos últimas especies aparecen como hermanas (PP = 0.49). El Clado B de *P. brevirostris* nuevamente aparece como hermano a *Plestiodon sp. 3* con un valor de apoyo alto (PP = 0.99). Igual que en el árbol de mtDNA, estos dos últimos taxones aparecen como grupo hermano de *P. ochoterenae*, *Plestiodon sp. 1* y *Plestiodon sp. 4* (PP = 0.91).

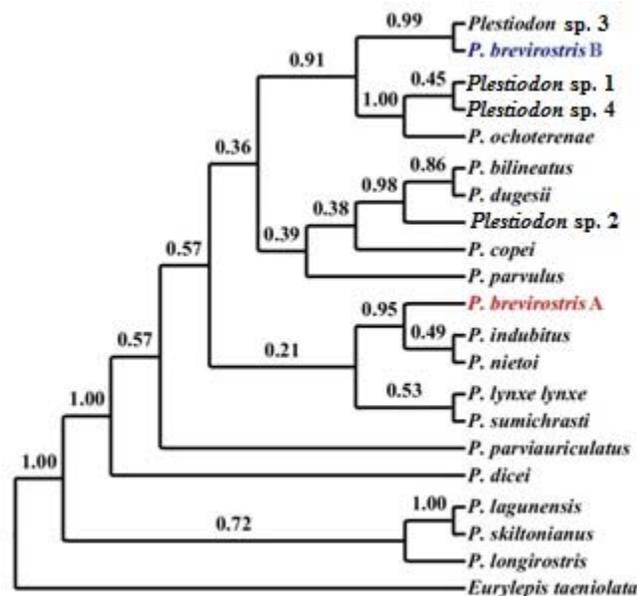


Figura 9. Cladograma mostrando el árbol de especies de MCC obtenido mediante el análisis del mtDNA y los genes nucleares *MKLI* y *R35* asumiendo un modelo coalescente multi-especies como es implementado en *BEAST. En rojo y azul se muestran los clados A y B de *P. brevirostris*, respectivamente. Los números sobre las ramas indican PPs.

Los resultados provenientes de los análisis filogenéticos de las diferentes matrices sugieren lo siguiente: hay dos clados principales de *P. brevirostris* (A y B), el Clado A está cercanamente relacionado con *P. indubitus* y *P. nietoi* y el Clado B con *Plestiodon sp. 3*.

Asimismo, parece probable que el Clado B y *Plestiodon* sp. 3 conformen un grupo monofilético junto con *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4: el árbol de mtDNA y de especies lo sugieren y adicionalmente todas las secuencias de mtDNA de esos taxones comparten la inserción de un codón justo antes del codón de término del *NDI*.

Estructura al interior de Plestiodon brevirostris

El Clado A de *Plestiodon brevirostris* muestra una clara estructuración geográfica en el árbol de mtDNA (Fig. 6). Se recuperaron los cuatro subclados encontrados por Feria-Ortiz (2011): uno de las cercanías de Ixtlán de Juárez, Oaxaca (IJ); uno de Puebla y Tlaxcala, al que también se suman dos muestras de Veracruz (NE); uno de Guerrero, al cual se suma una muestra del sur de Oaxaca (GO); y uno que contiene todas las muestras de Oaxaca, excepto por esta última muestra y las de IJ (OX). Todos se encuentran significativamente apoyados (PP = 1), excepto por el clado GO (PP = 0.81). IJ aparece como grupo hermano del resto de los subclados (PP = 1, de ambos grupos hermanos). NE aparece como hermano a un clado conformado por GO y OX (PP = 1 y 0.97, de cada grupo hermano, respectivamente).

Las muestras de IJ provienen de las cercanías de Ixtlán de Juárez y Santa María Jaltianguis, en los alrededores de la cuenca del Río Grande (afluente del Río Papaloapan). El clado no muestra estructuración geográfica con valores de apoyo altos. Al interior de NE existen dos clados principales con alto valor de soporte (PP = 1): uno que incluye a las muestras de Tlaxcala, el centro de Puebla y el centro de Veracruz (PTV) y otro a las muestras de la Sierra Negra, en el sureste de Puebla (SN). Las muestras de Veracruz forman un clado exclusivo significativamente apoyado (PP = 1), pero su grupo hermano, que contiene muestras de Tlaxcala y Puebla inter-digitadas, no lo está (PP = 0.54). SN no muestra estructuración geográfica con altos valores de apoyo. GO muestra estructuración geográfica considerable. La muestra de Cerro Nevería, en el sur de Oaxaca, aparece como grupo hermano al resto de las muestras con un valor de soporte intermedio (PP = 0.81). Las muestras de Guerrero forma un clado significativamente apoyado (PP = 1). Dos muestras de los alrededores de Metlatónoc, en el este de Guerrero, forman un clado (PP = 1) hermano a otro que contiene muestras de Chalma y del Parque Estatal Omiltemi y

alrededores (PP = 1). Las muestras de Chalma forman un clado exclusivo significativamente apoyado (PP = 1), pero su grupo hermano no lo está (PP = 0.61). OX también muestra estructuración considerable. Una muestra de Santa Lucía Monteverde, en el oeste del estado, y una de Santo Tomás Teipán, en el sur, forman un clado (PP = 1) hermano al clado que contiene el resto de las muestras (PP = 0.63). Muestras de San Isidro Buenos Aires, en el norte del estado, forman un clado exclusivo (PP = 1) hermano a un clado que contiene muestras de las montañas que rodean los Valles Centrales de Oaxaca, la Sierra de Juárez y la porción este de la Sierra Madre del Sur (SMS; PP = 1). Este último clado no muestra clara estructuración geográfica a pesar de contener varios subclados significativamente apoyados, ya que muestras de localidades discordantes aparecen como cercanamente relacionadas. Llama la atención que las muestras de *Plestiodon brevirostris* de la SMS aparecen dispersas en diferentes subclados de GO y OX.

El Clado B está conformado por muestras provenientes de la Depresión del Balsas. Este clado también muestra estructuración geográfica en el árbol mitocondrial (Fig. 6), aunque desafortunadamente sólo se cuenta con un representante de las poblaciones de Sierra de Huautla, Morelos (HU), y Santiago Tamazola, Oaxaca (TA), respectivamente. La muestra de Oaxaca aparece como hermana de un clado que contiene la muestra de Morelos y cuatro muestras de Xixila, Guerrero (PP = 1). Las muestras de Xixila (XI) forman un clado exclusivo (PP = 0.95). Al interior del clado de Xixila hay dos subclados significativamente apoyados (PP = 1), pero sin relación con la distancia entre los puntos de colecta de las muestras.

En los árboles de nDNA en general no se aprecia estructuración geográfica en los clados A y B. En el árbol del gen *MKLI* (Fig. 7) ambos clados forman grupos exclusivos, pero las relaciones al interior de ellos no están significativamente apoyadas y los clados formados no tienen consistencia geográfica. En el árbol del gen *R35* (Fig. 8) sólo el Clado B es exclusivo (PP = 1), mientras que las muestras del Clado A se encuentran dispersas al interior del grupo *Plestiodon brevirostris*. Sin embargo, llama la atención que las muestras de NE, de Chalma-Omiltemi, y de Metlatónoc forman clados exclusivos con valores de soporte variables (PP = 0.2, 1 y 0.74, respectivamente). Excluyendo a una muestra de los alrededores de Zoquitlán, Puebla (MZFC 16480), el apoyo para NE aumenta considerablemente (PP = 0.81).

DELIMITACIÓN DE ESPECIES BASADA EN SECUENCIAS DE DNA

Delimitación de especies mediante WP

Al considerar como especie focal a *Plestiodon brevirostris* para WP es claro que estamos tratando con al menos dos especies distintas, ya que sus haplotipos forman dos grupos exclusivos distantemente relacionados entre sí. Al tratar como especie focal al Clado A, la filogenia mitocondrial sugiere la presencia de varias especies en su interior (Fig. 10), ya que se forman varios clados exclusivos significativamente apoyados (Fig. 11). Los clados basales, IJ y su grupo hermano conformado por el resto de los subclados dentro del Clado A, se encuentran significativamente apoyados y tienen congruencia geográfica, sugiriendo el status específico de IJ. Al interior del clado (NE (GO+OX)), nuevamente los clados basales tienen congruencia geográfica y están significativamente apoyados. Al interior de NE los clados basales tienen congruencia geográfica y esán significativamente apoyados, sugiriendo el estado específico de PTV y SN. Los clados basales al interior de PTV y SN no están significativamente soportados, sugiriendo la coespecificidad de las poblaciones que lo componen. Los grupos basales del clado GO+OX no están significativamente apoyados y la aparición de una muestra de Oaxaca como hermana a la del resto de Guerrero sugiere que existe flujo génico entre las muestras provenientes de ambos estados (aunque la PP que sugiere esta relación es menor a 0.95). Con base en lo anterior WP sugiere que las muestras de GO y OX son co-específicas. Sin embargo, las relaciones de la muestra de Oaxaca que aparece como hermana a las muestras de Guerrero son inciertas y el muestreo es deficiente para varias localidades. Por lo tanto, las conclusiones aquí alcanzadas acerca de los límites de especies al interior GO+OX deben ser tomadas como preliminares.

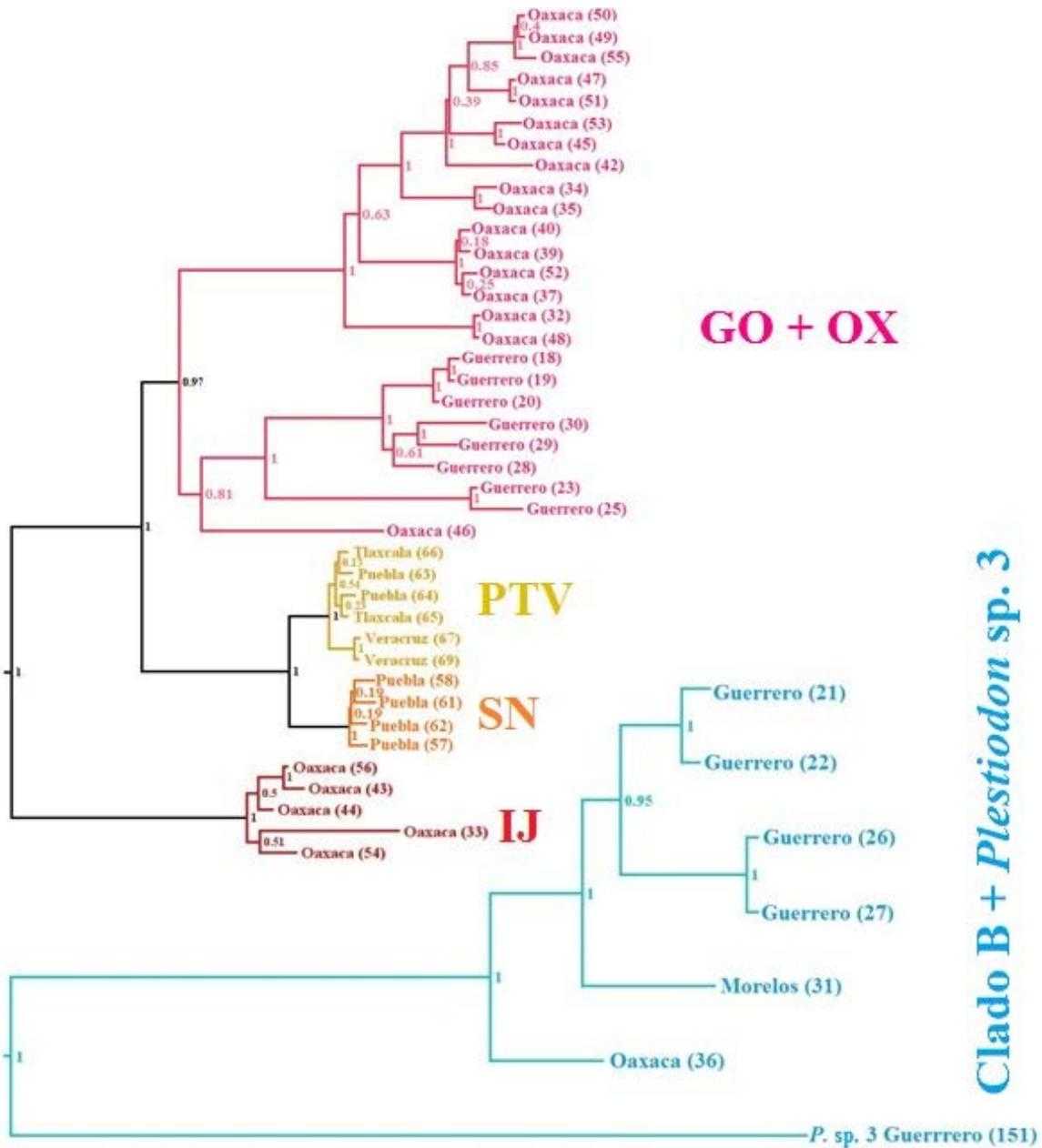


Figura 10. Hipótesis de límites de especies mediante WP. Arriba se muestra el Clado A de *Plestiodon brevisrostris* y abajo el Clado B y *Plestiodon* sp. 3. Cada especie potencial se muestra en un color diferente. Los números de los terminales corresponden a los del Cuadro 1. Los números sobre las ramas indican PPs.

Al tratar como especie focal para WP al clado B no se puede proponer ni su independencia evolutiva con respecto a *Plestiodon* sp. 3 ni la existencia de varios linajes independientes en su interior, ya que sólo se cuenta con una muestra de *Plestiodon* sp. 3 y de HU y TA, respectivamente (Figs. 10 y 11). Si se considera como especie focal al clado

Plestiodon sp. 3 + *P. brevirostris* B es claro su status específico, ya que éste y su grupo hermano (conformado por *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4) están significativamente apoyados (PP = 1, en ambos). De tal manera, WP sugiere la coespecificidad de *Plestiodon brevirostris* B y *Plestiodon* sp. 3 y la independencia entre éstos y su grupo hermano (Fig. 10).

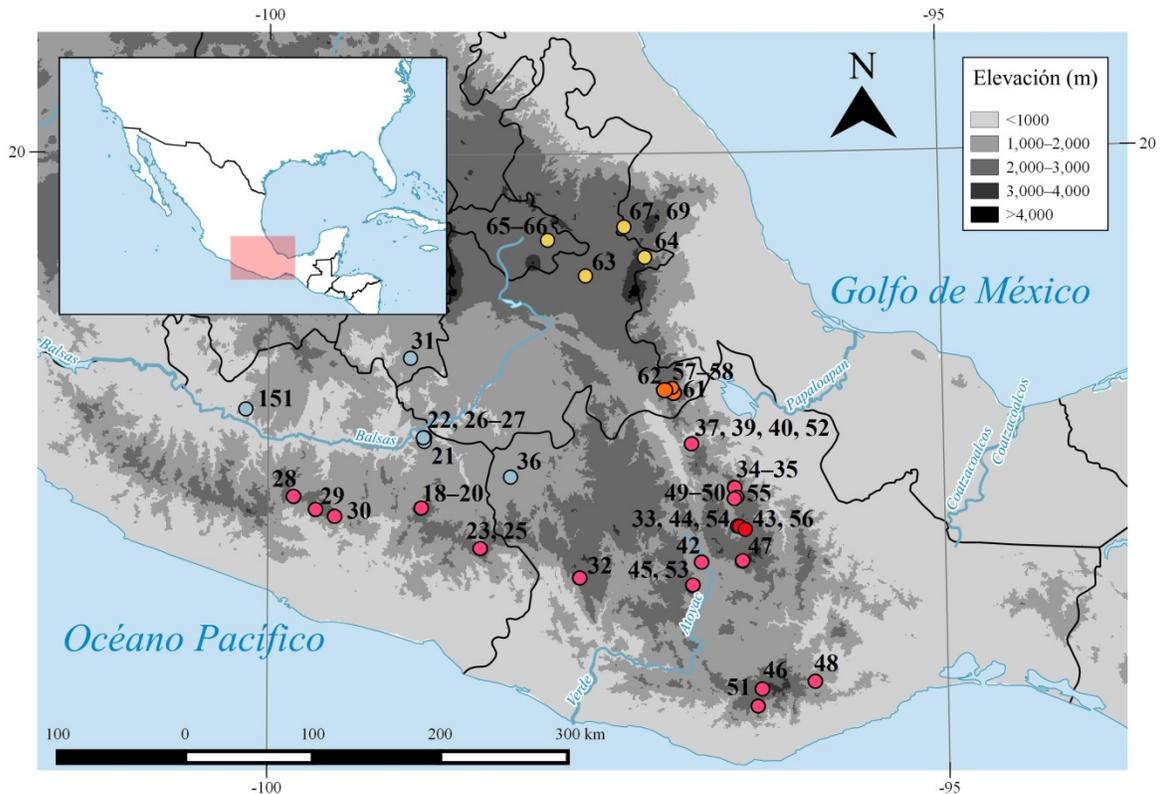


Figura 11. Distribución geográfica de las especies propuestas mediante WP. Los números corresponden a los del Cuadro 1. Los colores de los puntos corresponden a las “especies” de la Fig. 10. Las líneas negras representan los límites estatales en el mapa principal y los límites nacionales en el recuadro.

Delimitación de especies mediante GMYC

Basándome en los resultados previos consideré para este análisis dos matrices, que incluyen cada una un clado de *Plestiodon brevirostris* y sus especies más cercanamente relacionadas con cada uno de éstos. De tal manera, una matriz incluyó a *P. brevirostris* A, *P. indubitus* y *P. nietoi*. La otra incluyó a *P. brevirostris* B, *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1, *Plestiodon* sp. 3 y *Plestiodon* sp. 4. Para la primera matriz, PartitionFinder 1.1 (Lanfear et al., 2012)

sugirió cuatro particiones (modelo de sustitución que mejor se ajusta a cada partición entre paréntesis): *16S*, *tRNA-Gln*, *tRNA-Met* y 1^{ra} posición de codón del *NDI* (HKY+G); *tRNA-Leu* y *tRNA-Ile* (K80+I+G); 2^{da} posición de codón del *NDI* (HKY+I); y 3^{ra} posición de codón del *NDI* (GTR+G). Para la segunda matriz, sugirió las siguientes (modelo de sustitución que mejor se ajusta a cada partición entre paréntesis): *16S*, tRNA's y 1^{ra} posición de codón del *NDI* (HKY+I); 2^{da} posición de codón del *NDI* (HKY+I); y 3^{ra} posición de codón del *NDI* (HKY+I).

El método GMYC reconoció cinco especies al interior de *Plestiodon brevirostris* A (Figs. 12 y 13). IJ, NE y OX fueron reconocidos como especies distintas. Mientras tanto, GO fue subdividido en dos especies: la muestra de Cerro Nevería, Oaxaca, fue reconocida como una especie distinta al resto de las muestras de GO. Adicionalmente, *P. indubitus* y *P. nietoi* fueron reconocidos como especies distintas.

