



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Revisión taxonómica de la serie gaigeae-montana-
quinquelineata del género *Rhadinaea* (Colubridae: Dipsadinae)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BIOLOGO

PRESENTA:

RODRIGO GABRIEL MARTÍNEZ FUENTES

DIRECTOR DE TESIS

M. en C. URI OMAR GARCÍA VÁZQUEZ



CIUDAD DE MÉXICO

Diciembre 2019



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
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.

Comunico a usted que el alumno **MARTÍNEZ FUENTES RODRIGO GABRIEL**, con número de cuenta **414096749**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **03 de diciembre de 2019** a las **17:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE Dr. DAVID NAHUM ESPINOSA ORGANISTA

VOCAL M. en C. URI OMAR GARCÍA VÁZQUEZ

SECRETARIO Dr. MANUEL FERIA ORTIZ

SUPLENTE M. en C. GENARO MONTAÑO ARIAS

SUPLENTE Dr. GEOVANNI MIGUEL RODRÍGUEZ MIRÓN

El título de la tesis que presenta es: **Revisión taxonómica de la serie gaigeae-montana-quinquelineata del género Rhadinaea (Colubridae: Dipsadinae).**

Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
 Ciudad de México, a 08 de noviembre de 2019

DR. VICENTE JESUS HERNANDEZ ABAD
 DIRECTOR
 ZARAGOZA
 DIRECCIÓN



RECIBÍ
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

VOTO.
 Dr. JOSÉ LUIS GÓMEZ MÁRQUEZ
 JEFE DE CARRERA

Los grandes héroes son los que arreglan el mundo mientras el mundo no está mirando.

Chris Pueyo

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

La elaboración de este trabajo fue posible gracias al apoyo otorgado por la Dirección General de Apoyo al Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México a Uri Omar García Vázquez, a través del proyecto PAPIIT-IN 216619.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por la educación y oportunidades brindadas en las aulas y prácticas de campo a lo largo de la carrera.

Al Dr. Adrián Nieto Montes de Oca por el apoyo otorgado y las facilidades brindadas dentro del laboratorio de Herpetología de la Facultad de Ciencias para la realización de los experimentos necesarios.

Agradezco a Víctor Hugo Reynoso (Colección Nacional de Anfibios y Reptiles), Manuel Feria Ortíz (Museo de Zoología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM), Adrián Nieto Montes de Oca y Oscar Flores Villela (Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, UNAM), Aurelio Ramírez Bautista (Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo), David Lazcano Villarreal (Universidad Autónoma de Nuevo León), Ned Gilmore (The Academy of Natural Sciences of Drexel University), Nicolas Vidal (Muséum National d'Histoire Naturelle), Eric Smith y Jonathan Campbell (University of Texas at Arlington), Christoph Gründwald (Herp.mx y Biodiversa A. C.) por haberme permitido revisar los ejemplares de las colecciones a su cargo y los tejidos donados para la realización de este trabajo.

Agradezco a mi jurado Dr. David Nahum Espinosa Organista, Dr. Manuel Feria Ortíz, Dr. Geovanni Miguel Rodríguez Mirón, M. en C. Genaro Montaña Arias y al M. en C. Uri Omar García Vázquez, por todos y cada uno de los comentarios y observaciones que ayudaron a la redacción y enriquecimiento del presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres, María de Jesús Fuentes Robles y Víctor Gabriel Martínez Herrera, gracias por todo, cada uno de los consejos, cada oportunidad, por apoyarme en tantas locuras, viajes, por acompañarme en los días de desvelo y enseñarme que todo en la vida siempre va a tener solución, a sonreír para dar el primer paso para mejorar, a esforzarme y no ser indiferente ante los demás, por aceptar mis decisiones y corregir cuando se debía, gracias por apoyar siempre a mis hermanas y a mi, LOS AMO, gracias en verdad.

A mis hermanas, Dulce y Lupita porque han sido siempre las mejores, con altas y bajas pero siempre han estado ahí, con palabras del uno para el otro, porque no nos dejamos de nadie y porque me enseñan siempre muchísimo de las dos, por cuidarme, las amo. Dulce gracias por regalarnos esas tres lucesitas de nuestra vida, Xime, Daris y Genesis, mis sobrinas.

Gracias a mi abue, Felix Herrera y a mi abue Jaime Fuentes, por su apoyo a mis papás y estar al pendiente de nosotros, por los consejos que me han dado y la motivación.

A “Rick”, José Bustamante Medina, es increíble como cambia la vida en un lapso tan corto. Gracias porque llegaste en ese momento con la luz que mi vida necesitaba, porque siempre estás al pendiente, y porque me motivas de muchas maneras a hacer lo que quiero, gracias por darle una sonrisa y música a mi vida, sinceramente siempre me motivaste a escribir y a no darme por vencido, me has enseñado mucho en tan poco tiempo a pesar de que digas que no, gracias por ser mi “Rick”, infinitas gracias por todo.

A Uri Omar García Vázquez, por que deje de entender cuando se trataba de un sarcasmo, gracias por todas y cada una de las oportunidades que me brindaste, por los consejos y apoyo, por todo lo que me has enseñado en cada una de las cosas de labo, por las prácticas de campo, por las platicas, gracias porque eres el profe y un gran amigo.

A “Tete”, porque las grandes cosas vienen en presentaciones chiquitas, gracias por haberme brindado tu amistad, por las risas interminables, las lágrimas, fiestas, viajes, por enseñarme que no hay que dejarse de nadie y que existen tantas formas de aprender genética, gracias tete por ser mi mejor amiga.

A Romina Itzel, Antonio Esaú y Juan Carlos (Charly), gracias infinitas a los tres, porque se han vuelto grandes amigos, gracias por enseñarme tanto en este mundo de la Herpetología, por los consejos y alentarme a escribir, por todas las risas, por las fiestas, congresos y cada momento en que escapamos de labo, gracias por todo.

A Gabriela Zamora, Jennifer Atzel, Axel (Amigui), por haber hecho equipo tantas veces conmigo, por cada momento en el salón de clases, en verdad, gracias por cada risa y consejo. Gaby y Jenny gracias por hacerme reír a carcajadas en cada una de las prácticas y porque “mañana lo empiezo”, fue la frase de nuestra vida.

A Carlos Daniel, gracias amigo, por todos los buenos momentos, por las risas y consejos, y el principal de todos a luchar por un sueño y no dejar de lado tus metas.

Agradezco a Alberto Mendoza Hernández por su invaluable ayuda para la revisión de los ejemplares tipo de *Rhadianaea gaigeae* de la colección del Museum of Comparative Zoology Harvard University, USA (MCZ) y las fotografías facilitadas.

A el Dr. David Lazcano (UANL), por haberme recibido en su casa y haberme enseñado mucho en tan poco tiempo, por la confianza brindada y los consejos que me dio, gracias a su familia por las atenciones durante mi estancia en Monterrey y posterior a ella.

Agradezco al profe Luis Samuel Campos Lince †, de manera muy especial por haber sido un gran ejemplo y tener tanta paciencia, porque la estadística sinceramente fue diferente gracias a usted, gracias por los consejos de siempre y brindar una sonrisa en todo momento.

A los compañeros del laboratorio de Sistemática molecular, Gaby, Uriel, Jorge, Mabel, Andres y Diego, por el apoyo en el trabajo de labo, las prácticas de campo y cada momento en las comidas.

Índice

Resumen	2
Introducción	3
Antecedentes	16
Justificación	18
Objetivo general	19
Particulares	19
Material y Métodos	19
Análisis	25
<i>Morfología</i>	25
<i>Análisis filogenético</i>	26
<i>Límites de especies</i>	28
Resultados	29
<i>Morfología</i>	29
<i>Análisis filogenético</i>	39
<i>Límites de especies</i>	43
Discusión	46
Conclusiones	66
Literatura citada	68
Anexo I	79
Anexo II	81

Resumen

Se realizaron pruebas de límites de especie de la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata* de acuerdo con dos criterios, uno basado en DNA mitocondrial y geografía (WP), y un método coalescente de descubrimiento (GMYC, con un umbral simple y uno múltiple), se realizó además un análisis estadístico a partir de caracteres morfométricos, merísticos y cualitativos de las tres especies.

De acuerdo con las pruebas de límites de especie *R. montana*, fue la única que se mantuvo independiente en ambos análisis (WP y GMYC en ambos umbrales) y se distingue morfológicamente del resto de las especies del género; de acuerdo con el criterio de WP *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* se representan una sola especie y de acuerdo con el análisis de GMYC se separaron en dos clados, uno que integra a *R. quinquelineata* + *R. gaigeae* y otro que solo está formado por los haplotipos de *R. quinquelineata* de la región norte de Puebla, sin embargo, estos ejemplares no muestran caracteres que los diferencien morfológicamente del resto de muestras de *R. gaigeae* y *R. quinquelineata*. Con base en los resultados morfológicos y las pruebas de límites de especies se proponen los siguientes cambios taxonómicos: *R. gaigeae* pasa a ser sinónimo menor de *R. quinquelineata*, esta especie se puede distinguir del resto de especies del género por poseer un par de áreas claras paravertebrales, delimitadas por una línea oscura que puede ocupar de la sexta a la octava hilera de escamas, además se reporta dimorfismo sexual para esta especie y se valida la especie *R. montana*, que se puede distinguir del resto por poseer un área clara paravertebral delimitada por una línea oscura nítida a que ocupa de la sexta a la octava hilera de escamas y un par de ocelos detrás de los ojos que se interrumpen en el cuello.

Introducción

La sistemática cladista o filogenética tiene entre sus principales objetivos el contribuir al descubrimiento de las relaciones de parentesco (filogenia) entre las especies que componen la diversidad biológica, por lo que se ha convertido en el método más utilizado para la reconstrucción de hipótesis filogenéticas de los grupos biológicos (Miyamoto y Walter, 1995; Peña, 2011). La sistemática filogenética es una de las disciplinas más empleados para la generación de filogenias a partir de haplotipos con datos moleculares (p. ej. DNA mitocondrial [mtDNA] y DNA nuclear [nDNA]) (Goyenechea 2007; Peña, 2011; Fujita *et al.*, 2012).

Además, para dar soporte y ayudar al análisis de las hipótesis de relación filogenética obtenidas, la sistemática realiza aproximaciones para el establecimiento de límites de especies, reconociendo el empleo y potencial de los árboles de genes para encontrar límites de evolución intra e interespecífica (Templeton, 2001; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

Concepto de especie

De acuerdo con el criterio morfológico definido por Linnaeus (1758) la especie representa la categoría taxonómica mínima dentro de la jerarquía linneana, el grupo más pequeño por encima de individuo y definido por parecido morfológico, es decir, la especie implicaba similitud morfológica obtenida a través de la

reproducción. Este concepto es franqueable desde ciertos puntos tales como la descendencia común entre individuos de diferentes especies, por lo que se derivó una segunda definición morfológica que la describe como un conjunto de individuos morfológicamente similares, generalmente asociados entre sí por una distribución geográfica definida y separados de otros conjuntos por discontinuidades morfológicas (Cain, 1954). Sin embargo, existen situaciones en donde la unidad evolutiva, o taxón seleccionado no permite el reconocimiento de fronteras y atributos de la misma (Hey y Machado, 2003), tal es el caso de las especies críptica, es decir, aquellas que guardan una gran similitud morfológica pero representan especies distintas, en las que el empleo de caracteres moleculares, es decir el uso de secuencias genéticas, pueden encontrar agrupaciones (linajes), monofiléticos, independientes entre sí y lo que se consideraba como una especie definida morfológicamente, en realidad representan un conjunto de especies; o bien puede que de estos análisis resulten grupos monofiléticos integrados por poblaciones morfológicamente variables, y lo que se ha tratado como varias especies en realidad se trata de una sola especie que exhibe una amplia variación morfológica (España-Luna *et al.*, 2008; Fraga, 2014).

Como respuesta a los problemas de definir a una especie bajo criterios exclusivamente morfológicos y con la integración de las técnicas moleculares se propone el concepto de especie filogenético, que la define como “la agrupación más pequeña de organismos individuales diagnosticables, dentro de la cual existe un patrón de ancestría descendencia” (Cracraft, 1983).

