



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

“EVALUACIÓN TAXONÓMICA DE UNA POBLACIÓN DEL GÉNERO *GEOPHIS*
(SQUAMATA: COLUBRIDAE) DE LA FAJA VOLCÁNICA TRANSMEXICANA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

BARRAGÁN RESÉNDIZ LESLY MONTSERRAT

Vo. Bo.

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. GARCÍA VÁZQUEZ URI OMAR





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.

“La naturaleza estaba llena de una poesía que se podía observar, experimentar, y de esa sensación provenía probablemente la afición por la biología que se desarrollaría hasta llevarme a los estudios universitarios, y esa necesidad de observar y de experimentar me llevaría también a una honda decepción en la universidad, pero, sobre todo, a la inquietud, el deseo de novedades que jamás me abandona”

German Sierra

Agradecimientos

El financiamiento para el trabajo de campo y de laboratorio del presente proyecto, fue otorgado por Peñitas Godínez A.C y la Reserva Ecológica “El Peñón”, la Dirección General de apoyo al personal, Universidad Nacional Autónoma de México (proyectos PAPIIT-IN 221016 y 216619) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT A1-S-37838) a Uri Omar García Vázquez.

Agradezco mi tutor principal M. en C. Uri Omar García Vázquez y a mis sinodales: M. en C. Genaro Montaña Arias, Dr. Sergio Díaz Martínez, Dr. Manuel Feria Ortiz y al Dr. David Nahum Espinosa Organista por las consideraciones que tuvieron conmigo y por sus siempre oportunas observaciones que me brindaron durante la revisión del trabajo y que han contribuido de forma significativa a mejorar esta tesis de licenciatura.

Al M. en C. Luis Canseco Márquez por facilitar las secuencias de DNA y los datos que permitieron que realizará un mejor análisis.

Agradezco a Antonio Esaú Valdenegro Brito, Diego García Morales, Marysol Trujano Ortega, Diana Cecilia Rivera Ramos, Romina Itzel Cervantes Burgos y a Uri Omar García Vázquez por su ayuda en el trabajo de campo.

Agradecimientos personales

Agradezco a la máxima casa de Estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, no sólo por acogerme y darme la oportunidad de desarrollarme en la carrera que escogí, también por brindarme un segundo hogar, la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, la cual me ha brindado las instalaciones y las herramientas necesarias para llegar a ser la bióloga que nuestro país se merece.

Doy gracias a mis padres Maru y Rubén, por brindarme su amor y apoyo incondicional en cada paso que he dado, por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación a lo largo de mi vida, y por darme la fuerza para jamás rendirme y siempre seguir adelante. Han sido el mejor ejemplo que he podido tener, gracias a ustedes he aprendido muchas cosas nuevas, sin las cuales no sería la mujer que soy ahora. Los amo.

Quiero agradecer a Enrique por ser una parte tan importante de mi vida y por caminar a mi lado en esta trayectoria, porque siempre has tenido una palabra amable, un consejo oportuno o un chiste improvisado en todo momento. El amor que me has demostrado es uno de los pilares que me ha impulsado a ser siempre mejor no solo como estudiante, sino también como persona.

A mi mejor amigo, Sinai, porque siempre has creído en mí y me has enseñado que nunca es tarde para alcanzar tus sueños, que con esfuerzo uno puede lograr lo que se proponga y que no existen los callejones sin salida, porque aún en las peores circunstancias, nosotros somos la llave que abre caminos.

Agradezco a Uri por los consejos que me ha brindado, por apoyarme y motivarme en todo momento para que nunca detenga mi crecimiento académico y, sobre todo, por la enorme paciencia que ha tenido ante mis errores. Todo lo que me ha enseñado como profesor y como persona lo guardaré siempre en mi memoria y en mi corazón, para mí es un gran modelo a seguir.

Gracias a todos los profesores que contribuyeron en mi formación académica y que se tomaron el tiempo y la dedicación para transmitirme sus diversos conocimientos, teóricos y prácticos, han sido una parte muy importante en este camino.

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Concepto de especie.....	2
Descripción de las especies.....	3
Uso de caracteres morfológicos y moleculares.....	4
Taxonomía integrativa.....	5
Grupo de estudio.....	5
Antecedentes.....	7
Género <i>Geophis</i>	7
Conocimiento de la diversidad herpetofaunística del Estado de México.....	8
Justificación.....	9
Objetivo General.....	9
Objetivos particulares.....	9
Método.....	9
Morfología externa.....	9
Caracteres examinados.....	9
Caracteres morfométricos.....	11
Caracteres moleculares.....	12
Extracción.....	13
Amplificación.....	13

Purificación y secuenciación.....	14
Análisis filogenéticos.....	14
Edición y alineamiento de secuencias.....	14
Modelos y esquema de partición.....	14
Reconstrucción filogenética.....	14
Distancias genéticas.....	14
Consideraciones taxonómicas.....	15
Resultados.....	15
Caracteres morfológicos.....	15
Escutelación.....	15
Caracteres morfométricos.....	16
Longitud hocico cloaca (LHC).....	16
Longitud de la cola (LC).....	17
Longitud de la cabeza (LCa).....	17
Proporción cuerpo cola (PCC).....	17
Reconstrucción filogenética.....	18
Distancias genéticas.....	19
Revisión taxonómica.....	21
Sinonimias.....	21
Ejemplar representativo de la especie (UOGV 2723).....	21
Otros ejemplares revisados (RICB 69 y RIB 74).....	21

Diagnosis.....	22
Descripción del ejemplar UOGV 2723.....	23
Patrón de coloración (en preservación).....	24
Patrón de coloración (en vida).....	24
Dentición.....	25
Hemipenes.....	25
Ecología y distribución.....	26
Discusión.....	28
Conclusiones.....	30
Referencias.....	31

Resumen

Se realizó la evaluación taxonómica de una población de culebras del género *Geophis* de la Faja Volcánica Transmexicana con base en datos morfológicos y caracteres diagnósticos que definen a los siete grupos en que se divide el género *Geophis* (*chalybeus*, *championi*, *dubius*, *latifrontalis*, *omiltemanus*, *semidoliatus* y *sieboldi*) y las especies que los integran. Por otro lado, se realizaron inferencias filogenéticas mediante dos métodos probabilísticos que consistieron en un análisis de máxima verosimilitud (ML) y un análisis de inferencia bayesiana (IB), para los que se usaron 15 secuencias del gen citocromo b (cyt-b) de las cuales nueve corresponden al grupo *sieboldi*, tres al grupo *dubius* una al grupo *championi* y una al grupo *latifrontalis*, así como una secuencia de *Rhadinaea flavilata* la cual se utilizó como grupo externo. El análisis morfológico indica que la población de *Geophis* sp. de la Faja Volcánica Transmexicana es asignable al grupo *sieboldi*, y que representa una especie no descrita ya que difiere de las demás especies por poseer seis escamas supralabiales; 149 ventrales (machos); 43 subcaudales (machos); 12 dientes maxilares; 14 espínulas en el hemipene; y por la ausencia de un collar nucal y pits apicales. En ambos análisis filogenéticos el género *Geophis* es monofilético, la población de *Geophis* sp. es la especie hermana de *G. sieboldi*, por lo que su asignación al grupo *sieboldi* parece ser correcta. Con la adición de *Geophis* sp. nov. al grupo *sieboldi* el número de especies en el grupo asciende a 18 de las cuales nueve se distribuyen en México.

Palabras clave: Especie, descripción, sistemática, filogenia.

Introducción

La sistemática es la disciplina encargada de estudiar la diversidad biológica, trata de entender las relaciones evolutivas de los organismos e interpretar la manera en que la vida se ha diversificado y cambiado a través del tiempo, así como de elaborar sistemas de clasificación de los seres vivos que nos permitan conocer las características de una especie ubicándola dentro de ciertos grupos o taxones (Morrone, 2000; Goyenechea, 2005). El paradigma actual de la sistemática es la escuela Cladista o Filogenética, que se basa en las relaciones genealógicas a través de un cladograma, en el que se detallan los caracteres que justifican cada uno de los agrupamientos taxonómicos, denominados clados o grupos monofiléticos (Morrone, 2000). Existen tres métodos más comunes utilizados en estudios de sistemática filogenética; Máxima Parsimonia (MP); Máxima verosimilitud (ML); y la Inferencia Bayesiana (IB). En los análisis de máxima parsimonia el árbol filogenético que se prefiere es el que implica una mínima cantidad de cambios evolutivos que se requieren para explicar una determinada matriz de caracteres. Por otro lado, la máxima verosimilitud y la inferencia bayesiana son métodos estadísticos basados en modelos de evolución molecular, donde se toma en cuenta conocimiento a priori acerca de los caracteres, especialmente cuando son caracteres moleculares (secuencias de nucleótidos de DNA), debido a esto, tanto MV como IB se han vuelto de los métodos más utilizados para la inferencia filogenética ya que se han visto favorecidos por el surgimiento de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que han facilitado la secuenciación de los ácidos nucleicos y por tanto el uso de un alto número de caracteres moleculares, así como el desarrollo de software y recursos computacionales que globalmente han influido en mayores y más rápidos análisis filogenéticos (Contreras-Ramos y Goyenechea, 2007; Abascal, Irisarri y Zardoya, 2014).

Por otro lado, la taxonomía es la disciplina científica que define las herramientas para la determinación o identificación de especímenes, los conceptos taxonómicos que se asocian a los taxones, la formalización de sus nombres en la subdisciplina de la Nomenclatura y la clasificación de los organismos (Mayr *et al.*, 1953; Simpson, 2005; SBS, 2019). Como se entiende en la actualidad la clasificación biológica tiene que ser congruente con las hipótesis disponibles en un árbol filogenético, en donde los organismos se agrupan en taxones

mutuamente excluyentes, de manera que cada ser vivo pertenece a un solo taxón en cada rango o categoría taxonómica.

Concepto de especie

La unidad fundamental en los estudios de sistemática y en otras disciplinas, como la ecología y evolución, es la especie. En la actualidad existen diversos conceptos de especie y el uso de uno u otro depende del criterio del investigador (Wiens y Servedio, 2000). Desde el punto de vista biológico, una especie se define como una agrupación de poblaciones naturales con cruzamientos entre sí que están aisladas reproductivamente de otros grupos (Mayr, 1991). Desde la perspectiva evolutiva, se define como un linaje (una secuencia de poblaciones ancestro-descendientes) que evoluciona separadamente de otras y que tiene un papel y unas tendencias de evolución propios y de carácter unitario (Simpson, 1961; Haro, 1999). Por otro lado, el concepto filogenético define a la especie como un grupo de individuos interconectados por relaciones genealógicas de ancestría-descendencia, que constituyen una potencial comunidad reproductora, tomando en cuenta el número de caracteres compartidos y la distribución en el espacio (Henning, 1966). Sin embargo, el concepto considerado en el presente trabajo es el propuesto por de Queiroz (2007) también llamado concepto unificado de especie, en el cual se separa la conceptualización de los criterios operacionales (propiedades) de las especies que eran considerados necesarios para su definición. El planteamiento teórico define que la especie es reconocida como un linaje divergente de metapoblaciones, por otro lado, las propiedades son múltiples líneas de evidencia para evaluar la separación de linajes ya que surgen en diferentes momentos del proceso de especiación, es decir, que los linajes no deben ser necesariamente distinguibles morfológicamente, monofiléticos, aislados reproductivamente o ecológicamente divergentes (Fig. 1). Por lo que el uso de este concepto recae en que, al tomar en cuenta las propiedades fundamentales de los otros conceptos que se han propuesto (como el aislamiento reproductivo o las tendencia evolutivas) como evidencias operacionales (no exclusivas) permite el reconocimiento de especies en diferentes momentos del proceso evolutivo, incluso a partir de la divergencia temprana de linajes (Torretti, 2010).

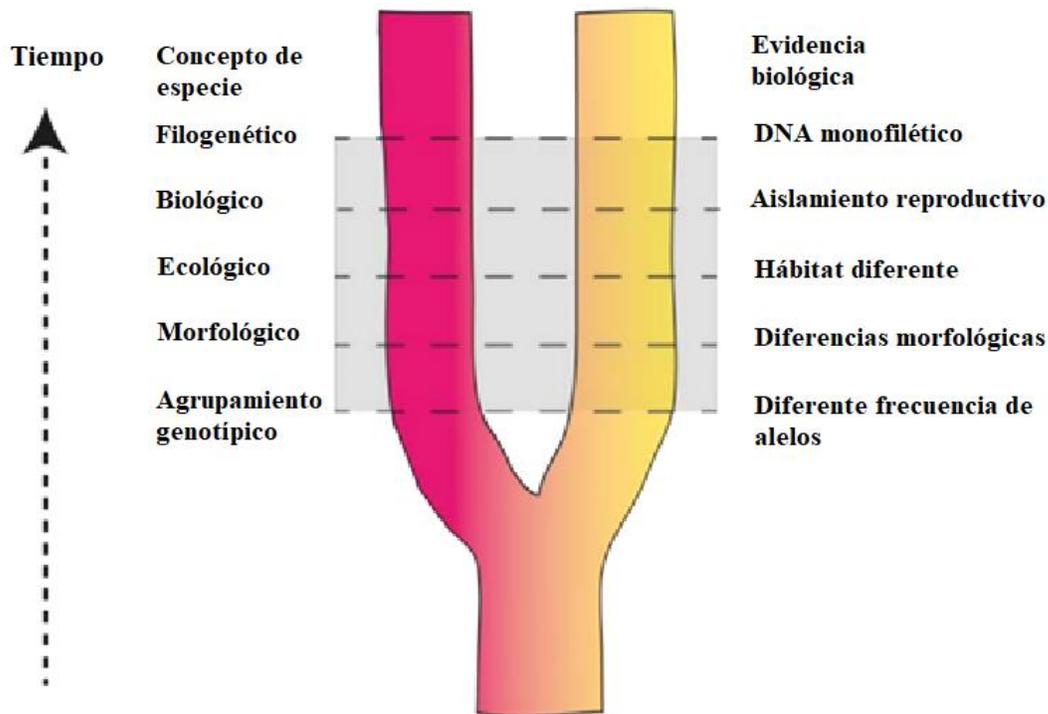


Figura 1. Esquema conceptual simplificado del proceso de especiación. La zona gris representa etapas del proceso de especiación en el transcurso del tiempo, y las líneas punteadas representan las diferentes propiedades (evidencias biológicas) que adquieren con el transcurso del tiempo. Modificado de De la Cadena (2016).