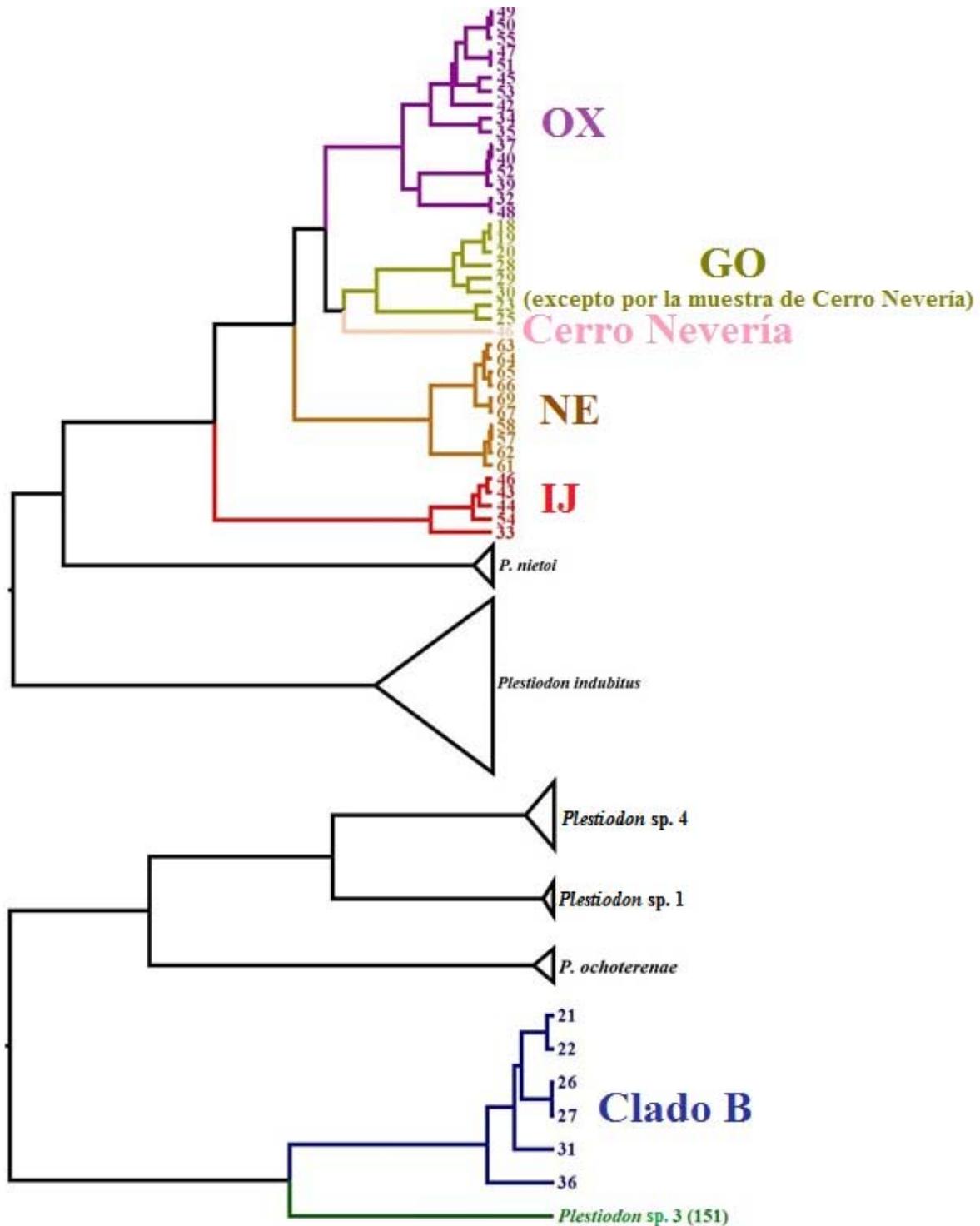


Figura 12. Delimitación de especies mediante GMYC para *Plestiodon brevirostris* y especies cercanamente relacionadas. Arriba se muestra el Clado A y especies cercanamente relacionadas y abajo el Clado B y especies cercanamente relacionadas. Los clados que contienen a los otros taxones fueron colapsados. Cada especie potencial se muestra en un color diferente. Los números corresponden al Cuadro 1.

En cuanto al Clado B, el método reconoció solamente una especie (Figs. 12 y 13). En este caso, el método propone que *Plestiodon* sp. 3 es una especie distinta a *P. brevirostris* B. Adicionalmente, *P. ochoterena*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4 fueron reconocidas cada una como especies distintas.

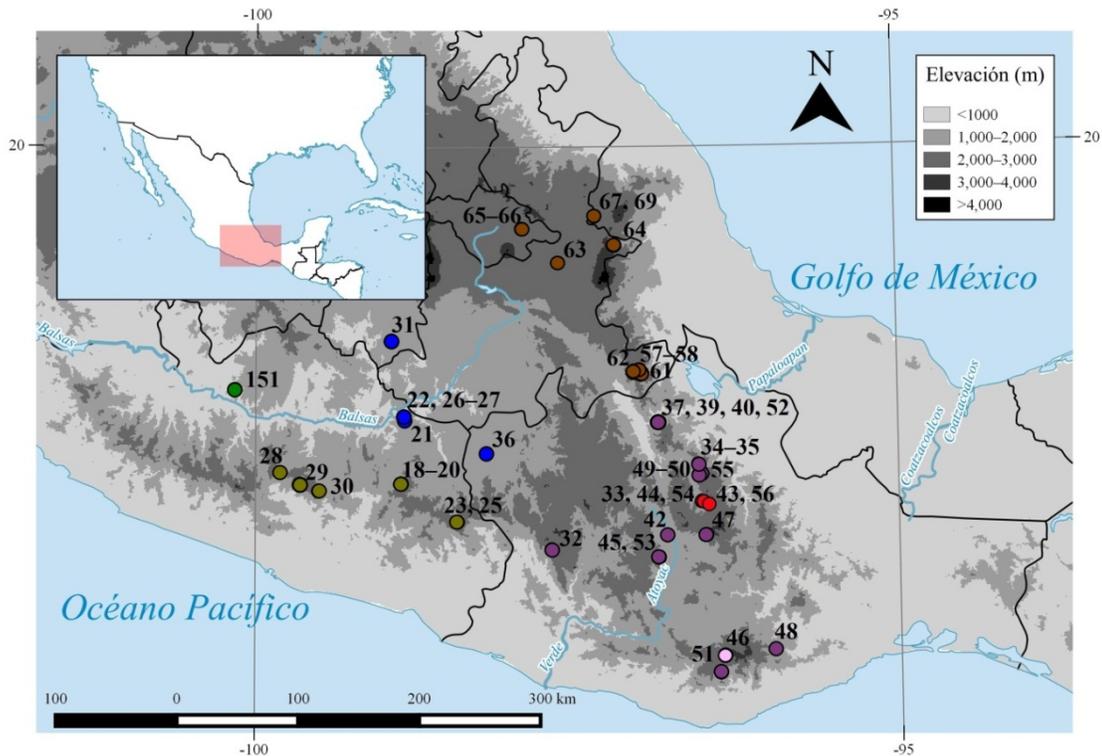


Figura 13. Distribución geográfica de las especies propuestas mediante GMYC. Los números corresponden al Cuadro 1. Los colores de los puntos corresponden a aquellos de las “especies” de la Fig. 12. Las líneas negras representan los límites estatales en el mapa principal y los límites nacionales en el recuadro.

Delimitación de especies mediante BPP

Poniendo a prueba la hipótesis de cuatro especies potenciales obtenida mediante WP para el clado A, el modelo de delimitación de especies con mayor PP obtenido mediante BPP incluye entre tres (escenarios 1 y 3) y cuatro especies (Escenario 2; Fig. 14). Adicionalmente, en todos los escenarios *Plestiodon indubitus* y *P. nietoi* aparecen como especies distintas con una PP alta (Fig. 14). La PP apoyando la presencia de cinco especies (*P. indubitus*, *P. nietoi*, IJ, NE y GO+OX) fue de 0.82 y 0.78 para los escenarios 1 y 3, respectivamente. La PP apoyando la presencia de seis especies (*P. indubitus*, *P. nietoi*, IJ,

GO+OX, SN y PTV) fue de 0.78 para el Escenario 2. Cuando se recuperaron cinco especies las dos especies putativas sugeridas por WP al interior de NE (PTV y SN) fueron colapsadas como una sola. Cuando se recuperaron seis especies PTV y SN fueron mantenidos como especies distintas. La topología del árbol de especies del modelo con mayor PP es igual para los escenarios 1 y 3: *P. indubitus* y *P. nietoi* forman un clado; el grupo hermano a este clado es *P. brevisrostris* A; GO+OX y NE son grupos hermanos e IJ es hermano a éstos. La PP para este modelo fue de 0.10 y 0.06 para los escenarios 1 y 3, respectivamente. La topología del árbol de especies del modelo con mayor PP para el Escenario 2 es la siguiente: GO+OX aparece como grupo hermano al resto de las especies, *P. indubitus* y *P. nietoi* forman un clado hermano a un clado conformado por IJ y NE; e IJ es hermano a PTV+SN. La PP para este modelo fue de 0.18. A continuación específico cada una de las especies sugeridas por BPP para los tres escenarios (PP para los escenarios 1, 2 y 3, en ese orden, entre paréntesis): *P. indubitus* (0.99, 1, 0.99), *P. nietoi* (0.99, 0.99, 0.99), IJ (1, 0.99, 1), GO+OX (1, 1, 1), NE (0.82, 0.22, 0.79), PTV (0.18, 0.78, 0.21) y SN (0.18, 0.78, 0.21). Nótese que la PP de PTV y SN es menor que la de NE para los escenarios 1 y 3, mientras que es mayor para el Escenario 2.

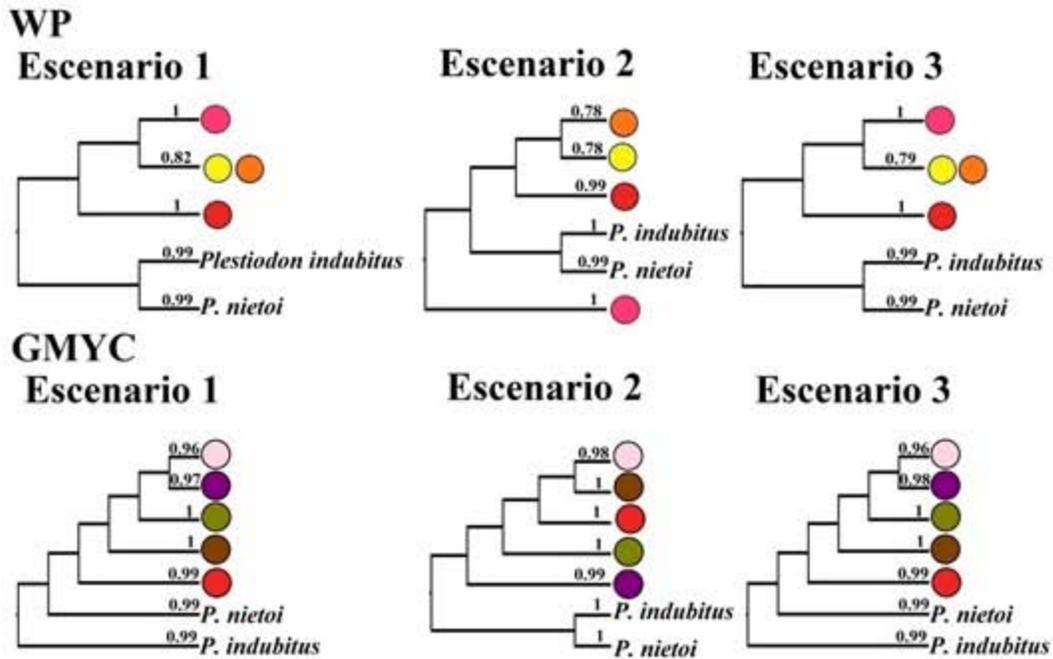
Poniendo a prueba la hipótesis de cinco especies potenciales obtenida mediante GMYC para el clado A, todos los modelos de delimitación de especies con mayor PP obtenidos mediante BPP las reconocen como especies (Fig. 14). Adicionalmente, en todos los escenarios *Plestiodon indubitus* y *P. nietoi* aparecen como especies distintas con una PP alta (Fig. 14). La PP apoyando la presencia de siete especies fue de 0.95, 0.98 y 0.95 para los escenarios 1, 2 y 3, respectivamente. La topología del árbol de especies del modelo con mayor PP es igual para los escenarios 1 y 3, mostrando forma de escalera con el siguiente orden de ramificación (de la especie que aparece como grupo hermano del resto a las dos especies que conforman un clado): *P. indubitus*, *P. nietoi*, IJ, NE, GO (excluyendo a la muestra de Cerro Nevería), la muestra de Cerro Nevería y OX. La PP para este modelo fue de 0.009 y 0.007 para los escenarios 1 y 3, respectivamente. La topología del árbol de especies del modelo con mayor PP para el Escenario 2 es la siguiente: *P. indubitus* y *P. nietoi* forman un clado hermano al resto de las especies; OX aparece como hermano a las especies restantes; GO (exceptuando a la muestra de Cerro Nevería) aparece como hermano a las especies restantes e IJ aparece como grupo hermano a un clado conformado por NE y

la muestra de Cerro Nevería. La PP para este modelo fue de 0.01. A continuación específico cada una de las especies propuestas por BPP para los tres escenarios (PP para los escenarios 1, 2 y 3, en ese orden, entre paréntesis): *P. indubitus* (0.99, 1, 0.99), *P. nietoi* (0.99, 1, 0.99), IJ (0.99, 1, 0.99), GO (1, 1, 1), NE (1, 1, 1), OX (0.97, 0.99, 0.98) y la muestra de Cerro Nevería (0.96, 0.98, 0.96).

WP sugiere que *P. brevirostris* B y *Plestiodon* sp. 3 son coespecíficos y distintos a *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4. Los modelos de delimitación de especies con mayor PP obtenidos mediante BPP reconocen este arreglo (Fig. 14). La PP apoyando la presencia de esas cuatro especies fue de 0.68, 0.99 y 0.81 para los escenarios 1, 2 y 3, respectivamente. La topología del árbol de especies del modelo con mayor PP es igual para todos los escenarios: *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4 forman un clado hermano a *P. brevirostris* B + *Plestiodon* sp. 3 y *Plestiodon* sp. 1 es hermano a un clado conformado por *Plestiodon* sp. 4 y *P. ochoterenae*. La PP para este modelo fue de 0.35, 0.35 y 0.39 para los escenarios 1, 2 y 3, respectivamente. A continuación específico cada una de las especies propuestas por BPP para los tres escenarios (PP para los escenarios 1, 2 y 3, en ese orden, entre paréntesis): *P. brevirostris* B + *Plestiodon* sp. 3 (1, 1, 1), *P. ochoterenae* (0.70, 0.99, 0.82), *Plestiodon* sp. 1 (0.90, 1, 0.96) y *Plestiodon* sp. 4 (0.69, 0.99, 0.83).

GMYC sugiere que *P. brevirostris* B, *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1, *Plestiodon* sp. 3 y *Plestiodon* sp. 4 conforman especies distintas cada uno. Los modelos de delimitación de especies con mayor PP obtenidos mediante BPP reconocen este arreglo (Fig. 14). La PP apoyando la presencia de esas cinco especies fue de 0.52, 0.99 y 0.57 para los escenarios 1, 2 y 3, respectivamente. La topología del árbol de especies del modelo con mayor PP es igual para todos los escenarios: *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4 forman un clado hermano a *Plestiodon* sp. 3 y *P. brevirostris* B y *Plestiodon* sp. 1 es hermano a un clado conformado por *Plestiodon* sp. 4 y *P. ochoterenae*. La PP para este modelo fue de 0.21, 0.13 y 0.21 para los escenarios 1, 2 y 3, respectivamente. A continuación específico cada una de las especies propuestas por BPP para los tres escenarios (PP para los escenarios 1, 2 y 3, en ese orden, entre paréntesis): *P. brevirostris* B (0.76, 0.99, 0.72), *P. ochoterenae* (0.70, 0.99, 0.82), *Plestiodon* sp. 1 (0.90, 1, 0.96), *Plestiodon* sp. 3 (0.76, 0.99, 0.72) y *Plestiodon* sp. 4 (0.69, 0.99, 0.81).

P. brevirostris A y especies
cercanamente relacionadas



P. brevirostris B y especies
cercanamente relacionadas

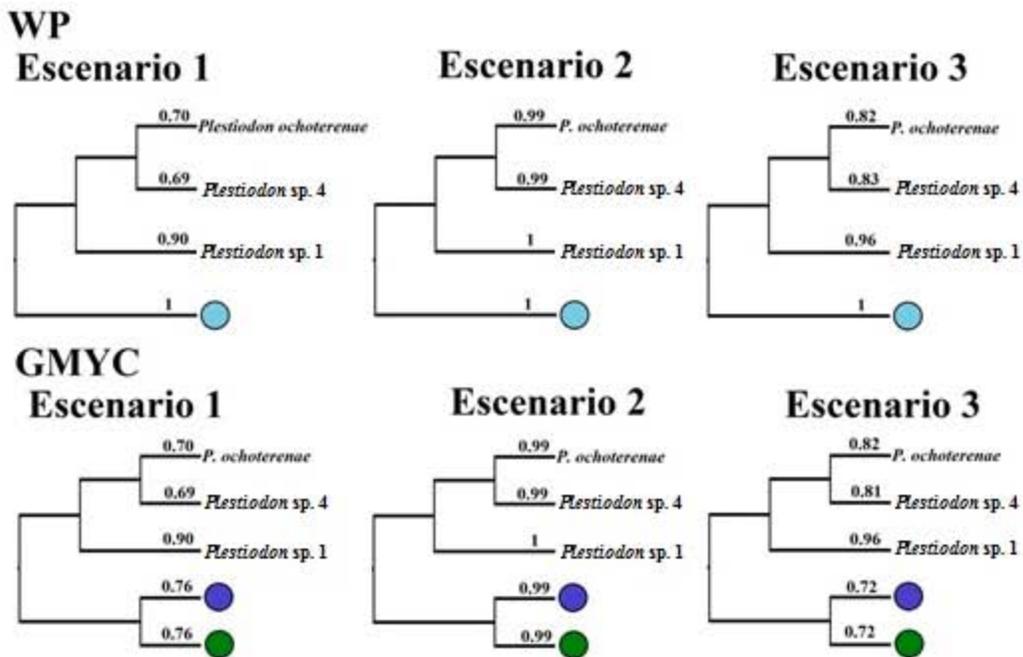


Figura 14. Delimitación de especies mediante BPP para *Plestiodon brevirostris* y especies cercanamente relacionadas. Los colores corresponden a los de las Figs. 10 y 12. Los números sobre las ramas indican la PP para cada una de las especies.

La PP para los modelos de delimitación de especies y para cada una de estas es considerablemente mayor a la PP para el modelo conjunto del árbol de especies y la delimitación de especies, demostrando la incertidumbre que incorpora la fijación de la topología para las hipótesis de delimitación de especies.

IDENTIFICACIÓN DE BARRERAS PARA EL FLUJO GÉNICO

Los métodos moleculares de reconstrucción filogenética y delimitación de especies apoyan la existencia de dos clados de *Plestiodon brevirostris* distantemente relacionados. Por esta razón, en el análisis para la identificación de barreras para el flujo génico consideré por separado a los clados A y B de *P. brevirostris*. Incluí a la muestra de *Plestiodon* sp. 3 en el análisis del Clado B, ya que su coespecificidad con *P. brevirostris* B es probable (ver arriba).

Los métodos moleculares de delimitación de especies en conjunto sugieren que podría haber un máximo de seis especies al interior del Clado A: IJ, OX, PTV, SN y por separado la muestra de Cerro Nevería, Oaxaca, y el resto de las muestras de GO. Consecuentemente, estimé cinco barreras en Barrier vs. 2.2 (Manni et al., 2004). Las barreras obtenidas (mostradas en orden jerárquico) separaron los siguientes conjuntos de muestras (Fig. 15): IJ del resto de las muestras, las muestras de Guerrero de las muestras de OX, la muestra de Cerro Nevería del resto de las muestras, NE de OX y las muestras del resto de GO y las de Metlatónoc. La primera barrera parece corresponder con el cauce del Río Grande, afluente del Río Papaloapan; la segunda pudiera estar conformada por el Río Ometepec, el cual divide a Guerrero y Oaxaca; la tercera pudiera estar conformada por los valles centrales de Oaxaca al norte, mientras que al sur y al este pudiera relacionarse con algunos de los numerosos afluentes del Río Copalita, aunque la correspondencia no es clara; la cuarta parece claramente conformada por el Río Papaloapan; y la quinta pudiera corresponder a alguno de los afluentes del Río Nexpa.