Métodos para delimitar especies

Entre los métodos para establecer límites de especies existen aquellas que emplean principalmente la morfología por lo que existen métodos donde la delimitación se realiza con filogenias basadas en datos moleculares (p. ej. Wiens, 2001; Berger *et al.*, 2011), que proveen de una pérdida mínima de información, empleando a la especie como unidad terminal (Wiens y Penkrot, 2002). Otro método implica el encontrar estados de carácter que representan diferencias aparentemente fijas entre las especies, es decir caracteres que están presentes en una especie y en la otra no (Thiele, 1993). Para esto se han utilizado métodos como el análisis de componentes principales (PCA) y los análisis canónicos que ayudan al reconocimiento y soporte de la información morfológica que se emplea (James y McCulloch, 1990; Wiens y Penkrot, 2002). Una de las desventajas de la delimitación basada en morfología es que no es posible reconocer patrones de flujo génico y se necesita de muestras muy grandes para ser estadísticamente confiables (Wiens y Penkrot, 2002).

Durante mucho tiempo estos enfoques morfológicos han dominado la delimitación de especies. Sin embargo, con la integración de conjuntos de datos moleculares, junto con conceptos de especies contemporáneos, ha llevado los análisis de delimitación de especies a un nivel diferente, donde la delimitación con base en árboles de haplotipos generados a partir de DNA es una de las herramientas más usadas (Fujita *et al.*, 2012).

Entre los métodos que emplean este tipo de información (árboles de haplotipos con datos moleculares) se encuentra el propuesto por Wiens y Penkrot (2002) que

bajo el supuesto de poseer caracteres moleculares, emplean poblaciones como unidad terminal, debido a que al usar especies los polimorfismos pueden interpretarse inapropiadamente como homoplasias y no como sinapomorfías, esta metodología intenta integrar la distribución geográfica esperando que sea congruente con las hipótesis filogenéticas bien soportadas que resultaran de estos análisis; una ventaja es la combinación de datos morfológicos, datos moleculares y la distribución geográfica (Wiens y Penkrot, 2002).

La implementación de los datos moleculares dio lugar a otro tipo de análisis que se guían bajo la teoría de la coalescencia (métodos coalescentes), los cuales se basan en la hipótesis de que todos los individuos de una población natural coalescen en un ancestro común es decir se pueden rastrear las historias evolutivas de los genes hacia atrás hasta el punto en el cual se unen (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009; Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009). Al ser una teoría matemática es importante recalcar que los métodos coalescentes representan un papel importante en la estabilización de la taxonomía porque tienen el potencial para reducir los sesgos impulsados por los investigadores en la delimitación de especies (Fujita *et al.*, 2012).

Los métodos coalescentes están divididos en función de la naturaleza de la información que integran, aquellos que emplean un sólo locus o aquellos que integran varios loci para la obtención de las hipótesis de límites de especie (Fujita *et al.*, 2012).

Entre los métodos que integran un solo locus está Generalized MixedYuleCoalescent (GMYC) que integra el modelo de coalescencia y el modelo de especiación de Yule (patrones de divergencia), para distinguir entre procesos de las especies y procesos de las poblaciones (coalescencia de alelos), una de las ventajas de este modelo es que emplea árboles ultramétricos debido a que las profundidades nodales se pueden convertir fácilmente en tiempos de divergencia, y este método integra estos tiempos junto con los tamaños poblacionales para evaluar el soporte de cada una de las ramas y estimar el punto en el que las poblaciones se transforman en especies, y de este modo sugerir un número probable de especies (Pons *et al.*, 2006; Rutschmann, 2006; Fujita *et al.*, 2012). Otro método es el de PoissonTreeProcess (PTP), que es similar a GMYC pero no requiere árboles de entrada ultramétricos, debido a que utiliza las sustituciones directamente asumiendo que cada sustitución tiene una pequeña probabilidad de generar un evento de ramificación, por lo que dentro de las especies, los eventos de ramificación serán más frecuentes, mientras que entre las especies serán más dispersos (Zhang *et al.*, 2013; Ortiz y Francke, 2016).

El género *Rhadinaea*

En el mundo se conocen alrededor de 10, 450 especies de reptiles (Uetz *et al.*, 2019), y México ocupa el segundo lugar a nivel mundial con aproximadamente el 5% de esta diversidad (864 especies), de las cuales las serpientes son uno de los grupos mejor representados con 393 especies; la familia Colubridae es la más diversa con 35 géneros y 133 especies (Flores-Villela y García-Vázquez, 2014).

Entre esta diversidad de géneros que se distribuyen en México, se encuentra el género *Rhadinaea* Cope, 1863, que cuenta con 22 especies (Uetz *et al.*, 2018; García-Vázquez, 2018; Mata-Silva *et al.*, 2019) distribuidas en el continente americano entre las latitudes 35° Norte y 35° Sur, desde el nivel de mar hasta los 3200 msnm, habitan principalmente en Bosques de Pino-Encino (BPE), en Bosques Tropicales (BT) y en el caso de México en Bosques Mesófilos de Montaña (BMM). La mayor parte están activas durante el día por lo que se las puede encontrar en el suelo en busca de alimento; son de hábitos terrestres y pueden ser semifosoriales. Su dieta consiste principalmente en anfibios y lagartijas. Son serpientes de entre 400 a 550 mm de longitud, con la cabeza ligeramente distinguible del cuello y una cola corta, tienen una coloración marrón y la mayoría posee franjas negras o marrón oscuro que recorren el cuerpo de manera longitudinal, las escamas se encuentran dispuestas de 15 a 19 hileras longitudinales después de la cabeza, éstas son generalmente lisas (excepto en *R. decorata*, Günther, 1858), ventralmente se disponen de 110 a 197 escamas de mayor tamaño, más una escama anal dividida, posterior a esta se encuentran de 31 a 137 pares de escamas subcaudales (Myers, 1974, García-Vázquez *et al.*, 2018).

Tomando en cuenta la forma de los hemipenes, el patrón de coloración del cuerpo, el número de dientes maxilares y los patrones de escamación, Myers (1974) reconoció ocho grupos dentro de *Rhadinaea* (*brevirostris*, *calligaster*, *decorata*, *flavilata*, *godmani*, *lateristriga*, *taeniata*, *vermiculaticeps* y *lateristriga*). En un análisis posterior, comparaciones inmunológicas sugerían que el grupo *brevirostris*

era más parecido a los xenodontidos de América del sur, por lo que fue resucitado el género *Taenophallus* para incluir a las especies de este grupo (Myers y Cadle, 1994); un segundo grupo, lateristriga, fue evaluado morfológicamente y se propuso el cambio de algunas especies del género *Pliocercus* y aquellas del grupo lateristriga de *Rhadinaea*, al género *Urotheca* (Savage y Crother, 1989); finalmente con base en la morfología de los hemipenes y el patrón de dentición se resucitó al género *Rhadinella* para incluir las especies del grupo godmanni que sugiere ser un grupo más primitivo con relación a las especies de *Rhadinaea* (Myers, 2011); posterior a la publicación de Myers (1974), se han descrito dos nuevas especies de *Rhadinaea* una del grupo decorata *R. nuchalis* García-Vázquez, Pavón-Vázquez, Blancas-Hernández, Blancas-Calva, Centenero-Alcalá, 2018, y *R. eduardoi* Mata-Silva, Rocha, Ramírez-Bautista, Berriozabal-Islas y Wilson, 2019, que no es congruente con los miembros de otros grupos presentes en México, por poseer siete escamas supralabiales, a diferencia de los grupos taeniata y decorata que cuentan con ocho o nueve, y difiere del grupo flavilata por poseer un patrón de coloración diferente en la cabeza al de *R. laureata* (Günther, 1868), la única especie de este grupo presente en México, debido a esta combinación de caracteres Mata-Silva *et al.*, (2019), proponen la creación de un nuevo grupo para la especie *R. eduardoi*. Con estos cambios, actualmente se reconocen seis grupos de especies dentro de *Rhadinaea*: calligaster, decorata, eduardoi, flavilata, taeniata y vermiculaticeps (Myers, 2011; Mata-Silva *et al.*, 2019).

México se cuenta con representantes de cuatro grupos de *Rhadinaea*; el grupo taeniata (tres especies) que se encuentra distribuido exclusivamente en México; el grupo flavilata, del que solo se distribuye una de las dos especies que lo integran (*Rhadinaea laureata*); el grupo eduardoi con una sola especie *R. eduardoi* del estado de Oaxaca, en la Sierra Madre del Sur; y el grupo decorata, con amplia distribución y diversidad en el país con especies presentes en la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Altiplano Mexicano, Faja Volcánica Transmexicana, Sierra Madre del Sur. *Rhadinaea. decorata* se distribuye en el centro y sur de América (Myers, 1974; Pérez-Ramos *et al.*, 2000; García-Vázquez *et al.*, 2009; Mata-Silva, 2015). Las especies que integran el grupo decorata son *Rhadinaea bogertorum* Myers, 1974; *R. cuneata* Myers, 1974; *R. decorata* (Günther, 1858); *R. forbesi* Smith, 1942; *R. gaigeae* Bailey, 1937; *R. hesperia* Bailey, 1940; *R. macdougalli* Smith y Langebartel, 1949; *R. marcellae* Taylor, 1949; *R. montana* Smith, 1944; *R. myersi* Rossman, 1965; *R. nuchalis* García-Vázquez, Pavón-Vázquez, Blancas-Hernández, Blancas-Calva, Centenero-Alcalá, 2018 y *R. quinquelineata* Cope, 1886; estas serpientes pueden distinguirse de otras del género por poseer una línea oscura entre la cuarta y quinta hilera de escamas, una línea clara post-ocular y una línea vertebral interrumpida hacia la nuca (Myers, 1974, García-Vázquez *et al.*, 2018).

Dentro del grupo decorata Myers (1974) propone un subgrupo formado por *R. gaigeae*, *R. montana*, *R. quinquelineata* y *R. forbesi*, cuya morfología es similar por la presencia de un área clara en la región de la nuca. Dentro de este grupo, *R. forbesi* es la especie más distinta ya que no presenta caracteres distintivos del

resto de la serie tales como, un área clara a grisácea en cada lado de la línea vertebral, y posee un menor número de escamas ventrales, por lo que Dixon *et al.*, (2011) mencionan que no debe ser considerada dentro del subgrupo.

Rhadinaea gageae, *R. montana* y *R. quinquelineata* se distribuye principalmente dentro de la Sierra Madre Oriental (SMO) (Fig. 1), son consideradas especies semi-endémicas a esta región (Myers, 1974; Canseco-Márquez *et al.*, 2006; Medina-Romero, *et al.*, 2016). Están presentes en los Bosques de pino (BP), Bosques de Pino Encino y en los Bosques Mesófilos de Montaña (Myers, 1974; Canseco-Márquez *et al.*, 2004).