Descripción de las especies

La descripción de especies establece el escenario para el estudio de las relaciones que éstas tienen entre sí, así como para crear clasificaciones que nos informen sobre la organización e historia de la diversidad de la vida (Association of Systematics, 1994). De acuerdo con Cetzal y Balam (2010), los pasos básicos usados para describir una especie son:

- 1) Reconocer morfológicamente todas las especies del grupo al que se piensa que pertenecen los individuos a evaluar, para entender la variación inter e intraespecífica.

- 2) Corroborar que la especie a describir no haya sido descrita previamente, mediante la revisión de literatura especializada y la consulta de los ejemplares tipo de los nombres del grupo en cuestión.
- 3) Posteriormente se debe proceder a la formal descripción, nombrando a la especie y designando un espécimen tipo y adicionales (isotipos, paratipos, etc).
- 4) Realizar una diagnosis con los caracteres que diferencian a la nueva especie de las relacionadas.
- 5) Realizar una discusión comparativa sobre las principales diferencias (caracteres diagnósticos) y semejanzas con las especies relacionadas.
- 6) Discutir sobre su distribución geográfica y ecológica, que considere el intervalo de variación de la nueva especie, así como la de especies relacionadas para evitar que individuos o poblaciones que representan pequeñas diferencias puedan ser consideradas como nuevas especies por otros autores a futuro.
- 7) Evaluar el estatus de conservación de la nueva especie, si es posible.

Uso de caracteres moleculares y morfológicos

La tradicional identificación taxonómica basada en caracteres morfológicos ha sido y sigue siendo la más empleada por los taxónomos para describir e identificar especies. Sin embargo, y dado que la especiación no siempre va acompañada de cambio morfológico, el uso exclusivo de estos caracteres puede conllevar a una subestimación de la biodiversidad real y a que con el tiempo se haga necesaria una revisión que reafirme la validez de las descripciones (De Queiroz, 2007; Haro, 1999; Bickford *et al.*, 2007). Un ejemplo de esto es el continuo incremento de estudios filogenéticos con base en el DNA que reportan especies crípticas: linajes evolutivamente separados que son imposibles o muy difíciles de distinguir morfológicamente (Knowlton, 1993; Beheregary y Caccone, 2007). Debido a esto, ha incrementado la introducción de herramientas moleculares (técnicas basadas en el material genético) en los estudios taxonómicos (Bickford, 2007). Sin embargo, desde su incorporación ha existido un debate sobre si los datos moleculares o los morfológicos resultan mejores como fuente de información para inferir las relaciones entre las especies (Patterson *et al.*, 1993).

De acuerdo con Moritz y Hillis (1996), este conflicto se ha exagerado puesto que el objetivo de la sistemática molecular no ha sido refutar las hipótesis realizadas con caracteres morfológicos, sino que los datos moleculares pueden auxiliar cuando la variación morfológica es limitada y la homología de los caracteres morfológicos no es clara. Por lo que se puede decir que ninguno de los dos conjuntos de datos es mejor o peor que el otro y estudios que incorporen a ambos darán mejores descripciones e interrelaciones de la diversidad biológica que los que se enfoquen sólo en uno de los dos tipos de caracteres (Goyenechea *et al.*, 2007).

Taxonomía integrativa

Considerado lo anterior, los métodos y los conjuntos de datos empleados para el reconocimiento y/o delimitación de especies deberían ser rigurosos y considerar (en lo posible) varias fuentes de evidencia que nos permitan mejorar la precisión de las evaluaciones taxonómicas. Bajo esta perspectiva, la taxonomía integrativa ofrece un protocolo pluralista basado en el planteamiento de hipótesis sobre la delimitación de las especies desde diferentes enfoques integrales y complementarios, que reúne, sintetiza, interpreta e incorpora al tratamiento taxonómico los datos disponibles a saber: morfológicos, moleculares, etológicos, biogeográficos, ecológicos, entre otros. En esta nueva taxonomía, la información molecular funge como una fuente importante de evidencia, misma que contribuye a una investigación complementaria dentro de la práctica taxonómica para revelar la estructura de los grupos, contribuyendo así a la resolución de cuestiones de coexistencia o de funciones ecológicas (redundancia de especies) a niveles distintos del morfológico (Dayrat, 2005; Miralles *et al.*, 2010; Goldstein y DeSalle, 2010; Puerto *et al.*, 2001; Padial *et al.*, 2010).

Grupo de estudio

El género *Geophis* (Wagler, 1830), con 50 especies reconocidas, es uno de los géneros más grandes de colúbridos en el hemisferio occidental (Canseco-Márquez *et al.*, 2016). El género se extiende por la Sierra Madre Occidental, el sur de Tamaulipas y a través del centro y sur

de México, pasando por América Central hasta el norte y oeste de Colombia (Wilson y Townsend, 2007).

Downs (1967) dividió el género en siete grupos (*chalybeus*, *championi*, *dubius*, *latifrontalis*, *omiltemanus*, *semidoliatus* y *sieboldi*) con base en su morfología externa. En particular, el grupo *sieboldi* se define por los siguientes caracteres morfológicos: escamas dorsales en 15 o 17 hileras, quilladas al menos a la altura de la cloaca; pits apicales presentes. Cabeza moderadamente distinta del cuello; hocico largo, proyectado frontalmente sobre la mandíbula inferior; ojo pequeño a moderado; rostral no desarrollada posteriormente entre las escamas internasales; escamas prefrontales y loreales alargadas; parietales cortas y anchas; sin escama temporal anterior. Ventrals 118-151 en machos, 118-154 en hembras. Subcaudales 28-51 en machos, 23-43 en hembras. Porcentaje de cola respecto a la longitud total del cuerpo 14.1-21.2 en machos y 11-17.6 en hembras. Adicionalmente, Downs (1967) definió el grupo *sieboldi* por varios caracteres de dentición: el maxilar se extiende anteriormente hasta la sutura entre los supralabiales 2 y 3; extensión anterior aproximadamente igual a la del palatino; maxilar dorsoventralmente comprimido; en vista lateral, el tercio posterior del maxilar se curva ventralmente; punta anterior del maxilar sin dientes (primer diente en la punta del maxilar o precedida por un área corta sin dientes en *G. zeledoni*); 8-15 dientes maxilares a punta roma; extremo anterior del ectopterigoideo simple, no expandido; y hueso postorbital estrecho.

Actualmente se han descrito 17 especies en el grupo *sieboldi*; *G. hoffmanni*, Peters, 1859; *G. sieboldi* (Jan, 1862); *G. nasalis*, (Smith, 1946); *G. brachycephalus*, Cope, 1871; *G. petersii*, Boulenger 1894; *G. sallaei*, Boulenger, 1894; *G. nigroalbus*, Boulenger, 1908; *G. dunnii*, Schmidt, 1932; *G. zeledoni*, Taylor, 1954; *G. laticollaris*, Smith, Lynch y Altig, 1965; *G. russatus*, Smith y Williams, 1966; *G. pyburni*, Campbell y Murphy, 1977; *G. betaniensis*, Restrepo y Wright, 1987; *G. talamancae*, Lips y Savage, 1994; *G. damiani*, Wilson, McCranie y Williams, 1998; *G. bellus*, Meyers, 2003; y *G. occabus*, Pavón-Vázquez, García-Vázquez, Blancas-Hernández y Nieto-Montes de Oca, 2011. De las cuales ocho especies se distribuyen en México: *G. pyburni* al oeste de Michoacán (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011), *G. sieboldi* en Colima, al sur de Jalisco y al oeste de Michoacán (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011; Ahumada-Carrillo, *et al.*, 2014), *G. laticollaris* al oeste de Oaxaca (Wilson y Townsend,

2007; CONABIO, 2009), *G. russatus* al oeste y centro de Oaxaca (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011), *G. nasalis* en la vertiente del Pacífico en Chiapas (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011), *G. occabus* en el centro de Guerrero (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011; Palacios-Aguilar y Santos-Bibiano, 2016), *G. petersii* en Jalisco, Colima, al sur de Guanajuato, al norte de Guerrero y Michoacán y en la Ciudad de México (CONANP, 2006; Ponce-Campos y Flores-Villela, 2007; Pavón-Vázquez *et al.*, 2011; Carmona-Torres y González-Hernández, 2014; Muñoz-Nolasco *et al.*, 2015; Cruz-Sáenz *et al.*, 2017; Leyte-Manrique *et al.*, 2018) y *G. sallaei* al sur del centro de Oaxaca (CONABIO, 2009; Pavón-Vázquez *et al.*, 2011).

Antecedentes

Género Geophis

Wilson y Townsend (2007) realizan una revisión de la lista de especies descritas en el género *Geophis*, proporcionando información en la historia taxonómica, material y localidad tipo, distribución y asignación a los grupos para 46 especies. Además, proporcionan una clave de identificación, seguida de un breve análisis de los patrones de distribución y estado de conservación de cada una de las especies descritas.

Savage y Watling (2008), realizan un estudio con técnicas multivariadas de la variación de escamas, coloración, longitud relativa de la cola y los hemipenes en las poblaciones referidas al complejo *Geophis brachycephalus* de América Central y Colombia las cuales presentan un notable policromatismo y cuyo estado sistemático era problemático. Concluyen la validez de tres taxones dentro del complejo *G. brachycephalus*: *G. brachycephalus*, *G. nigroalbus* y *G. talamancae*. Además, reconocen como nueva especie una población del Oeste de Panamá que tenía un estado taxonómico incierto (*G. tectus*). Adicionalmente, proporcionan una revisión taxonómica de todos los miembros del grupo *sieboldi* en la parte baja de Centroamérica y Colombia con base en el material obtenido desde la última revisión del grupo, donde incluyen sinonimias, diagnosis y distribuciones conocidas para los taxones estudiados.

Pavón-Vázquez *et al.*, (2011) describen una nueva especie del grupo sieboldi (*G. occabus*) con base en diecisiete ejemplares colectados en la Sierra Madre del Sur de Guerrero, los cuales se distinguen por presentar un patrón de coloración polimórfico: unicolor (uniformemente oscuro) y bicolor el cual consiste en marcas oscuras (franja dorsal media/manchas/bandas transversales) en un color rojo de fondo. Por otro lado, sugieren que un espécimen identificado como *G. sieboldi* de la localidad de Amula, Guerrero en realidad representa un individuo de *G. occabus*, esto con base en el número de escamas ventrales, subcaudales, la diferencia en el collar presente en juveniles y la distancia entre las localidades tipo de ambas especies. Además Palacios-Aguilar y Santos-Bibiano (2016) respaldan esta hipótesis con base en el registro y la revisión de un individuo de *G. occabus* en Colonia Lomas de Ocoatepec, en el Municipio de Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, ya que se encuentra aproximadamente a 20 km de distancia de Amula, Guerrero.

Conocimiento de la diversidad herpetofaunística del Estado de México

La fauna de reptiles de México es una de las más diversas del mundo, hasta octubre de 2013 se habían registrado 864 especies de las cuales 417 son lagartijas, 393 serpientes, tres anfibios, tres cocodrilos y 48 tortugas (Flores-Villela y García-Vázquez, 2014). La proporción de la fauna de reptiles que habita en el país es sobresaliente, ya que se distribuyen el 44.9% de las familias de reptiles del mundo, y el 14% de los géneros de este grupo, sin embargo, a pesar de conocer estas cifras el estudio de los reptiles de México aún se encuentra incompleto. Muchos grupos taxonómicos necesitan atención, no sólo de taxonomía alfa sino también sobre sus relaciones filogenéticas. Adicionalmente, sabemos que existen varias especies nuevas para México que están por describirse en los géneros de serpientes *Geophis*, *Rhadinaea*, *Mastigodryas* y *Chersodromus* (Flores-Villela y García-Vázquez, 2014).

En particular para el Estado de México se tiene un registro de una elevada riqueza biótica, dada por una heterogeneidad física y biológica donde se presentan diversas regiones fisiográficas, biogeográficas e hidrológicas (Aguilar *et al.*, 2009). Actualmente existen algunas publicaciones que contemplan la riqueza de los anfibios y reptiles de distintos municipios del Estado de México, por ejemplo, los de Caramillo (1983); Caramillo y Smith

(1992); Manjarrez (1994); Aguilar *et al.*, (1997); Keer (2003); Casas-Andreu y Aguilar (2005); CONABIO (2009); y Aguilar *et al.*, (2009). En los últimos diez años diferentes autores han citado más de 20 especies de anfibios y reptiles no reportadas previamente para el estado, por lo que se tiene un registro de 145 especies, de las cuales, 94 son reptiles (tres tortugas, 37 saurios y 54 serpientes) y 51 anfibios (17 caudados y 34 anuros) (Casas-Andreu y Aguilar, 2007; Aguilar y Casas, 2009). Sin embargo, a pesar de dichas publicaciones hace falta mucho por conocer sobre los registros herpetofaunísticos para los diferentes municipios, como sucede con Temascaltepec y Valle de Bravo, por lo que es de esperar que el número de especies sea aún mayor.

Respecto al género *Geophis* en el Estado de México, Aguilar y Casas-Andreu (2002) registran un espécimen depositado en la colección herpetológica del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC-36), mismo que refieren como *G. sieboldi*, colectado en Santa María Pipioltepec a 2,250 msnm, en el municipio de Valle de Bravo. Posteriormente Aguilar y Casas (2009) realizan una lista de los reptiles presentes en el estado donde reportan a *Geophis bicolor* y *G. sieboldi*.

Por otro lado, Cervantes-Burgos (2017), realiza una guía de campo para la identificación de anfibios y reptiles en la “Reserva El Peñón” del municipio de Valle de Bravo, Estado de México, donde reporta la distribución de *Geophis* sp. en dos localidades, una en La Reserva El Peñón y otra en San Lucas del Pulque en el municipio de Temascaltepec. Sin embargo, los registros de *Geophis* sp. aportados para la región de Valle de Bravo y Temascaltepec en el Estado de México muestran diferencias morfológicas respecto a las especies conocidas del género *Geophis* y no han sido revisados taxonómicamente para su correcta clasificación dentro de un grupo particular, por lo que no se tiene la certeza de si pertenecen al grupo *sieboldi* y si representan una nueva especie.