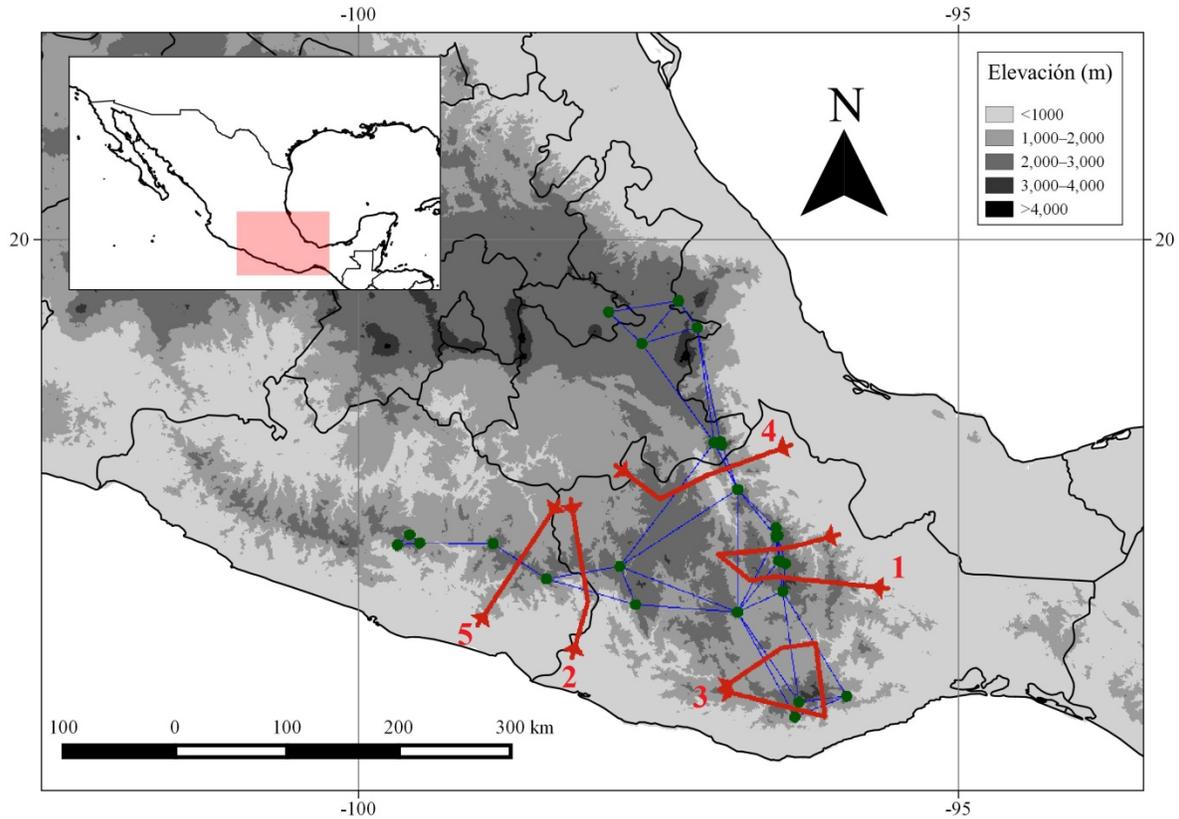


Figura 15. Barreras al flujo génico en *Plestiodon breviostris* A propuestas por Barrier vs. 2.2. Los puntos verdes corresponden a las localidades de muestreo, las líneas azules a la triangulación de Delaunay que une los puntos de muestreo y las líneas rojas las barreras al flujo génico. Los números al lado de las barreras van del 1 al 5 en orden decreciente de jerarquía.

En el caso del Clado B y *Plestiodon* sp. 3, los métodos moleculares de delimitación de especies en conjunto sugieren que como máximo conforman dos especies distintas. Por lo tanto, sólo estimé una barrera en Barrier vs. 2.2 (Manni et al., 2004). La barrera obtenida separa a la muestra de *Plestiodon* sp. 3 de las muestras del Clado B (Fig. 16). Su correspondencia con una barrera geográfica evidente no es axiomática.

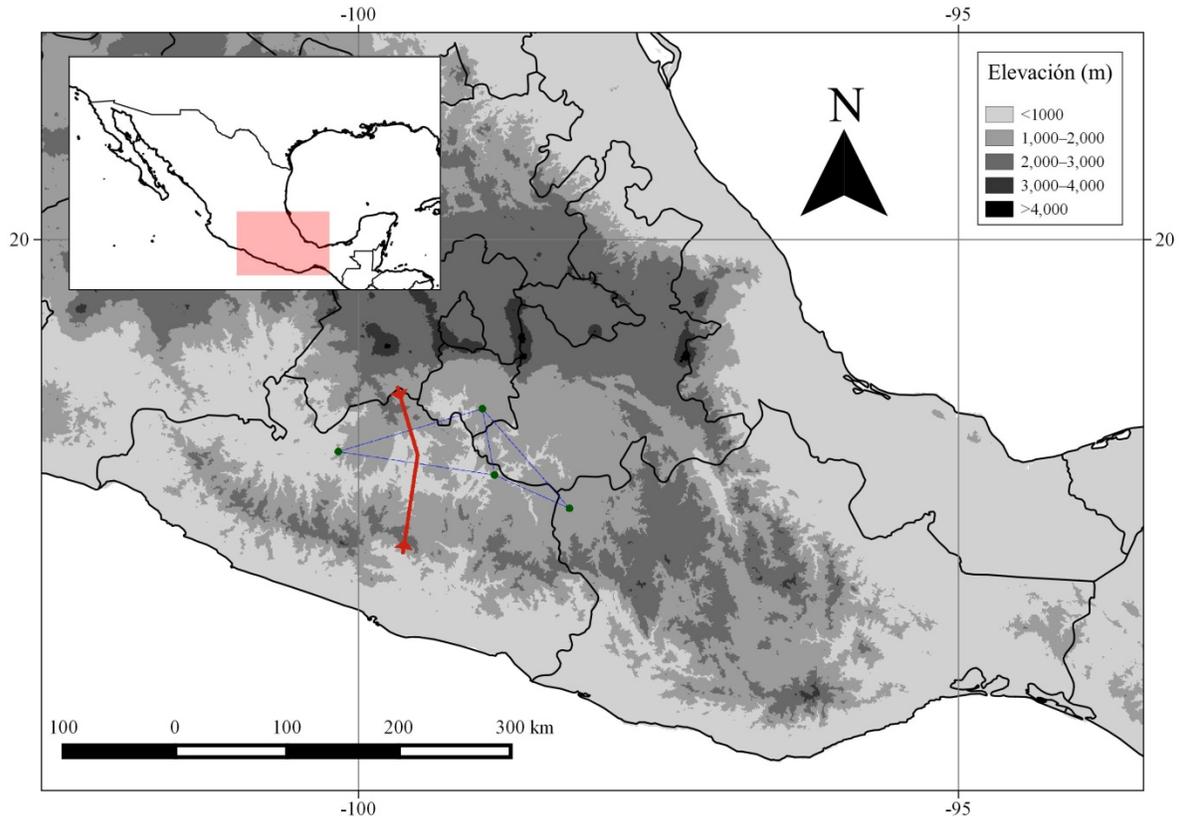


Figura 16. Barrera al flujo génico en *Plestiodon brevirostris* B y *Plestiodon* sp. 3 propuesta por Barrier vs. 2.2. La simbología corresponde a la de la Fig. 17.

MORFOLOGÍA

La asignación de ejemplares no secuenciados a las especies potenciales sugeridas por los análisis anteriormente mencionados es relativamente sencilla de acuerdo a su procedencia geográfica y morfología. Sin embargo, existen complicaciones en algunos casos. Abajo explicaré estas complicaciones y los criterios en los que me baso para asignar ejemplares a las especies potenciales sugeridas por los métodos moleculares de delimitación de especies.

Casi todos los ejemplares de las cercanías de Ixtlán de Juárez, en el valle del Río Grande, son claramente distinguibles del resto de los ejemplares de *Plestiodon brevirostris* A (ver abajo). Sin embargo, el ejemplar ICS 431, de esa región, es más similar a los ejemplares del resto de Oaxaca, pero se agrupa en el árbol de mtDNA con las muestras de Ixtlán. Esto indica la presencia en simpatría de ambas morfoespecies y sugiere que existe introgresión mitocondrial. Desafortunadamente, no cuento con secuencias de nDNA de ICS

431 para poner a prueba esa hipótesis, aunque análisis no publicados basados en datos de secuenciación de nueva generación la apoyan (Robert W. Bryson Jr., com. pers.). Por lo tanto, en este trabajo agrupo al ejemplar ICS 431 con los otros ejemplares del resto de Oaxaca.

Todas las muestras de la SMS de Oaxaca se agrupan con el clado OX en el árbol de mtDNA excepto por la muestra de Cerro Nevería (JAC 21388). Desafortunadamente, no pude examinar al ejemplar del que se extrajo el DNA. Los otros ejemplares de la SMS son más parecidos al resto de los ejemplares del Clado A de Oaxaca que a ninguna otra muestra, por lo cual en ausencia de secuencias decido agruparlos con éstos.

Los ejemplares de *Plestiodon* de Morelos asignados a *Plestiodon brevirostris* por Dixon (1969) y Feria-Ortiz et al. (2011) son los únicos de los provenientes de la Cuenca del Balsas mencionados en publicaciones revisadas por pares. El ejemplar más cercano a éstos e incluido en los análisis moleculares en este trabajo es el proveniente de Sierra de Huautla, Morelos. Los análisis previos sugieren su coespecificidad con todas las otras muestras secuenciadas de la Cuenca del Balsas excepto por la muestra de Arcelia, Guerrero, según GMYC. Las características morfológicas de *Plestiodon* sp. 3 caen dentro de la variación registrada para los demás ejemplares secuenciados de la Cuenca del Balsas. Consecuentemente, no es posible asignar confiablemente ejemplares a *P. brevirostris* B o *Plestiodon* sp. 3 sin realizar análisis moleculares. El único ejemplar asignable inequívocamente a lo que Feria-Ortiz (2011) denominó *Plestiodon* sp. 3 es el ejemplar de Arcelia, mientras que las muestras pertenecientes a *P. brevirostris* B provienen de un área amplia. De representar *Plestiodon* sp. 3 a una especie distinta es probable que sea microendémica. Por lo tanto, en las comparaciones morfológicas referidas abajo incluyo a todos los ejemplares de la Cuenca del Balsas dentro de *P. brevirostris* B, excepto por el ejemplar de Arcelia.

Comparación con Plestiodon indubitus y P. nietoi

Plestiodon brevirostris A ($n = 122$) se diferencia de *P. indubitus* ($n = 32$) por presentar un menor porcentaje de individuos en los cuales la interparietal está bordeada posteriormente por las parietales (17.21%, contra 93.75% en *P. i ndubitus*), un menor porcentaje de

individuos con la RDC abarcando ocho hileras longitudinales de escamas dorsales (9.02%, contra 100%) y por tener la LCL claramente discernible de la coloración clara del vientre por una línea oscura (contra esta condición presente sólo en el 9.38% de la muestra de *P. indubitus*). De *P. nietoi* ($n = 13$), *Plestiodon brevirostris* A se diferencia por presentar un menor porcentaje de individuos en los cuales la interparietal está bordeada posteriormente por las parietales (17.21%, contra 100% en *P. nietoi*), un mayor número de hileras transversales de dorsales en promedio (50–63, $X = 56.84 \pm 2.07$, contra 47–51, $X = 50 \pm 0.90$, en *P. nietoi*) y un menor número de laminillas subdigitales en promedio (10–16, $X = 11.88 \pm 1.20$, contra 13–15, $X = 14.30 \pm 0.80$, en *P. nietoi*).

Como es de esperarse dada la relativamente lejana relación de *Plestiodon brevirostris* B con *P. indubitus* y *P. nietoi*, la primera es fácilmente distinguible de las últimas. *Plestiodon brevirostris* B se distingue de *P. indubitus* y *P. nietoi* por tener la zona supralabial, infralabial y gular clara inmaculada (contra presencia de pigmento oscuro en al menos alguna de estas zonas en *P. indubitus* y *P. nietoi*). Adicionalmente, se distingue de *P. nietoi* por tener la LCL parcial o totalmente fusionada con la región ventral clara a la altura del cuello (contra LCL claramente distinguible en *P. nietoi* a la altura del cuello).

Esquema 1: *Plestiodon brevirostris* A y B

La morfología apoya la existencia de dos clados relativamente lejanamente relacionados de *Plestiodon brevirostris* (Cuadro 2). La muestra perteneciente al Clado B ($n = 12$) es relativamente homogénea y se diferencia de las muestras de *P. brevirostris* A ($n = 122$) por presentar los siguientes estados de carácter: escama interparietal bordeada posteriormente por las parietales (contra esta condición presente sólo en el 17.21% de la muestra de *P. brevirostris* A), un menor número de hileras transversales de dorsales en promedio (51–57, $X = 53.25 \pm 1.86$, contra 50–63, $X = 56.84 \pm 2.07$, en *P. brevirostris* A), un mayor número de laminillas subdigitales en promedio (13–15, $X = 13.79 \pm 0.59$, contra 10–16, $X = 11.88 \pm 1.20$, en *P. brevirostris* A), las zonas supralabial, infralabial y gular claras inmaculadas (contra presencia de pigmento oscuro en al menos alguna de estas zonas en *P. brevirostris* A), un menor porcentaje de individuos en los cuales la LOSS termina posteriormente más allá del nivel de la axila (25%, contra 66.39% en *P. brevirostris* A), línea clara lateral

(LCL) confundida total o parcialmente con la región clara ventral (contra LCL claramente discernible de la región clara ventral en *P. brevirostris* A) y la RDC abarcando ocho hileras longitudinales de escamas dorsales en todos los ejemplares (contra esta condición presente sólo en el 9.02% de la muestra de *P. brevirostris* A). La coloración de la zona supralabial, infralabial y gular, la condición de la LCL a la mitad en el cuello y el ancho de la RDC califican como caracteres diagnósticos.

El individuo proveniente de la Sierra de Huautla, Morelos (ANMO 3789), muestra características únicas con respecto a los otros ejemplares examinados: presenta una escama postnasal y la sexta supralabial se encuentra dividida longitudinalmente. Uno de los individuos de las cercanías de Petatlán, Guerrero (CNAR 24264), carece de frontonasal. En todo lo demás ambos ejemplares son muy similares al resto de la muestra del Clado B. Feria-Ortiz et al. (2011) reportaron que la LCL era claramente discernible al nivel de la mitad del cuello en el ejemplar de Acatlipa, Morelos (CNAR 1774), asignado a *Plestiodon brevirostris brevirostris*. Sin embargo, yo encontré que si bien las hileras de escamas que usualmente se encuentran ocupadas por la LCL son claras no se aprecia la diferenciación obvia de ésta con respecto a la coloración clara ventral.

Esquema 2: WP

El agrupar al ejemplar de Arcelia con *Plestiodon brevirostris* B no altera significativamente la variación dentro de este último linaje. Sin embargo, al dividir a *P. brevirostris* A en varias unidades la condición de la RDC en el ejemplar de Arcelia y el Clado B de *P. brevirostris* ya no es diagnóstica con respecto a las muestras de PTV ($n = 26$) y SN ($n = 8$; Cuadro 2). En estas muestras el 30.77% y 37.50% de los ejemplares muestran una RDC ocupando 8 hileras escamas, respectivamente. Aun así, las condiciones de coloración de las zonas supralabial, infralabial, gular y de la LCL siguen siendo diagnósticas.

La muestra de IJ ($n = 6$) se diferencia de las muestras de GO+OX ($n = 82$), PTV y SN por presentar la LCL siempre involucrando a la 5^{ta} hilera longitudinal de escamas al nivel de la mitad del cuello (contra esta condición presente sólo en un ejemplar de OX, en el cual además la LCL sólo ocupa el margen inferior de algunas escamas de la 5^{ta} hilera longitudinal). Adicionalmente, se diferencia de las muestras de PTV y SN porque la LCL

alcanza las extremidades posteriores (contra esta condición sólo presente en un ejemplar de PTV). Finalmente, presenta un mayor porcentaje de ejemplares en los cuales la LCD termina posteriormente en el cuarto anterior del cuerpo o antes con respecto a la muestra de PTV (66.67%, contra 26.92% en las muestras de PTV). La condición de la LCL al nivel de la mitad del cuello califica como carácter diagnóstico con respecto a los demás subclados de *P. brevisrostris*, mientras que la longitud de esta misma línea califica como carácter diagnóstico con respecto a las muestras de PTV y SN.

La muestra de GO+OX varía con respecto a las muestras de PTV y SN por presentar lo siguiente: usualmente un menor número de laminillas subdigitales (10–15, $X = 11.42 \pm 0.81$; contra 11–15, $X = 12.54 \pm 1.22$ y 13–16, $X = 14.25 \pm 0.80$, respectivamente), un mayor porcentaje de individuos en los que la RDC involucra seis hileras longitudinales de escamas dorsales y la hilera más dorsal de escamas de la LOPL totalmente oscura (64.63%, contra 23.08% y 0%, respectivamente), un mayor porcentaje de individuos en los cuales la LOSS acaba posteriormente al nivel de las extremidades anteriores o antes (45.12%, contra 0% y 25%, respectivamente) y un mayor porcentaje de individuos en los cuales la LCL alcanza posteriormente las extremidades posteriores (64.63%, contra esta condición sólo presente en un ejemplar de PTV).

La muestra de PTV es en general muy parecida a la de SN, pero difiere por presentar usualmente menos laminillas subdigitales (11–15, $X = 12.54 \pm 1.22$, contra 13–16, $X = 14.25 \pm 0.80$) y un menor porcentaje de individuos en los cuales la LCD termina posteriormente en el cuarto anterior del cuerpo o antes (26.92%, contra 62.50%).

Esquema 3: GMYC

Las características de *Plestiodon brevisrostris* B presentadas como diagnósticas con respecto a *P. brevisrostris* A en el Esquema 2 se mantienen al agrupar los ejemplares de acuerdo con las especies sugeridas por GMYC (Cuadro 2).

La muestra de IJ ($n = 6$) se diferencia de las muestras de GO ($n = 44$), NE ($n = 34$) y OX ($n = 38$) por presentar la LCL siempre involucrando a la 5^{ta} hilera longitudinal de escamas al nivel de la mitad del cuello (contra esta condición presente sólo en un ejemplar de OX, en el cual además la LCL sólo ocupa el margen inferior de algunas escamas de la

5ta hilera longitudinal). Adicionalmente, se diferencia de las muestras de GO y NE porque la LCL se extiende posteriormente hasta las extremidades posteriores (contra esta condición presente en el 40.91% y 2.94%, de las muestras de GO y NE, respectivamente). Por otra parte, se diferencia de las muestras de NE y OX por presentar un mayor porcentaje de ejemplares en los cuales la LCD termina posteriormente en el cuarto anterior del cuerpo o antes (66.67%, contra 35.29% y 34.21%, en las muestras de NE y OX, respectivamente). La condición de la LCL al nivel de la mitad del cuello califica como carácter diagnóstico.

La muestra del subclado NE es más divergente con respecto a las muestras de GO y OX que éstas últimas entre sí. Se diferencia de las muestras de IJ, GO y OX por lo siguiente: poseer usualmente más laminillas subdigitales (11–16, $X = 12.94 \pm 1.34$; contra 11–14, $X = 12.08 \pm 1.02$; 10–13, $X = 11.36 \pm 0.70$; y 10–15, $X = 11.49 \pm 0.94$, en las muestras de IJ, GO y OX, respectivamente), un menor porcentaje de individuos en los cuales la RDC involucra seis hileras longitudinales de escamas dorsales y la hilera más dorsal de escamas de la LOPL es totalmente oscura (17.65%, contra 83.33%, 54.55% y 76.32, en las muestras de IJ, GO y OX, respectivamente) y un menor porcentaje de individuos en los cuales la LCL se extiende posteriormente hasta las extremidades posteriores (2.94%, contra 100%, 40.91% y 92.11%, en las muestras de IJ, GO y OX, respectivamente).

Las muestras de GO y OX son más parecidas entre sí que con el resto de las muestras. Esto es consistente con los resultados de los análisis de datos moleculares. Por el contrario, Feria-Ortiz (2011) y Feria-Ortiz et al. (2011) mencionan que la muestra de Guerrero era la más divergente con respecto al resto de los subclados de *P. brevirostris*. Estos autores mencionan que en la muestra de Guerrero hay un mayor porcentaje de individuos con una línea clara en la 5^{ta} y 6^{ta} supralabiales separada del borde ventral de las mismas escamas por pigmento oscuro (12%, contra 57.10% y 66.60% en las muestras de NE y OX, respectivamente) y con una LCD corta (94.70%, contra 4.70% y 36.40% en las muestras de NE y OX, respectivamente). En cambio, yo encontré que es difícil distinguir claramente la presencia de una línea clara en la 5^{ta} y 6^{ta} supralabiales separada del borde ventral de las mismas escamas por pigmento oscuro de cuando el pigmento claro de la 5^{ta} y 6^{ta} supralabiales se extiende hasta el borde ventral de las mismas escamas en el Clado A: aún en caso de que no se pueda discernir claramente una línea casi siempre hay algo de

pigmento oscuro sobre el borde ventral de la 5^{ta} y 6^{ta} supralabiales. Aun así, registrando la presencia de una línea sólo cuando la presencia de coloración clara bajo ésta era nula o mínima encontré que el 65.91% de la muestra de GO la posee (67.65% y 92.11%, en las muestras de NE y OX, respectivamente). Adicionalmente, el porcentaje de individuos en los cuales la LCD no se extiende posteriormente más allá del cuarto anterior del cuerpo no es tan marcadamente distinto entre la muestra de GO y las de NE y OX (70.45%, contra 35.29% y 34.21%, respectivamente). Aun así, la muestra de GO muestra diferencias en la frecuencia de ciertos estados de carácter con la muestra de OX: hay un mayor porcentaje de individuos en los cuales la LOSS termina posteriormente al nivel de la axila o antes (65.91% contra 21.05%) y un menor porcentaje de ejemplares en los cuales la LCL alcanza posteriormente las extremidades posteriores (40.91% contra 92.11%).