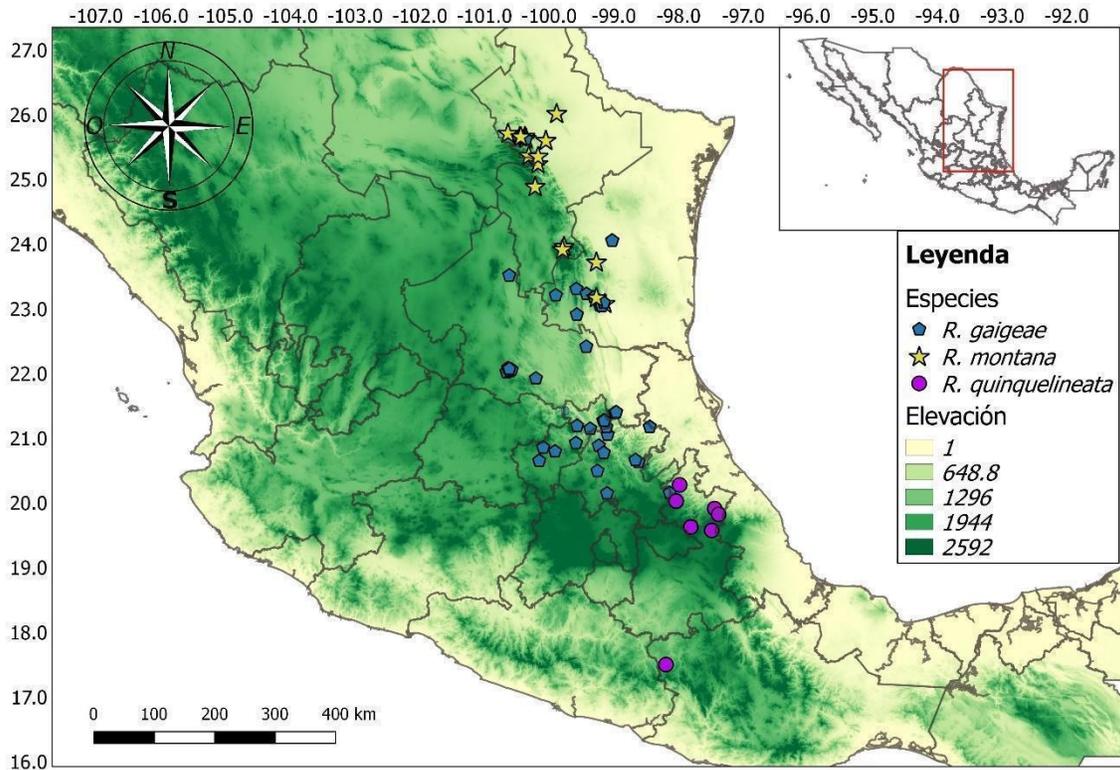


Figura 1. Distribución geográfica de las especies de la serie *Rhadinaea gaigeae*-*montana*-*quinquelineata*

Grupo de estudio

Rhadinaea quinquelineata Cope, 1886

Cope (1886) describe a *R. quinquelineata* con base en dos ejemplares (actualmente perdidos) procedentes del estado de Hidalgo, así mismo menciona un tercer ejemplar que corresponde a una hembra del municipio de Teziutlán en el estado de Puebla. Bailey (1940) asigna el ejemplar de Puebla como lectotipo, argumentando que Cope (1886) en realidad había hecho la diagnosis de *R.*

quinquelineata con base en el ejemplar de Teziutlán, Puebla excluyendo los ejemplares de Hidalgo (Myers, 1974).

De acuerdo con Myers (1974) *Rhadinaea quinquelineata* puede diferenciarse de otros miembros del género por poseer a lo largo de cada lado de la línea vertebral un área clara delimitada por una línea dorsolateral estrecha, oscura con bordes nítidos que no cubre la parte inferior de la séptima hilera de escamas (Fig. 2).

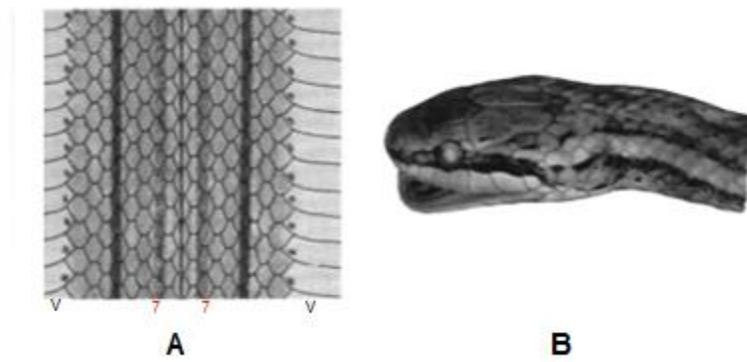


Figura 2. *Rhadinaea quinquelineata*; A, patrón de coloración a mitad de cuerpo (V= escamas ventrales, 7= posición de la séptima hilera de escamas a cada lado); B, patrón de coloración de la cabeza. Modificado de Myers (1974).

La distribución conocida de esta especie hasta el momento se restringe a la región norte de Puebla, el estado de Hidalgo, además de un registro aislado en el noroeste de Oaxaca, desde los 2100 msnm hasta los 2560 msnm en vegetación de tipo BPE (Myers, 1974; McCoid y Dixon, 1981; Canseco-Márquez *et al.*, 2004; Medina-Romero *et al.*, 2016).

Rhadinaea gaigeae Bailey, 1937

De acuerdo con Bailey (1937) *Rhadinaea gaigeae* se distingue de otras especies de *Rhadinaea* (excepto *R. montana* y *R. quinquelineata*) por poseer un área clara a cada lado de la línea vertebral delimitada a lo largo del cuerpo y por una línea oscura nítida que no cubre completamente la séptima hilera de escamas (Myers, 1974) (Fig. 3).

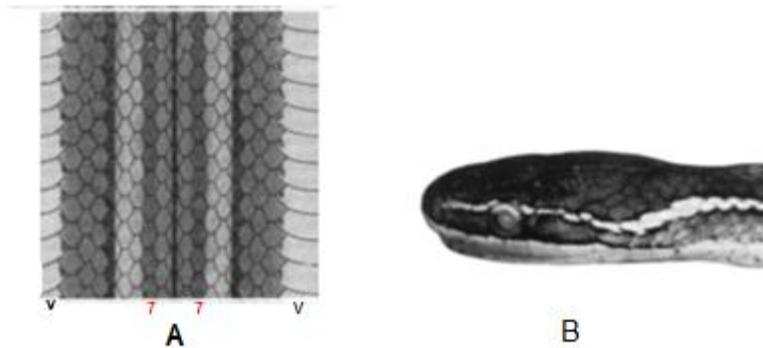


Figura 3. *Rhadinaea gaigeae*; A, patrón de coloración a mitad de cuerpo (V= escamas ventrales, 7= posición de la séptima hilera de escamas a cada lado); B, patrón de coloración de la cabeza. Modificado de Myers (1974).

Se trata de una especie con una amplia distribución dentro de la SMO y parte de la Meseta Central de México (MC) (Medina-Romero *et al.*, 2016; Johnson *et al.* 2017), se puede encontrar desde los 200 msnm hasta los 2683 msnm en los BMM, BPE y BP del sur de Tamaulipas a Hidalgo con una población disyunta en las montañas del oeste de San Luis Potosí (Canseco-Márquez, *et al.*, 2004; Dixon y Lemos, 2010; Lemos-Espinal y Dixon, 2013).

Rhadinaea montana Smith, 1944

Smith (1944) describe a *Rhadinaea montana* con base en un ejemplar de Nuevo León que corresponde a una hembra adulta,. Esta especie puede distinguirse de otras de *Rhadinaea* por la presencia de un área clara a cada lado de la línea vertebral media que está bordeada por una línea dorsolateral que abarca desde la mitad de la sexta hilera de escamas hasta parte de la octava hilera de escamas dorsales, además esta línea no es nítida (como en *R. gaigeae*) y sin bordes oscuros (como en *R. quinquelineata*) (Myers, 1974; Linner, 1996) (Fig. 4).

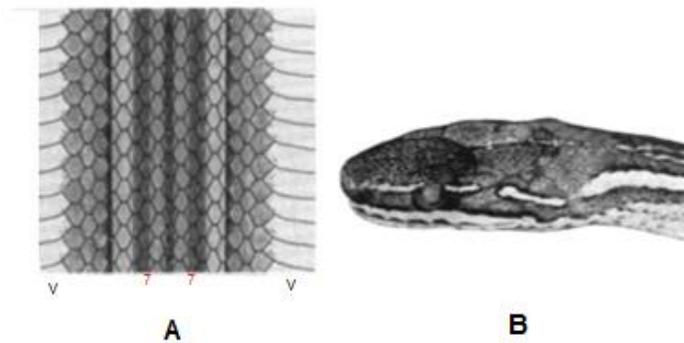


Figura 4. *Rhadinaea montana*; A, patrón de coloración a mitad de cuerpo (V= escamas ventrales, 7= posición de la séptima hilera de escamas a cada lado); B, patrón de coloración de la cabeza. Modificado de Myers (1974).

Es la única especie de este subgrupo (*R. gaigeae-montana-quinquelineata*) que es considerada endémica de la región norte de la SMO en las porciones que comprenden al estado de Nuevo León y Tamaulipas, se distribuye desde los 792 msnm hasta los 2134 msnm, en los BP y BPE (Chaney y Linner, 1987; Linner, 1996; Canseco-Márquez *et al.*, 2004; Dixon *et al.*, 2011; García-Vázquez, 2012).

Antecedentes

Los miembros de la serie *R. gaigeae-montana-quinquelineata* han sido objeto de diferentes trabajos orientados a identificar los caracteres distintivos entre las especies, esto debido a la gran similitud que existe entre ellas (p. ej. Myers, 1974; Dixon *et al.*, 2011). Los primeros trabajos se enfocaron en la descripción de especies, y en reportar nuevos ejemplares y rasgos morfológicos de las especies descritas, debido a los pocos registros con los que se contaban de algunas especies.

Smith (1942) describe a *Rhadinaea crassa* con tres ejemplares del estado de Hidalgo, estos ejemplares difieren de *R. gaigeae* por la presencia de puntos negros en las escamas ventrales y un mayor número de dientes maxilares. Menciona, además, que el paratipo de “La placita”, Jacala, Hidalgo es similar principalmente en coloración a *R. quinquelineata* y el paratipo de “Barranca de los Horcones”, sur de Durango, Hidalgo, presenta el mismo patrón de rayado dorsal de *R. gaigeae*.

Myers (1974) propone la sinonimia de *R. crassa* y *R. gaigeae*, que anteriormente estaban separadas debido a que no se habían identificado organismos de *R. gaigeae* con puntos en las orillas de las escamas ventrales. Sin embargo, Myers (1974), reporta que los ejemplares tipo de *R. gaigeae* presentan estos puntos solamente en las escamas de la parte anterior del cuerpo, así mismo habla sobre la incorrecta revisión de los dientes maxilares realizada por Bailey (1937) al describir el holotipo de *R. gaigeae*, posterior a esta revisión, se encontró que *R.*

crassa y *R. gaigeae* presentan un número similar de dientes maxilares (16+2-19+2).

En este mismo trabajo, Myers (1974) propone la conformación de un subgrupo morfológicamente muy similar, basándose en los patrones de coloración de *Rhadinaea gaigeae*, *R. montana*, *R. quinquelineata* y *R. forbesi*.

McCoid y Dixon (1981) describen un macho de *R. quinquelineata*, colectado en el municipio de Huauchinango, Puebla e indican que el patrón de coloración es idéntico al del lectotipo, con este registro asciende a cuatro ejemplares de *R. quinquelineata* reportados hasta esa época. En el mismo trabajo McCoid y Dixon (1981) reportan un macho de *Rhadinaea* procedente de Xichu, Guanajuato, que aparentemente presenta el mismo patrón de coloración que *R. hesperia*, sin embargo, por el número de escamas ventrales (165), subcaudales (104) así como el porcentaje de la cola respecto al cuerpo (31.1%) el ejemplar fue asignado a *R. gaigeae*.

Más tarde, Dixon *et al.* (2011), realizan una evaluación y descripción morfológica de la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata-forbesi*; primero discuten la exclusión de *R. forbesi* de esta serie por presentar variaciones morfológicas, tales como la ausencia de áreas claras paravertebrales a lo largo del cuerpo y por tener un menor número de escamas ventrales respecto al resto de la serie. Posteriormente abordan el tema de las diferencias morfológicas intraespecíficas en la serie. Estos autores, enfatizan en la correspondencia geográfica y ecológica de las especies y proponen dos posibles respuestas al problema de la variación, la

primera es que lo que se ha tratado como especies diferentes en realidad se trata de una sola con variaciones morfológicas y en cuyo caso proponen que sean tratadas como subespecies de *R. quinquelineata*, la segunda repuesta se refiere a que se trata de especies definidas, con patrones de coloración asociados al tipo de ecosistema en el que se encuentran, con distribuciones geográficas restringidas y alopátricas.

Hasta el momento en el que Dixon *et al.* (2011) realizan esta discusión sobre las diferencias morfológicas el número de ejemplares conocidos de algunas especies como *R. quinquelineata* era reducido. Por lo que es importante considerar que actualmente existen más ejemplares colectados de esta serie, que no han sido reportados y que tienen características morfológicas particulares, ya que presentan características tanto de *Rhadinaea quinquelineata* como de *R. gaigeae* que sugieren zonas de posible intergradación entre estas especies (García-Vázquez, com. pers.).