Justificación

México es un país con una riqueza natural extraordinaria. Sin embargo, a pesar de dos siglos de trabajo en sistemática se conoce solamente una fracción del total de las especies que existen en el territorio nacional (Martínez-Meyer *et al.*, 2014). Inicialmente se estimó que

México poseía entre el 10 y 12% de la diversidad del mundo (Sarukhán *et al.*, 2009), pero estos cálculos se deben ir ajustando conforme avanza el conocimiento de la biota del país, es decir, con la descripción de nuevas especies (Martínez-Meyer *et al.*, 2014). En el caso particular del Estado de México hace falta mucho por conocer sobre los registros herpetofaunísticos para los diferentes municipios. A pesar de esto, la recolecta de reptiles que se ha llevado a cabo durante los últimos cinco años, ha aportado nuevos registros para el género *Geophis*, de los cuales tres han sido asignados al grupo sieboldi, sin embargo no han sido identificados a nivel de especie, de manera que el presente trabajo pretende esclarecer el grupo taxonómico intergenérico al que pertenecen así como sus relaciones filogenéticas respecto al resto de las especies del género, con la finalidad de aportar conocimiento a la taxonomía del género y a la riqueza del estado.

Objetivo General

Realizar una revisión taxonómica e inferir la posición filogenética con base en DNA mitocondrial (mtDNA) de los ejemplares de *Geophis* sp. recolectados en los municipios de Valle de Bravo y Temascaltepec.

Objetivos particulares

Inferir las relaciones filogenéticas de los ejemplares de *Geophis* sp. con respecto a las especies del género *Geophis* con un fragmento del gen mitocondrial citocromo b.

Establecer el grupo intragenérico al que pertenecen los ejemplares de *Geophis* sp.

Determinar si los ejemplares de *Geophis* sp. representan una nueva especie.

Método

Morfología externa

Caracteres examinados.— Se revisaron los caracteres morfológicos de tres ejemplares del género *Geophis* sin identificación específica colectados en los municipios de Valle de Bravo y Temascaltepec (Cuadro 1). El organismo de Santa María Pipioltepec en el Estado de México (MZFC 36), reportado como *Geophis sieboldi* por Aguilar y Casas-Andreu (2002) no pudo ser revisado ya que el ejemplar no estaba disponible en la colección donde se depositó. Los caracteres examinados fueron aquellos utilizados por Downs (1967) y Savage y Watling (2008), como son el número, tamaño y forma de las escamas de la cabeza y el cuerpo (Figs. 2 y 3), dentición, hemipenes, proporciones corporales y patrones de coloración. El recuento de las escamas se realizó en un microscopio de disección. Las escamas ventrales se contaron siguiendo a Downs (1967). Las medidas se tomaron con un vernier con precisión de 0.1 mm. La descripción de color se realizó considerando los códigos de color de Köler (2012). La dentición se examinó del lado derecho y se consideró solo la maxila y el ectopterigoideo asociado. Por último, se extrajo el hemipene derecho del macho colectado, se describió y preservó de acuerdo a Zaher y Prudente (2003) y Sales-Nunes (2011).

Cuadro 1. Ejemplares de *Geophis sp.* revisados en este estudio.

Ejemplar	Localidad	Latitud N	Longitud O	Altitud (msnm)
UOGV 2723 (♂)	Rancho el Pinalito, Valle de Bravo, Estado de México.	19.09225	-100.080272	2,328
RICB 69 (♀)	Camino a San Lucas del Pulque, Temascaltepec, Estado de México.	19.09811	-100.04548	2,272
RICB 74 (♀)	Camino a San Lucas del Pulque, Temascaltepec, Estado de México	19.09811	-100.04548	2,272

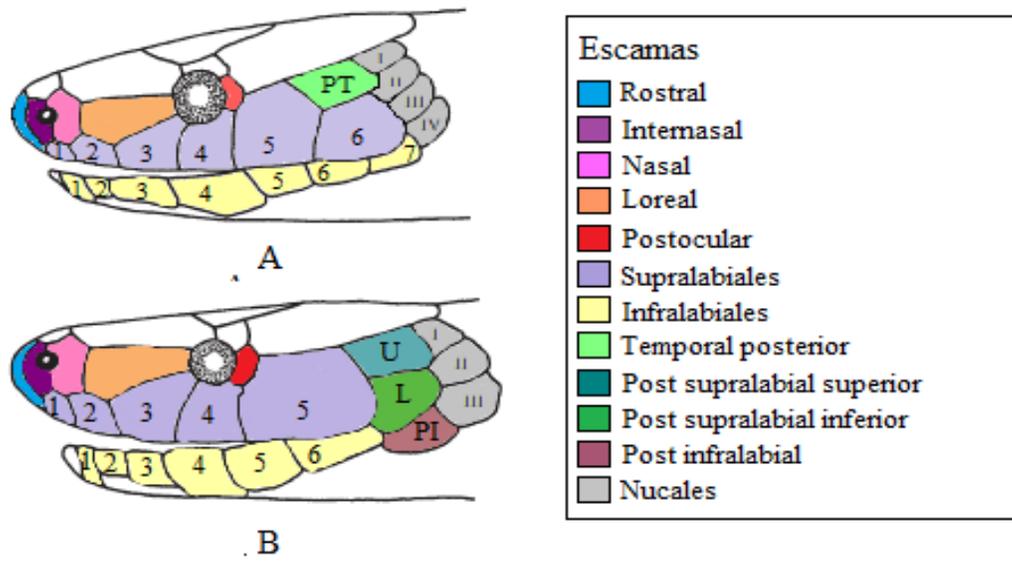


Figura 2. Escutelación lateral en el género *Geophis*: A) patrón presente en *Geophis brachycephalus*, B) patrón típico de *Geophis hoffmanni*. Ilustración modificada de Savage y Watling (2008).

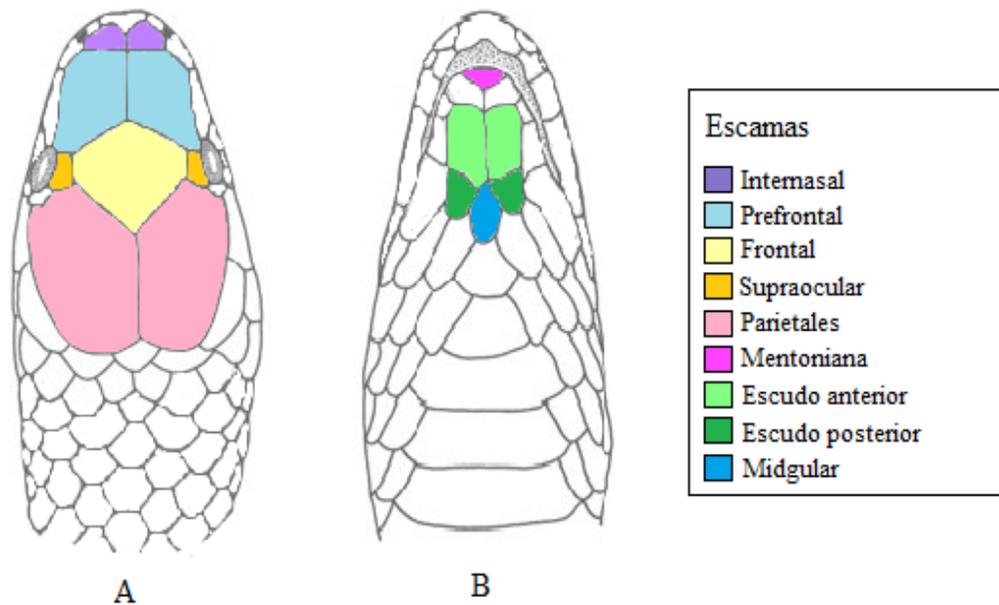


Figura 3. Escutelación de la cabeza en el género *Geophis*; A) Vista dorsal, B) Vista ventral. Ilustración modificada de Savage y Watling (2008).

Caracteres morfométricos.— Se evaluaron cuatro caracteres morfométricos utilizando un vernier con una precisión de 0.1 mm (Fig. 4).

1. Longitud hocico-cloaca (LHC), medida de la punta del hocico al margen anterior de la cloaca.
2. Longitud de la cola (LC), medida del margen posterior de la cloaca hasta la punta de la cola.
3. Longitud de la cabeza (LCa), medida desde la punta del hocico hasta la sutura posterior de la escama parietal.
4. Proporción cuerpo cola (PCL) medida como la proporción en porcentaje de la longitud de la cola con respecto a la longitud total del cuerpo.

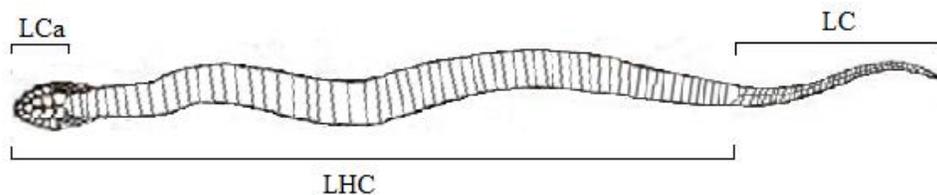


Figura 4. Caracteres morfométricos utilizados en este estudio.

Caracteres moleculares

Se generaron secuencias del gen mitocondrial citocromo b de los ejemplares sujetos a revisión y de representantes de las especies del grupo sieboldi que se distribuyen en México y de las que se disponía de tejido: *G. nasalis*, *G. russatus*, *G. sallaei* y *G. sieboldi*. Adicionalmente se descargaron las secuencias disponibles en la plataforma GenBank para las especies *G. godmani*, *G. occabus*, *G. juarezi*, *G. carinosus*, *G. turbidus*, *G. dubius* y *G. latifrontalis*, así como de *Rhadinaea flavilata* la cual se utilizó como grupo externo (Cuadro 2). Tanto el marcador molecular como el grupo externo fueron elegidos debido a que se han empleado con éxito en estudios filogenéticos previos de este género (Pavón-Vázquez *et al.*, 2013).

Cuadro 2. Muestras utilizadas para los análisis filogenéticos.

Especie	Número de colecta	Identificador de genbank	Localidad
<i>Geophis</i> sp.	UOGV 2723	Este estudio	Rancho el Pinalito, Valle de Bravo, Estado de México.
<i>Geophis</i> sp.	RICB 69	Este estudio	Camino a San Lucas del Pulque, Temascaltepec, Estado de México.
<i>Geophis</i> sp.	RICB 74	Este estudio	Camino a San Lucas del Pulque, Temascaltepec, Estado de México
<i>G. nasalis</i>	JAC 20361	Este estudio	Solalá, Guatemala.
<i>G. russatus</i>	ANMO 1973	Este estudio	Ejido Miramar, desviación a San Pedro Siniyuvi, Oaxaca, México.
<i>G. sallaei</i>	LCM 1285	Este estudio	San Francisco Coatlán, Oaxaca, México.
<i>G. sieboldi</i>	JVR 188	Este estudio	Carretera de Chiapas al Nuevo Naranjal, 7 km N de El Chivato, Colima, México.
<i>G. godmani</i>	CASHERP 178126	JQ598932.1	Provincia de Puntarenas, Costa Rica.
<i>G. occabus</i>	MZFC 25528	KC917323.1	Municipio de Atoyac de Álvarez, El Molote, Guerrero, México.
<i>G. juarezi</i>	MZFC 27525	KC917315.1	Municipio de Santiago Comaltepec, Sierra de Juárez, Oaxaca, México.
<i>G. carinosus</i>	MZFC 10552	KC917314.1	Rancho Primero de Mayo, 12.3 km NE Tapalapan, Veracruz, México.
<i>G. turbidus</i>	MZFC 27254	KC917321.1	Municipio de Cuetzalan, 3.5 O Xocoyolo, Puebla, México.
<i>G. dubius</i>	MZFC 27256	KC917319.1	4 km SE San Isidro Buenos Aires.
<i>G. latifrontalis</i>	RWB 7232	KC917322.1	San Joaquín, Querétaro, México.
<i>R. flavilata</i>	CASHERP 198634	AF471078.1	Lago Loral., Florida, E. U.

Extracción.— Se obtuvo DNA genómico a partir de tejido congelado o preservado en alcohol mediante la técnica de acetato de amonio propuesta por Fetzner (1999). Una vez realizada la extracción se visualizó la cantidad y calidad relativa de DNA en un gel de agarosa al 0.5% en un transiluminador de luz ultravioleta.

Amplificación.— La amplificación del DNA se realizó por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para obtener un fragmento del gen mitocondrial citocromo b (cyt-b) con los primers L14919 (de Queiroz *et al.*, 2000), H15716 (Slowinski y Lawson, 2002), L15584 (de Queiroz *et al.*, 2002) y H16064 (Burbrink *et al.*, 2000) (Cuadro 3). Las condiciones de la PCR iniciaron con un ciclo de desnaturalización a 94° C por 7 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94°C por 40 segundos, alineamiento a 45-50°C por 30 segundos, extensión a 72°C por 1 minuto y extensión final a 72°C por 7 minutos (Burbrink *et al.*, 2000). Los productos obtenidos se visualizaron en un gel de agarosa al 0.5% junto con una escalera de peso molecular con marcas cada 100pb para determinar la calidad relativa y el tamaño del fragmento amplificado.

Cuadro 3. Primers utilizados para amplificación y secuenciación del mtDNA.

Nombre	Secuencia del Primer	Referencia	Dirección
L14919	5'-AAAC CAC CGT TGT TAT TCA ACT-3'	De Queiroz <i>et al.</i> , 2000	Forward
H15716	5'-TCT GGT TTA ATG TGT TG3-3'	Slowinski y Lawson, 2002	Reverse
L15584	5'-TCCCATTYCACCCATACCA-3'	De Queiroz <i>et al.</i> , 2000	Forward
H16064	5'-CTT GGT TTA CAA GAA CAA TGC TTT A-3'	Burbrink <i>et al.</i> , 2000	Reverse

Purificación y secuenciación.— La purificación de los productos amplificados se llevó a cabo utilizando la técnica de PolietilenoGlicol (PEG) (Lis, 1980). Los productos purificados se visualizaron en un gel de agarosa al 0.5% para determinar la calidad del fragmento purificado. El producto final se envió para su secuenciación a MacroGen Korea (Standard-Seq de MacroGen Inc. ©).