Cuadro 2. Variación morfológica en caracteres selectos para cada uno de los esquemas de análisis morfológico. Cuando un grupo se mantiene con la misma composición para varios esquemas sólo se presenta la variación para ese grupo una vez. Entre paréntesis se indican la media y desviación estándar de los caracteres merísticos. Al mencionar los porcentajes en el alcance posterior de las líneas se incluye cuando la línea llega al nivel indicado y cuando llega a un punto intermedio entre el nivel indicado y el anterior. El alcance posterior de la LCL se omite para el Clado B y *Plestiodon sp. 3* debido a que dicha línea se confunde parcial o totalmente con la región ventral clara. Al decir LOPL oscura se hace referencia a que las escamas totalmente inmersas en la LOPL son predominantemente oscuras. Al decir LOPL clara se hace referencia a que la mitad superior de la hilera más medial de escamas totalmente inmersas en la LOPL es clara, aunque se diferencia claramente de la RDC.

		Esquema 1		Esquema 2					Esquema 3		
		Clado A	Clado B	GO+OX	IJ	PTV	SN	Clado B + <i>P. sp. 3</i>	GO	NE	OX
Interparietal bordeada posteriormente por las parietales (%)		17.36	100	12.2	0	23.08	50	100	6.81	29.41	18.42
Hileras transversales de dorsales		50-63 (56.84 ± 2.07)	51-57 (53.25 ± 1.86)	50-63 (56.30 ± 1.98)	52-59 (56.33 ± 2.74)	56-61 (58.42 ± 1.55)	56-59 (57.63 ± 1.06)	51-57 (53.08 ± 1.89)	50-61 (56.23 ± 1.88)	56-61 (59.23 ± 1.48)	51-63 (56.39 ± 2.11)
Laminillas subdigitales		10-16 (11.88 ± 1.20)	13-15 (13.79 ± 0.59)	10-15 (11.42 ± 0.81)	11-14 (12.08 ± 1.02)	11-15 (12.54 ± 1.22)	13-16 (14.25 ± 0.80)	13-15 (13.80 ± 0.58)	10-13 (11.36 ± 0.70)	11-16 (12.94 ± 1.34)	10-15 (11.49 ± 0.94)
Alcance posterior de la LCD (%)	Axila (%)	12.3	0	18.29	0	0	0	0	29.55	0	5.26
	Cuarto anterior del cuerpo (%)	36.89	33.33	35.37	66.67	26.92	62.5	30.77	40.91	35.29	28.95
	Antes de inge (%)	5.74	16.67	3.66	0	11.54	12.5	15.38	2.27	11.76	5.26
	Inge y más allá (%)	45.08	50	42.68	33.33	61.53	25	53.85	27.27	52.94	60.53
Alcance posterior de la LOSS (%)	Axila (%)	33.61	75	45.12	33.33	0	25	76.92	65.91	5.88	21.05
	Cuarto anterior del cuerpo (%)	50.82	25	41.46	50	76.92	62.5	23.08	34.09	73.53	50
	Antes de inge (%)	10.67	0	6.1	16.67	23.08	12.5	0	0	20.59	13.16
	Inge y más allá (%)	4.92	0	7.32	0	0	0	0	0	0	15.79
Alcance posterior de la LCL (%)	Axila (%)	26.23	-	19.51	0	46.15	50	-	34.09	47.06	2.63
	Cuarto anterior del cuerpo (%)	22.95	-	14.63	0	46.15	50	-	22.73	47.06	5.26
	Antes de inge (%)	1.64	-	1.22	0	3.85	0	-	2.27	2.94	0
	Inge y más allá (%)	49.18	-	64.63	100	3.85	0	-	40.91	2.94	92.11
Número de escamas ocupadas por la RDC y condición de la LOPL	6 y LOPL oscura (%)	52.46	0	64.63	83.33	23.08	0	0	54.55	17.65	76.32
	6 y LOPL clara (%)	38.52	0	35.37	16.67	46.15	62.5	0	45.45	50	23.68
	8 y LOPL oscura (%)	9.01	100	0	0	30.77	37.5	100	0	32.35	0

ADC

En el ADC analicé por separado al Clado A en los Esquemas 2 y 3. En el caso de las comparaciones entre el Clado B y *Plestiodon sp. 3* realicé un ACP ya que no hay varianza en *Plestiodon sp. 3* al estar representado por un único ejemplar.

Al realizar el ADC para el Esquema 1 resulta claro que *Plestiodon brevirostris A* y *Plestiodon brevirostris B* son discernibles morfológicamente. La precisión fue de 99.25%: sólo un ejemplar asignado *a priori* al Clado A fue agrupado con el Clado B por el modelo. Este fue un ejemplar de Omiltemi, Guerrero (MZFC 10185). Los caracteres con mayor aportación en el eje de la función discriminante fueron el número de hileras transversales de dorsales y el número de laminillas subdigitales.

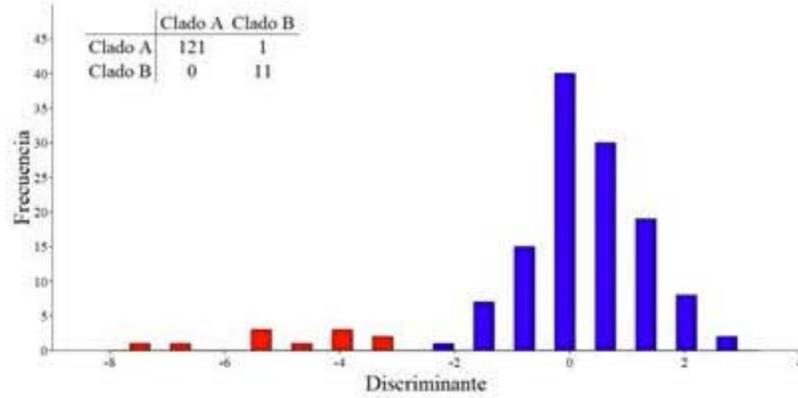
Al realizar el ADC para el Clado A bajo el Esquema 2 los grupos más fácilmente distinguibles son los correspondientes a PTV y SN (Fig. 17). La envoltente convexa de SN no se sobrelapa con la envoltente convexa de ningún otro grupo. IJ está rodeado por los individuos asignados a GO+OX, pero forma un grupo con relativamente poca variación. La precisión en la asignación de individuos fue de 94.26%. Cinco ejemplares de GO+OX y dos de PTV fueron asignados a otros grupos. De los cinco ejemplares de GO+OX, tres (MZFC 2854, 2874 y 25392) fueron asignados a IJ y dos (MZFC 2862 y 24472) a PTV. De los dos ejemplares de PTV, uno (MZFC 721) fue asignado a GO+OX y uno (MZFC 25347) a SN. Todos los ejemplares de IJ y SN fueron asignados a su grupo correspondiente. Los caracteres con mayor aportación para la separación de los grupos fueron la LHC y el número de hileras transversales de dorsales.

Al realizar el ADC para el Clado A bajo el Esquema 3 el grupo más fácilmente distinguible es el correspondiente a NE (Fig. 17). La envoltente convexa de NE muestra superposición mínima con la del resto de los grupos. GO y OX se separan parcialmente, mientras que IJ aparece en el espacio de superposición entre ambos. La precisión en la asignación de individuos fue de 86.89%. Ocho ejemplares de GO fueron asignados a otros grupos: siete (MZFC 2859, 2869, 2871 y 25343; ANMO 3565, 3901 y 3902) a OX y uno a NE (MZFC 2862). Siete ejemplares de OX fueron asignados a otros grupos: cinco (MZFC 7470, 8739, 11102, 25386 y 25388) a GO, uno (MZFC 25392) a IJ y uno a (MZFC 24472) NE. Un ejemplar (MZFC 721) de NE fue asignado a OX. Los caracteres con mayor

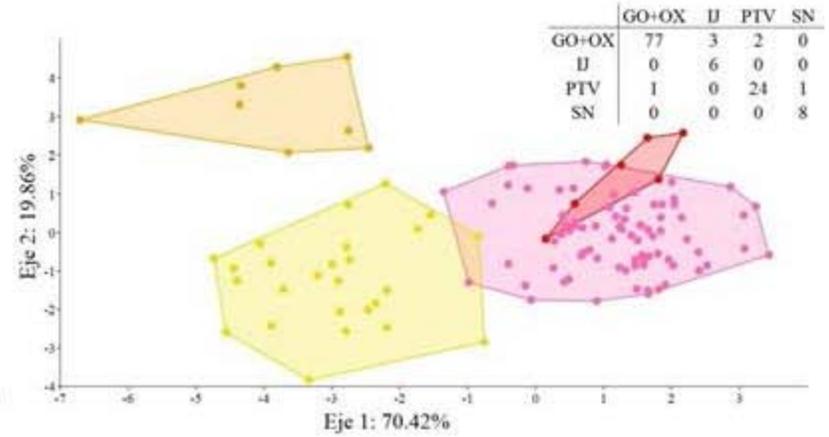
aportación para la separación de los grupos fueron la LHC y el número de hileras transversales de dorsales.

Al realizar el ACP para el Clado B y *Plestiodon sp. 3* el único representante de la última queda por fuera de la envolvente convexa del Clado B (Fig. 17). Los caracteres con mayor aportación en los vectores fueron el número de escamas contactando a la temporal secundaria superior lateralmente entre los niveles de la postsubocular superior y la nugal (sin incluir éstas últimas) y el número de escamas superciliares.

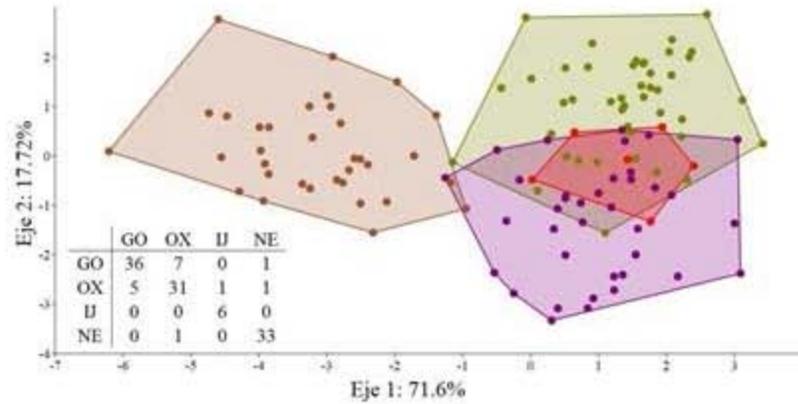
Esquema 1: Clado A vs. Clado B



Clado A, Esquema 2: WP



Clado A, Esquema 3: GMYC



Clado B vs. *Plestiodon* sp. 3

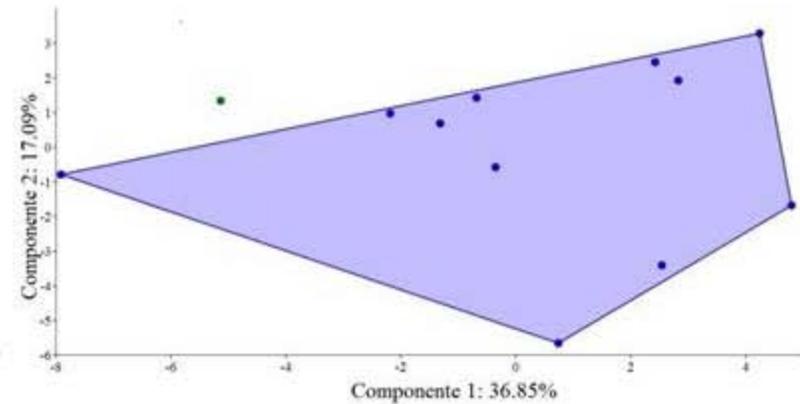


Figura 17. Análisis multivariado de los caracteres morfológicos. Los colores corresponden a los grupos de las Figs. 6, 10 y 12. Se muestra la tabla de confusión correspondiente a cada análisis.

DISCUSIÓN

DIFERENCIACIÓN ENTRE LOS CLADOS A Y B DE *PLESTIODON BREVIROSTRIS*

Es claro que los clados mitocondriales A y B de *Plestiodon brevirostris* encontrados en este trabajo están relativamente lejanamente relacionados. En el árbol de mtDNA sus haplotipos forman grupos con valores de soporte altos y lejanamente relacionados. Adicionalmente, las secuencias del clado mitocondrial B forman un grupo exclusivo en los árboles de nDNA. El árbol de especies construido con los datos multi-*locus* apoya esta conclusión. El análisis de los caracteres morfológicos reveló además su diagnosticabilidad. En el ADC el cuadro de confusión reveló una buena precisión (99.25%) en la asignación de individuos a sus respectivos clados. Finalmente, ambos grupos se diferencian ecológica y geográficamente. Los ejemplares del Clado A provienen de matorral xerófilo y bosques de encino, pino o pino-encino entre 2,000 y 2,900 m de elevación, mientras que los ejemplares del Clado B provienen de bosque de encino y bosque tropical caducifolio entre 1,200 y 1,770 m de elevación. El Clado A se distribuye en las provincias biogeográficas Faja Volcánica Transmexicana y Sierra Madre del Sur, ambas ubicadas en la Zona de Transición Mexicana (Morrone, 2014). Por su parte, el Clado B se distribuye en la provincia Cuenca del Balsas, en la Sub-región Brasileña y Dominio Mesoamericano (Morrone, 2014).

LÍMITES DE ESPECIES AL INTERIOR DEL CLADO A

Todos los análisis de delimitación de especies basados en datos moleculares apoyan la existencia de diversidad adicional al interior del grupo *Plestiodon brevirostris* A: WP sugiere la existencia de cuatro especies y GMYC de cinco. Esto es consistente con las propiedades de ambos métodos. WP puede llegar a subestimar la diversidad en presencia de introgresión y/o separación incompleta de linajes (Hoelzer, 1997; Meza-Lázaro y Nieto-Montes de Oca, 2015; Neigel y Avise, 1986). Esta última es predominante en linajes de reciente divergencia (Yang y Rannala, 2010). En cambio, GMYC tiende a sobreestimar la diversidad (Talavera et al., 2013), particularmente cuando hay pocos polimorfismos ancestrales (Esselstyn et al., 2012). Ambos métodos se basan en mtDNA, que sufre de una

variedad de limitaciones: conservación de DNA resultado de eventos de hibridación antiguos por la virtual ausencia de recombinación, estructuración no congruente con el flujo génico en caso de dispersión basada en los machos y filopatría de las hembras y coalescencia en poblaciones temporalmente aisladas (Hoelzer, 1997; Meza-Lázaro y Nieto-Montes de Oca, 2015; Neigel y Avise, 1986). Particularmente, Brandley et al. (2012) sugieren que la separación incompleta de linajes pudiera ser predominante en el grupo *P. brevirostris*. Es así que el método de validación basado en los datos multi-*locus* (BPP) y el análisis morfológico toman importancia.

La distribución de *Plestiodon brevirostris* A es notablemente similar a la de otros taxones de elevaciones moderadamente altas como *Crotalus intermedius*, *Thamnophis chrysocephalus* y *Sceloporus mucronatus* sensu lato (Bryson et al., 2011a; Martínez-Méndez y Méndez-De la Cruz, 2007; Rossman et al., 1996). Es probable que *C. intermedius* y *T. chrysocephala* representen complejos de especies, ya que la primera es politípica y la segunda muestra variación geográfica, lo cual llevó a proponer la existencia de dos especies en su interior (Klauber, 1972; Rossman et al., 1996). *Sceloporus mucronatus* recientemente fue dividida en tres especies (Martínez-Méndez y Méndez-De la Cruz, 2007). Es probable que los procesos históricos que han moldeado la diversidad de estos taxones hayan moldeado la del Clado A. Como fue propuesto por Brandley et al. (2012) para el grupo *P. brevirostris* y por otros autores (ver Bryson et al., 2011a, 2011b y citas ahí incluidas) para otros grupos, los ciclos de expansión y contracción de los bosques de altura debido a los cambios climáticos durante el Pleistoceno parecen haber jugado un papel importante en la diversificación del Clado A.

A continuación discuto acerca del *status* específico de cada uno de los principales clados mitocondriales.

GO+OX

Los análisis de delimitación de especies basados en DNA soportan que GO y OX conforman un linaje independiente de IJ y NE. Mientras que WP lo reconoce como una sola especie, GMYC propone la existencia de diversidad adicional en su interior, pero no

cuestiona su distintividad con respecto a IJ y NE. Al poner a prueba a GO+OX como una sola especie, BPP la reconoce con un valor de soporte alto. Adicionalmente, es diagnosticable con respecto a IJ por la condición de la LCL y difiere (sin llegar a ser diagnosticable) de NE por presentar en promedio un menor número de hileras transversales de dorsales y laminillas subdigitales y mayor proporción de ejemplares en los cuales la LCL alcanza las extremidades posteriores. Por otra parte, las envoltentes convexas de GO+OX, GO y OX se superponen mínimamente con las de NE y PTV, y no lo hacen con las de SN, en el ADC.

La incertidumbre concerniente a GO+OX radica en si debe ser reconocida como una sola especie o si se debe reconocer diversidad adicional en su interior. De haberse agrupado la muestra de Cerro Nevería, Oaxaca, con el resto de las muestras de OX en el árbol de mtDNA la incertidumbre sería menor y permitiría reconocer a GO y OX como especies distintas. Llama la atención que en el mismo árbol las tres muestras del sur de la SMS de Oaxaca conforman el grupo hermano de otras muestras en lugar de agruparse entre sí. Esto pudiera deberse ya sea a que existe flujo génico entre ellas y las poblaciones del centro de Oaxaca o a que existe separación incompleta de linajes. Es notable que al poner a prueba las especies propuestas por GMYC con BPP las dos únicas especies sugeridas con PP menor a 0.99 son OX y la muestra de Cerro Nevería, mientras que GO tiene una PP de 1. Por lo tanto el nDNA sugeriría la coespecificidad de OX y la muestra de Cerro Nevería.

La morfología no es conclusiva para discernir la presencia de diversidad adicional al interior de GO+OX. Si bien la muestra de GO tiene mayor proporción de individuos con una LOSS y LCL cortas, no existe diagnosticabilidad entre ambas muestras. En el ADC para GMYC la envoltente convexa de ambos grupos sólo se separa parcialmente. Adicionalmente, en los dos ejemplares de Metlatónoc, los más orientales de GO, la LCL alcanza las extremidades posteriores.

El análisis para la identificación de barreras al flujo génico reconoce tres al interior de GO+OX (ver arriba), aunque son zonas donde el hábitat es el adecuado para la presencia de *Plestiodon brevirostris* y donde el muestreo es deficiente. Dada la parcial diferenciación morfológica pero evidencia de flujo génico entre GO y OX parece probable que ambos linajes se hayan separado durante un periodo de contracción de los bosques templados debido a una etapa de calentamiento y sequía y que después haya ocurrido flujo génico

entre ellos al expandirse de nuevo los bosques. Se ha visto en otros taxones que el contacto secundario de linajes que estuvieron separados por un tiempo considerable promueve la homogeneización en grado variable de las poblaciones en contacto (Manthey et al; 2012; Schwenk et al., 2008).

Es probable que la colecta de muestras adicionales en los límites de Guerrero y Oaxaca y el extremo sur de la SMS de Oaxaca pudiera jugar un papel importante para clarificar este problema. Adicionalmente, es probable que el muestreo de más *loci* también sea determinante, ya que como se explica arriba el nDNA da lugar a una hipótesis alternativa a la generada mediante el mtDNA. De momento, lo más conservador es considerar a GO+OX como una sola especie, distinta a IJ y NE. Ésta sería la especie portadora del nombre *Plestiodon brevirostris*, ya que la localidad tipo asociada a ese nombre es “Oaxaca” (Günther, 1860), restringida posteriormente a la ciudad de Oaxaca por Smith y Taylor (1950). Adicionalmente, en el holotipo de *P. brevirostris* la LOPL se extiende lateralmente hasta la mitad de la 6^{ta} hilera de escamas dorsales, separándolo de los ejemplares de IJ.