Justificación

Dixon *et al.* (2011) hacen énfasis en la similitud morfológica entre las especies de la serie *R. gaigeae-montana-quinquelineata* y que de forma intraespecífica también existe una amplia variación morfológica que pone en duda la validez de estas especies. Considerando que existen más ejemplares de esta serie que no han sido reportados y que pueden representar zonas de posible intergradación es necesario realizar un análisis más profundo que involucre no solo caracteres morfológicos, sino que integre información molecular, apoyándose de métodos

coalescentes para la delimitación de especies para probar si existe independencia de linajes entre las especies reconocidas actualmente en esta serie.

Objetivo general

Evaluar la situación taxonómica de las especies que componen la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata*

Particulares

- Obtener secuencias de DNA mitocondrial de *R. gaigeae*, *R. quinquelineata* y *R. montana*
- Obtener los caracteres morfológicos diagnósticos de las especies de *Rhadinaea* de la serie *gaigeae-montana-quinquelineata*.
- Realizar pruebas de límites de especies para la serie *gaigeae-montana-quinquelineata*.
- Realizar los cambios taxonómicos pertinentes respecto a las especies que componen esta serie.

Material y Métodos

Muestreo de taxones.

Se incluyeron 15 muestras de tejido de *Rhadinaea* incluyendo las de las tres especies que componen la serie , provenientes de la Colección Herpetológica del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera”, de la Facultad de Ciencias UNAM (MZFC). Adicionalmente, se realizó trabajo de campo con la finalidad de tener

representantes de *Rhadinaea gaigeae*, *R. montana*, y *R. quinquelineata* de toda su área de distribución geográfica conocida, incluyendo zonas de posible intergradación. Los ejemplares recolectados fueron sacrificados de acuerdo con método señalado en Pisani y Villa (1974), y se extrajo el tejido hepático o muscular para conservarse en alcohol absoluto, el tejido fue asociado con el número de colecta correspondiente al organismo. Los organismos se fijaron con formol al 10% y preservaron en etanol al 70% (Percino-Daniel *et al.*, 2013), para su posterior depósito en la colección herpetológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM (MZFZ).

Para el enraizar los árboles, se seleccionó como grupo externo, una secuencia de *Hypsiglena jani* (Pyron *et al.*, 2013) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Muestras utilizadas para el análisis filogenético que incluyen miembros del grupo decorata, flavilata y géneros emparentados.

Código	Núm	Especie	VoucherGenBank	Estado	País
VHLM	10	<i>Coniophanes sp.</i>	-	Oaxaca	México
-	-	<i>Hypsiglenajani texana*</i>	EU728592.1	Texas	E.U.A.
DGM	52	<i>Rhadinaea cuneata</i>		Veracruz	México
ENS	9036	<i>Rhadinaea decorata</i>		Huehuetenango	Guatemala
JRM	3800	<i>Rhadinaea forbesi</i>		Veracruz	México
-	-	<i>Rhadinaea flavilata</i>	AF471078.1	Pinellas	E.U.A.
AMH	674	<i>Rhadinaea gaigeae</i>		Hidalgo	México
ISZ	531	<i>Rhadinaea hesperia</i>		Jalisco	México
AZR	211	<i>Rhadinaea laureata</i>		Morelos	México
ANMO	4339	<i>Rhadinaea marcellae</i>		San Luis Potosí	México
JAC	21633	<i>Rhadinaea mcdougalli</i>		Oaxaca	México
CIG	605	<i>Rhadinaea montana</i>		Nuevo León	México
MZFC	8528	<i>Rhadinaea montana</i>		Tamaulipas	México
HUEYAPAN	S/N	<i>Rhadinaea quinquelineata</i>		Puebla	México
JCSG	2	<i>Rhadinaea quinquelineata</i>		Puebla	México
MXC	S/N	<i>Rhadinaea quinquelineata</i>		Puebla	México
UOGV	175	<i>Rhadinaea quinquelineata</i>		Puebla	México
ENS	7810	<i>Rhadinella godmani</i>		Quiche	Guatemala

- Indica el grupo utilizado para el enraizamiento de las reconstrucciones filogenéticas

Para la obtención de los caracteres morfológicos se revisaron los ejemplares de diferentes colecciones científicas nacionales e internacionales y de aquellos ejemplares que se colectaron en campo durante el presente estudio (Anexo 1).

Morfología

Se revisaron morfológicamente 56 ejemplares en total de las tres especies de la serie, depositados en cinco colecciones científicas nacionales: Colección Herpetológica del Centro de investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (CIB-UAEH), Colección Nacional de Anfibios y Reptiles del Instituto de Biología de la UNAM (CNAR), La Colección Herpetológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL-HERP), Colección Herpetológica del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNAM (MZFC) y de la Colección Herpetológica del Museo de Zoología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM (MZFZ); y de una colección extranjera, Museum of Comparative Zoology Harvard University, USA (MCZ).

De manera adicional, se obtuvieron registros fotográficos de la colección herpetológica del Muséum National d’Histoire Naturelle, Paris, Francia (MNHN), correspondientes a los dos registros asignados como *Rhadinaea quinquelineata* (MNHNH 1904.5, MNHNH 1904.6) del estado de Oaxaca, y del paratipo de *R. montana* depositado en la colección de Vertebrados de The Academy of Natural Sciences of Drexel University, USA (ANSP).

Para cada uno de los ejemplares se registraron dos tipos de caracteres, unos de tipo cuantitativo y otros de tipo cualitativo, entre los cuantitativos se consideraron las medidas y caracteres merísticos descritos por Myers (1974), así como los empleados por King (1997), Devitt *et al.* (2008), y Rivera-González (2009). Para la nomenclatura de las escamas se siguió la propuesta por Myers (1974).

Datos morfométricos.- Los caracteres morfométricos evaluados incluyen la longitud hocico-cloaca (LHC), longitud de la cola (LC), ancho de la cabeza (AC), longitud de la cabeza desde la punta de la nariz hasta el margen posterior de las escamas parietales (Lcb), largo de la mandíbula, desde la punta del hocico hasta el final de la última escama supralabial (LM), distancia entre los ojos (DEO), ancho de la escama rostral (A_ro), longitud de la escama internasal de ambos lados de la cabeza (L_in), longitud de la escama frontal (L_fro), longitud de la escama prefrontal de ambos lados de la cabeza (L_pre), longitud de las escamas parietales (L_pari), longitud de la escama supraocular de cada ojo (Lsupra), longitud de la escama Loreal únicamente del lado derecho de la cabeza (L_lord) y diámetro ocular (Diam).

Caracteres merísticos.- Los caracteres merísticos registrados fueron el número de hileras de escamas dorsales detrás de la nuca (Hn), a mitad de cuerpo (Hm) y al nivel de la cloaca (Hc), escamas supralabiales del lado derecho (SLD) e izquierdo (SLI), escamas infralabiales del lado derecho (ILD) e izquierdo (ILI), escamas ventrales (V), escamas subcaudales (Sub), número de escamas loreales (Lo), escamas preoculares (PO) y escamas sub-preoculares (SPO).

Caracteres cualitativos. -Se eligieron de acuerdo con los patrones de coloración descritas por Myers (1974), Dixon *et al.* (2011), los caracteres se codificaron para su análisis posterior, con base en la ausencia, presencia o un tipo de estado de carácter que presento, los caracteres evaluados incluyen:

Áreas claras paravertebrales (CPV). Se extienden o no hasta tocar las escamas parietales, (tocan = 1; no se tocan = 0)

Ocelos (Ocel) si son continuos o se interrumpen hacia el cuello (continuos= 1; se interrumpen= 2)

Líneas oscuras que delimitan las áreas claras paravertebrales (OPV). Líneas que se extienden a lo largo del cuerpo que pueden o no ocupar diferentes hileras de escamas (6^o hilera= 1; 6^o-7^o hilera= 2; 7^o hilera= 3; 7^o-8^o hilera= 3; 8^o hilera= 4; 6^o - 8^o hilera=5)

Hemipenes. - Se revisó la morfología de los hemipenes siguiendo la nomenclatura propuesta por Zaher (1999), y Myers (1974). Para aquellos ejemplares que no presentaban los hemipenes evertidos se procedió a su disección y una vez extraídos se reblandece el tejido con agua tibia, o bien para los que se encontraban totalmente retraídos con KOH al 2% durante 2-4 horas, una vez evertidos los hemipenes se rellenaron con vaselina y se asociaron con el número de colecta y museo de los ejemplares (Myers y Cadle, 2003; Angarita-Sierra, 2014).

mtDNA

Extracción y amplificación. El material genético se extrajo a partir de tejido hepático o muscular mediante las técnicas de acetato de amonio y fenol-cloroformo (Hillis *et al.*, 1996), y con el empleo del Kit DNeasyBlood and Tissue (QIAGEN, 2013-2017) en el caso de muestras de tejido antiguas. Para verificar la calidad de la extracción se corrió la muestra junto con un marcador de peso molecular de 1Kb plus (100-12,000pb) en un gel de agarosa al 1% y este se visualizó en un trans-iluminador de luz ultravioleta. A partir del DNA extraído, se amplificó un fragmento del gen Citocromo b (cytb) por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), con los protocolos y primers sugeridos por Burbrink *et al.* (2000) (Cuadro 2). Adicionalmente, para las muestras de DNA degradado fue necesario diseñar primers internos H15716Z y L15584Z (Cuadro 2).

Cuadro 2. Primers empleados para la amplificación y secuenciación de mtDNA

Nombre	Secuencia del primer	Referencia	Dirección
L14919	5'-AAC CAC CGT TGT TAT TCA ACT-3'	Burbrink <i>et al.</i> , 2000	Forward
H15716-Z	5'-GGT TTY ATG TGR TGT GGT GTT AC3'	El presente estudio	Reverse
H16064	5'-CTT TGG TTT ACA AGA ACA ATG CTT TA-3'	Burbrink <i>et al.</i> , 2000	Reverse
L15584-Z	5'-CCA TTY CAC CCM TAY CAC TC-3'	El presente estudio	Forward

Los fragmentos obtenidos de la amplificación fueron purificados por medio de la técnica de polietileno-glycol (Lis, 1980), y enviados a MacroGen Inc. en Corea para

su secuenciación. Las secuencias obtenidas se verificaron mediante un Blast en NCBI esperando la correspondencia entre las secuencias obtenidas y las disponibles de *Rhadinaea* y especies afines en la plataforma GenBANK.

Edición y alineamiento. - Las secuencias fueron editadas de forma manual en el programa Sequencher (Gene Code Corp. Ann Arbor, USA) y alineadas en el software Mega 6 (Tamura *et al.*, 2013) mediante el algoritmo Clustal W (Thompson *et al.*, 1994).

Análisis

Morfología

Para disminuir el efecto que pudiera causar las diferencias dimensionales y la variación ontogénica los datos se estandarizaron empleando un logaritmo natural (Thiele, 1993; Hoyos *et al.*, 2003). Los análisis se realizaron en el software STATGRAPHICS Centurion XVI v16.2.04 (StatPointtechnologies, 2013). De forma exploratoria se elaboraron gráficos de caja y bigote para identificar casos atípicos en los datos y justificar la eliminación y revisión específica de los casos identificados.

Para la identificación de los caracteres redundantes y que no fueron óptimos para la evaluación morfológica se realizó un análisis de correlación de Person entre cada uno de ellos, se consideró como un carácter auto-correlacionado aquel con un valor igual a uno ($r= 1$) respecto a los demás caracteres por lo que no se incluyeron en los análisis posteriores. Una vez que los caracteres auto-correlacionados se identificaron se procedió a determinar la variación de los

caracteres, así como la cantidad de información que cada variable aportó, mediante un análisis de componentes principales (PCA), poniendo a prueba la hipótesis de que las tres especies son iguales morfológicamente; una vez identificadas estas variables se realizó un diagrama de sedimentación para observar las tendencias de los datos (Zink y Remsen, 1986). Para la identificación del peso de cada una de las variables, la distancia entre éstas y el grado de información que aportan se realizó un análisis discriminante (AD).

De los caracteres seleccionados por los análisis se realizaron pruebas de intervalos de confianza para la caracterización de los grupos que se obtuvieron (Porto y Fernandes, 1996).

Una vez realizados estos análisis se contrastaron con otra evidencia, es decir, se revisó si los patrones resultantes de los análisis anteriores presentan congruencia con la distribución de los ejemplares y las hipótesis de límites de especies generadas a partir de los análisis moleculares.