Análisis filogenéticos

Edición y alineamiento de secuencias. — Las secuencias obtenidas se editaron a ojo en el software Sequencher v.4.1.4 (Gen Codes Corporation, Ann Arbor, MI) y posteriormente se alinearon mediante el algoritmo Muscle (Thompson *et al.*, 1994) incluido en el software MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016).

Modelos y esquema de partición.— El producto del alineamiento se analizó en PartitionFinder 2.1.1 (Lanfear *et al.*, 2016) donde se dividió el gen en primera, segunda y tercera posición para obtener un esquema de partición y modelos de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaron a los datos bajo el criterio de información akaike corregido (AICc) con el algoritmo de búsqueda greedy.

Reconstrucción filogenética

Se usaron dos métodos de inferencia filogenética probabilísticos: máxima verosimilitud (MV) y análisis bayesiano (IB). El análisis MV se llevó a cabo en el programa RaxML 1.3 (Silvestro y Michalak, 2012), con la estrategia de partición sugerida por PartitionFinder 2.1.1 (Lanfear *et al.*, 2016). Para evaluar el soporte de los nodos se usó un análisis Bootstrap no paramétrico (BS) con 3,000 réplicas al azar, donde los nodos se consideraron como soportados a partir de valores $\geq 70\%$ (Hillis y Bull, 1993). Por otro lado, se realizó el análisis de IB mediante el software MrBayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2011), con la estrategia de partición sugerida por PartitionFinder 2.1.1 (Lanfear *et al.*, 2016). Se corrieron cuatro cadenas independientes durante 30 millones de generaciones con muestreo de árboles cada 3,000 generaciones. Posteriormente se evaluaron los resultados de convergencia en Tracer 1.6 (Rambaut *et al.*, 2014) y se combinaron los árboles obtenidos en cada corrida utilizando LogCombiner 1.8.4 (Drummond *et al.*, 2012). Por último, en el programa TreeAnnotator 1.8.4 (Drummond *et al.*, 2012) se obtuvo un árbol de máxima credibilidad (MCC) tras un burn-in del 25%. La robustez de los clados se evaluó mediante probabilidades posteriores (PP) donde valores ≥ 0.95 se consideraron como fuertemente soportados (Leaché y Reeder, 2002).

Distancias genéticas. — Se realizó un análisis de distancias genéticas por pares en el programa MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016) para el gen citocromo-b con las 14 secuencias del género *Geophis* disponibles. Se utilizó el modelo de Kimura-2 (Kimura, 1981), debido a fines comparativos, ya que dicho modelo es el más comúnmente utilizado para calcular los niveles de divergencia (Baker y Bradley, 2006; Clare *et al.*, 2011). Los valores hallados fueron comparados con la tabla de calificación de valores de diferenciación genética (F_{ST}) (Cuadro 4) en la cual el intervalo de valores está entre 0 y 1; el valor 0 indica que no existe divergencia genética y el valor 1 que existe fijación para alelos alternos en diferentes subpoblaciones (Cordova *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Tabla de calificación de valores F_{ST}

F_{ST}	Diferenciación genética
0.00 – 0.05	Pequeña
0.05 – 0.15	Moderada
0.15 – 0.25	Alta
>0.25	Muy alta

Revisión taxonómica

Con base en los resultados obtenidos se determinó que los ejemplares pertenecen a una nueva especie dentro del grupo sieboldi por lo que se describió el ejemplar mejor conservado y de mayor tamaño. Se realizó una diagnosis con la cual se compararon las principales diferencias (caracteres diagnósticos) y semejanzas de los individuos de *Geophis* sp. nov. con respecto al resto de las especies del grupo sieboldi, incluyendo la serie tipo de *G. occabus*. La diagnosis y la descripción se basó en la literatura relevante (Downs, 1967; Savage y Watling, 2008; Pavón-Vázquez *et al.*, 2011). Adicionalmente se discutió sobre su distribución geográfica y ecología.

Resultados

Caracteres morfológicos

Escutelación.— Los tres individuos examinados presentaron escamas dorsales en arreglos de 17 filas, lisas hasta la altura de la cloaca donde se presenta una porción con escamas quilladas, en ningún espécimen se visualizaron pits apicales o collar nucal. La escutelación de la cabeza (Fig. 5) presenta ausencia de escama temporal anterior y 7/7 infralabiales, con algunas variaciones que se enuncian a continuación; supralabiales 5-6, $\bar{x}=5.5$, seis escamas supralabiales en el macho (UOGV 2723) y cinco en las hembras (RICB 74 y RIB 69); el segundo par de escudos mentonales se encuentran separados por una escama media gular en UOGV 2723 mientras que en RIB 69 y RIB 74 los escudos se encuentran en contacto; por último las hembras presentan 151-152, $\bar{x}=151.5$ [n=2] escamas ventrales, mientras que en el macho fue de 149 [n=1].



Figura 5. Patrón de escutelación en *Geophis* sp. vista dorsal (arriba), vista ventral (centro) y vista lateral (abajo). De izquierda a derecha: UOGV 2723, RIB 74 y RIB 69. Las barras horizontales representan 5 mm.

Caracteres morfométricos

Longitud hocico cloaca (LHC).— las hembras (RICB 69 y RICB 74) presentaron una longitud de 201.9 mm y 115.29 respectivamente, $\bar{x}=158.29$ [n=2], el macho (UOGV 2723) presentó una mayor longitud con 1,357 mm [n=1].

Largo de la cola (LC).— en RICB 69, la longitud fue de 33.8 mm y en RICB 74, 18.75 mm, $\bar{x}=26.275$ [n=2], por último, en UOGV 2723, 69.67 mm [n=1].

Largo de la cabeza (LCa).— en RICB 69, se obtuvo una longitud de 7.77 mm, en RICB 74, 6.39 mm, $\bar{x}=7.08$ [n=2] y en UOGV 2723, 10.48 mm [n=1].

Proporción cola cuerpo (PCC).— Para RICB 69 y RICB 74, la proporción fue de 5.97%, y, 6.14% respectivamente, $\bar{x}=6.055$ [n=2], UOGV 2723 obtuvo un mayor porcentaje de proporción con 19.04% [n=1].

Con base en los datos morfológicos es posible la asignación de los individuos de *Geophis* sp. al grupo *sieboldi* ya que poseen todos los caracteres que definen a este grupo excepto por la ausencia de pits apicales. Además se considera a la población como una nueva especie ya que difiere de las demás especies del grupo por poseer escamas dorsales en arreglos de 17 filas en lugar de 15 (excepto *G. occabus*, *G. dunni*, *G. nasalis* y *G. sieboldi*), ausencia de pits apicales (presentes en *G. nasalis* y *G. sieboldi*), ausencia de un collar juvenil (presente en *G. occabus*), por la presencia de escamas dorsales quilladas alrededor de la cloaca en lugar de escamas completamente quilladas (excepto en el cuello) como ocurre en *G. dunni* y *G. nasalis*; y por tener un mayor número de escamas ventrales (149 [n=1] en macho y 151-152 [n=2] en hembras vs 130-137 en machos y 133-139 en hembras de *G. occabus*) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Caracteres morfológicos de las especies del grupo *Geophis sieboldi* que se distribuyen en México.

Carácter/Especie	<i>G. occabus</i>	<i>G. laticorallis</i>	<i>G. petersii</i>	<i>G. pyburni</i>	<i>G. russatus</i>	<i>G. sallaei</i>	<i>G. sieboldi</i>	<i>Geophis</i> sp.
Escamas dorsales	17	15	15	15	15	15	17	17
Escamas ventrales (♂)	130-137	118-129	140-158	128-130	123-129	118-129	143-147	149
Escamas ventrales (♀)	133-139	127-133	145-148	130-139	133	127-133	147-153	152-151
Escamas subcaudales (♂)	34-39	33-41	34-38	31-33	36-37	32-41	37-42	43
Escamas subcaudales (♀)	29-31	26-36	29-38	27-32	29	26-36	35-36	33
Escamas quilladas	3/4 parte posterior	Parte posterior	Región de la cloaca	Región de la cloaca	Excepto en cuello	Excepto en cuello	Mitad posterior	Región de la cloaca
Pits apicales	Ausentes	Presentes	Ausentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes
Collar	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Espinulas del hemipene	---	22	4	60	---	---	20	14
Dientes en la maxila	14	12	6	14	---	---	11-14	12

Reconstrucción filogenética

El alineamiento final del fragmento mitocondrial secuenciado incluyó 1,098 pares de bases. Para ambos análisis filogenéticos se utilizó el modelo evolutivo GTR+I+G para cada partición. Los análisis produjeron topologías similares con diferencias en el soporte de los nodos y longitud de las ramas.

En ambas hipótesis filogenéticas (Figs. 6 y 7) se muestra al grupo sieboldi como monofilético, el cual es el grupo hermano de la especie *G. latifrontalis* (representante del grupo con el mismo nombre), sin embargo, su relación sólo fue soportada en el análisis de inferencia bayesiana (BS = 69, PP = 0.90). Las filogenias obtenidas sugieren que los individuos examinados (UOGV 2723, RICB 69 y RICB 74) pertenecen al grupo sieboldi y conforman el grupo hermano de *G. sieboldi*, esta relación fue soportada significativamente en ambos análisis filogenéticos (BS = 100, PP = 0.99).

Por otro lado, en ambas hipótesis filogenéticas se muestra que *G. occabus* pertenece a un clado distinto al de *G. sieboldi* (BS=98, PP=0.99) y además conforma la especie hermana de *G. russatus* (BS= 99, PP= 0.98).

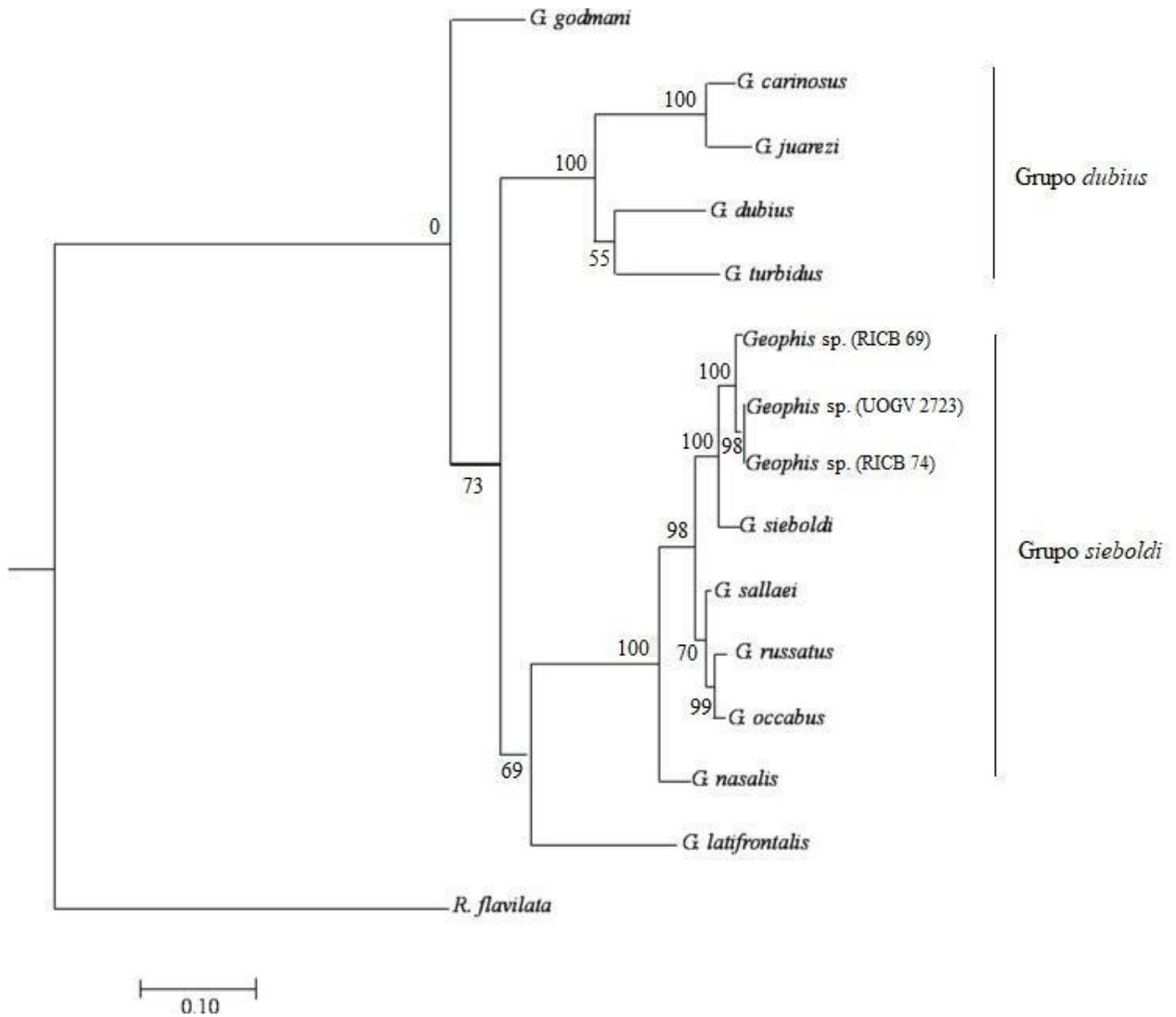


Figura 6. Árbol de máxima verosimilitud basado en la secuencia del gen mitocondrial citocromo b. Los valores de soporte de bootstrap se indican en los nodos de cada rama.