IJ

El subclado IJ es sugerido como una especie distinta al resto por WP y GMYC. Adicionalmente, BPP apoya con un valor de soporte alto su *status* específico al probar los tres escenarios evolutivos para las hipótesis generadas por los métodos de descubrimiento. Finalmente, el análisis morfológico soporta su peculiaridad. En los ejemplares pertenecientes a este linaje la LCL ocupa la 5^{ta} hilera de escamas dorsales a la mitad del cuello, mientras que esta condición sólo se encontró en un ejemplar de OX de la localidad de Morelos, en el oeste de Oaxaca (MZFC 7470). En un ejemplar de San Isidro Buenos Aires, al norte de Oaxaca (ANMO 3998), la mitad inferior de la 5^{ta} hilera de escamas dorsales es clara, pero estas porciones claras no se encuentran separadas de la LCL por pigmento oscuro. Adicionalmente, todos los ejemplares fueron asignados a IJ por el ADC.

Un ejemplar de las cercanías de Santa María Jaltianguis, donde se han recolectado individuos indiscutiblemente asignables a IJ, muestra mayor parecido con la muestra de OX. La LCL ocupa la 6^{ta} y 7^{ta} hileras de escamas dorsales a la mitad de cuello. Sin

embargo, este ejemplar se agrupa con las muestras de IJ en el árbol de mtDNA. Parece probable que esto se deba a la presencia de ambos morfotipos en simpatría e introgresión mitocondrial, ya que si se tratara de separación incompleta de linajes se esperaría que haplotipos de OX también se encontraran agrupados con haplotipos de NE. Adicionalmente, la presencia fija del estado de carácter de la LCL en todos los demás ejemplares de IJ y su presencia mínima en los ejemplares de OX sugiere que ambos se separaron hace un tiempo considerable. Además, la presencia en simpatría de ambas formas sin que hayan perdido su identidad morfológica sugiere la existencia de barreras para el flujo génico (McIntosh et al., 2014). Finalmente, datos obtenidos mediante secuenciación de nueva generación sugieren la existencia del morfotipo OX en las cercanías de Ixtlán de Juárez sin que éste pierda su identidad a nivel genómico (Robert W. Bryson Jr, com. pers.). Por lo tanto, la evidencia disponible hasta el momento sugiere que IJ representa una especie distinta al resto de *Plestiodon brevirostris* A.

La identificación de barreras al flujo génico aparta a las muestras de IJ del resto de las muestras del Clado A. La región de Ixtlán de Juárez se encuentra asociada al valle del Río Grande, el cual se encuentra rodeado por las montañas de la Sierra de Juárez. Adicionalmente, Campbell y Lamar (2004) describen que la vegetación en las cercanías de Ixtlán de Juárez consiste en bosque de pino-encino-madroño en las partes más altas, mientras que hacia elevaciones menores se encuentra bosque tropical caducifolio y matorral tropical árido en los valles más bajos. En cambio, el resto de la Sierra de Juárez, de donde provienen la mayoría de las muestras de OX de esa serranía, se caracteriza por su humedad (Lorence y García-Mendoza, 1989). Ejemplares de IJ han sido colectados a sólo 1.10 km de la localidad tipo de la serpiente coralillo *Micrurus nebularis* (Roze, 1989), la cual hasta hace poco se creía endémica de la región. Recientemente, esta especie ha sido reportada más al norte en Sierra de Monteflor (Canseco Márquez y Gutiérrez Mayén, 2010) y en Vigastepec, Puebla (Pavón-Vázquez et al., 2015), por lo cual el área de distribución de la especie de *Plestiodon* podría ser más amplia de lo conocido hasta ahora.

NE

Los análisis de delimitación de especies basados en DNA soportan que NE conforma un linaje independiente de GO+OX e IJ. Mientras que WP lo reconoce como dos especies, GMYC sugiere que es sólo una. Al poner a prueba la hipótesis de NE como una sola especie, BPP la reconoce con un valor de soporte alto en todos los escenarios. Adicionalmente, es diagnosticable con respecto a IJ por la condición de la LCL y distinguible (más no diagnosticable) de GO+OX por presentar en promedio un mayor número de hileras transversales de dorsales y laminillas subdigitales y una mucho menor proporción de ejemplares en los cuales la LCL alcanza las extremidades posteriores. Por otra parte, las envolventes convexas de GO+OX, GO y OX se superponen mínimamente con las de NE y PTV y no se superponen con las de SN en el ADC.

Al igual que en el caso de GO+OX, la incertidumbre asociada a NE radica en si debe ser reconocida como una sola especie o reconocer diversidad adicional en su interior. GMYC, que es considerado un método que tiende a sobreestimar la diversidad, reconoce a NE como una sola especie. Al poner a prueba a PTV y SN como especies distintas, sólo el Escenario 2 propone su distintividad con una PP menor que 0.99. En los otros escenarios PTV y SN conforman una sola especie, aunque la PP baja recalca la incertidumbre asociada a si debe ser colapsada o no. La morfología tampoco es conclusiva. La muestra de PTV difiere de la de SN por presentar usualmente menos laminillas subdigitales y una LCD más corta, pero las diferencias no son diagnósticas. En contraste, en el ADC la envolvente convexa de SN no se superpone con la de PTV y todos los ejemplares de SN fueron asignados al grupo correspondiente.

Con los datos disponibles hasta el momento, la decisión más conservadora es considerar a NE como una sola especie distinta a GO+OX e IJ. La disparidad morfológica entre PTV y SN puede ser atribuida a la falta de muestreo en zonas intermedias. La presencia de *Plestiodon brevirostris* en la Sierra de Zongolica, intermedia entre las localidades de colecta de PTV y SN, ha sido predicha por modelos de distribución potencial (De los Santos Crespo, 2014) y registrada fotográficamente (José M. Flores-Torales, com. pers.). Es probable que la morfología discordante entre PTV y SN obedezca a un gradiente ambiental, ya que los ejemplares de PTV provienen de matorral xerófilo y

bosques de pino mayormente secos, mientras que los ejemplares de SN provienen de bosques de pino-encino húmedos y nublados. Este escenario plantea la posibilidad de que haya ocurrido especiación parapátrica (Endler, 1977; Wiley y Lieberman, 2011), pero se necesitaría de muestreo en las zonas intermedias para confirmarlo.

El análisis para la identificación de barreras al flujo génico identificó una que separa a las muestras de NE del resto. Esta barrera es claramente identificable como la Cuenca del Río Papaloapan. NE parece estar separado en la porción suroriental de su distribución de GO+OX por la cuenca del Río Santo Domingo, afluente del Papaloapan. El valle formado por este río desciende a ca. 300 m de elevación, por lo cual pudiera fungir como una barrera importante para el flujo génico en los taxones de elevaciones altas como *Plestiodon brevirostris*. Las zonas altas a ambos lados de la depresión formada por este río conforman el límite latitudinal en la distribución de otros taxones de anfibios y reptiles de elevaciones medias y altas, ya sea septentrional (*Abronia oaxaca*, *Conopsis megalodon*, *Geophis dubius*, *Mesaspis juarezi*, *Plectrohyla cyclada*, *Thamnophis lineri*) o meridional (*Abronia graminea*; Canseco Márquez y Gutiérrez Mayén, 2010). Adicionalmente, la depresión del Río Papaloapan parece formar una barrera para el flujo génico en taxones tan diversos como las cascabeles de los grupos *Crotalus triseriatus* y *C. omiltemanus* (Bryson et al., 2011a, 2011b), los ratones del grupo *Peromyscus a ztecus* (Sullivan et al., 1997) y del género *Habromys* (León-Paniagua et al., 2007) y las aves de los grupos *Aulacorhynchus prasinus* (Puebla-Olivares et al., 2008) y *Chlorospingus ophthalmicus* (García-Moreno et al., 2004). Por otra parte, NE parece estar separado en la porción sur-central y suroccidental de su distribución de GO+OX por la Cuenca del Balsas. Tal rasgo fisiográfico divide a las zonas montañosas de la Sierra Madre del Sur y la Faja Volcánica Transmexicana. La depresión formada por el Río Balsas y sus afluentes parece ser una barrera importante para el flujo génico en diversos taxones montanos como las cascabeles de los grupos *Crotalus triseriatus* y *C. omiltemanus* (Bryson et al., 2011a, 2011b), los ratones de los grupos *Peromyscus a ztecus* (Sullivan et al., 1997) y *Neotoma mexicana* (Edwards y Bradley, 2002), los gorriones del género *Buarremon* (Navarro-Sigüenza et al., 2008) y los escarabajos *Dendroctonus mexicanus* (Anducho-Reyes et al., 2008).

LÍMITES DE ESPECIES AL INTERIOR DEL CLADO B Y CON *PLESTIODON* SP.

3

La elucidación del *status* taxonómico de las poblaciones asignadas al Clado B se ve dificultada por el muestreo deficiente de la mayoría de ellas. Sin embargo, los datos disponibles hasta el momento sugieren la existencia de un solo linaje. Ni WP ni GMYC sugieren la existencia de varias especies al interior del Clado B. Adicionalmente, la morfología es relativamente homogénea entre todos los ejemplares asignados a ese clado. El ejemplar de Sierra de Huautla, Morelos (ANMO 3789), muestra ciertas características atípicas (ver arriba), pero en los análisis filogenéticos se encuentra anidado dentro de un clado de morfología homogénea. Un ejemplar de Petatlán, Guerrero (CNAR 24264), es el único que carece de escama frontonasal. Sin embargo, otro ejemplar de la misma localidad (CNAR 24265) la presenta.

No existe certeza sobre si *Plestiodon* sp. 3 y el Clado B son coespecíficos. En todos los análisis filogenéticos *Plestiodon* sp. 3 aparece como hermano al resto de las muestras del Clado B, y mientras que WP sugiere que conforman una sola especie, GMYC sugiere que son especies distintas. Al poner a prueba con BPP las hipótesis de especies generadas por GMYC, ambos taxones se separan para todos los escenarios. Sin embargo, la PP es mucho mayor cuando se evalúan como una sola especie (como es propuesto por WP) que cuando se evalúa la posibilidad de que sean especies distintas. Morfológicamente el ejemplar de Arcelia, Guerrero (MZFC 19787), es indistinguible de los ejemplares del Clado B, aunque en el ADC el primero queda fuera de la envolvente convexa de los últimos. Un ejemplar de Leonardo Bravo (CNAR 6585) proviene de un punto aproximadamente intermedio entre los ejemplares secuenciados del Clado B y Arcelia. Adicionalmente, si bien el análisis de identificación de barreras para el flujo génico separa al Clado B y a *Plestiodon* sp. 3, en la zona intermedia entre ambas el muestreo de datos moleculares es deficiente. Parece probable que la distribución del morfotipo *P. brevirostris* B + *Plestiodon* sp. 3 sea amplia en la Cuenca del Balsas. Por lo tanto, en este trabajo decido proponer que *P. brevirostris* B y *Plestiodon* sp. 3 conforman una sola especie y distinta a *P. brevirostris* A.

La especie de la Cuenca del Balsas parece estar ampliamente distribuida en esta provincia biogeográfica. Los registros de las localidades más lejanas entre sí (los de Santiago Tamazola, Oaxaca, y el de Arcelia, Guerrero) se encuentran separados por 211 km en línea recta. El ejemplar de Acatlipa, Morelos (CNAR 1774), proviene del extremo norte de la Cuenca del Balsas, en sus límites con la Faja Volcánica Transmexicana. Existen registros fotográficos de este morfotipo para Sierra de Nanchititla, México (Giovany A. González-Desales, com. pers.), a ca. 74 km en línea recta al NNO de la localidad de colecta del ejemplar de Arcelia. Adicionalmente, yo capturé un ejemplar asignable a este morfotipo en las cercanías de Amatlán de Quetzalcóatl, Morelos, a ca. 27 km al NO de Acatlipa. El individuo presentaba el patrón de coloración característico de los otros ejemplares de *Plestiodon* de la Cuenca del Balsas y presentaba la escama interparietal bordeada posteriormente por las parietales. No recolecté el ejemplar debido a que no contaba con los permisos pertinentes.

FLUJO GÉNICO ENTRE EL CLADO A Y LINAJES CERCANAMENTE RELACIONADOS

Dixon (1969) propuso que existía flujo génico entre *Plestiodon brevirostris* y *Plestiodon indubitus*, entonces subespecies de la especie politípica *Plestiodon brevirostris*. Al igual que Feria-Ortiz (2011) y Feria-Ortiz et al. (2011), no encontré indicios de flujo génico entre ninguno de los linajes de *Plestiodon brevirostris* y *P. indubitus*. Hay dos ejemplares de *Plestiodon* (MZFC 11189 y 11796) de las zonas limítrofes entre los estados de México y Morelos en el oeste de ambos estados en los cuales la interparietal contacta posteriormente a las nucales, la LCL no es claramente discernible a la mitad del cuello y la RDC abarca ocho hileras de escamas dorsales. La primera es una característica distintiva de *P. brevirostris*, mientras que las otras dos lo son de *P. indubitus*. Sin embargo, secuencias de ejemplares de localidades cercanas se agrupan con las de *P. indubitus* en el árbol de mtDNA y *MKLI*. Por otra parte, los ejemplares del Clado B pudieran haber causado confusión ya que muestran características tanto del Clado A como de *P. indubitus* y provienen de una zona intermedia entre la distribución de ambos taxones. Adicionalmente, a pesar de que se realizó trabajo de campo en las zonas donde se propone existe hibridación

entre ambas especies, no se encontró ningún ejemplar inequívocamente asignable a *P. brevirostris*, por lo cual la existencia en simpatría de ambos taxones parece poco probable. Finalmente, todos los análisis de delimitación de especies basados en datos moleculares sugieren que *P. indubitus* es una especie distinta del Clado A.

Registré la presencia de LCL que se extiende posteriormente hasta el nivel de la axila en tres ejemplares de *Plestiodon indubitus* (MZFC 307, 11798 y 25415), todos de las cercanías de Valle de Bravo, México. El resto de las características de estos ejemplares son típicas de *P. indubitus*. En el árbol de mtDNA los haplotipos de esa región no se mezclan con los de Morelos y Guerrero. En contraste, GMYC sugiere que todos los haplotipos de *P. indubitus* provienen de una sola especie. El muestreo adicional de ejemplares y *loci* podría resolver la cuestión de si *P. indubitus* representa a un complejo de especies.

En conclusión, la información disponible hasta el momento no apoya la existencia de flujo génico entre los linajes del Clado A y *Plestiodon indubitus*. La confusión puede atribuirse a uno de los siguientes factores o a una combinación entre ellos: *P. indubitus* muestra más variación en sus caracteres diagnósticos de la inicialmente propuesta (como es propuesto por Feria-Ortiz, 2011), *P. indubitus* pudiera representar a un complejo de especies y *P. brevirostris* B muestra características tanto de *P. brevirostris* A como de *P. indubitus* y se distribuye en una zona intermedia entre las distribuciones de ambos.

Los linajes del Clado A no son morfológicamente diagnosticables con respecto a *Plestiodon nietoi*. Sin embargo, los datos moleculares no sugieren que exista flujo génico entre ellos. Incluso en el árbol de *MKLI* y el árbol de especies generado por *BEAST *P. nietoi* aparece como hermano a *P. indubitus* y no a *P. brevirostris*. Todos los análisis de delimitación de especies basados en coalescencia sugieren la independencia de *P. nietoi* y los linajes del Clado A. Adicionalmente, todas las secuencias de mtDNA de *P. nietoi* se diferencian de todas las secuencias de *P. brevirostris* A por la delección de un codón en los sitios 757, 758 y 759 del *NDI* en el alineamiento. Este patrón de considerable divergencia genética sin clara diferenciación morfológica ha sido observado en otro tipo de organismos, e.g. serpientes (Pavón-Vázquez et al., 2013), peces (Santos et al., 2006) y arácnidos (Bond et al., 2001; Derkarabetian et al., 2011). Es probable que se deba a conservadurismo de nicho, ya que especies que mantienen nichos ecológicos muy similares tienden a mantener

una morfología similar (Bond *et al.*, 2001). En este caso tanto *P. nietoi* como los linajes del Clado A son de hábitos semifosoriales y secretivos y se encuentran en elevaciones altas.

FLUJO GÉNICO ENTRE CLADO B + *PLESTIODON* SP. 3 Y LINAJES CERCANAMENTE RELACIONADOS

No hay indicios de que exista flujo génico entre *Plestiodon brevirostris* B + *Plestiodon* sp. 3 y las especies que parecen estar cercanamente relacionadas con ella. En ninguno de los árboles bayesianos las secuencias de *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 o *Plestiodon* sp. 4 se mezclaron con los de *P. brevirostris* B + *Plestiodon* sp. 3. Adicionalmente, WP y GMYC proponen su distintividad. Al poner a prueba a *P. brevirostris* B + *Plestiodon* sp. 3 como una sola especie con BPP, siempre resultó ser distinta a las otras especies con una PP alta. Adicionalmente, *P. ochoterenae*, *Plestiodon* sp. 1 y *Plestiodon* sp. 4 se diferencian del Clado B y *Plestiodon* sp. 3 porque en las primeras la interparietal casi siempre contacta a las nucales, la RDC abarca seis hileras de escamas dorsales y la LCD es extraordinariamente distinguible y siempre alcanza las extremidades posteriores (García-Vázquez *et al.*, en preparación; Feria-Ortiz y García-Vázquez, 2012).

IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN

El descubrimiento de diversidad adicional dentro de *Plestiodon brevirostris* plantea la posibilidad de que otros taxones montanos con una distribución e historia similares representen igualmente complejos de especies. El descubrimiento de especies revela áreas desconocidas de endemismo y diversidad que pueden promover la reconsideración de ciertos hábitats o sitios para la conservación (Bickford *et al.*, 2007).

Plestiodon brevirostris no recibe ninguna categoría de protección en la NOM-059-SEMARNAT-2010, mientras que la Internacional Union for Conservation of Nature (IUCN) le da la categoría de Preocupación Menor (LC). Ambos estudios se llevaron a cabo antes de que Feria-Ortiz *et al.* (2011) y Brandley *et al.* (2012) propusieran que cada una de las subespecies de *P. brevirostris* representan especies. Posteriormente a la elevación a nivel específico de las subespecies de *P. brevirostris*, Wilson *et al.* (2013) realizaron una

evaluación de la vulnerabilidad ambiental para todas las especies mexicanas de reptiles. Le dieron a la especie una medida de EVS (Environmental Vulnerability Score) igual a 11, colocándolo como una especie de vulnerabilidad media.

Cada una de las especies propuestas en este trabajo tendría una EVS mayor, ya que los valores para dos de los tres criterios en los cuales se basa la medida serían menores: la amplitud de la distribución geográfica y el número de tipos de vegetación ocupados. De acuerdo con el algoritmo ocupado por Wilson et al. (2013), cada una de las especies propuestas en este trabajo tendría la siguiente EVS (entre paréntesis): GO+OX (13), IJ (16), NE (12) y Clado B + *Plestiodon* sp. 3 (15). Las especies correspondientes a GO+OX y NE se mantendrían en la categoría de vulnerabilidad media, mientras que IJ y Clado B + *Plestiodon* sp. 3 se situarían en la categoría de vulnerabilidad alta.

CONCLUSIONES

1. Las muestras asignadas a *Plestiodon brevirostris* no conforman un grupo monofilético. Pueden ser divididas en dos clados: uno de elevaciones altas de las provincias biogeográficas Faja Volcánica Transmexicana y Sierra Madre del Sur, en la Zona de Transición Mexicana (Clado A); y uno de elevaciones intermedias de las provincia biogeográfica Cuenca del Balsas, en la Sub-región Brasileña y Dominio Mesoamericano (Clado B).
2. El Clado A en realidad representa un complejo de por lo menos tres especies: una de la Sierra Madre del Sur y la Sierra Madre de Oaxaca en Oaxaca y Guerrero; una de las cercanías de Ixtlán de Juárez, en el valle del Río Grande, Oaxaca; y una del este de la Faja Volcánica Transmexicana y la Sierra Negra, en Puebla, Tlaxcala y Veracruz (Fig. 18). La primera de las especies mencionadas sería la portadora del nombre *Plestiodon brevirostris*, mientras que el resto aguardan descripción formal.
3. El Clado B parece ser coespecífico con un ejemplar de *Plestiodon* de Arcelia, Guerrero, y juntos conforman un clado con una distribución amplia en la porción centro y este de la Cuenca del Balsas (Fig. 18). Esta especie aguarda descripción formal.