Análisis filogenético

Para seleccionar el mejor esquema de particiones y el mejor modelo de evolución para cada partición, el alineamiento de mtDNA fue analizado en PartitionFinder (Lanfear *et al.*, 2012) .

Para evaluar la monofilia de la serie *gaigeae-montana-quinquelineata*, se incluyeron en el análisis filogenético secuencias de otros representantes del grupo *decorata* así como dos secuencias de los miembros del grupo *flaviata*, una de *Rhadinella godmani* (Cuadro 1), separada recientemente del género *Rhadinaea*

(Myers, 2011) y una de *Coniophanes* (*Coniophanes* sp.) grupo hermano del género *Rhadinaea* (Cuadro 1) (Lawson *et al.*, 2005).

Para estimar las relaciones entre los haplotipos, se realizaron dos análisis probabilísticos, uno de máxima verosimilitud (ML) y otro de inferencia bayesiana (IB). El análisis de ML se realizó con el software RAxML HPC 7.42 implementado en raxmlGUI 1.3.1 (Silvestro y Michalack, 2012). Para este análisis se seleccionó un modelo GTRGAMMA que utiliza un pequeño número de categorías de tasas discretas (Yang, 1994). Los análisis se realizaron siguiendo la estrategia de particiones sugeridas por PartitionFinder (Lanfear *et al.*, 2012). Se realizó una búsqueda heurística con 1000 repeticiones. El soporte de los nodos se evaluó por medio de un bootstrap no paramétrico con 1000 árboles iniciales, considerado como clados bien soportados aquellos con valores de bootstrap igual o mayores al 70 % (Hillis y Bull, 1993).

Los análisis Bayesianos se realizaron en el software MrBayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012). Se corrieron 4×10^6 generaciones muestreando los árboles obtenidos cada 5000 generaciones, con la estrategia de partición y modelo sugeridos por PartitionFinder (Lanfear *et al.*, 2012). El cladograma final se obtuvo mediante el árbol de máxima credibilidad, desechando el 25% de los árboles iniciales como burn-in, y utilizando la proporción restante de árboles previamente muestreados. El soporte de los nodos fue considerado como bueno en aquellos clados con probabilidades posteriores igual o mayores a 0.95 (Zolano-Zavaleta y Nieto-Montes de Oca, 2018).

Límites de especies

Para generar las hipótesis sobre el posible número de especies que representan las muestras incluidas, se emplearon dos métodos para filogenias de mtDNA; el primero de ellos es el que se considera que la población de interés (especie focal) representa una sola especie si forma un clado exclusivo con respecto a otras poblaciones cercanas (WP., Wiens y Prentice, 2002). Este método, se basa en el supuesto de que una población aislada tendrá ramas enraizadas que se espera se produzcan alrededor de las generaciones "N" después de la separación de linajes, este método delimita poblaciones "exclusivas", definidas como la monofila de haplotipos restringidos geográficamente de otros clados.

El segundo método para filogenias con mtDNA es conocido como Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) (Pons *et al.*, 2006). La robustez del método GMYC depende significativamente del esquema de muestreo; para este método se construyó un árbol ultramétrico en BEAST 2.4.8 (Bouckaert *et al.*, 2014), a partir de un alineamiento que consta de siete muestras de la serie de *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata*, para la construcción del árbol ultramétrico se analizó el alineamiento con las mismas particiones que en el análisis de IB, pero con los modelos obtenidos mediante bModelTest (Bouckaert and Drummond, 2017) implementado en la paquetería de Beast 2.4.8 (Bouckaert *et al.*, 2014); para la reconstrucción filogenética se empleó un reloj relajado con distribución lognormal y el modelo de Yule; el análisis constó de una corrida de 300 millones de generaciones muestreando cada 5000 generaciones, posterior a esto se determinó el grado de convergencia en Tracer (Rambaut y Drummond, 2007) y se

construyó un árbol de máxima credibilidad en TreeAnnotator (Drummond y Rambaut, 2007), descartando el 25% inicial de los árboles muestreados como Burn-in. El árbol obtenido en el paso anterior se empleó para el análisis de GMYC, en el paquete SPLITS del software R (RStudioTeam, 2015) optimizado en un umbral único y un umbral múltiple (Fujisawa y Barraclough, 2013; Ortiz y Francke, 2016; De Jesús-Bonilla *et al.*, 2017).

Taxonomía

Una vez obtenidas las hipótesis filogenéticas y de límites de especies, se procedió a la comparación de los modelos de límites de especies de cada método, evaluando la topología, y el número de especies propuesto por cada análisis.

Retomando los criterios sugeridos por Pavón (2015), y con base en el concepto filogenético de especie, se consideraron especies a los grupos que:

1. Fueron propuestos como especies por uno o ambos métodos de descubrimiento (WP o GMYC)
2. Conformaron muestras morfológicamente distinguibles de otras muestras

Resultados

Morfología

Se registró en total 34 caracteres entre morfométricos, merísticos y cualitativos. Los caracteres Hn, Hm, Hc, Lo, Po no se incluyeron dentro de los demás análisis debido a que presentaron el mismo valor en todos los casos.

El análisis de correlación de Pearson no mostró autocorrelación entre ningún carácter por lo que todos los caracteres se emplearon para realizar el Análisis de Componentes Principales. La matriz de datos se analizó por separado en el ACP; sin embargo, no mostró tendencias significativas entre cada una de las variables con las cuales se pudieran discriminar tendencias entre el conjunto de datos por lo que se analizaron en conjunto morfométricos, merísticos y cualitativos. Un primer análisis en conjunto de las variables se realizó con los datos morfométricos estandarizados en proporción a la LHC, este análisis obtuvo 12 componentes principales que clasificaron correctamente el 81.13% de los datos; sin embargo, limitó el poder explicativo de los datos (Jackson,1993); al realizar el análisis de discriminantes no se observaron tendencias significativas entre los grupos (Fig. 5), debido a lo anterior, se realizó otra estandarización sin dividir cada dato morfométrico entre la LHC y solamente se aplicó un logaritmo natural (Rivera, 2009). Del análisis PCA se obtuvieron siete componentes principales (Fig. 6) que representan el 83.75% de los datos (Cuadro 3).

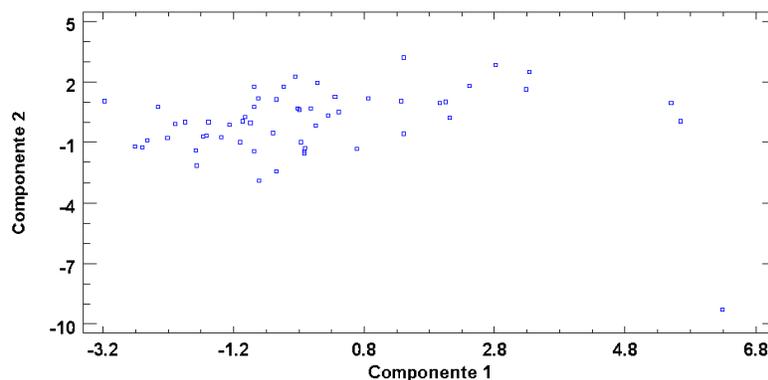


Figura 5. Gráfica de dispersión del análisis con datos morfométricos estandarizados en razón a la LHC.

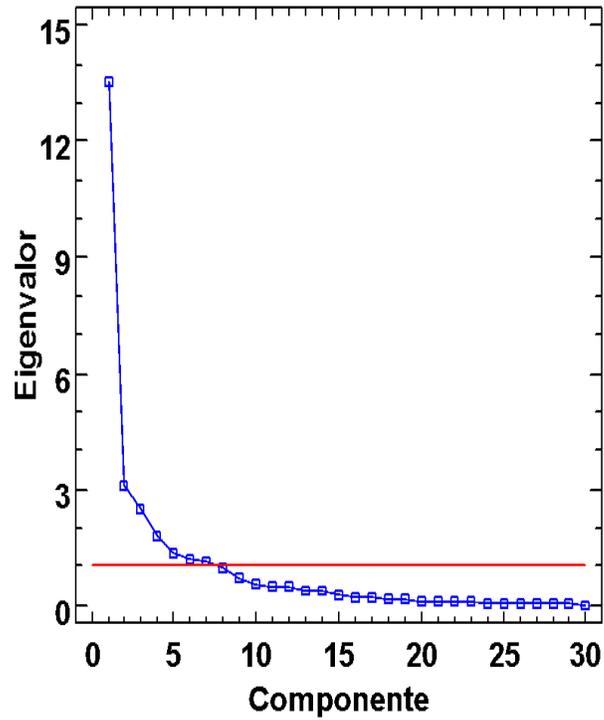


Figura 6. Sedimentación de cada uno de los componentes, la selección de los componentes se realizó con el dato de Eigenvalor mínimo=1

Cuadro 3. Porcentaje de Varianza acumulado para los primeros diez componentes

Componente número	Eigenvalor	Porcentaje de varianza	Porcentaje acumulado
-------------------	------------	------------------------	----------------------

1	13.5248	46.637	46.637
2	3.09226	10.663	57.300
3	2.34183	8.075	65.376
4	1.80128	6.211	71.587
5	1.30893	4.514	76.101
6	1.16375	4.013	80.113
7	1.05322	3.632	83.745*
8	0.687313	2.370	86.115
9	0.605944	2.089	88.205
10	0.507632	1.750	89.955

*Indica el porcentaje de la varianza de los datos representados hasta el componente siete

Para cada componente se seleccionó el carácter que representó la mayor cantidad de información por cada componente (eigenvalue) (Cuadro 4, Fig. 7). Las funciones de cada componente se ven representadas de la siguiente manera, para el componente uno el carácter L_preD es el que aporta mayor información (25.68%); para el componente dos el carácter ILI es el que aporta mayor información a esta función (37.96%); sin embargo, el número de escama infralabiales del lado derecho es similar excepto por un ejemplar (UANL-HERP6333), que presentó 9/10 escamas respectivamente; el carácter OCEL representa el componente tres (39.4%), este carácter es importante debido a que solamente presenta dos estados (continuo o discontinuo hacia el cuello); el

carácter Porc es el que mejor representa al componente cuatro (41.5%); para el componente cinco el número de escamas subcaudales es el carácter que mejor representa a esta función (41.25%) de los datos; para el componente seis el carácter SPO, pequeñas escamas insertadas entre la tercer y cuarta escamas supralabiales, es el carácter que los representa mejor (60.53%); y para el componente siete el carácter V es el carácter que representa mejor a este componente (78.67%).

Cuadro 4. Peso de las variables morfométricas y merísticas que representan la mayor cantidad de información por cada componente.

Componente	Carácter	Valor
1	L_preD	0.2568
2	ILI	0.3796
3	Ocel	0.3940
4	Porc	0.4150
5	Sub	0.4125
6	SPO	0.6053
7	V	0.7867

Como resultado de la clasificación de todos los ejemplares de las tres especies encontramos dos tendencias significativas formadas por los tres grupos sometidos a prueba (las tres especies), el gráfico de dispersión de las funciones uno y dos permitieron la identificación de tendencias entre las muestras analizadas (Fig. 8), el grupo *Rhadinaea montana* presenta un centro de grupo alejado de *R. gaigeae* excepto por los ejemplares MZFC 8528 y UANL-HERP 5623 y *R. quinquelineata*, la mayoría de los ejemplares catalogados como *R. montana* se encuentran agrupados cerca del centro del grupo, sin embargo los ejemplares MZFC 8528 y UANL-HERP 5623, se agruparon con *R. gaigeae* y *R. quinquelineata*; Los centros de grupo de *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* se muestran muy cercanos y con muestras alejadas (i. e. las muestras de *R. quinquelineata*, círculos rojos, mezclados con *R. gaigeae*).