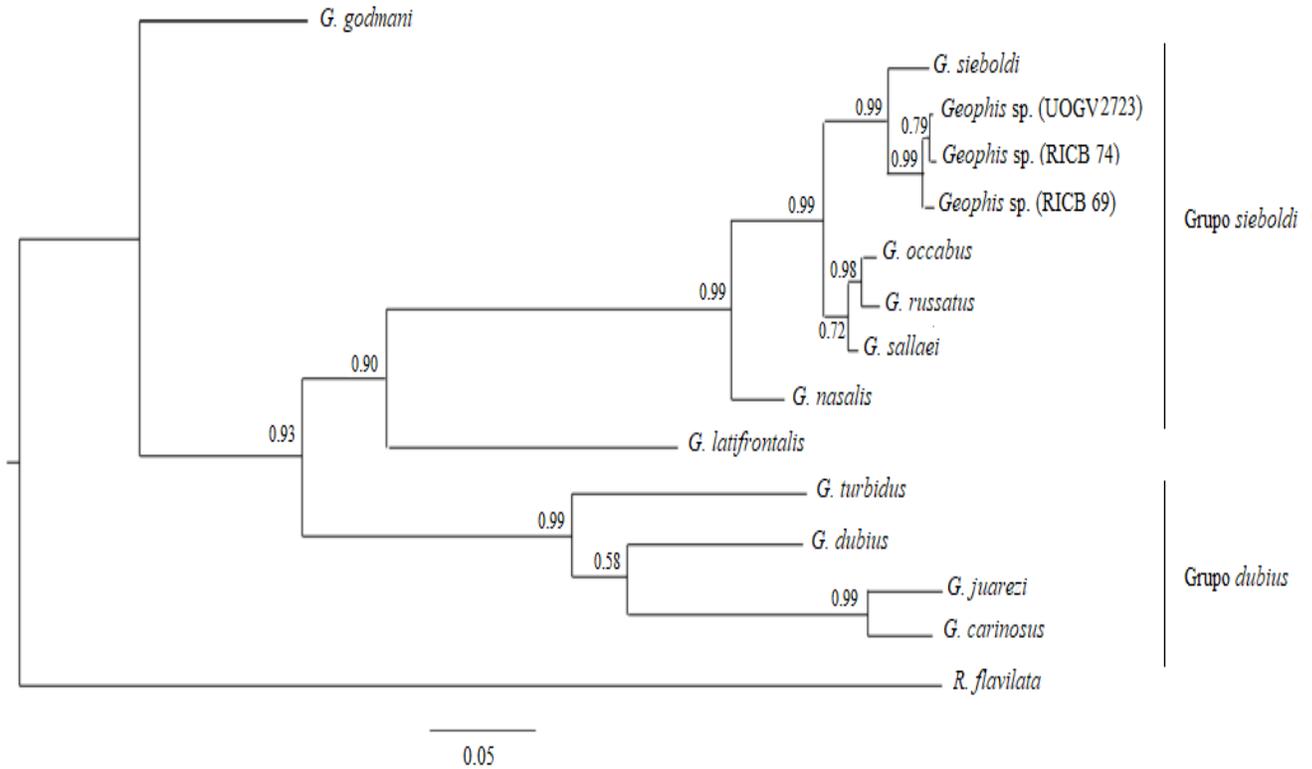


Figura 7. Árbol de inferencia bayesiana basado en la secuencia del gen mitocondrial citocromo b. Los valores de soporte de probabilidad posterior se indican en los nodos de cada rama.

Distancias genéticas.— Las distancias genéticas obtenidas son congruentes con ambas hipótesis filogenéticas, donde las especies que representan al grupo dubius (*G. carinosus*, *G. juarezi*, *G. dubius*, y *G. turbidus*) tienen el valor de diferenciación genética más alto, con respecto al grupo *sieboldi*.

Todos los ejemplares de *Geophis* sp. presentan un grado de divergencia de 0.7 %. Por otro lado, *Geophis* sp. tiene una diferenciación genética de 2.6 % respecto a su especie hermana *G. sieboldi*. La distancia genética entre *Geophis* sp. con respecto a otras especies del género que se distribuyen en México y que comparten caracteres morfológicos tales como el número de escamas dorsales en arreglos de 17 escamas o la aparente ausencia de pits apicales, es de 5.1% en *G. occabus* y 7% en *G. nasalis* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Matriz de distancias genéticas interespecíficas del género *Geophis* obtenida bajo el modelo de distancia Kimura-2.

Especie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Geophis</i> sp. (UOGV2723)	---										
<i>G. occabus</i>	0.051	---									
<i>G. sieboldi</i>	0.026	0.047	---								
<i>G. sallei</i>	0.044	0.010	0.044	---							
<i>G. nasalis</i>	0.070	0.060	0.067	0.056	---						
<i>G. russatus</i>	0.054	0.010	0.050	0.013	0.060	---					
<i>G. carinosus</i>	0.200	0.205	0.193	0.194	0.186	0.209	---				
<i>G. juarezi</i>	0.220	0.209	0.215	0.202	0.204	0.209	0.052	---			
<i>G. turbidus</i>	0.193	0.180	0.184	0.176	0.182	0.182	0.152	0.157	---		
<i>G. dubius</i>	0.182	0.169	0.191	0.169	0.165	0.176	0.150	0.139	0.128	---	
<i>G. latifrontalis</i>	0.177	0.173	0.160	0.164	0.153	0.166	0.204	0.217	0.183	0.205	---
<i>G. godmani</i>	0.168	0.168	0.170	0.157	0.155	0.161	0.179	0.187	0.175	0.188	0.166

Con base en los resultados morfológicos y filogenéticos, se considera a toda la muestra de *Geophis* de Valle de Bravo y Temascaltepec como una especie no descrita.

Asignación taxonómica

Sinonimia.— *Geophis sieboldi* (MZFC 36), colectado en Santa María Pipioltepec a 2,250 msnm, en el municipio de Valle de Bravo, Estado de México, México, por Aguilar y Casas-Andreu (2002) como parte del Proyecto de la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-ECOL-2000 (ver discusión).

Ejemplar representativo de la especie (UOGV 2723).— Macho adulto colectado en Rancho el Pinalito, en el municipio de Valle de Bravo, Estado de México, México, en las coordenadas 19.092256 N, 100.080272 W a una altitud de 2,328 metros sobre el nivel del mar, el 19 de junio de 2015 (Fig. 8).

Otros ejemplares revisados (RICB 69 y RIB 74).— Dos hembras colectadas camino a San Lucas del Pulque, en el municipio de Temascaltepec, Estado de México en las coordenadas 19.09811 N, 100.04548 W, a una altitud de 2,272.6 msnm, entre julio y agosto del 2016.

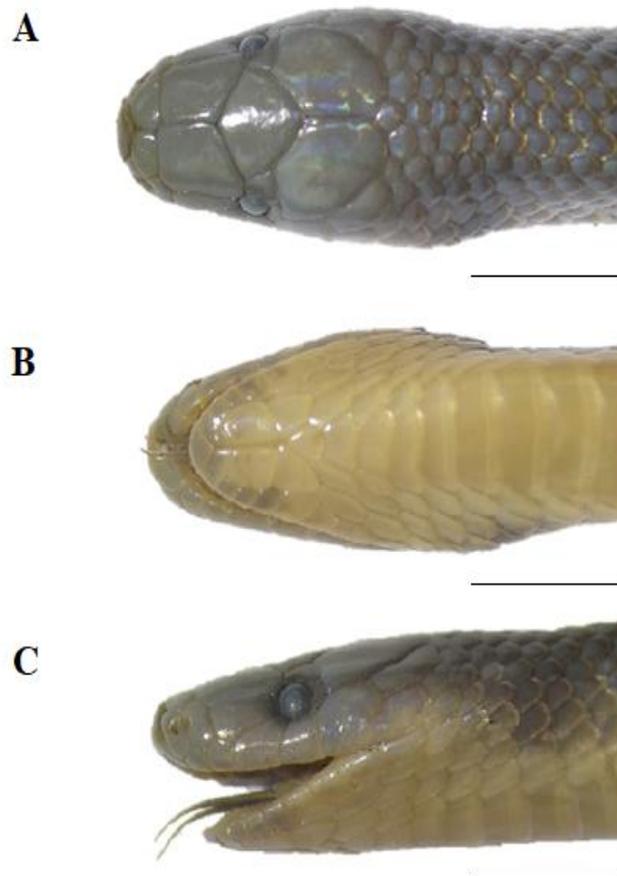


Figura 8. *Geophis* sp. nov. (UOGV 2723). A) cabeza de individuo macho en vista dorsal, B) vista ventral y C) vista lateral. Las barras horizontales representan 5 mm.

Diagnosis

Geophis sp. nov. se diferencia de todas las especies de los grupos *championi*, *semidoliatus* y *sieboldi* (excepto *G. occabus*, *G. dunni*, *G. nasalis* y *G. sieboldi*) por la presencia de escamas dorsales en arreglos de 17 filas en comparación con 15 filas en las especies de los otros grupos; de todas las especies de los grupos *chalybeus* y *latifrontalis* y la mayoría de las especies en el grupo *dubius* (excepto *G. carinosus*) por la presencia de quillas en las escamas dorsales en la parte posterior del cuerpo a la altura de la cloaca (contra escamas dorsales lisas en las otras especies); y de todas las especies del grupo *omiltemanus* por la presencia de cinco escamas supralabiales, donde la quinta escama está en contacto con la escama parietal, contra una escama temporal anterior separando las escamas supralabiales de la escama parietal en las especies del grupo *omiltemanus*.

Por otro lado, *Geophis* sp. nov., difiere de *G. carinosus* por tener un mayor número de escamas ventrales (151-152 [n=2] en hembras, 149 [n=1] en machos vs 126-147 en hembras y 120-143 en machos del grupo *dubius*).

Por último, *Geophis* sp. nov. se diferencia de las especies restantes en el grupo *sieboldi* por la siguiente combinación de caracteres; ausencia de pits apicales (presentes en *G. nasalis* y *G. sieboldi*); ausencia de un collar juvenil (presente en *G. occabus*); por la presencia de escamas dorsales quilladas alrededor de la cloaca en lugar de escamas dorsales completamente quilladas (excepto en el cuello) como ocurre en *G. dunni* y *G. nasalis*; y por tener un mayor número de escamas ventrales (149 [n=1] en macho y 151-152 [n=2] en hembras vs 130-137 en machos y 133-139 en hembras de *G. occabus*).

Descripción del ejemplar UOGV 2723.— Macho adulto, cuya longitud de la cabeza es de 10.48 mm, longitud hocico-cloca 1,357 mm, longitud de la cola a 69.67 mm; cabeza casi indistinguible del cuello; longitud del hocico contenido 0.93 veces en la longitud de la cabeza, redondeado en la parte superior; escama rostral más ancha que alta, 2.22 veces más larga que la escama frontal; prefrontales en contacto lateral con la escama post nasal y loreal, longitud aproximadamente 0.43 veces la longitud del hocico; la escama frontal es tan ancha como larga (ancho/longitud: 3.47/3.31); escama supraocular tan amplia como larga,

aproximadamente 0.97 veces más larga que el diámetro horizontal del ojo, formando aproximadamente tres cuartas partes posteriores del margen dorsal de la órbita, 0.44 veces más larga que la escama loreal, en contacto con las escamas prefrontal y postocular, en contacto con frontales y parietales; las escamas parietales 0.7 veces más largas que anchas, su longitud es aproximadamente 0.5 veces la longitud de la cabeza, y su sutura es 1.1 veces más larga que la escama frontal; la escama postocular es tan alta como larga (0.48/1.02), ligeramente más pequeña que la escama supraocular; escama nasal fusionada; postnasal 1.5 veces más larga que prenasal; longitud combinada de la escama prenasal y postnasal aproximadamente 0.53 veces la longitud de la escama loreal; escama loreal 0.5 veces más larga que ancha, contenida 3.95 veces en la longitud del hocico, dos veces el diámetro horizontal del ojo; ojo pequeño, contenido 7.93 veces en la longitud del hocico; escamas supralabiales en arreglos de 6/6, la primera escama en contacto con la escama post nasal y prenasal, segunda en contacto leve con la escama post nasal y loreal, tercera en contacto con loreal, cuarta en contacto con la órbita ocular y postocular, quinta en contacto con parietal y sexta en contacto con el margen temporal posterior; el margen ventral de la tercera escama supralabial 2.13 veces la de la segunda supralabial; margen ventral de la quinta supralabial 1.8 veces la cuarta supralabial, 1.2 veces el sexto supralabial; escama temporal anterior ausente; un temporal posterior separando el sexto supralabial del parietal; temporales posteriores separados entre sí por cinco nucales. Mental más amplia que larga, redondeada anteriormente, separando los escudos geniales por las primeras infralabiales; infralabiales en un arreglo de 7/7, primera a cuarta en contacto con escudos de barbilla anteriores, cuarta y quinta en contacto con escudos de barbilla posteriores; escudos de barbilla anterior 1.3 veces más largos que anchos, 1.16 veces más largos que los escudos de barbilla posterior; escudos de barbilla posteriores separados entre sí por una escama media gular.

Escamas dorsales en arreglos de 17 filas, lisas desde la cabeza hasta la parte posterior del cuerpo, convirtiéndose gradualmente en escamas quilladas por encima de la cloaca y en la mitad anterior de la cola; pits apicales aparentemente ausentes; 149 ventrales; escama de la cloaca completa no dividida; 43 escamas subcaudales emparejadas.

Patrón de coloración (en preservación).— El patrón de coloración se compone por áreas en las tonalidades “pratt’s payne’s gray” (293) y “brick red” (36) a lo largo del cuerpo,

dispuestas de la siguiente forma: superficies dorsales y laterales de la cabeza “pratt’s payne’s gray” sin collar juvenil; ventralmente el color de la escama mentoniana, los escudos y la escama media gular en la tonalidad “chamois” (84). En los 2/3 partes dorsales restantes del cuerpo se observa una coloración “médium blue gray” (193), superficies laterales “pratt’s payne’s gray” y ventrales “chamois”. Las superficies dorsales y laterales de la parte posterior del cuerpo presento “pratt’s payne’s gray” con puntos de tonalidad “brick red” a la altura de la cloaca, la región ventral era “chamois”; la primer fila dorsal de escamas presentó una coloración “chamois” con márgenes oscuros que se extendían a lo largo de cada escama hasta el final de la cola.

Patrón de coloración (en vida).— La siguiente descripción se basó en fotografías del ejemplar descrito (UOGV 2723) (Fig. 9). Las superficies dorsales y laterales de la cabeza, el cuerpo y la cola presentaron un color “medium neutral gray” (298) con un particular brillo tornasol a lo largo del cuerpo. La coloración ventral desde el mental hasta el final de la cola era “chamois” (84).



Figura 9. *Geophis* sp. nov. en vida (UOGV 2723). Fotografía tomada por Uri García.