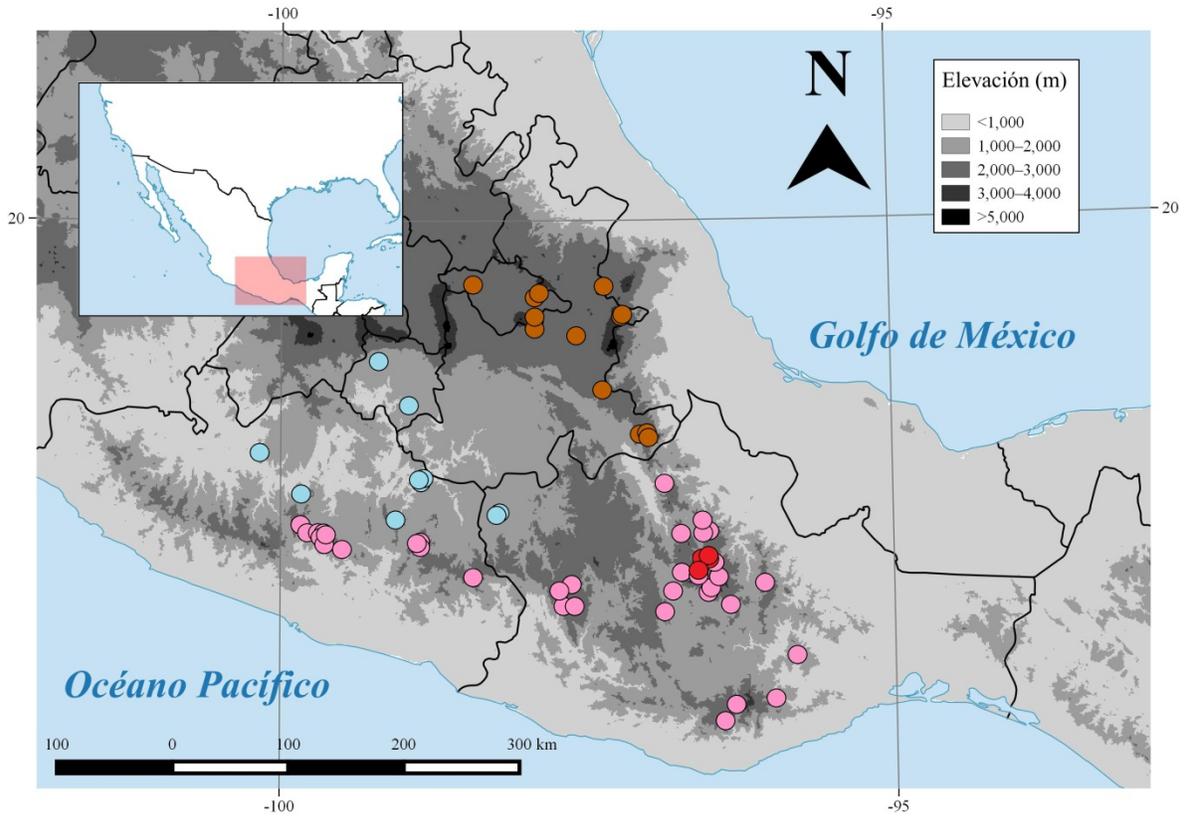


Figura 18. Localidades de colecta de las especies del complejo *Plestiodon brevirostris* propuestas en este trabajo. Los círculos rosas representan a ejemplares asignados a GO+OX, los rojos a IJ, los marrones a NE y los azules al Clado B más el ejemplar de Arcelia, Guerrero.

LITERATURA CITADA

- Anducho-Reyes, M.A., A.I. Cognato, J.L. Hayes y G. Zuñiga. 2008. Phylogeography of the bark beetle *Dendroctonus m exicanus* Hopkins (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49:930–940.
- Auth, D.L., H.M. Smith y D. Chiszar. 1997. Geographic distribution: *Eumeces brevirostris indubitus*. *Herpetological Review* 28:157.
- Axtell, W.R. 1960. A new subspecies of *Eumeces d icei* from the Sierra Madre of Northeastern México. *Copeia* 1960:19–26.
- Baele, G., P. Lemey, T. Bedford, A. Rambaut, M.A. Suchard y A.V. Alekseyenko. 2012. Improving the accuracy of demographic and molecular clock model comparison while accommodating phylogenetic uncertainty. *Molecular Biology and Evolution* 29:2157–2167.
- Barej, M.F., J. Penner, A. Schmitz y M.O. Rödel. 2015. Multiple genetic lineages challenge the monospecific status of the West African endemic frog family Odontobatrachidae. *BMC Evolutionary Biology* 15:67.
- Barrett, C.F., y J.V. Freudenstein. 2011. An integrative approach to delimiting species in a rare but widespread mycoheterotrophic orchid. *Molecular Ecology* 20:2771–2786.
- Bickford, D., D.J. Lohman, N.S. Sodhi, P.K.L. Ng, R. Meier, K. Winker, K.K. Ingram e I. Das. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *TRENDS in Ecology and Evolution* 22:148–155.
- Bond, J.E., M. Hedin, M.G. Ramírez y B.D. Opell. 2001. Deep molecular divergence in the bascence of morphological and ecological change in the Californian coastal dune endemic trapdoor spider *Aptostichus simus*. *Molecular Ecology* 10:899–910.
- Bond, J.E., y A.K. Stockman. 2008. An integrative method for delimiting cohesion species: finding the population species interface in a group of Californian trapdoor spiders with extreme genetic divergence and geographic structuring. *Systematic Biology* 57:628–

646.

Brandley, M.C., A. Schmitz y T.W. Reeder. 2005. Partitioned Bayesian analyses, partition choice, and the phylogenetic relationships of scincid lizards. *Systematic Biology* 54:373–390.

Brandley, M.C., Y. Wang, X. Guo, A. Nieto-Montes de Oca, M. Feria-Ortiz, T. Hikida y H. Ota. 2011. Accommodating high rates of evolution in molecular divergence dating methods: an example using inter-continental dispersal of *Plestiodon* (*Eumeces*) lizards. *Systematic Biology* 60:3–15.

Brandley, M.C., Y. Wang, X. Guo, A. Nieto-Montes de Oca, M. Feria-Ortiz, T. Hikida y H. Ota. 2012. The phylogenetic systematics of blue-tailed skinks (*Plestiodon*) and the family Scincidae. *Zoological Journal of the Linnean Society* 165:163–189.

Bryson, R.W., R.W. Murphy, M.R. Graham, A. Lathrop y D. Lazcano 2011a. Ephemeral Pleistocene woodlands connect the dots for highland rattlesnakes of the *Crotalus intermedius* group. *Journal of Biogeography* 38:697–710.

Bryson, R.W., R.W. Murphy, A. Lathrop y D. Lazcano-Villareal. 2011b. Evolutionary drivers of phylogeographical diversity in the highlands of Mexico: a case study of the *Crotalus triseriatus* species group of montane rattlesnakes. *Journal of Biogeography* 38:697–710.

Camargo, A., M. Morando, L.J. Ávila y J.W. Sites. 2012. Species delimitation with ABC and other coalescent-based methods: a test of accuracy with simulations and an empirical example with lizards of the *Liolaemus darwini* complex (Squamata: Liolaemidae). *Evolution* 66:2834–2849.

Campbell, J. A., y W. W. Lamar. 2004. *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, Nueva York, EUA.

Canseco Márquez, L., y M. G. Gutiérrez Mayén. 2010. *Anfibios y Reptiles del Valle de*

Tehuacán-Cuicatlán. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán A.C., Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México D.F., México.

Carstens, B.C., T.A. Pelletier, N.M. Reid y J.D. Satler. 2013. How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology* 22:4369-4383

Ceccarelli, S.F., M.J. Sharkey y A. Zaldívar-Riverón. 2012. Species identification in the taxonomically neglected, highly diverse, neotropical parasitoid wasp genus *Notiospathius* (Braconidae: Doryctinae) based on an integrative molecular and morphological approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62:485–495.

Cracraft, J. 2002. The seven great questions of systematic biology: an essential foundation for conservation and the sustainable use of biodiversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 127–144.

Darriba D., G.L. Taboada, R. Doallo y D. Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9:772.

Davis, J.I., y K.C. Nixon. 1992. Populations, genetic variation, and the delimitation of phylogenetic species. *Systematic Biology* 41:421–435

Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 85:407–415.

De los Santos Crespo, J.M. 2014. Modelo de nicho ecológico para predecir las especies de anfibios y reptiles que habitan en el Municipio de Zongolica, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México.

De Queiroz, K. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology* 56:879–886.

De Queiroz, K., y D.A. Good. 1997. Phenetic clustering in biology: a critique. *The*

Quarterly Review of Biology 72:3–30.

Derkarabetian, S., D.B. Steinmann y M. Hedin. 2010. Repeated and time-correlated morphological convergence in cave-dwelling harvestmen (Opiliones, Laniatores) from montane western North America. PLoS One 5:e10388.

Dixon J.R. 1969. Taxonomic review of the Mexican skinks of the *Eumeces brevirostris* group. Natural History of Museum of Los Angeles County Contributions to Science 168:1–30.

Drummond, A.J., M.A. Suchard, D. Xie y A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. Molecular Biology And Evolution 29: 1969–1973.

Duméril, A.M.C., y G. Bibron. 1839. Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle Complète des Reptiles. Vol. 5. Libraire Encyclopédique de Rorert, París, Francia.

Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Research 32:1792–1797.

Edwards, C.W., y R.D. Bradley. 2002. Molecular systematics and historical phylogeography of the *Neotoma mexicana* species group. Journal of Mammalogy 83:20–30.

Edwards, S.V. 2009. Is a new theory of molecular systematics emerging? Evolution 63:1–19.

Eldredge, N., y J. Cracraft. 1980. Phylogenetic Patterns and the Evolutionary Process. Method and Theory in Comparative Biology. Columbia University Press, Nueva York, EUA.

Ence, D.D., y B.C. Carstens. 2011. SpedeSTEM: a rapid and accurate method for species delimitation. Molecular Ecology Resources 11:473–480.

Endler, J.A. 1977. Geographic Variation, Speciation, and Clines. Princeton University Press, Nueva Jersey, EUA.

Erwin, D.H. 2007. Disparity: morphological pattern and developmental context. *Palaeontology* 50:57–73

Esselstyn, J.A., B.J. Evans, J.L. Sedlock, F.A. Anwarali Khan y L.R. Heaney. 2012. Single-*locus* species delimitation: a test of the mixed Yule-coalescent model, with an empirical application to Philippine round-leaf bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279:3678–3686.

Ezard, T., T. Fujisawa y T. Barraclough. 2013. R package SPLITS: Species' Limits by Threshold Statistics, version 1.0-18/r45. Disponible electrónicamente en <http://r-forge-r-project.org/projects/splits/>.

Felsenstein, J. 2004. *Inferring phylogenies*. Sunderland, Sinauer Associates, Massachusetts, EUA.

Feria-Ortiz, M. 2011. Filogenia morfológica y molecular del grupo de especies *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae). Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México.

Feria-Ortiz, M., N.L. Manríquez-Morán y A. Nieto-Montes de Oca. 2011. Species limits in the polytypic species *Plestiodon brevirostris* (Scincidae). *Herpetological Monographs* 25:25–51.

Feria-Ortiz, M., y U.O. Garcia-Vázquez. 2012. A new species of *Plestiodon* (Squamata: Scincidae) from Sierra Madre del Sur of Guerrero, México. *Zootaxa* 3339:57–68.

Fernández, A.J., O.H. Sánchez y O. Flores-Villela. 2006. Anfibios y reptiles del estado de Tlaxcala. En: A. Ramírez-Bautista, L. Canseco-Márquez y F. Mendoza-Quijano (Eds.). *Inventarios Herpetofaunísticos de México: Avances en el Conocimiento de la Biodiversidad*. Publicaciones de la Sociedad Herpetológica Mexicana No. 3, México, D.F., México. 224–240 pp.

Fetzner, J.W. Jr. 1999. Extracting high-quality DNA from shed reptile skins: a simplified method. *Biotechniques* 26:1052–1054.

Fisher-Reid, M.C. y J.J. Wiens. 2011. What are the consequences of combining nuclear and mitochondrial data for phylogenetic analysis? Lessons from *Plethodon* salamanders and 13 other vertebrate clades. *BMC Evolutionary Biology* 11:300.

Flores-Villela, O. y E. Hernández-García. 2006. Herpetofauna de la Sierra de Taxco, Guerrero-Estado de México. En: A. Ramírez-Bautista, L. Canseco-Márquez y F. Mendoza-Quijano (Eds.). *Inventarios Herpetofaunísticos de México: Avances en el Conocimiento de la Biodiversidad*. Publicaciones de la Sociedad Herpetológica Mexicana No. 3, México, D.F., México. 266–282 pp.

Frankham R., J.D. Ballou, M.R. Dudash, M.D.B. Eldridge, C.B. Fenster, R.C. Lacy, J.R. Mendelson III, I.J. Porton, K. Ralls y O.A. Ryder. 2012. Implications of different species concepts for conserving biodiversity. *Biological Conservation* 153:25–31.

Frost, D.R., y D.M. Hillis. 1990. Species in concept and practice: herpetological applications. *Herpetologica* 46:87–104.

Fujita, M., y A. Leaché. 2011. A coalescent perspective on delimiting and naming species: a reply to Bauer et al. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 278:493–495.

Fujita, M.K., A.D. Leaché, F.T. Burbrink, J.A. McGuire y C. Moritz. 2012. Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy. *Trends in Ecology & Evolution* 27: 480–488.

García-Moreno, J., A.G. Navarro-Sigüenza, A.T. Peterson y L.A. Sánchez-González. 2004. Genetic variation coincides with geographic structure in the common bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33:186–196.

Gene Codes Corporation. 2000. Sequencher versión 4.1. Gene Codes Corporation, Michigan, EUA.

Gittenberger E. 1991. What about non-adaptive radiation? *Biological Journal of the*

Linnean Society 43: 263–272.

Gould, S.J. 2002. The structure of evolutionary theory. Belknap Press, Massachusetts, EUA.

Griffith, H. 1991. Heterochrony and evolution of sexual dimorphism in the *fasciatus* group of the scincid genus *Eumeces*. *Journal of Herpetology* 25:24–30.

Griffith, H., A. Ngo y R.W. Murphy. 2000. A cladistic evaluation of the cosmopolitan Genus *Eumeces* Wiegmann (Reptilia, Squamata, Scincidae). *Russian Journal of Herpetology* 7:1–16.

Grummer, J.A., R.W. Bryson Jr. y T.W. Reeder. 2014. Species delimitation using Bayes factors: simulations and application to the *Sceloporus scalaris* species group (Squamata: Phrynosomatidae). *Systematic Biology* 63:119–133.

Günther, A. 1860. On new reptiles and fishes from Mexico. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1860:316–318.

Hammer, Ø., D.A.T. Harper y P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4:1–9.

Hansen, T.F. y D. Houle. Evolvability, Stabilizing Selection, and the Problem of Stasis. 2004. En: Pigliucci, M, y K. Preston (Eds.). *Phenotypic Integration: Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes*. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido. 130–150 pp.

Hey, J. 2010. The divergence of chimpanzee species and subspecies as revealed in multipopulation isolation-with-migration analyses. *Molecular Biology and Evolution* 27:921–933.

Hickerson, M., C.P. Meyer y C. Moritz. 2006. DNA barcoding will often fail to discover new animal species over broad parameter space. *Systematic Biology* 55:729–739.

Highton, R. 1989. Biochemical evolution in the slimy salamanders of the *Plethodon*

glutinosus complex in the eastern United States. I: Geographic protein variation. Illinois Biological Monographs 57:1–153.

Highton, R., 1998. Is *Ensatina eschscholtzii* a ring species? Herpetologica 52:254–278.

Hillis, D.M., B.K. Mable, A. Larson, S.K. Davis y E.A. Zimmer. 1996. Nucleic acids IV: Sequencing and cloning. En: Hillis, D.M., C. Moritz, y B.K. Mable (Eds.). Molecular Systematics. Sinauer Associates, Massachusetts, EUA. 321–381 pp.

Hoelzer, G.A. 1997. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees revisited. Evolution 51:622–626.

Klauber, L.M. 1972. Rattlesnakes: Their Habits, Life Histories and Influence on Mankind. 2da Ed. University of California Press, Berkley, EUA.

Knowles, L.L., y B.C. Carstens. 2007. Delimiting species without monophyletic gene trees. Systematic Biology 56:887–895.

Kohavi, R., y F. Provost. 1998. On Applied Research in Machine Learning. Editorial for the Special Issue on Applications of Machine Learning and the Knowledge Discovery Process 30: 271–274.

Krell, F.T., y P.S. Cranston. 2004. Which side of the tree is more basal? Systematic Entomology 29:279–281.

Kurita, K., y T. Hikida 2014. A New Species of *Plestiodon* (Squamata: Scincidae) from Kuchinoshima Island in the Tokara Group of the Northern Ryukyus, Japan. Zoological Science 31:464–474

Lanfear, R., B. Calcott, S.Y.W. Ho y S. Guindon. 2012. PartitionFinder: Combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. Molecular Biology and Evolution 29:1695–1701.

Leaché, A.D. y M.K. Fujita. 2010. Bayesian species delimitation in West African forest geckos *Hemidactylus fasciatus*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences

277:3071–3077.

Leaché, A.D. y T.W. Reeder. 2002. Molecular systematics of the Eastern Fence Lizard (*Sceloporus undulatus*): a comparison of parsimony, likelihood and Bayesian approaches. *Systematic Biology* 51:44–68.

Lee, J., R. Calderón Mandujano y M.A. Lopez-Luna. 2013. *Plestiodon sumichrasti*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015.1. Disponible electrónicamente en <http://www.iucnredlist.org/>.

León-Paniagua, L., A.G. Navarro-Sigüenza, B.E. Hernández-Baños y J.C. Morales. 2007. Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in the Mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42:653–664.

Librado, P. y J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451–1452.

Lohse, K. 2009. Can mtDNA barcodes be used to delimit species? A response to Pons et al. (2006). *Systematic Biology* 58:439–442.

Lorence, D.H., y A. García-Mendoza. 1989. Oaxaca, México. En: Campbell, D.G., y H.D. Hammond. (Eds.). *Floristic Inventory of Tropical Countries: The Status of Plant Systematics, Collections and Vegetation, plus Recommendations for the Future*. The New York Botanical Garden, Nueva York, EUA. 253 –269 pp.

Losos, J.B., T.R. Jackman, A. Larson, K. De Queiroz y L. Rodríguez-Schettino. 1998. Historical contingency and determinism in replicated adaptive radiations of island lizards. *Science* 279:2115–2118.

Manni, F., E. Guérard y E. Heyer. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology* 76:173–190.

Manthey, J.D., J. Klicka y G.M. Spellman. 2012. Is gene flow promoting the reversal of

Pleistocene divergence in the Mountain Chickadee (*Poecile gam belli*)? PLoS One 7:e49218.

Martínez, A., y A.C. Kak. 2001. PCA versus LDA. IEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence 23:228–233.

Martínez-Méndez, N., y F.R. Méndez-De la Cruz. 2007. Molecular phylogeny of the *Sceloporus torquatus* species-group (Squamata: Phrynosomatidae). Zootaxa 1609:53–68

Mayden, R.L. 1997. A hierarchy of species concepts: The denouement in the saga of the species problem. En: Claridge, M.F., H.A. Dawah y M.R. Wilson (Eds). Species: The units of biodiversity. Chapman and Hall, Londres, Reino Unido. 381–424 pp.

McIntosh, E.J., M. Rossetto, P.H. Weston y G.M. Wardle. 2014. Maintenance of strong morphological differentiation despite ongoing natural hybridization between sympatric species of *Lomatia* (Proteaceae). Annals of Botany 113:861–872.