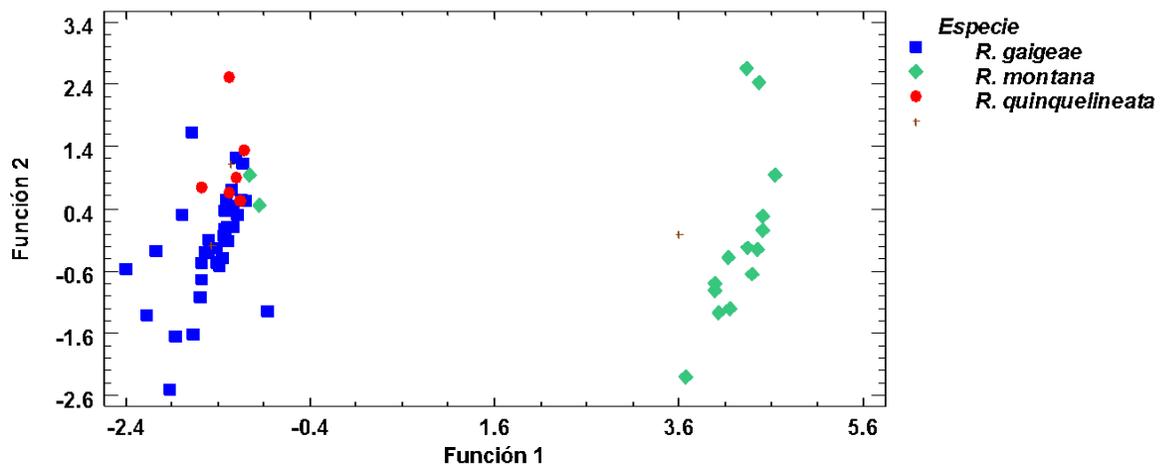


Figura 8. Dispersión de las dos funciones del análisis canónico discriminante de los caracteres morfológicos.

La función uno es la que representa mejor al conjunto de datos (Cuadro 5; 1 -P= 0.0000) y agrupa aproximadamente al 98.51%, el carácter con el valor más alto son los ocelos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Coeficientes de los caracteres en relación con las funciones 1 y 2 del análisis discriminante

	Función 1 Estandarizada	Función 2 Estandarizada
Porc	0.2107	-0.3083
L_preD	0.0817	0.4233
ILI	-0.0242	0.9145
SPO	-0.0438	-0.0281
OCEL	1.003	-0.0676
V	0.1267	0.4318
SLI	0.0145	0.1823

Hemipenes

Se analizaron seis muestras de hemipenes, dos de *R. gaigeae* (MZFC 6228 y MZFC 13866), tres de *R. quinquelineata* (MXC 097, UOGV 175 y UOGV 3266) y dos de *R. montana* (UANL 411, CIG 605), donde se registraron los principales caracteres distintivos del capitulum (parte distal del hemipene), la parte media (medium) y la base del hemipene de ambos lados (Cuadro 7)

Cuadro 7. Caracteres registrados de los hemipenes de seis muestras de los miembros de la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata*.

Especie	Base del hemipene	Número de espínulas en la parte media del hemipene	Capitulum	Número de sulcos
<i>R. quinquelineata</i>	Con espínulas pequeñas	13-17	Con cálices papilados	Uno
<i>R. gaigeae</i>	Con espínulas pequeñas	14-16	Con cálices papilados	Uno
<i>R. montana</i>	Con espínulas pequeñas	19-23	Con cálices papilados	Uno

Los hemipenes en todos los casos son sencillos, unilobulados y monosulcados, el capitulum presenta cálices papilados, la parte media del cuerpo presenta espínulas de mayor tamaño, la base presenta espínulas de menor tamaño (Fig. 9 y 10), la única diferencia fue el número de espínulas presentes en cada una de las muestras, los ejemplares clasificados como *R. montana* fueron los que presentaron un mayor número de espínulas (19-23), arregladas en una hilera de 7-8 espínulas que van de menor a mayor tamaño y tres hileras de 4-5 espínulas (Cuadro 7, Fig.8) mientras que en *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* se presentaron dos hileras transversales de 4 espínulas grandes y dos hileras de 4 espínulas de menor tamaño (Fig. 9).

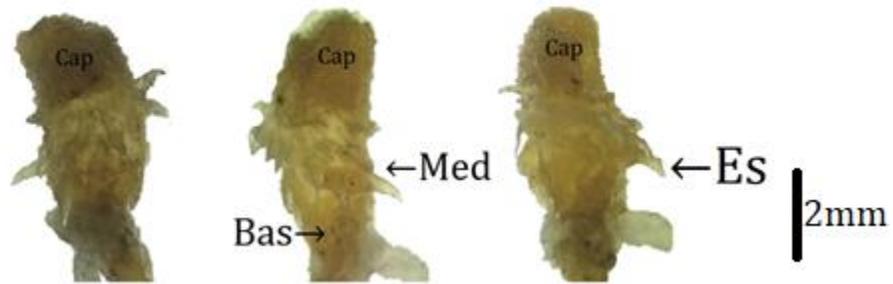


Figura 9. Hemipene de *Rhadinaea montana* (CIG-605). Se indican, Cap= Capitulum; Med= Parte media; Bas=Base del hemipene; Es= espínulas.

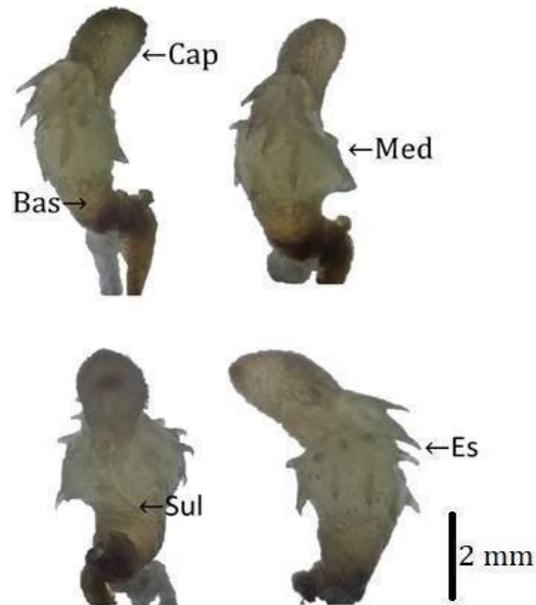


Figura 10. Hemipene de *Rhadinaea gaigeae* (CIB-UAEH SN). Se indican, Cap=Capitulum; Med= Parte media; Bas=Base del hemipene; Sul= Sulco espermático; Es= espínulas.

Análisis filogenético

El producto final del alineamiento fue de 463 pb que corresponden al tRNA^{thr} (Treonina) = 1-39 y un fragmento del gen Cytb = 40-463, para este alineamiento se obtuvieron cuatro particiones (Cuadro 8)

Cuadro 8. Estrategias de partición obtenidas en PartitionFinder para las reconstrucciones filogenéticas de MV e IB (Lanfear *et al.* 2012).

Gen	Análisis	Número de particiones	Esquema de partición	Modelo de sustitución
Cytb	ML	4	TRNAT, Subset 1= 1-39	
			DNA, Subset 2= 40-463	
			DNA, Subset 3= 41-463	
			DNA, Subset 4= 42-463	
Cytb	IB	4	TRNAT=1-39	GTR+I
			Charset partition_2= 40-463	HKY+G
			Charset partition_3= 41-463	GTR+I
			Charsetpartition_ 4= 42-463	HKY+G

Máxima verosimilitud

En el árbol obtenido en el análisis de Máxima Verosimilitud el género *Rhadinaea* es parafilético respecto al género *Rhadinella* (Fig. 11) Los grupos *decorata* y *flavilata* no son monofiléticos. *Rhadinaea hesperia*, representante del grupo de la región del pacífico no se encuentra dentro del grupo formado por las demás

especies del grupo decorata incluidas en este análisis. Los miembros de la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata* se recuperaron como un grupo monofilético, soportado por con un valor de bootstrap= 63%, *Rhadinaea flavilata* está más relacionada con el clado compuesto por las especies de interés en este estudio (Clado A); los miembros de la serie se recuperaron como un clado monofilético con un valor de bootstrap= 63% (*Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata*), así mismo *Rhadinaea laureata* es el grupo hermano del clado A (Fig. 11).

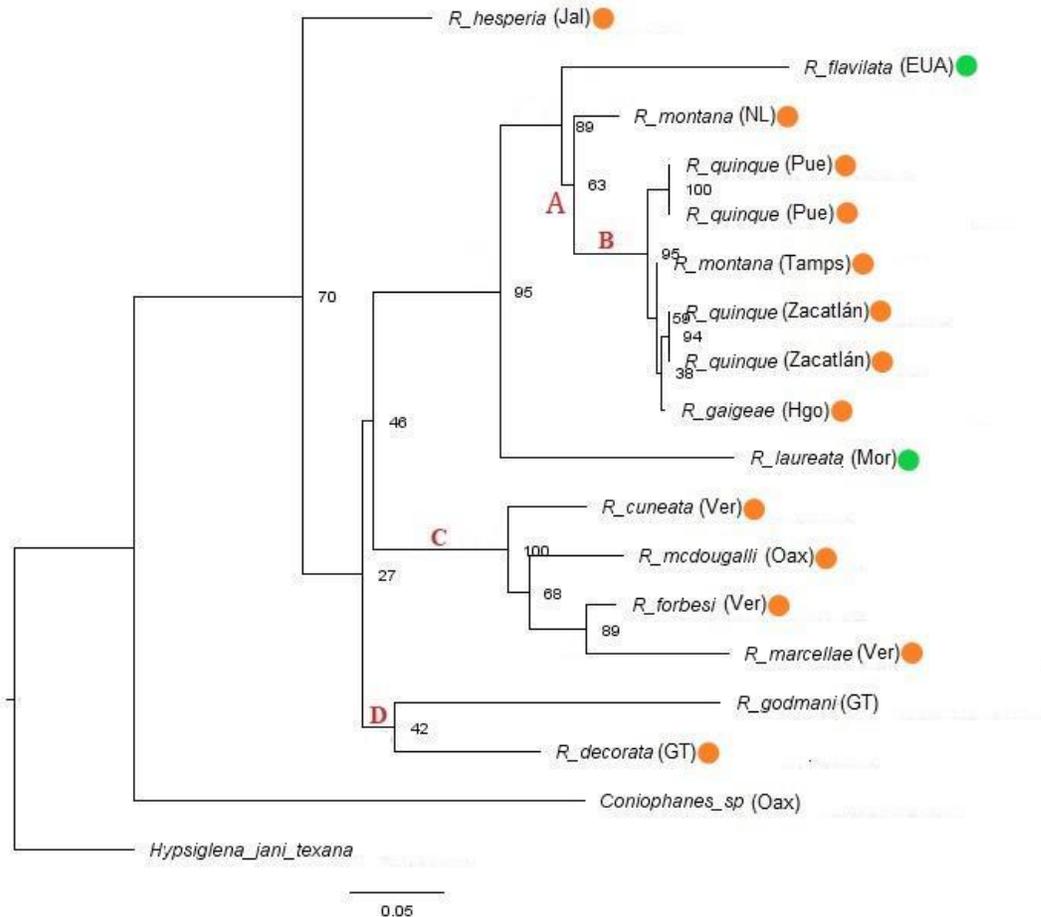


Figura 11. Árbol de máxima verosimilitud obtenido con base en secuencias del gen mitocondrial Cytb. Los números de los nodos indican el valor de Bootstrap de cada clado. Grupo *decorata*, círculos naranja; Grupo *flavilata*, círculos verde.

En la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata* se observan dos clados principales, uno compuesto por la muestra de Nuevo León de *R. montana*, y el segundo compuesto por *R. gaigeae*, *R. quinquelineata*, y el ejemplar de *R. montana* del estado de Tamaulipas (Clado B), este último más relacionado filogenéticamente con los haplotipos de *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* de los estados de Hidalgo y Puebla respectivamente.

Rhadinaea forbesi de Veracruz aparece como grupo hermano del haplotipo de *R. marcellae* de San Luis Potosí, alejado de la serie *R. gaigeae-montana-quinquelineata*. El clado C se encuentra compuesto por las muestras de *R. cuneata* + (*R. mcdougalli* + (*R. forbesi* + *R. marcellae*)). El clado D es el grupo formado por las muestras de *R. decorata* de Guatemala y *Rhadinella godmani*.