Dentición.— Únicamente se extrajo la mandíbula de este organismo debido a su tamaño corporal. La maxila se extiende anteriormente al nivel de la sutura entre la segunda y tercera escama supralabial, la tercer parte de la maxila (región posterior) se curva ventralmente en vista lateral y se contabilizó un total de 12 dientes. El ectopterigoideo asociado es simple y no expandido.

Hemipene.— El hemipene totalmente evertido es semi bilobulado con una longitud total de 11.3 mm. El sulco espermático es centro lineal y bifurcado en el extremo distal del capitulum. El capitulum presenta cálices y espínulas osificadas en los cálices basales que se extienden hasta tres cuartas partes del hemipene. En la región basal se identificó un anillo de 14 espínulas agrandadas, ligeramente curvadas ventralmente. En la cara sulcada, el anillo presenta cuatro espínulas arregladas de dos en dos a cada lado del sulco espermático con dos espínulas basales. En la cara asulcada se presentan seis espínulas en el anillo principal con un arreglo de tres espínulas a cada lado del sulco espermático, adicionalmente se presentaron dos espínulas grandes en la base del anillo (Fig. 10).

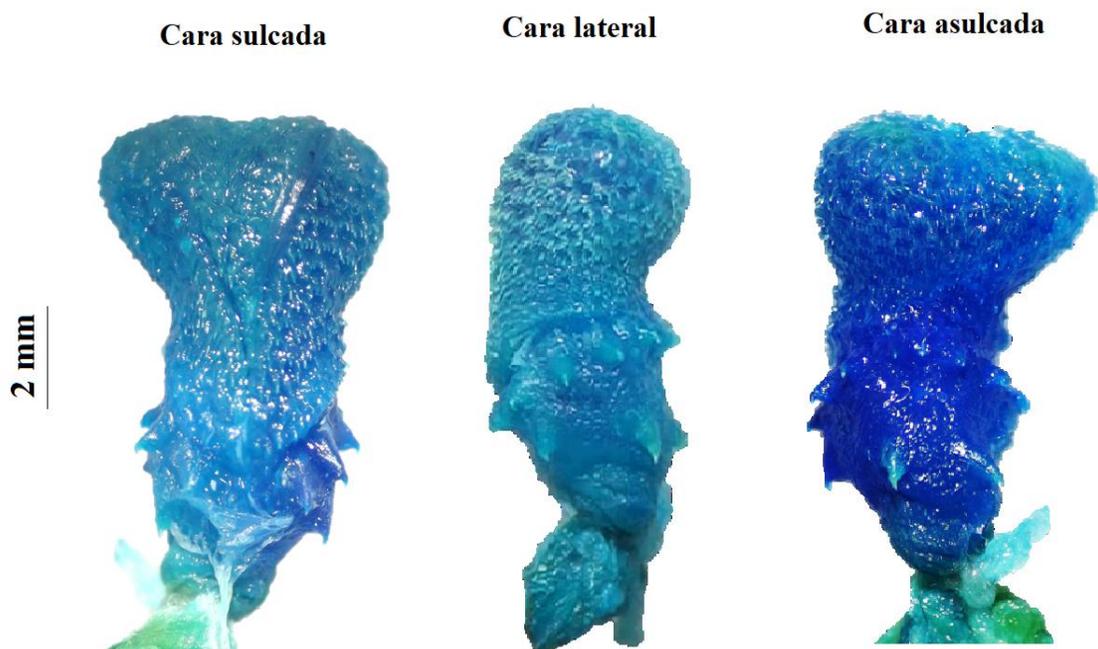


Figura 10. Hemipene derecho de *Geophis sp. nov.* (UOGV 2723).

Ecología y distribución

El grupo *sieboldi* se ha descrito geográficamente en los siguientes estados de la República Mexicana (Fig. 11) *G. pyburni* al oeste de Michoacán (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011), *G. sieboldi* en Colima, al sur de Jalisco y al oeste de Michoacán (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011; Ahumada-Carrillo *et al.*, 2014;), *G. laticollaris* al oeste de Oaxaca (Wilson y Townsend, 2007; CONABIO, 2009), *G. russatus* al oeste y centro de Oaxaca (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011), *G. nasalis* en la vertiente del Pacífico en Chiapas (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011), *G. occabus* en el centro de Guerrero (Pavón-Vázquez *et al.*, 2011; Palacios-Aguilar y Santos-Bibiano, 2016), *G. petersii* en Jalisco, Colima, al sur de Guanajuato, al norte de Guerrero y Michoacán y en la Ciudad de México (CONANP, 2006; Ponce-Campos y Flores-Villela, 2007; Pavón-Vázquez *et al.*, 2011; Carmona-Torres y González-Hernández, 2014; Muñoz-Nolasco *et al.*, 2015; Cruz-Sáenz *et al.*, 2017; Leyte-Manrique *et al.*, 2018) y *G. sallaei* al sur del centro de Oaxaca (CONABIO, 2009; Pavón-Vázquez *et al.*, 2011). Adicionalmente Boulenger (1894) reporta a *Geophis petersii* en la Ciudad de México (localidad tipo) y no determina ninguna localidad específica. Por otro lado, *Geophis* sp. nov. se conoce sólo en la región del Valle de Bravo y Temascaltepec en el Estado de México. Por lo tanto, los registros más cercanos a la localidad de tipo están restringidos a *G. nasalis*, *G. occabus* y *G. petersii*. En la región Valle de Bravo, Estado de México, los principales niveles que se encuentran en el municipio van desde los 2,600 metros en el nivel del mar, hacia el noreste, hasta los 1,400 metros al sur de la cabecera municipal. La vegetación se compone principalmente de bosque de pino-encino y pastos inducidos. El clima en el municipio es templado subhúmedo con lluvias en verano y precipitaciones anuales estacionales con un promedio de 1,024.7 mm, las lluvias aparecen de junio a septiembre y continúan en ocasiones hasta octubre. La temperatura de los meses más calurosos está por debajo de los 22°C (mayo, junio, julio y agosto), y la temperatura de los meses más fríos está entre -3°C y 18°C (noviembre y diciembre) (Inafed, 2019). Los tres especímenes de *Geophis* sp. nov. fueron colectados entre los 2,328 y 2,272.6 metros a nivel del mar, y fueron encontrados activos por la mañana bajo roca (UOGV2723) y en vegetación (RICB69 Y RIB74). La actividad de esta especie parece estar restringida al período de la primavera-verano durante los meses con la precipitación más alta (entre mayo y julio).

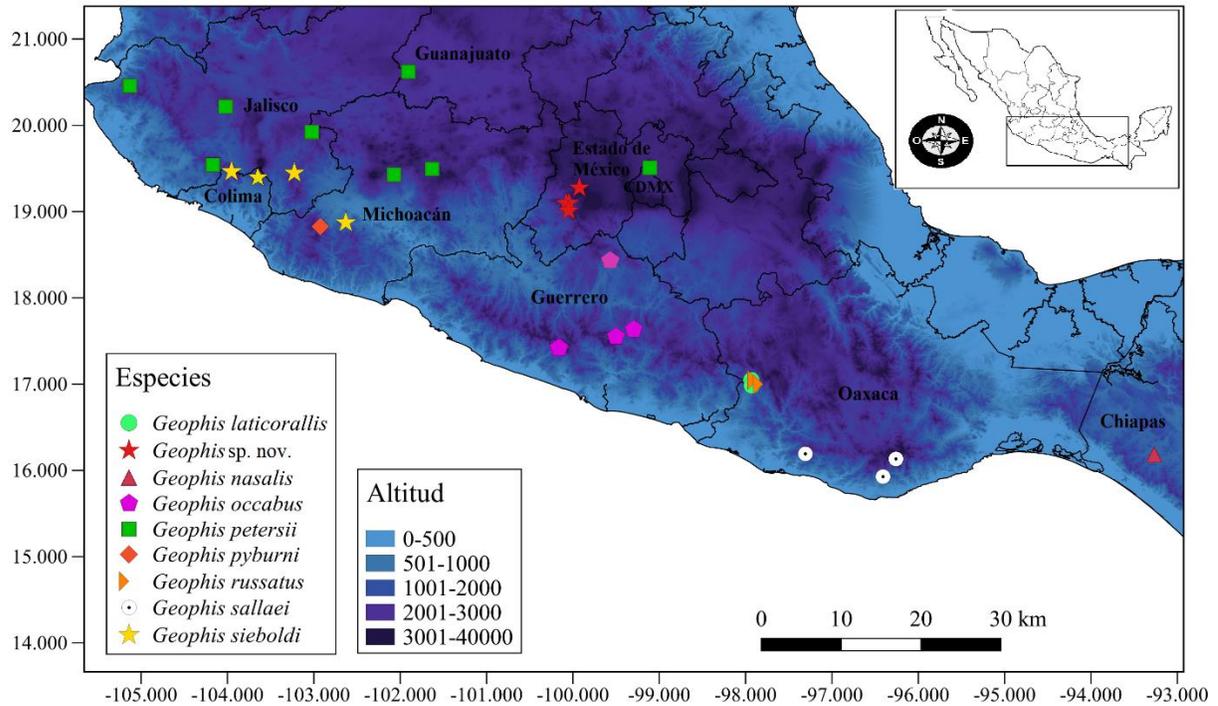


Figura 11. Mapa de distribución de *Geophis sp. nov.* con respecto a otras especies cercanas del grupo *sieboldi* en México, donde se considera el registro de Santa María Pipioltepec como *Geophis sp. nov.* (ver discusión). Metadatos geográficos obtenidos de INEGI (1990).

Discusión

Geophis sp. nov. muestra casi todos los caracteres de la definición del grupo *sieboldi* propuesto por Downs (1967). El examen morfológico y el análisis molecular muestran que la asignación de *Geophis sp. nov.* al grupo *sieboldi* es correcta y sólo difiere de esta definición por la ausencia de pits apicales como ocurre en *G. occabus* y *G. petersii*.

Respecto a *G. occabus*, ésta se diferencia de *Geophis sp. nov.* por tener un collar nucal claro en los juveniles, tener menos escamas ventrales (130-137 [n=11] en machos y 133-139 [n=6] en hembras vs 149 [n=1] en macho y 151-152 [n=2] en hembras de *Geophis sp. nov.*), un menor número de escamas subcaudales (34-39 en machos [n=11] y 23-31 [n=6] en hembras vs 43 [n=1] en macho y 33 [n=2] en hembras de *Geophis sp. nov.*), escamas quilladas en $\frac{3}{4}$ partes de la región posterior del cuerpo en lugar de tener quillas solo a la altura de la cloaca

y por poseer 14 dientes maxilares en lugar de 12. Además, *G. occabus* se distribuye en la provincia biogeográfica de la Sierra Madre del Sur (Fig. 13), la cual se encuentra separada por la Depresión del Balsas de la provincia a la que pertenece *Geophis* sp. nov., la Faja Volcánica Transmexicana, que se reconoce como un centro de diversificación, endemismo y transición biogeográfica para una gran variedad de taxones (incluidos los reptiles), debido a su gran heterogeneidad ambiental, origen geológico complejo y a su diversidad fisiográfica (Niza *et al.*, 2012; Haffter, 1976; Morrone, 2010), esto último es importante considerarlo ya que se ha demostrado que las barreras geográficas y ecológicas conforman, con frecuencia, límites naturales para la distribución de las especies (Maciel-Mata, *et al.*, 2015). Con base en lo anterior y junto con el análisis filogenético que muestra a *G. occabus* como grupo hermano de *G. russatus*, y a *Geophis* sp. nov. como grupo hermano de *G. sieboldi*, se descarta la posibilidad de que los organismos evaluados pertenezcan a *G. occabus*.

Por otro lado, aunque en la filogenia *G. sieboldi* es la especie hermana de *Geophis* sp. nov., ésta última se puede diferenciar por los siguientes caracteres: un mayor número de escamas ventrales (149 en macho vs 143-147 en machos de *G. sieboldi*), un mayor número de escamas subcaudales (43 en macho vs 37-42 en machos de *G. sieboldi*), ausencia de pits apicales (presentes en *G. sieboldi*), 14 espínulas en el heminepene en lugar de 20 y por poseer escamas quilladas únicamente a la altura de la región de la cloaca en lugar de tener escamas quilladas en toda la región posterior del cuerpo. Además, aunque la distancia genética entre la población de *Geophis* sp. nov. y *G. sieboldi* indica una diferenciación genética pequeña (2.7 %), es más grande que el valor obtenido dentro de la población (0.7 %), es decir, que se observa la divergencia genética entre linajes, que explica la diferenciación morfológica. De acuerdo con Pavón-Vázquez *et al.*, (2013) las diferencias morfológicas relativamente menores dentro del género *Geophis*, pueden estar asociadas a divergencias genéticas moderadas, por lo que un mayor trabajo de campo, examen morfológico meticuloso sumado a los datos moleculares pueden ser vitales para revelar una considerable diversidad adicional en el género.

Dentro del grupo *sieboldi* se ha observado este patrón en *G. occabus*, cuya asignación taxonómica original de un ejemplar, fue en *G. sieboldi* esto debido a que un individuo colectado en Amula, Guerrero, solo difería de la definición de la especie por la presencia de

un collar nucal y por tener 132 ventrales y 39 subcaudales, lo que representaba 11 escamas ventrales menos que las que se habían registrado con los demás especímenes machos que se habían revisado, sin embargo, tras la revisión morfológica que llevan a cabo Pavón-Vázquez *et al.*, (2011) de los ejemplares del género *Geophis* colectados en Atoyac de Álvarez, Guerrero, se describe a *G. occabus* como una nueva especie y se sugiere que el espécimen reportado en Amula, Guerrero pertenece a *G. occabus* en lugar de *G. sieboldi* no solo por los caracteres morfológicos anteriormente mencionados sino también por la distancia entre las localidades reportadas para ambas especies (74 km de distancia entre Amula y la localidad tipo de *G. occabus* y 388 km aproximadamente entre el registro más cercano de *G. sieboldi* en Coalcomán Michoacán y Amula). Adicionalmente, se menciona que *G. occabus* se incluyó en un análisis filogenético bayesiano con dos tercios de todos los representantes del género secuenciados para el gen mitocondrial citocromo b, donde las secuencias de *G. occabus* formaban un clado fuertemente soportado, con una baja diferenciación genética de 0.17%, aproximadamente una décima parte de la distancia genética obtenida entre *G. occabus* y sus especies hermanas (1.9%). Posteriormente Pavón-Vázquez *et al.*, (2013) publican una filogenia (Fig. 12) obtenida mediante un análisis de inferencia bayesiana basada en el gen mitocondrial citocromo b, donde se incluye una secuencia de *G. occabus* aunque ésta no esclarece sus relaciones filogenéticas respecto las especies del grupo *sieboldi* ya que no se incluyen más especies del grupo en el análisis. Sin embargo, en el presente estudio, se soporta la hipótesis de Pavón-Vázquez *et al.*, (2011) ya que en ambos análisis filogenéticos y el análisis de distancias genéticas, se sustenta que *G. occabus* es un linaje separado de *G. sieboldi* con una diferenciación genética del 4.7% lo que sugiere que como indican Pavón-Vázquez *et al.*, (2013), probablemente existe una correlación entre diferencias morfológicas pequeñas y divergencias genéticas moderadas dentro del género *Geophis*, como ocurre *G. occabus* respecto a *G. sieboldi*, e incluso podrían asociarse a niveles de diferenciación genética moderadamente bajos como se observa en *Geophis* sp. nov. respecto a *G. sieboldi*.