Medica, P.A., R.G. Arndt y J.R. Dixon. 1975. Additional records of reptiles from Jalisco, México. The Great Basin Naturalist 35:317–318.

Meza-Lázaro, R.N., y A. Nieto-Montes de Oca. 2015. Long forsaken species diversity in the Middle American lizard *Holcosus undulatus* (Teiidae). Zoological Journal of the Linnean Society (en prensa).

Mitchell, W.A., y T.J. Valone. 1990. The optimization research program: studying adaptations by their function. The Quarterly Review of Biology 65:43–52.

Monaghan, M.T., R. Wild, M. Elliot, T. Fujisawa, M. Balke, D.J. Inward, D.C. Lees, R. Ranaivosolo, P. Eggleton, T.G. Barraclough y A.P. Vogler. 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. Systematic Biology 58:298–311.

Morrone, J.J. 2014. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. Zootaxa 3782:1–110.

Navarro-Sigüenza, A.G., A.T. Peterson, A. Nyari, G. García-Deras y J. García-Moreno. 2008. Phylogeography of the Buarremon brush-finch complex (Aves, Emberizidae) in Mesoamerica. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:21–35.

Neigel, J.E., y J.C. Avise. 1986. Phylogenetic relationships of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. En: Nevo, E., y S. Karlin (Eds.). *Evolutionary processes and theory*. Academic Press, Nueva York, EUA. 515–534 pp.

Nichols, R. 2001. Gene trees and species trees are not the same. *Trends in Ecology and Evolution* 16:358–364.

Padial, J.M., A. Miralles, I. De la Riva y M. Vences. 2010. Review: the integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7:1–14.

Pavón-Vázquez, C.J., L. Canseco-Márquez y A. Nieto-Montes de Oca. 2013. A New Species in the *Geophis dubius* Group (Squamata: Colubridae) from Northern Puebla, México. *Herpetologica* 69:358–370.

Pavón-Vázquez, C.J., U.O. García-Vázquez, R.N. Meza-Lázaro y A. Nieto-Montes de Oca. 2015. First record of the coralsnake, *Micrurus nebularis* Roze 1989, from the state of Puebla, Mexico. *Distribution Notes. Mesoamerican Herpetology* 2: 131–133.

Pinho, C., y J. Hey. 2010. Divergence with gene flow: models and data. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41:215–230.

Pons, J., T.G. Barraclough, J. Gomez-Zurita, A. Cardoso, D.P. Duran, S. Hazell, S. Kamoun, W.D. SumLin y A.P. Vogler. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* 55:595–609.

Puebla-Olivares, F., E. Bonaccorso, A. Espinosa de los Monteros, K.E. OmLand, J.E. Llorente-Bousquets, A.T. Peterson y A.G. Navarro-Sigüenza. 2008. Speciation in the emerald toucanet (*Aulacorhynchus prasinus*) complex. *The Auk* 125:39–50.

Pyron, R.A., F.T. Burbrink y J.J. Wiens. 2013. A phylogeny and updated classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC Evolutionary*

Biology 13:93.

Rambaut, A., y A.J. Drummond. 2009. Tracer 1.6. Disponible electrónicamente en <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>.

Rambaut, A., y A.J. Drummond. 2013. TreeAnnotator 1.8: MCMC output analysis. Disponible electrónicamente en <http://beast.bio.ed.ac.uk/>.

Rannala, B. y Z. Yang. 2013. Improved reversible jump algorithms for Bayesian species delimitation. *Genetics* 194:245–253.

Reeder, T.W. 2003. A phylogeny of the Australian *Sphenomorphus* group (Scincidae: Squamata) and the phylogenetic placement of the crocodile skinks (Tribolonotus): Bayesian approaches to assessing congruence and obtaining confidence in maximum likelihood inferred relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27:384–397.

Revell, L.J., M.A. Johnson, J.A. Schulte II, J.J. Kolbe y J.B. Losos. 2007. A phylogenetic test for adaptive convergence in rock-dwelling lizards. *Evolution* 61:2898–2912.

Rheindt, F.E. y S.V. Edwards. 2011. Genetic introgression: an integral but neglected component of speciation in birds. *Auk* 128:620–632.

Richmond, J.Q. 2006. Evolutionary basis of parallelism in North American scincid lizards. *Evolution and Development* 8:477–490.

Robinson, D.M. 1979. Systematics of skinks of the *Eumeces brevirostris* species group in Western Mexico. *Contributions in Science, Natural History Museum of Los Angeles County* 319:1–13.

Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D.L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M.A. Suchard y J.P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61:539–542.

Rossman, D.A., N.B. Ford y R.A. Siegel. 1996. *The garter snakes: evolution and ecology*.

University of Oklahoma Press, Norman, EUA.

Rowe, K.C., K.P. Aplin, P.R. Baverstock y C. Moritz. 2011. Recent and rapid speciation with limited morphological disparity in the genus *Rattus*. *Systematic Biology* 60:188-203.

Roze, J.A. 1989. New species and subspecies of coral snakes, genus *Micrurus* (Elapidae), with notes on type specimens of several species. *American Museum Novitates* 2,932: 1–15.

Rundell, R.J., y T.D. Price. 2009. Adaptive radiation, nonadaptive radiation, ecological speciation and nonecological speciation. *Trends in Ecology and Evolution* 24:394–399.

Sabaj Pérez, M.H. (Ed.). 2014. Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology: an Online Reference. Version 5.0 (22 Sept 2014). Disponible electrónicamente en <http://www.asih.org/>, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Washington, DC, EUA.

Santos, S., T. Hrbek, I.P. Farias, H. Schneider e I. Sampaio. 2006. Population genetic structuring of the King weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Molecular Ecology* 15:4361–4373.

Schmitz, A., M.C. Brandley, P. Mausfeld, M. Vences, F. Glaw, R.A. Nussbaum y T.W. Reeder. 2005. Opening the black box: phylogenetics and morphological evolution of the Malagasy fossorial lizards of the subfamily Scincinae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34:118–133.

Schwenk, K., N. Brede y B. Streit. 2008. Introduction. Extent, processes and evolutionary impact of interspecific hybridization in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 363:2805–2811.

Serb, J.M., A. Alejandrino, E. Otárola-Castillo y D.C. Adams. 2011. Morphological convergence of shell shape in distantly related scallop species (Mollusca: Pectinidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 163:571–584.

Setiadi, M.I., J.A. McGuire, R.M. Brown, M. Zubairi, D.T. Iskandar, N. Andayani, J. Supriatna y B.J. Evans. 2011. Adaptive radiation and ecological opportunity in Sulawesi and Philippine fanged frog (*Limnonectes*) communities. *American Naturalist* 178:221–240.

Simpson, G.G. 1961. *Principles of Animal Taxonomy*. Columbia University Press, Nueva York, EUA.

Sites, J.W., y J.C. Marshall. 2003. Delimiting species: a renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution* 18:462–420.

Sites, J.W., y J.C. Marshall. 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35:199–227

Smith, H.M. 2005. *Plestiodon*: A replacement name for most members of the genus *Eumeces* in North America. *Journal of Kansas Herpetology* 14:15–16.

Smith, H.M. y E.H. Taylor. 1950. An annotated checklist and key to the reptiles of Mexico exclusive of the snakes. *Bulletin of the US National Museum* 199:1–253.

Stayton, C.T. 2006. Testing hypotheses of convergence with multivariate data: morphological and functional convergence among herbivorous lizards. *Evolution* 60:824–841.

Stephens, M., N. Smith y P. Donnelly. 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics* 68:978–989.

Sullivan, J., J.A. Markert y C.W. Kilpatrick. 1997. Phylogeography and molecular systematics of the *Peromyscus a ztecus* group (Rodentia: Muridae) inferred using parsimony and likelihood. *Systematic Biology* 46:426–440.

Talavera, G., V. Dinca y R. Vila. 2013. Factors affecting species delimitations with the GMYC model: insights from a butterfly survey. *Methods in Ecology and Evolution*. 4:1101–1110.

Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski y S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30:2725–2729.

Tanner, W.W. 1958. Two new skinks from Durango, México. *The Great Basin Naturalist* 18:57–62.

Taylor, E.H. 1935. A taxonomic study of the cosmopolitan scincoid lizards of the genus *Eumeces* with an account of the distribution and relationships of its species. *Kansas University Sciences Bulletin* 23:1–643.

Templeton, A.R. 1989. The meaning of species and speciation: A genetic perspective. En: Otte, D. y J.A. Endler (Eds.). *Speciation and Its Consequences*. Sinauer, Sunderland, EUA. 3–27 pp.

Toews, D.P.L. y A. Brelsford. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology* 16:3907–3930.

Townsend T.M., R.E. Alegre, S.T. Kelley, J.J. Wiens y T.W. Reeder. 2008. Rapid development of multiple nuclear *loci* for phylogenetic analysis using genomic resources: an example from squamate reptiles. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:129–142.

Valdecasas, A.G., D. Williams y Q.D. Wheeler. 2008. ‘Integrative taxonomy’ then and now: a response to Dayrat (2005). *Biological Journal of the Linnean Society* 93:211–216

Vuataz, L., M. Sartori, A. Wagner y M.T. Monaghan. 2011. Toward a DNA taxonomy of alpine *Rhithrogena* (Ephemeroptera: Heptageniidae) using a Mixed Yule-Coalescent Analysis of mitochondrial and nuclear DNA. *PLoS One* 6:e19728.

Wake, D.B. 2006. Problems with species: patterns and processes of species formation in salamanders. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93:8–23.

Wake, D.B., y C.J. Schneider. 1998. Taxonomy of the plethodontid salamander genus *Ensatina*. *Herpetologica* 54:279–98.

- Weisrock, D.W., S.D. Smith, L.M. Chan, K. Biebow, P.M. Kappeler y A.D. Yoder. 2012. Concatenation and concordance in the reconstruction of mouse lemur phylogeny: an empirical demonstration of the effect of allele sampling in phylogenetics. *Molecular Biology and Evolution* 29:1615–1630.
- Wheeler, Q.D. 2010. Do we need to describe, name, and classify all species? En: Williams, D. L. y S. Knapp (Eds.). *Beyond Cladistics: The Branching of a Paradigm*. University of California Press, Los Angeles, EUA. 67–76 pp.
- Wiens, J.J. 1999. Polymorphism in systematics and comparative biology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30:327–362.
- Wiens, J.J. 2007. Species delimitation: new approaches for discovering diversity. *Systematic Biology* 56:875–878.
- Wiens, J.J. y M.R. Servedio. 2000. Species delimitation in systematics: inferring diagnostic differences between species. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 267:631–636.
- Wiens, J.J. y T.A. Penkrot. 2002. Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology* 51:69–91.
- Wiley, E.O. 1978. The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Zoology* 27:17–26.
- Wiley, E.O. y B.S. Lieberman. 2011. *Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*. 2da Ed. Wiley-Blackwell, Nueva Jersey, EUA.
- Wilson, L.D., V. Mata-Silva, y J.D. Johnson. 2013. A conservation reassessment of the reptiles of Mexico based on the EVS measure. *Amphibian & Reptile Conservation* 7:1–47.
- Wu, C.I., y C.T. Ting. 2004 Genes and speciation. *Nature Review Genetics* 5:114–122.
- Yang, Z. 2015a. The BPP program for species tree estimation and species delimitation.

Current Zoology (en prensa).

Yang, Z. 2015b. BP&P Version 3.1 (March 2015). Disponible electrónicamente en <http://www.abacus.gene.ucl.ac.uk/>.

Yang, Z. y B. Rannala. 2010. Bayesian species delimitation using *multilocus* sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 107:9264–9269.

Yang, Z., y B. Rannala. 2014. Unguided species delimitation using DNA sequence data from multiple *loci*. *Molecular Biology and Evolution* 31:3125–3135.

Yeates, D.K., A. Seago, L. Nelson, S. Cameron, L. Joseph y J.W. Trueman. 2011. Integrative taxonomy, or iterative taxonomy? *Systematic Entomology* 36:209–217.

Zachos, F.E., y S. Lovari. 2013. Taxonomic inflation and the poverty of the phylogenetic species concept – a reply to Gippoliti and Groves. *Hystrix* 24:142–144.

Zachos, F.E., T.H. Clutton-Brock, M. Festa-Bianchet, S. Lovari, D.W. Macdonald y G.B. Schaller. 2013. Species splitting puts conservation at risk. *Nature* 494:35.

Zhang, C., D.X. Zhang, T. Zhu y Z. Yang. 2011. Evaluation of a Bayesian coalescent method of species delimitation. *Systematic Biology* 60:747–761.

Zhang, J., P. Kapli, P. Pavlidis y A.A. Stamatakis. 2013. General species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*: 29: 2869–2876.

APÉNDICE I

EJEMPLARES EXAMINADOS

Las siglas MZFC y UTA corresponden a colecciones herpetológicas listadas en Sabaj Perez (2014). Los acrónimos restantes se refieren a números de campo de especímenes por catalogar en el MZFC. Al lado de cada taxón se muestra el número de ejemplares examinados entre paréntesis. Para facilitar la búsqueda de ejemplares, presento por separado la información para cada uno de los subclados de *Plestiodon brevirostris*.

Plestiodon brevirostris A: GO+OX (82)

OAXACA (38): 0.8 mi S en carretera a Morelos, 17.1056 N, 97.70611 O (MZFC 441–444); Sierra Juárez, Carr. Mitla-Totontepec, 11.9 mi S Totontepec (MZFC 5309–5310); Sierra de Juárez, ca. 5 km E de Santiago Comaltepec, 17.5667 N, 96.51667 O (MZFC 1102); sobre carretera de Teotitlán del Valle, justo hacia abajo de Benito Juárez (MZFC 1161–1162); base de Cerro Piedra Larga, rumbo al Istmo de Tehuantepec, 16.585 N, 95.801389 O (MZFC 8738); partes altas de Zoquiápan Boca de los Ríos, Sierra Monteflor, 17.550278 N, 96.733611 O (MZFC 8739); Cerro Yucunino, 7.5 km SE Llano de Guadalupe 17.1507167 N, 97.6213 O (MZFC 13446); E Morelos (MZFC 13448–13449); Santo Tomas Teipan (MZFC 15568); Mitla, 16.9841944 N, 96.3348056 O (MZFC 19134); El Punto, Sierra de Juárez (MZFC 21013); Santa María Yavesía, 17.22 N, 96.4356 O (MZFC 24472–24474); 2 km de la carretera Ixtlán-San Pablo Macuiltanguis, 17.55 N, 96.55 O (MZFC 25385–25386); Santa Inés del Monte, Zaachila, 16.93278 N, 96.866389 O (MZFC 25387–25389); 14 mi NE Díaz Ordaz, 16.074167 N, 96.396389 O (MZFC 25390); Cerro San Felipe (MZFC 25392); carretera Teotitlán del Valle-Benito Juárez, 17.1033 N, 96.49833 O (MZFC 25393); 4 km SE San Isidro Buenos Aires, 17.938056 N, 96.865278 O (MZFC 25538, ANMO 3995–3998, 4009); ca. 2km SE de Santiago Comaltepec sobre el camino de terracería hacia la carretera MX176, 17.55819 N, 96.53721 O (MZFC 27173, 27179); La Unión Altamira Monteverde, Santa Lucía Monteverde, Putla, 16.994767 N, 97.7010833 O (ANMO 822); ca. 1.5 km SE desviación a Santa María Jaltianguis sobre la MX 175, 17.3488055 N, 96.51672 O (ICS 431). **GUERRERO (44):** Crucero del Carrizal (MZFC 642); 250 m NE Crucero del Carrizal (MZFC 691); Omiltemi, 4 km ESE Cueva del Tigre (MZFC 2851); Omiltemi, camino a Las Trincheras (MZFC 2853, 2863, 2874); 2 km SE Omiltemi (MZFC 2854); 1 km S Omiltemi, camino a Agua Fría (MZFC 2855–2856); 2 km ESE Omiltemi (MZFC 2857–2858, 2870); Omiltemi, camino a La Joya (MZFC 2859, 2864); Omiltemi, Laguna Escondida (MZFC 2862); Omiltemi, 2.4 km E, Plan de Potrerillos (MZFC 2865); Omiltemi, Palo Hueco (MZFC 2867); Omiltemi, 1.5 km S, camino a Agua Fría (MZFC 2868); Omiltemi, 2 km S, zona del cedral (MZFC 2869); Omiltemi, 3 km E, Plan de Potrerillos (MZFC 2871); Omiltemi, Plan de Potrerillos (MZFC 2872); Omiltemi, Barranca de Potrerillos (MZFC 2873); afueras de Omiltemi, ruinas del aserradero (MZFC 10182–10183, 10185–10186); 1.8 km SE Chalma, Atlixac (MZFC 12539); 2 km SE Lago Agua Fría, límite NW del Parque Estatal de Omiltemi (MZFC 12933–12935); Balzamar, arriba de Carrizal de Bravo, 17.567 N, 99.55 O (MZFC 25382); Omiltemi, 17.4833 N, 99.65 O (MZFC 25383); Sierra de Alquitrán, cerca de Chilpancingo al W, 17.5 N, 99.467 O (MZFC 25384); 2 km S de Chalma, Atlixac, 17.48467 N, 98.8864722 O (ANMO 3345); cerca de Chalma, Atlixac, 17.493167 N, 98.8683611 O

(ANMO 3563); ca. 0.5 km de Chalma y rumbo a Tlatlauquitepec, 17.493167 N, 98.8683611 O (ANMO 3564–3566, 3568, 3574–3575); ca. 0.5 km de Chalma y rumbo a Tlatlauquitepec, 17.49625 N, 98.8665833 O (ANMO 3567); 2.75 km (en línea recta) NW Cabecera Municipal de Metlaltónoc, Cochoapa el Grande, 17.20567 N, 98.43111 O (ANMO 3901–3902).

***Plestiodon brevirostris* A: NE (34)**

PUEBLA (17): 3–5 km E Azumbilla, 18.6722 N, 97.36167 O (MZFC 721–722); Acajete (MZFC 3139); Sierra Negra, estación de microondas 18.321 N, 97.057 O (MZFC 16472); alrededores de Zoquitlán, 18.322 N, 97.013 O (MZFC 16480); San Miguel Calixitla, 19.2643056 N, 97.19811 O (MZFC 25347–25350); Zoquitlán, estación de microondas, 18.32322 N, 97.05688 O (ANMO 3948); Zoquitlán, camino al río, 18.329893 N, 97.007347 O (ANMO 3953–3955); Carr. Zoquitlán-Coyomeapan, 18.30268 N, 96.99699 O (ANMO 4226–4227); poblado de San Juan del Valle, aproximadamente 1 km S del poblado, 19.25625 N, 97.198278 O (CJPV 2–3). **TLAXCALA (11):** entronque a España, carretera 138 (MZFC 21150); Cerro Tecoa, ca. 12 km N Huamantla, 19.39122 N, 97.921639 O (MZFC 25343–25345); 8.5 km NW Benito Juárez, después de la Ranchería Torres, 2.4 km. al N de Huamantla, 19.4402 N, 97.88258 O (MZFC 26310–26314, 26316); San Antonio, San Juan Ixtenco (ANMO 1895); **VERACRUZ (6):** Totalco (El Limón), 19.48145 N, 97.35079 O (UOGV 2607–2612).

***Plestiodon brevirostris* A: IJ (6)**

OAXACA (6): Ixtlán de Juárez, carretera de Oaxaca, 3.5 mi N Cumbre del Estudiante (CNAR 14053); ca. 1.5 km SE desviación a Santa María Jaltianguis sobre la MX 175, 17.3488055 N, 96.51672 O (MZFC 27193–27194); Sierra de Juárez, 9 km adelante de Ixtlán de Juárez, rumbo a Tuxtepec 17.365865 N, 96.513375 W (MZFC 25391); Campamento Las Flores, Santa María Jaltianguis, 17.35094 N, 96.53122 O (ANMO 2170–2171).

***Plestiodon brevirostris* B (12)**

GUERRERO (8): 3 km al N de La Escalera, Leonardo Bravo, 17.75 N, 99.84 O (CNAR 6585); 0.2 km NW del panteón de Petatlán, 17.59411 N, 99.002944 O (CNAR 24264); 0.3 km N del panteón de Petatlán, 17.5954722 N, 99.001278 O (CNAR 24265); Xixila, 17.966972 N, 98.843872 O (ANMO 3656); Xixila, 17.994944 N, 98.842125 O (ANMO 3657); Xixila, 17.9933 N, 98.85056 O (ECA 384); Xixila, 17.9933 N, 98.85083 O (ECA 387); Xixila, 17.99268056 N, 98.85098056 O (ECA 390). **MORELOS (2):** Sierra de Huautla, cerca de la estación El Limón, 18.55711 N, 98.945167 O (ANMO 3789); Acatlipa (CNAR 1774). **OAXACA (2):** La Casita, Santiago Tamazola, Huajapan de León, 17.694167 N, 98.244167 O (MZFC 17503); 5.0 km (en línea recta) NE Santiago Tamazola, 17.71265 N, 98.20607 O (ANMO 3858).