Inferencia Bayesiana

El análisis de Inferencia Bayesiana no mostró resolución entre los géneros *Coniophanes*, *Hypsiglena*, *Rhadinella* y *Rhadinaea* (Fig. 12). El clado formado por *Rhadinaea decorata*, *R. hesperia*, *Rhadinella godmani* y el clado A, presenta un valor de soporte alto de PP= 0.93. Sin embargo, las relaciones internas no se encuentran definidas. . De las relaciones filogenéticas recuperadas en el clado A, el grupo *decorata* no es monofilético ya que se encuentran integrados miembros del grupo *flavilata* y existen dos clado principales (B y C); el clado B está

compuesto por los haplotipos del grupo flavilata representados por *Rhadinaea flavilata* y *R. laureata* más los miembros de la serie *R. gaigeae-montana-quinquelineata* (PP= 1); el clado C se encuentra conformado por los haplotipos de *R. cuneata* + (*R. mcdougalli* + (*R. forbesi* + *R. marcellae*)) con un valor de probabilidad posterior PP= 1(Fig. 12).

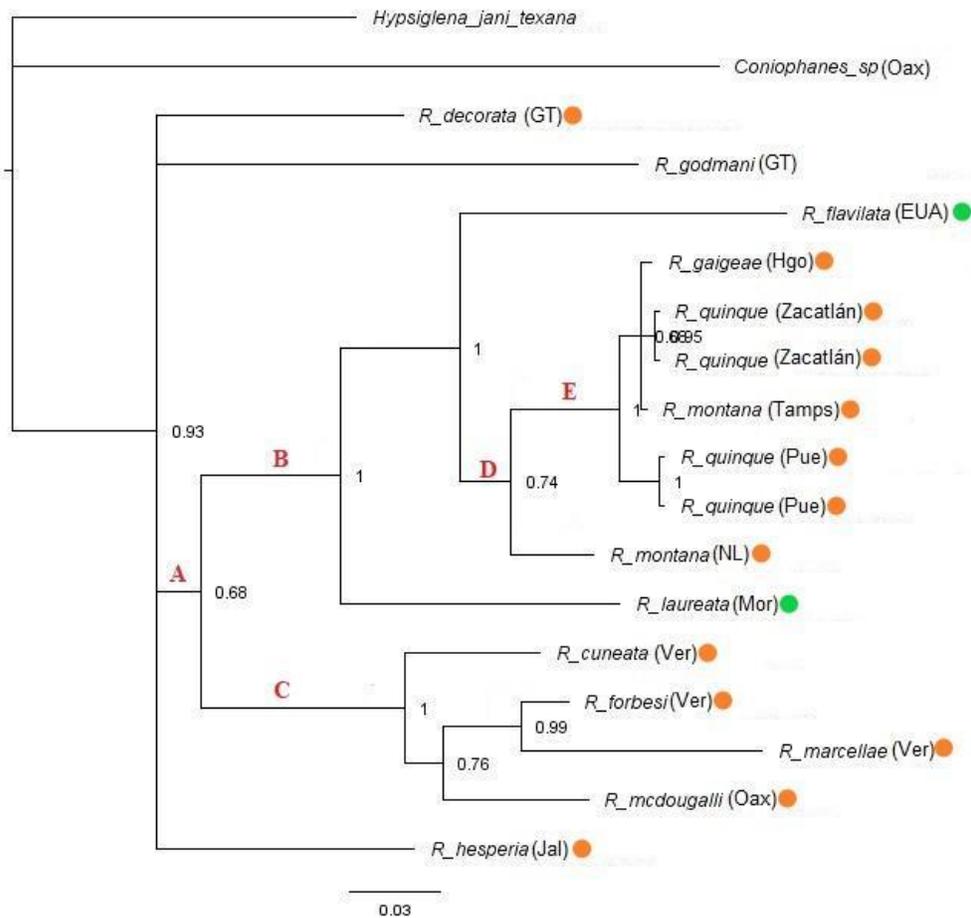


Figura 12. Árbol de Inferencia Bayesiana obtenido con secuencias del gen mitocondrial Cytb. Los números en los nodos indican el valor de probabilidad

posterior de cada clado. Grupo *decorata*, círculos naranja; Grupo *flavilata*, círculos verde.

Los miembros de la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata* forman un grupo monofilético, sin embargo, presenta valores bajos de soporte PP= 0.74 (Clado D). Los haplotipos de *R. montana* de Tamaulipas y de Nuevo León se mantienen una independiente de la otra y la muestra de Tamaulipas se incluye dentro del clado E. El clado formado por los haplotipos de *R. quinquelineata*, *R. gaigeae* + *R. montana* (Tamps) presenta un valor de soporte alto (PP= 1).

Límites de especies

WP

Debido a que en los análisis de MV e IB el grupo de interés mostró la misma topología, se seleccionó el árbol de IB (Fig. 12), ya que en IB, los clados que incluyen la serie *gaigeae-montana-quinquelineata* presentan valores de soporte altos, un aspecto importante en la elección de especies putativas (Wiens y Penkrot, 2002). Se utilizaron como especies focales a *Rhadinaea gaigeae*, *R. montana* y *R. quinquelineata*.

El haplotipo de la especie focal *R. montana* de Nuevo León, es el grupo hermano del resto de los haplotipos de las especies *R. gaigeae* y *R. quinquelineata*, así como del haplotipo de *R. montana* procedente de Tamaulipas, geográficamente esta muestra de *R. montana* se encuentra alejada geográficamente de *R.*

quinquelineata que únicamente se distribuye en la última porción de la SMO.

Debido al bajo soporte (PP= 0.74), se descarta la probabilidad de flujo génico entre *R. montana* y *R. gaigeae*, considerando que son especies simpátricas en la misma porción de la SMO en el estado de Tamaulipas, por lo que de acuerdo al método WP, esta especie es independiente, con respecto a *R. gaigeae*, *R.*

quinquelineata y el haplotipo de *R. montana* de Tamaulipas, por lo que representa una especie única.

Las otras dos especies focales *R. gaigeae*, *R. quinquelineata* y la muestra de *R. montana* de Tamaulipas, no muestran independencia entre sus haplotipos y la hipótesis de relación está bien soportada dentro del cladograma (PP= 1), geográficamente *R. gaigeae* se encuentra ampliamente distribuida dentro de la SMO desde Tamaulipas y Nuevo León hasta el sureste de Hidalgo, en diversos ambientes como BPE, BP y BMM; por su parte *R. quinquelineata* se encuentra únicamente en la porción sur de la SMO en el Norte de Puebla y existe una porción entre el sureste de Hidalgo y el Norte de Puebla en donde existen ejemplares que comparten similitudes morfológicas entre *R. gaigeae* y *R. quinquelineata*; ambas especies, *R. gaigeae* y *R. quinquelineata*, no son mutuamente excluyentes en la reconstrucción filogenética, además de ser simpátricas por lo que pueden representar una especie.

GMYC

Para el análisis de GMYC se incluyeron siete muestras de la serie *R. gaigeae-montana-quinquelineata*. El análisis GMYC con el umbral “single Threshold” y el

umbral “multiplethreshold” (Fig. 13), sugiere la presencia de tres especies con un intervalo de confianza de 1-6 para el método single y un intervalo de confianza de 1-4 para el modelo múltiple; en este análisis la muestra de *R. montana* de Nuevo León se observa como una especie válida; la segunda especie corresponden dos muestras de *R. quinquelineata* del estado de Puebla; la tercer especie sugerida está representada por *R. gaigeae* + *R. quinquelineata* (Hgo, Zacatlán) + *R. montana* (Tamps).

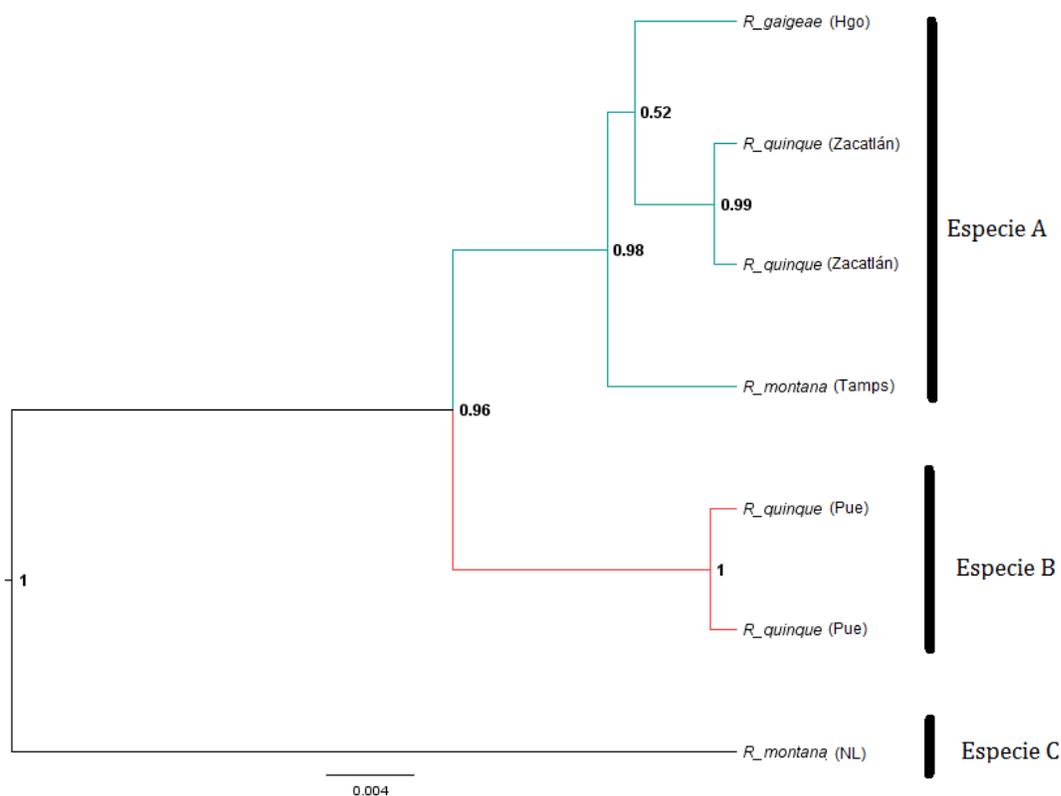


Figura 13. Especies sugeridas por el análisis de GMYC de acuerdo con el modelo “singlethreshold” y “multiplethreshold”.

Discusión

Morfología

El empleo de un solo tipo de caracteres ya sea merísticos, morfométricos o cualitativos, no mostró tendencias significativas dentro de los datos analizados, por lo que cada matriz de datos en este estudio no son representativas por separado para realizar deducciones acertadas sobre qué tipo de caracteres deben emplearse para diagnosticar correctamente a cada una de las especies en cuestión, ante ello es necesario incluir los tres tipos de caracteres en un solo análisis, es decir, tomar el mayor número de caracteres fenotípicos (Rivera-González, 2009), esto puede explicar la incorrecta clasificación de los ejemplares a una especie en particular (*R. gaigeae*, *R. montana*, *R. quinquelineata*), realizada de forma tradicional solo con caracteres cualitativos, tales como la coloración (i. e. Dixon *et al.*, 2011).