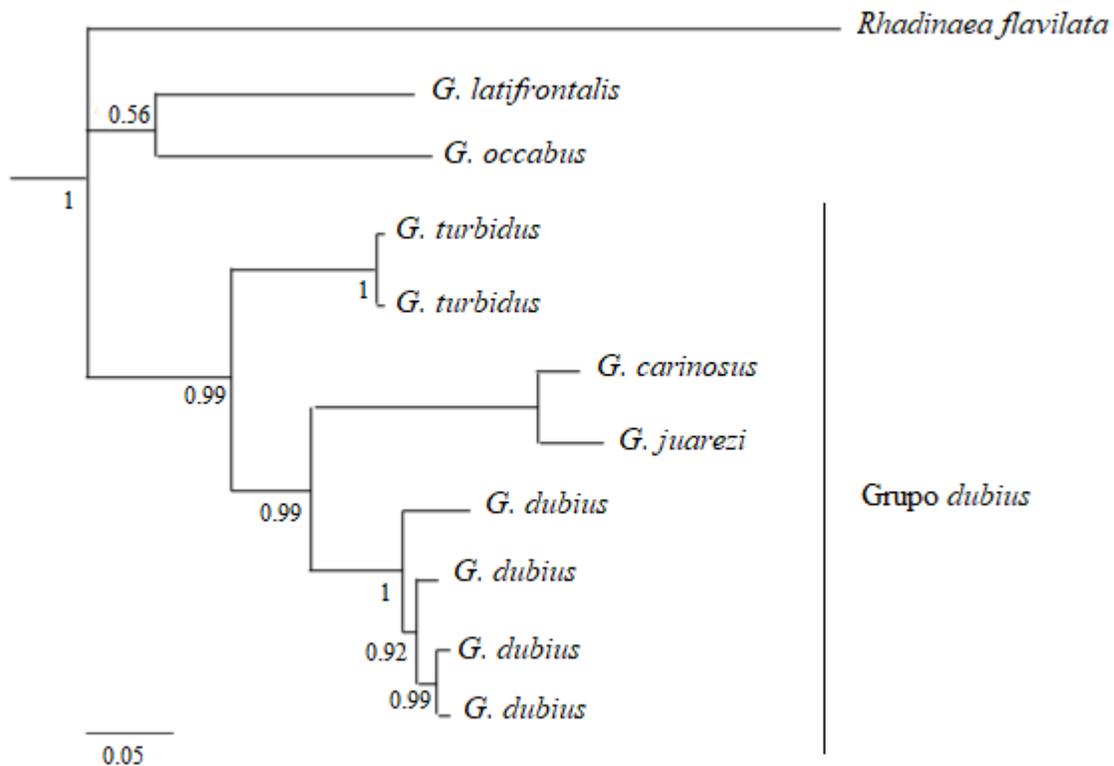


Figura 12. Árbol de inferencia bayesiana basado en la secuencia parcial del gen mitocondrial citocromo b y tRNA asociado, las probabilidades posteriores se indican en cada nodo. Modificado de Pavón-Vázquez *et al.*, (2013).

Respecto al espécimen reportado como *G. sieboldi* (MZFC 36) por Aguilar y Casas (2002) dentro de la Faja Volcánica Transmexicana en Santa María Pipioltepec a 2,250 msnm en Valle de Bravo, Estado de México, no pudo ser revisado, sin embargo, la evidencia sugiere que pertenece a *Geophis* sp. nov. debido a su distribución geográfica, la cual le ubica a 4.36 km de distancia aproximadamente de los registros de *Geophis* sp. nov. en Temascaltepec y Valle de Bravo. De acuerdo con Pavón-Vázquez *et al.*, (2011) *G. sieboldi* se distribuye en Coalcomán, Michoacán, en la vertiente del Pacífico dentro de la provincia biogeográfica de la Sierra Madre del Sur, localidad que se ubica a 340 km del registro de Santa María Pipioltepec. Por otro lado, Ahumada-Carrillo *et al.*, (2014) refieren dos registros de *G. sieboldi* para dicha provincia al sur de Jalisco en el municipio de Tecalitlán, a una distancia

aproximada de 335 km de Santa María Pipioltepec. Las tres localidades referidas para *G. sieboldi*, se encuentran separadas de los registros en la región de Valle de Bravo por la Depresión del Balsas (Fig. 13), este patrón se ha observado en otros grupos donde se ha demostrado que debido a la estructura fisiográfica de la Depresión del Balsas esta se ha convertido en una barrera climática y biogeográfica para la flora y fauna de México (INECC, 2020) de modo que limita el flujo genético entre las poblaciones situadas en las diferentes provincias biogeográficas que la delimitan (Hernández-Leal, *et al.*, 2019). Adicionalmente, Ahumada-Carrillo *et al.*, (2014) reportan un registro de *G. sieboldi* en el municipio de Villa de Álvarez en Colima en el límite entre la Faja Volcánica Transmexicana y la Costa del Pacífico a 375 km de la región de Valle de Bravo. Por lo que, considerando la distancia entre las localidades tipo de *G. sieboldi* y la región de Valle de Bravo, el individuo de Santa María Pipioltepec (MZFC 36) es probablemente otro individuo de *Geophis* sp. nov, sin embargo, se debe realizar una revisión del ejemplar y de material adicional de la localidad para poder establecer su identidad taxonómica con respecto a los individuos de Valle de Bravo y Temascaltepec. Por otro lado, considerando la distancia entre las distintas localidades, las relaciones filogenéticas obtenidas y la presencia de diferenciación genética y morfológica, se sugiere que *Geophis* sp. nov. y *G. sieboldi* son mutuamente excluyentes y que la divergencia entre ambas especies se debe a las características heterogéneas y complejas de dicha cordillera.

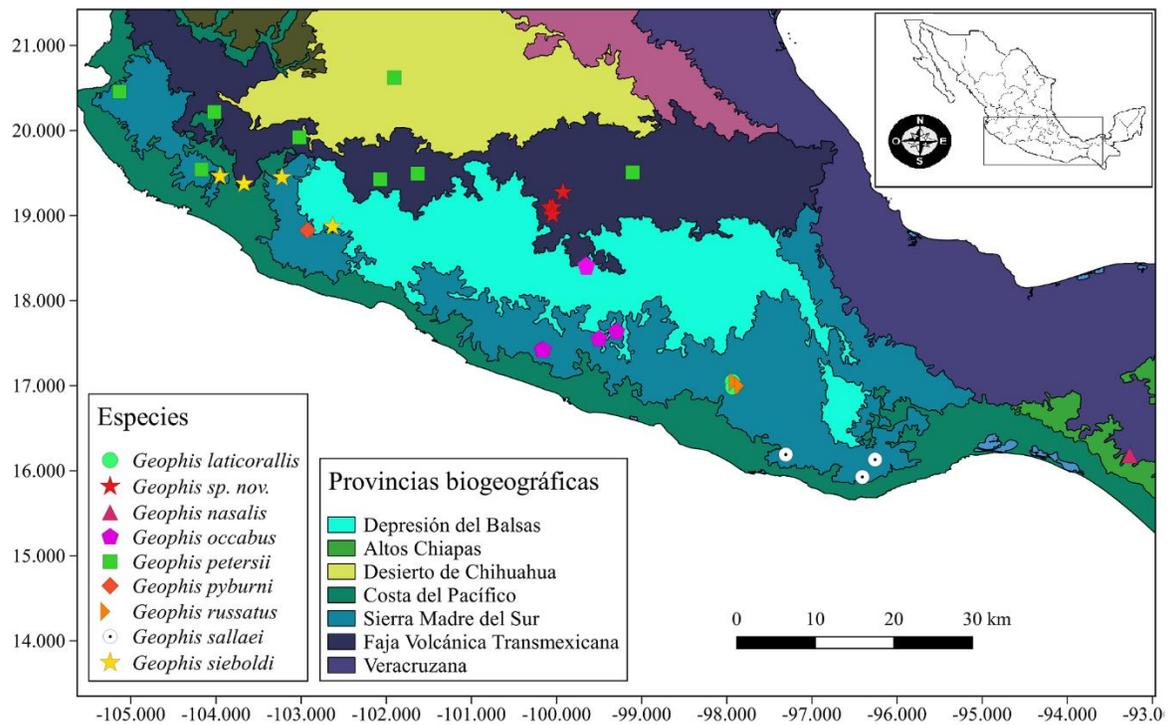


Figura 13. Mapa de las provincias biogeográficas de México (Morrone, 2017) en las que se distribuyen algunas especies del grupo sieboldi.

Por último, *Geophis sp. nov.* puede ser diferenciada de *G. petersii* por la presencia de 17 filas de escamas dorsales que presentan quillas por encima de la región de la cloaca mientras que en *G. petersii* se presentan 15 filas de escamas dorsales lisas en su totalidad, y por el número de escamas ventrales que en *G. petersii* es de 140-148 vs 149 en machos de *Geophis sp. nov.* y 145-148 vs 152-151 en hembras.

Perspectivas

El desarrollo de la tecnología, el trabajo taxonómico integral y la unión de disciplinas (filogeografía, biogeografía, ecología, etc.) son claves para la correcta identificación, clasificación y descripción de las especies, es por eso que se sugiere realizar un trabajo de límites de especie con un enfoque biogeográfico, donde se obtengan datos moleculares y de

distribución para todas las especies del grupo *Geophis sieboldi* y en el cual se determinen los procesos que gobiernan el flujo génico histórico dentro y entre las especies, con la finalidad de mejorar la comprensión sobre su historia evolutiva.

Conclusiones

El examen morfológico y los análisis filogenéticos mostraron que la muestra de Valle de Bravo (UOGV 2723) y las muestras de Temascaltepec (RICB 69 y RIB 74) son asignables a una nueva especie dentro del grupo *sieboldi* y distinguibles de su especie hermana *G. sieboldi* así como de las otras especies del grupo.

Con la adición de *Geophis* sp. nov. la diversidad de reptiles presentes en el Estado de México asciende a 146 especies y el número de especies en el grupo *sieboldi* aumenta a 18.

Considerando a *Geophis* sp. nov., el número de especies del grupo *sieboldi* distribuidos en México asciende a nueve.

Referencias

- Abascal, F., I. Irisarri y Zardoya, R. 2014. Bioinformática con Ñ, volumen I: Principios de Bioinformática. Capítulo 9: Filogenia y evolución molecular. CreateSpace, 236 pp.
- Aguilar, M. X., A. G. Casas-Andreu, Gurrola, H. M., P. J. Ramírez, Castro C. A., R. U. Aguilera, Monroy V. O., A. E. O. Pineda y Chávez C. N. 1997. Lista taxonómica de los vertebrados terrestres del Estado de México. Universidad Autónoma del Estado de México, 9–50 pp.
- Aguilar, M. X. y Casas-Andreu. 2002. Algunas especies de anfibios y reptiles contenidos en el Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-ECOL-2000. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias. Bases de datos SNIB-CONABIO proyectos No. W035, U012 y H103, México, CDMX.
- Aguilar, M. X., G. Casas-Andreu, Cardenas-Ramos, P. J. y E. Cantellano de Rosas. 2009. Análisis espacial y conservación de los anfibios y reptiles del Estado de México. *Ciencia ergo sum*, 16: 171—180 pp.
- Ahumada-Carrillo, I., N. Pérez-Rivera, Reyes-Velasco, J., C.I. Grünwald y Jones, J. M. 2014. Notable records of amphibians and reptiles from Colima, Nayarit, Jalisco and Zacatecas. *Herpetological Review*, 45: 287—291 pp.
- Association of Systematics. 2000. Systematics Agenda 2000: charting the Biosphere. Technical Report. Washington, 34 pp.
- Baker, R.J. y R. D. Bradley. 2006. Speciation in Mammals and the Genetic Species Concept. *Journal of mammalogy*, 87: 643—662 pp.
- Beheregaraym, I. B. y A. Caccone. 2007. Cryptic biodiversity in a changing world. *Journal of Biology*, 6: 1—15 pp.
- Bickford, D., D.J. Lohman, Sodhi, N. S., P.K. NG, Meier, R., K. Winker, Ingram, K. K. e I. Das. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 22: 148—155 pp.