***Plestiodon indubitus* (32)**

DISTRITO FEDERAL (1): El Capulín, Tlalpan (MZFC 3269); **GUERRERO (9):** Carretera Taxco-Ixcateopan, Km. 26.5, Ixcateopan de Cuauhtémoc (MZFC 3920); barranca W Ixcateopan de Cuauhtémoc, Ixcateopan de Cuauhtémoc (MZFC 3921); Ixcateopan de Cuauhtémoc, 2 km E (MZFC 3923, 3927); Carretera Taxco-Ixcateopan, Km. 8, Taxco de Alarcón (MZFC 3924); San Miguel, Taxco de Alarcón (MZFC 3925); Cruz Alta, 200 m al

SW, Pedro Ascencio Alquisiras (MZFC 3926); Las Peñas, 2 km. SE, Ixcateopan de Cuauhtémoc (MZFC 3928); Landa, a un lado de Taxco (MZFC 25471); **MÉXICO (5):** Pipioltepec, 5 km E (MZFC 307); Ocuilán, Tlaltizapan, por la terracería Cuernavaca-Chalma (MZFC 11796); Rancho "La Mecedora", camino a Peña Blanca, Avándaro, Valle de Bravo (MZFC 11798); Valle de Bravo (MZFC 25414–25415); **MORELOS (17):** Coajomulco, 0.5 km W (MZFC 3334); 1.8 km W Huitzilac, sobre la carretera 95, entre Tres Marías y Zempoala (MZFC 11189); derrame del Chichinautzin (MZFC 24668); Tepoztlán (MZFC 25417–25420, 25443–25444); ca. 2 km S Tres Marías, Km. 56 carretera Tres Marías-Cuernavaca, 19.029233 N, 99.219683 O (MZFC 25460); Km. 61 carretera Tres Marías-Cuernavaca, 19.011733 N, 99.235267 O (MZFC 25461); ca. 1 km N Huitzilac, 19.023778 N, 99.280472 O (MZFC 25468); ca. 2 km S Tres Marías, Km. 56 carretera Tres Marías-Cuernavaca, 19.029233 N, 99.219683 O (MZFC 25469); Km. 61 carretera Tres Marías-Cuernavaca, 19.011733 N, 99.235267 O (MZFC 25470); ca. 1 km N de Biomédicas (UAEM), Cuernavaca (MZFC 25472–25473); 8 km S de Tres Marías, 19.020222 N, 99.214472 O (UOGV 2524).

***Plestiodon nietoi* (13)**

GUERRERO (13): El Filo, El Balcón 17.5815278 N, 100.54878 O (MZFC 22247–22248); La Llave, El Balcón, Ajuchitán del Progreso, 17.62275 N, 100.5748056 O (MZFC 22249–22252); El Moreno, El Balcón (MZFC 22253–22254); carretera La Ola-San Antonio de las Texas (UTA-R 58460–58464).

***Plestiodon* sp. 3 (1)**

GUERRERO (1): Cañada El Limón, Campo Morado, Arcelia, 18.194388 N, 100.1673056 O (MZFC 19787).

APÉNDICE II

CARACTERES EXAMINADOS

A continuación enlisto los caracteres examinados en todos los ejemplares. Los caracteres de coloración cuentan con su propio apartado. Se ilustran algunos de los caracteres que probaron ser de importancia taxonómica.

I. Binarios

1. Presencia / ausencia (1-0) de contacto entre la frontal y la frontonasal.
2. 1-0 de contacto entre la interparietal y las nucales (Fig. 19).
3. 1-0 de contacto entre la 3^{ra} supralabial y la presubocular superior.
4. 1-0 de temporal primaria.
5. 1-0 de contacto entre la postsubocular superior y la temporal secundaria superior.
6. 1-0 de contacto entre la 7^a supralabial y la temporal secundaria superior.



Figura 19. Presencia de contacto entre la interparietal y las nucales (izq.) y ausencia debida a que la interparietal se encuentra bordeada posteriormente por las parietales (der.).

II. Cualitativos

1. Forma de la escama que bordea medialmente a la postgenial.

III. Merísticos

1. Número de supraoculares en contacto con la frontal.
2. Número de supraoculares.
3. Número de superciliares.
4. Número de nucales.

5. Número de postsuboculares.
6. Número de postsuboculares en contacto con la 6^a supralabial.
7. Número de escamas contactando a la temporal secundaria superior lateralmente entre los niveles de la postsubocular superior y la nugal (sin incluir éstas últimas).
8. Número de postlabiales.
9. Número de escamas de igual o menor tamaño a la postlabial superior contactando a ésta última.
10. Número de escamas contactando simultáneamente a la postlabial superior y ya sea a la temporal secundaria superior o a una nugal.
11. Número de hileras transversales de escamas dorsales entre los niveles de las nucales y la cloaca.
12. Número de hileras longitudinales de escamas a la mitad del cuerpo.
13. Número de laminillas subdigitales en el dígito IV de la extremidad posterior.

IV. Morfométricos

1. Longitud hocico-cloaca (LHC; Fig. 20).
2. Longitud de la cabeza medida entre la punta del hocico y el margen posterior de la abertura auricular.
3. Longitud del tronco (Fig. 20).
4. Longitud de la tibia (Fig. 20).
5. Ancho de la frontonasal.
6. Tamaño de la interparietal (ancho X largo).
7. Longitud de la loreal anterior.
8. Longitud de la loreal posterior.
9. Tamaño de la temporal primaria (alto X largo).
10. Altura de la 6^a supralabial.
11. Altura de la 7^a supralabial.

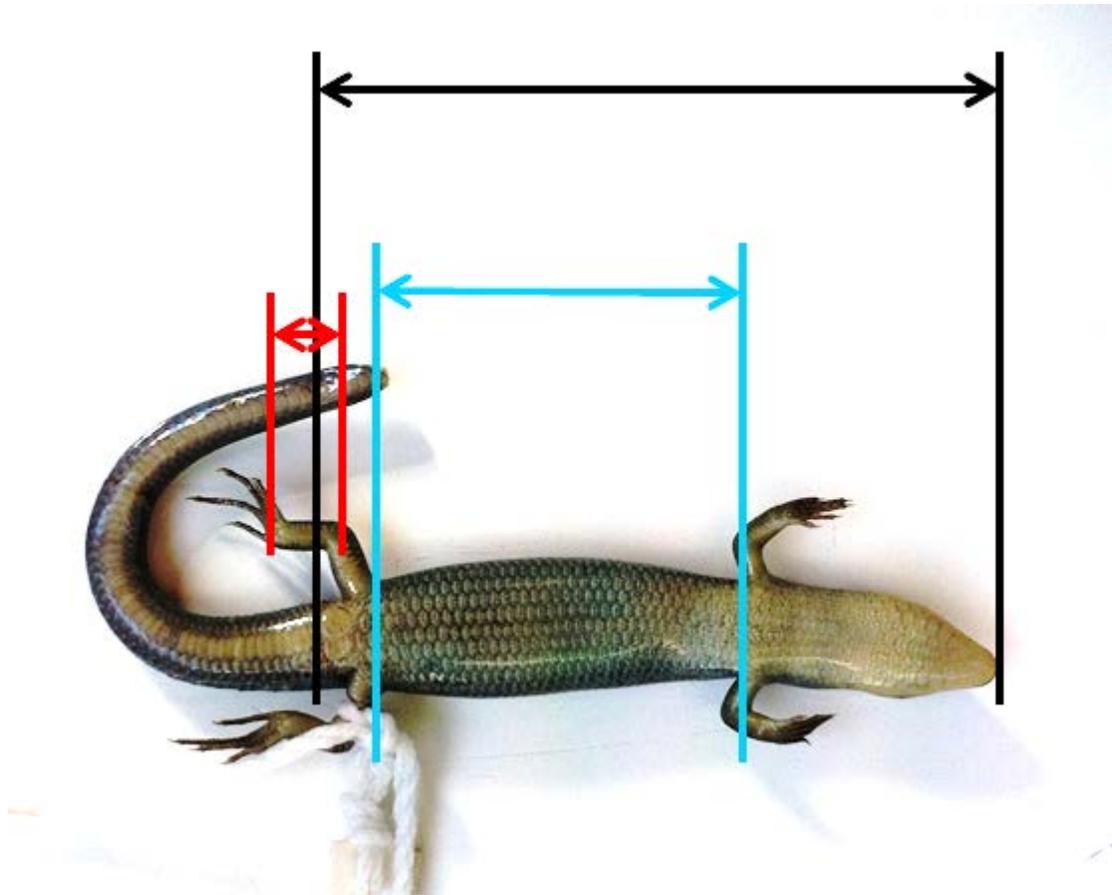


Figura 20. Descripción gráfica de las mediciones de LHC (negro), longitud del tronco (azul) y longitud de la tibia (rojo).

V. Proporciones calculadas a partir de los caracteres morfométricos registrados

1. LHC / longitud de la cabeza.
2. LHC / longitud del tronco.
3. Longitud del tronco / longitud de la tibia.
4. LHC / ancho de la frontonasal.
5. LHC / tamaño de la interparietal.
6. LHC / tamaño de la temporal primaria.
7. Largo de la loreal anterior / largo de la loreal posterior.
8. Altura de la 6^a supralabial / altura de la 7^a supralabial.

VI. Caracteres de coloración

1. 1-0 de línea clara en las supralabiales separada del borde ventral de las supralabiales por pigmentación oscura (Fig. 21).
2. Alcance anterior de la línea oscura secundaria superior (LOSS).

3. Alcance posterior de la LOSS.
4. Alcance posterior de la línea clara dorsolateral (LCD).
5. Hileras de escamas ocupadas por la LCD al nivel de la mitad del cuello (las hileras de escamas se cuentan empezando a partir de las dos hileras mediales de escamas dorsales hacia lateral).
6. Hileras de escamas ocupadas por la LCD al nivel de la mitad del cuerpo.
7. Alcance posterior de la línea clara lateral (LCL).
8. Hileras de escamas ocupadas por la LCL al nivel de la mitad del cuello (Fig. 22).
9. Hileras de escamas ocupadas por la LCL al nivel de la mitad del cuerpo.
10. Número de hileras longitudinales de escamas ocupadas por la región dorsal clara a la mitad del cuerpo (Fig. 23).
11. Ancho relativo de la LOSS (distancia entre los bordes mediales de ambas LOSS / LHC).



Figura 21. Presencia de línea clara en las supralabiales separada del borde ventral de las mismas escamas por pigmentación oscura (izq.) y ausencia debida a la continuidad de la coloración clara en la zona supralabial (der.).

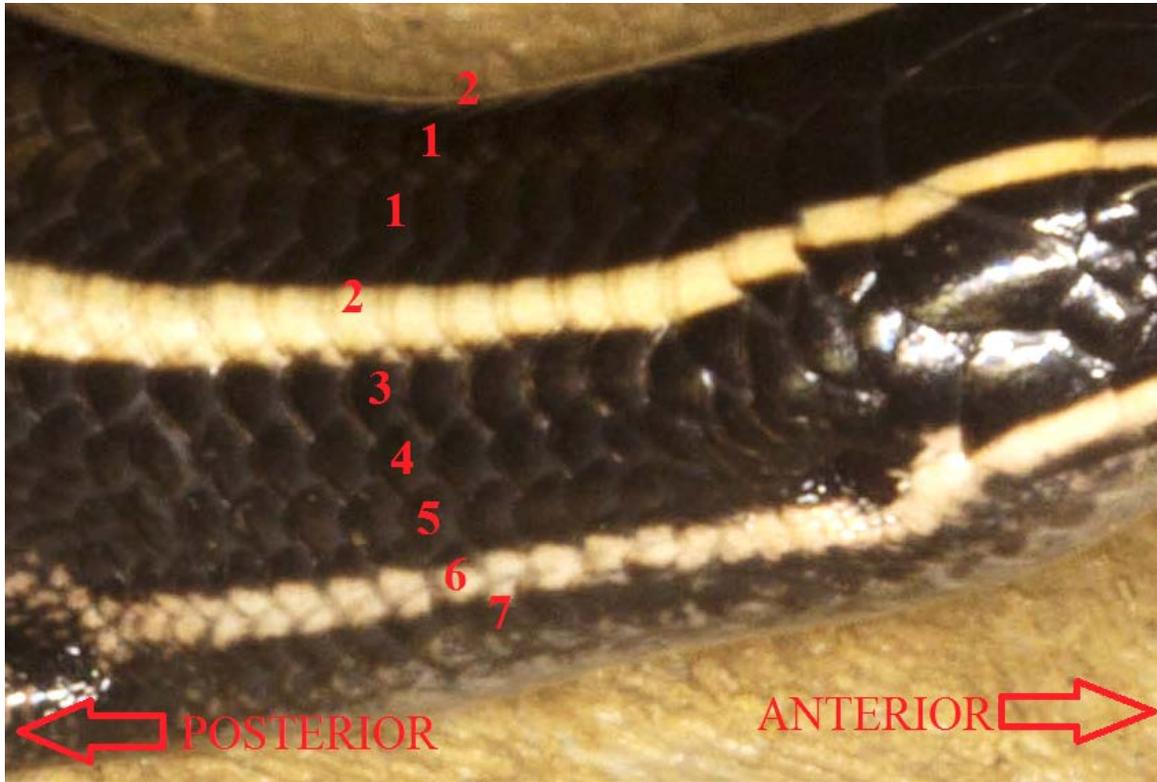


Figura 22. Descripción de las hileras de escamas ocupadas por la LCL al nivel de la mitad del cuello. En este caso las hileras ocupadas son la 6^a y 7^a.

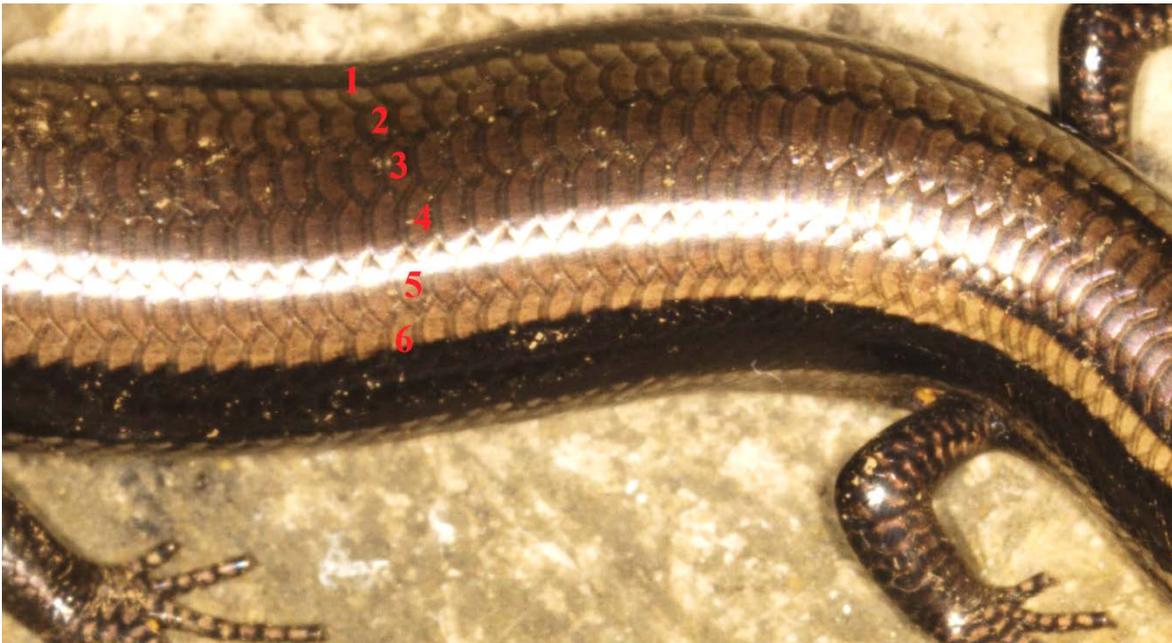


Figura 23. Conteo del número de hileras longitudinales de escamas ocupadas por la región dorsal clara a la mitad del cuerpo. En este caso son 6.

APÉNDICE III

FOTOGRAFÍAS DE *PLESTIODON BREVIROSTRIS* (*SENSU LATO*)



Figura 24. Totalco (El Limón), Veracruz (UOGV 2607). Autor: Carlos J. Pavón Vázquez (CJPV).



Figura 25. Huamantla, Tlaxcala (tomada de Feria-Ortiz, 2011).



Figura 26. Zoquitlán, estación de microondas, Puebla (ANMO 3948). Nótese la LCL relativamente corta con respecto a los ejemplares de las Figuras 27 y 28. Autor: Eric Centenero Alcalá (ECA).



Figura 27. 4km al S Dde San Isidro Buenos Aires, Oaxaca (ANMO 3995). Autor: ECA.



Figura 28. Macultianguis, Oaxaca (tomada de Feria-Ortiz, 2011).



Figura 29. Ca. 0.5 km de Chalma y rumbo a Tlatlauquitepec, Guerrero (ANMO 3563) Autor: ECA.



Figura 30. Omiltemi, Guerrero (tomada de Feria-Ortiz, 2011).



Figura 31. Alrededores de Amatlán de Quetzalcóatl, Morelos (ejemplar no colectado). Autor: CJPV.



Figura 32. Sierra de Huautla, cerca de la estación El Limón, Morelos (ANMO 3789). Autor: ECA.



Figura 33. Xixila, Guerrero (ejemplar no catalogado). Autor: ECA.



Figura 34. 5.0 km (en línea recta) NE Santiago Tamazola, Oaxaca (ANMO 3858). Autor: ECA.



Figura 35. Acercamiento de la cabeza de dos ejemplares de *Plestiodon brevirostris* (*sensu lato*) pertenecientes al clado A (arriba; 4km al S de San Isidro Buenos Aires, Oaxaca, ANMO 3998) y uno al clado B (abajo; 5.0 km en línea recta NE Santiago Tamazola, Oaxaca, ANMO 3858). Nótese en el ejemplar perteneciente al clado A el contacto entre la interparietal y las nucales, la línea negra en la zona supralabial y la presencia de una LCL claramente discernible de la coloración clara del vientre (vs. interparietal encerrada posteriormente por las parietales, zona supralabial uniformemente clara y LCL fusionada parcialmente con la coloración clara del vientre en el ejemplar del clado B).

APÉNDICE IV

DIVERSIDAD DE TIPOS DE VEGETACIÓN OCUPADOS POR *PLESTIODON BREVIROSTRIS* (*SENSU LATO*)



Figura 36. Matorral xerófilo en Totalco (El Limón), Veracruz, ca. 2400 msnm. Autor: CJPV.



Figura 37. Bosque de pino-encino en la estación de microondas de Zoquitlán, Puebla, ca. 2680 msnm. Google Street View®.



Figura 38. Ladera deforestada rodeada de bosque de encino, 4 km al S de San Isidro Buenos Aires, Oaxaca, ca. 2070 msnm. Autor: ECA.



Figura 39. Bosque de pino en los alrededores de Santiago Comaltepec, Oaxaca, ca. 2400 msnm. Autor: Uri O. García Vázquez (UOGV).



Figura 40. Bosque de pino-encino, ca. 1.5km al sur este de la desviacion a Santa María Jaltianguis sobre la Mx 175, Oaxaca, ca. 2270 msnm. Nótese la cubierta vegetal más abierta y seca con respecto a las Figs. 38 y 39. Autor: Israel Solano Zavaleta (ISZ).



Figura 41. Transición entre bosque tropical caducifolio y bosque de encino en Amatlán de Quetzalcóatl, Morelos, ca. 1700 msnm. Autor: CJPV.



Figura 42. Bosque de encino en Xixila, Guerrero, ca. 1500 msnm. Autor: ECA.



Figura 43. Bosque de encino, 5 km (en línea recta) NE Santiago Tamazola, Oaxaca, ca. 1630 msnm. Autor: ECA.