- Boulenger, G. A. 1894. Catalogue of the snakes in the British Museum 2nd Ed. Taylor and Francis, London, XVI.
- Burbrink, F.T., R. Lawson, y J.B. Slowinski. 2000. Mitochondrial DNA phylogeography of the North American rat snake (*Elaphe obsoleta*): a critique of the subspecies concept. *Evolution*, 54: 2107 – 2118 pp.
- Canseco-Márquez, I., C.J. Pavón-Vázquez, López, A. y A. Nieto-Montes de Oca. 2016. A new species of earth snake (Dipsadidae, *Geophis*) from México. *Zookeys*, 610: 131–145 pp.
- Caramillo, J. L. 1983. New herpetological records from the state of México. *Bulletin Maryland Herpetological society*, 3: 39—46 pp.
- Caramillo, J. L. y H. M. Smith. 1992. A handlist of the amphibians and reptiles of the state of México. México. Greater Cincinnati Herpetological Society, 39—41 pp.
- Carmona-Torres, F. H. y A. J. González-Hernández. 2014. *Geophis pertersii*. *Herpetological Review*, 45: 285 pp.
- Casas-Andreu, G. y M.X. Aguilar. 2005. Herpetofauna del Parque Sierra de Nachititla, Estado de México, México. Lista, distribución y conservación. *Ciencia ergo sum*, 12: 44—53 pp.
- Cervantes-Burgos, R. I. 2017. Guía de campo para la identificación de anfibios y reptiles en la “Reserva El Peñón” del municipio de Valle de Bravo, Estado de México. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- Cetzal-Ix, W. y R. Balam. 2010. Una guía para la descripción de nuevas especies: el caso de *Lophiaris tapiae* Balam & Carnevali. Centro de Investigación Científica de Yucatán, 44 — 46 pp.
- Clare, E. I., B.K. Kim, Fenton, M.B. y P.D.N. Herbert. 2011. Neotropical bats: estimating species diversity with DNA barcodes. *PloS one*, 6: e22648.

- Ceballos, G. R., List, R., Garduño, G., López Cano, R., Muñozcano Quintanar, M. J., Collado, E., y San Roman J. E., 2009. La diversidad biológica del Estado de México. Gobierno del Estado de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México. 529 pp.
- CONABIO. 2009. La diversidad biológica del Estado de México. Estudio de Estado.
- CONABIO. 2009. Capital natural de México, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio, apéndice 14.4: sitios cero extinciones de reptiles. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 1—7 pp.
- CONANP. 2006. Programa de conservación y manejo Parque Nacional Barranca del Cupatzio. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 167 pp.
- Contreras-Ramos, A. e I. Goyenechea. 2007. Capítulo 1: La sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 11—22 pp.
- Córdova, J. H., R. Fujita, Sandoval, J., J. Descailleaux, Velásquez, M., C. Távara y Varletta, C. 2011. Divergencia genética en poblaciones peruanas detectada a partir de las frecuencias haplotípicas del mtDNA y del gen nuclear MBL. Anales de la Facultad de Medicina, 72: 51—9 pp.
- Coyne, J. A., H. A. Orr y Futuyma, D. J. 1988. Do we need a new species concept? *Systematic Zoology*, 37: 190—200 pp.
- Cruz-Sáenz, D., F.J. Muñoz-Nolasco, Mata-Silva, V., J.D. Johnson, García-Padilla, E. y L.D. Wilson. 2017. La herpetofauna de Jalisco, México: composición, distribución y estado de conservación, 4: 23—116 pp.
- Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85: 407—415 pp.
- De la Cadena Mendoza, G. 2016. Eliminación de impedimentos taxonómicos y ecológicos en “hot-spots” de biodiversidad mediante herramientas moleculares: los

- Chysomelidae y sus asociaciones tróficas en el bosque seco tropical de Nicaragua. Instituto de Biología evolutiva, 7 pp.
- De Queiroz, R. Lawson y Lemos-Espinal J.A. 2002. Phylogenetic relationships of North American garter snakes (*Thamnophis*) based on four mitochondrial genes: how much DNA is enough? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22: 315—329 pp.
- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic biology*, 56: 879—886 pp.
- Downs, F. L. 1967. Intrageneric relationships among colubrid snakes of the genus *Geophis* Wagler. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology*. University of Michigan.
- Drummond, A.J., M.A. Suchard, Xie, D. y A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29: 1969—1973 pp.
- Feztner Jr., J. W. 1999. Extracting high-quality DNA from shed reptile skins; a simplified method. *Biotechniques*, 26: 1052—1054 pp.
- Flores-Villela, O. y U. O. García-Vázquez. 2014. Biodiversidad de reptiles en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 467—475 pp.
- Goldstein P. Z., R. DeSalle, Amato G. y A.P. Voger. 2000. Conservation genetics at the species boundary. *Conservation Biology*, 14: 120—131 pp.
- Goldstein P. Z. y R. De Salle. 2010, Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: Determination, discovery, and description, *Bioessays*, 33: 135—147 pp.
- Günther, A. C. L. G. 1868. Sixth account of new species of snakes in the collection of the British Museum. *Annals and Magazine Natural History*.
- Halfpeter, G. 1976. Distribución de los insectos en la Zona de Transición Mexicana: Relaciones con la entomofauna de Norteamérica. *Folia Entomológica Mexicana*, 35: 1—64 pp.

- Haro, J. 1999. Evolución y Filogenia de Arthropoda. Sección I: Conceptos y métodos en el estudio de la filogenia. Bol. S.E.A., 26:105 —112 pp.
- Henning, W. 1966. Phylogenetic Systematics. University of Illinois Press, Urbana. PP?
- Hernández-Leal M. S., M. Suárez-Atilano, Piñero, D. y A. González-Rodríguez. Regional patterns of genetic structure and environmental differentiation in willow populations (*Salix humboldtiana* Willd.) from Central México. Ecology Evolution, 9: 9564—9579 pp.
- Hillis, D. M. y J. J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. Systematic Biology, 42: 182—192 pp.
- Hillis, D. M., J. B. K. Mable, Larson, A., S. K. Davis y Zimmer, E.A. 1996. Nucleic acids IV: Sequencing and cloning. Molecular Systematics. Sinauer Associates, 32—381 pp.
- INECC. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. La cuenca del río Balsas, México, CDMX [06/04/2020]. Disponible en web: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/402/cuencabalsas.html>
- INEGI. 1990. Hipsometría y Batimetría. Atlas Nacional de México. Vol. I. Escala 1:4000000. Instituto de Geografía, UNAM. México.
- Infaed. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Estado de México, Valle de Bravo. México, CDMX [26/08/2019]. Disponible en web: <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/EMM15mexico/municipios/15110a.html>
- Infaed. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Estado de México, Temascaltepec. México, CDMX [26/08/2019]. Disponible en web: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM15mexico/municipios/15086a.html>
- Keer, K. G. 2003. Contribución al conocimiento de la herpetofauna del Municipio, Chapa de Mota, Estado de México. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios superiores Iztacala, UNAM, 40 pp.

- Kimura, M. 1981. Estimation of evolutionary distance between homologous nucleotide sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78: 454—458 pp.
- Knowlton, N. 1993. Sibling species in the sea. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24: 189—216 pp.
- Köhler G. 2012. *Color Catalogue for Field Biologists Herpeton*.
- Kumar, S., G. Stecher y Tamura K. 2017. Mega7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7 for Bigger Datasets. *Molecular biology and evolution*, 33: 1870—1874 pp.
- Lanfear, R., P.B. Frandsen, Wright, A.M., T. Senfeld y Calcott B. 2016. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetics analyses. *Molecular biology and evolution*, 34: 772—773 pp.
- 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 pp.
- Leyte-Manrique, A. C. Berriozabal-Islas, Mata-Silva, V. y J. P. Morales-Castorena. 2018. Herpetofaunal diversity in Área Natural Protegida Las Mussas, Guanajuato, México. *Mesoamerican Herpetology*, 5: 122—136 pp.
- Lis J.T. 1980. Fractionation of DNA fragments by polyethylene glycol induced precipitation *Methods in Enzymology*, 65: 347—353 pp.
- Maciel-Mata, C. A., N. Manríquez-Morán, Octavio-Aguilar, P. y G. Sánchez Rojas. 2015. El área de distribución de las especies: revisión del concepto. *Acta Universitaria*, 25: 3—19pp
- Manjarrez, M. J. 1994. Anfibios del Estado de México. *Boletín Académico Regional de Flora y Fauna Región Centro Sur República Mexicana*, 1: 19—23 pp.

- Martínez-Meyer, E., J. E. Sosa-Escalante y Álvarez F. 2014. El estudio de la biodiversidad en México: ¿una ruta con dirección? *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 1—9 pp.
- Mayr, E., E.G., Linsley y Usinger, R. 1953. *Methods and principles of systematic zoology*. Mc Graw-Hill Book Company. New York-Toronto-London.
- Mayr, E. 1991. *One long argument, Charles Darwin and the génesis of modern evolutionary thought*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Moritz, C. y D. M. Hillis. 1996. Molecular systematics: context and controversies, En: Hillis, D. M., C. Moritz y Mable, B. K. (eds). *Molecular systematics*, 2da ed. Sinauer Associates, In, Sunderland. 1—13 pp.
- Morrone, J. J. 2000. Sistemática, Biogeografía, Evolución. Los patrones de la biodiversidad en tiempo-espacio. Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” Facultad de Ciencias, UNAM, 22 pp.
- Morrone, J. J. 2010. Fundamental biogeographic patterns across the Mexican Transition Zone: An evolutionary approach. *Ecography*, 33:355—361 pp.
- Morrone, J. J., T. Escalante y Rodríguez-Tapia, G. 2017. Mexican biogeographic provinces: Map and shapefiles. *Zootaxa*, 4277: 277—279 pp.
- Muñoz-Nolasco, F., D. Cruz-Sáenz, Rodríguez-Ruvalcaba, O. J. y I. E. Terrones-Ferreiro. 2015. Notes on the Herpetofauna of Western México 12: Herpetofauna of Temperate Forest in Mazamitla, Southeastern Jalisco, México. *Bull. Chicago Herp. Soc.* 50: 45—50 pp.
- Nieto-Montes de Oca, A. 2003. A new species of the *Geophis dubius* group (Squamata:Colubridae) from the Sierra de Juárez of Oaxaca, México. *Herpetologica*, 59: 572—585 pp.
- Niza-Gómez, T. Escalante, Rodríguez, G. M. Linaje y Morrone, J. J. 2012. Biogeographic characterization of the Transmexican Volcanic belt and analysis of the distributional patterns of the mammal fauna. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83: 258—272 pp.

- Padial J. M., A. Miralles, De La Riva I., M. Vences. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7: 1—14 pp.
- Palacios-Aguilar, R. y R. Santos-Bibiano. 2016. Notable distributional records of amphibians and reptiles from Guerrero, México. *Mesoamerican Herpetology*, 3: 527—531 pp.
- Pavón-Vázquez, C.J., U.O. García-Vázquez, J.C. Blancas-Hernández, y A. Nieto-Montes de Oca. 2011. A new species of the *Geophis sieboldi* group (Squamata:Colubridae) exhibiting color pattern polymorphism from Guerrero, México. *Herpetológica*, 67: 332—343 pp.
- Pavón-Vázquez, C.J., Canseco-Márquez, L, y Nieto-Montes de Oca, A. 2013. A new species in the *Geophis dubius* group (Squamata:Colubridae) from northern Puebla, México. *Herpetologica*, 69: 358—370 pp.
- Ponce-Campos, P. y O. Flores-Villela. 2007. *Geophis petersii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2007: e.T63809A16743.
- Puerto, G., da Graca Salomao, M., Theakston, R. D., Thorpe, R.S, Warrel, D.A., y Wüster, W. 2001. Combining mitochondrial DNA sequences and morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 14: 527—538 pp.
- Rambaut, A., A.J. Drummond y Suchard M. 2014. Tracer v1.6. Program and Documentation. Software. Disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer/>
- Ramírez-Bautista, A. y M. C. Arizmendi. 2004. *Geophis nasalis*. Sistemática e historia natural de algunos anfibios y reptiles de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos (UBIPRO), Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W013. México, 1—4 pp.

- Ronquist, F., M. Teslenko y Van der Mark, P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539—542 pp.
- Savage., J.M. y J.I. Watling. 2008. Not so rare snakes: a revisión of the *Geophis sieboldi* group (Colubridae: Dipsadinae) in lower central America and Colombia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 153: 561—599 pp.
- Sales-Nunes P. M. 2011. Morfología hemipeniana dos lagartos microteídos e suas implicações nas relações filogenéticas da familia Gymnophthalmidae (Teiioidea: Squamata). Tesis doctoral Vol. 1, Universidade de Sao Paulo, Brasil, 137 pp.
- Sarukhán J., Koleff P., Soberón J., Dirzo J.M Llorente-Bousquets, Halfter G., González R., March I., Mohar A., Anta S. y De la Masa J. 2009. Capital natural de México. Síntesis: conocimiento actual, evaluación y perspectivas de sustentabilidad, CONABIO, México, CDMX, 100 p.
- SBS. Systematics and Biodiversity Science Cluster.1 Biodiversity: Discovery & Analysis program. México, CDMX [05/11/2019]. Disponible en web: https://www.nsf.gov/funding/pgm_summ.jsp?pims_id=503666&org=DEB&from=home
- Silvestro, D. e I. Michalak. 2012. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity & Evolution*, 12: 335—337 pp.
- Simpson, G. G. 1961. Principles of animal taxonomy. Columbia University Press. U.S.A. 152—155 pp.
- Simpson, M. G. 2005. Plant Systematics. Elsevier Academic Press.
- Slowinski, J. B. y R. Lawson. 2002. Snake phylogeny: evidence from nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23: 194—202 pp.
- Tamura, K., M. Nei y Kumar, S. (2004). Perspectivas para inferior filogenias muy grandes mediante el método de unión de vecinos. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias*, 101: 11030—11035 pp.

- Thompson J. D., Higgins D. G y Gibson T. J. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673—4680 pp.
- Torretti, R. 2010. La proliferación de los conceptos de especie en la biología evolucionista. *THEORIA, Revista de Teoría, Historia y Fundamentos de la Ciencia*, 25: 325—377 pp.
- Wagler J. G. 1830. *Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Säugetiere und Vögel. Ein Beitrag zur vergleichenden Zoologie*. Cotta, München, Stuttgart and Tübingen, 354 pp.
- Wiens, J. J. y M. R. Servedio. 1997. Accuracy of phylogenetic systematics. *Systematic Biology*, 44:482—500 pp.
- Wilson, L. D., y J. H. Townsend. 2007. A checklist and key to the snakes of the genus *Geophis* (Squamata: Colubridae: Dipsadinae) with commentary on distribution and conservation. *Zootaxa*, 1395:1—31 pp.
- Zaher H. y A. Prudente. 2003. Hemipenes of *Siphlophis* (Serpentes, Xenodontinae) and Techniques of Hemipenial Preparation in Snakes; A Response to Dowling. *Herpetological Review*, 34: 302—307 pp.