El análisis de PCA con los tres tipos de caracteres morfológicos en conjunto, explican la mayor parte de la variación de los datos de los ejemplares revisados, debido a que este análisis relaciona correctamente el 83.75% de los datos con los primeros siete componentes sin limitar el poder explicativo de cada uno de los componentes (Fig. 6), y los distribuye entre los tres tipos de datos de manera casi uniforme. Al realizar el cálculo de la relación de cada carácter morfométrico respecto a la LHC se encontró que el carácter L_preD en *R. montana* es significativamente más grande respecto a las otras dos especies, representa el 0.62-0.73% (n=16, y con un 95% de confianza), mientras que en *R. gaigeae* del

0.64-0.71% (n=34) y *R. quinquelinea* 0.50-0.68% (n=6), Myers (1974), menciona que el empleo de caracteres morfométricos en la caracterización de las diferentes especies de colubridos cercanamente emparentados con *Rhadinaea*, así como en su momento entre los miembros el grupo lateristriga (= *Urotheca*) es poco empleado y que debe ser considerado debido a que representa un potencial importante en la caracterización de especies. Actualmente el empleo de las proporciones de algunas escamas y longitudes de la cabeza han ayudado a distinguir entre grupos morfológicamente similares con amplia distribución como en *Ninia atrata* (Angarita-Sierra, 2009), por lo que no debe descartarse el empleo de éste carácter al describir a las especies del grupo decorata. El número de escamas infralabiales es un carácter que presentó variación en un solo ejemplar de *R. montana* con 9/10, en el resto de muestras de las tres especies presentó un intervalo de 10-11, este carácter es importante para la clasificación de grupos propuesta por Myers (1974), en México el grupo decorata y el grupo taeniata poseen 10 escamas infralabiales en cada lado de la cabeza, los miembros del grupo flavilata presentan 9 y el grupo eduardoi de 8-9 (Myers, 1974; Mata Silva *et al.*, 2019), sin embargo, el número de escamas infralabiales presenta variación dentro de los grupos propuestos y particularmente variación intra específica, por lo que deben ser tratadas como un carácter diagnóstico de poco valor (Myers, 1974). En este mismo sentido la presencia de la escama sub preocular (SPO), en los miembros del grupo decorata está usualmente presente (Myers, 1974; Mata-Silva, 2019), y en este estudio se observó que las tres especies presentan o no, estas escamas en uno o ambos lados de la cabeza, éste es un carácter de valor taxonómico importante, como lo señala Myers (1974), para identificar entre los

grupos que conforman al género *Rhadinaea*, ya que únicamente el grupo taeniata, decorata y eduardoi presentan esta característica (Myers, 1974; Mata-Silva *et al.*, 2019), y no debería ser considerado a la hora de diagnosticar entre las especies.

Los ocelos son un carácter de mayor peso (39.4%), que al presentar solamente dos estados de carácter (continuo o discontinuo) contribuyen en mayor medida a la distinción de dos grupos, este carácter de acuerdo con Myers (1974), ayuda a distinguir entre los miembros del grupo decorata, debido a que solamente *Rhadinaea hesperia* y *R. decorata* presentan este par de ocelos interrumpidos detrás del ojo hasta antes del cuello (Bailey, 1940; Günther, 1858), en el caso de los ejemplares catalogados como *R. montana* del estado de Nuevo León, todos presentaron estos ocelos interrumpidos hacia el cuello, mismo patrón que en el holotipo (FMNH30826) y el paratipo (ANSP 15355), mientras que los ejemplares de Tamaulipas (MZFC 8528) y el de Nuevo León (UANL 5623), catalogados como *R. montana* presentan ocelos continuos junto con todos los ejemplares asignados a *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* (Fig.14), lo que concuerda con lo descrito por Smith (1944) en la descripción de la especie.

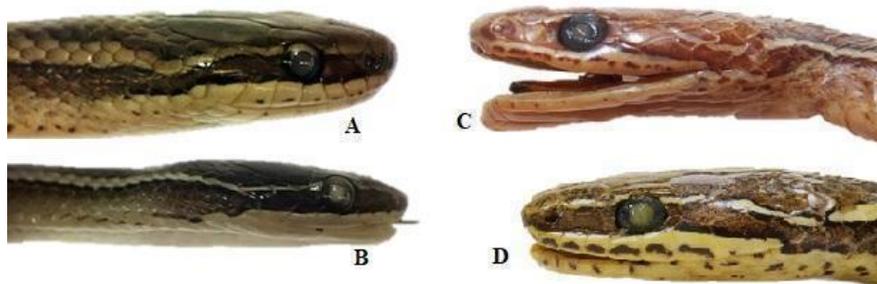


Figura 14. Patrones de coloración de la cabeza; Ocelos continuos en *R. quinquelineata* (UOGV 3266) y *R. gaigeae* (RICB 340); discontinuos en *R. montana* (FMNH 30826, ANSP 15355).

El porcentaje que la cola representa respecto a la LHC es uno de los caracteres que aporta más información, los miembros del grupo *decorata* son quienes representan un intervalo mayor en esta relación (25-48%), de acuerdo con esto se observó que *R. montana* posee una relación LC/LHC (Porc), mayor respecto a las otras dos especies del subgrupo (Porc= 41.6-48.8%, n= 16 y un intervalo de confianza de 95%), y el resto de los miembros del grupo *decorata*, este carácter es seleccionado por Myers (1974) para la formación de los grupos y menciona que las relaciones que se establecen en función de este carácter en colubridos son importantes particularmente en el género *Rhadinaea* proporciona información necesaria para distinguir entre este y otros géneros, debido a que representa más del 30% en relación a la longitud hocico-cloaca; la variación en este estado de carácter está asociado a variación ontogénica o dimorfismo sexual (Myers, 1974), por lo que es importante identificar que *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* al presentar intervalos similares en este carácter (Cuadro 9) puede tratarse de variaciones pueden estar asociadas a alguno de estos factores; en este sentido Myers (1974) establece que existe una relación directamente proporcional entre la longitud de la cola y el número de escamas subcaudales, y de acuerdo con los resultados del presente estudio *R. montana* es la especie que posee un mayor número de escamas subcaudales, dentro del subgrupo y respecto al resto de especies del

género, por lo que es un carácter de gran peso para identificar especies miembros del grupo decorata y de la serie *R. gaigeae-montana-quinquelineata* (Myers, 1974).

Cuadro 9. Intervalos de confianza para el carácter Porc de las tres especies N=56, intervalo de confianza de 95%.

<i>Error Est.</i>					
<i>Especie</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
<i>R. gaigeae</i>	34	41.87	<i>agrupada)</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
<i>R. montana</i>	16	45.22	1.76745	39.3632	44.3767
<i>R.</i>	6	38.81	2.57648	41.5616	48.8699
<i>quinqueline</i>			4.20737	32.8474	44.7818
<i>ata</i>					

Las serpientes del género *Rhadinaea* presentan relaciones en los patrones de escutelación y tamaño corporal asociados a factores como la variación ontogénica (Myers, 1974), *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* poseen una relación respecto al carácter V que no muestran diferencias significativas entre las tres especies, sin embargo Myers (1974), reporta que es identificable que en los machos de esta especie tienden a tener un número menor a diferencia de las hembras; este mismo carácter presenta valores muy similares en los intervalos de confianza en *R. quinquelineata* y *R. gaigeae* (166-173 y 166-169 respectivamente).

Morfología de los hemipenes

Existen pocos trabajos que resaltan la importancia de la morfología de los hemipenes en serpientes (Ascenso *et al.*, 2019), en este estudio en todos los casos los hemipenes presentaron morfología similar a la descrita por Myers (1974), y difieren únicamente en el arreglo y número de espínulas en la sección media del hemipene, *R. montana* es la especie que presenta un mayor número de espínulas, con 19-23 en cada hemipene, mientras que en *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* presentan de 11-17 espínulas, el empleo de este carácter en la diferenciación entre especies del género *Rhadinaea* se ha limitado a la formación de grupos (Myers, 1974), y en otros grupos de colúbridos se ha demostrado que presentan un papel importante en la diferenciación entre especies con amplia variación morfológica como *Ninia* (Angarita-Sierra, 2014).

Variación morfológica y dimorfismo sexual

Entre los patrones morfológicos identificados se encuentra la coloración de los organismos inmaduros, Myers (1974) asegura que no reconoce una correspondencia geográfica entre los patrones de coloración de los organismos identificados como *R. gaigeae*, sin embargo, este mismo autor reporta que los organismos inmaduros de San Luis Potosí (Fig. 15), presentan patrones de coloración más claros que los adultos de la misma región, así mismo refiere que en general los individuos inmaduros presentan costados más claros que eventualmente se van volviendo más oscuros conforme van creciendo (Fig. 15). La variación en los patrones de coloración asociados a la ontogenia, ha sido

reportado en otras ocasiones para grupos con amplia distribución, tales como *Oxyrhopus* (Lynch, 2009), *Chironius* (Cacciali y Cabral, 2015), *Clelia clelia* (Arquilla y Lehtinen, 2017) y *Spilotes sulphureus* (Valencia y Garzón-Tello, 2018), estos cambios de coloración han sido asociados a condiciones ambientales o estrategias de supervivencia en los organismos jóvenes (Valencia y Garzón-Tello, 2018).

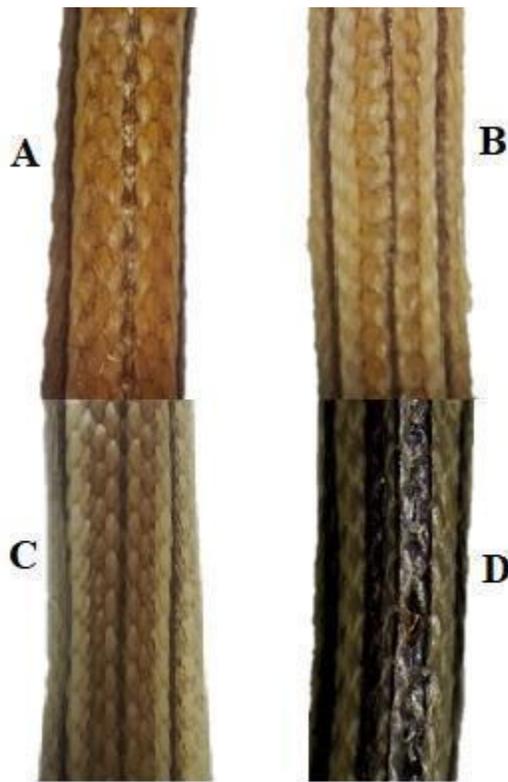


Figura 15. Patrones de coloración de organismos inmaduros de *R. gaigeae*; **A**, Noreste de Querétaro (MZFC 8434); **B**, Suroeste de Querétaro (MZFC 8433); **C**, San Luis potosí (RICB 340); *R. quinquelineata* **D**, Puebla (MFO 832).

La variación morfológica relacionada con el tamaño corporal de los organismos puede estar relacionada con la distribución altitudinal que estos presentan

(Bergman, 1847; Zamora-Camacho *et al.*, 2014), ya que en regiones más frías los organismos de *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* son de mayor tamaño corporal, principalmente las de BPE.

El dimorfismo sexual en serpientes generalmente no es tan marcado, y en el género *Rhadinaea* se había reportado únicamente por la presencia de escamas quilladas en la región de la cloaca (Myers, 1974). Sin embargo, en este trabajo se encontró un dimorfismo en los patrones de coloración entre machos y hembras de *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* (Fig. 16).

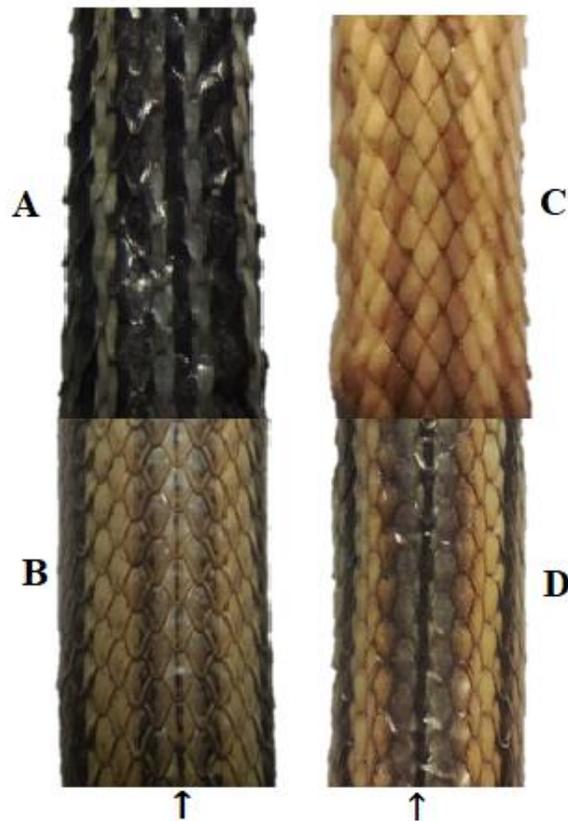


Figura 16. Patrones de coloración entre machos y hembras **A** (Hembra) 8528 Tamaulipas; **B** (Hembra) *R. quinquelineata* SN, Hueyapan, Puebla; **C** (Macho) MXC 97, Zacatlán, Puebla; **D** (Macho) MZFC13866, Ixmiquilpan, Hidalgo. La flecha indica la posición de la línea oscura vertebral.

Los machos presentan colores más claros y generalmente las líneas oscuras entre la séptima y octava hilera de escamas, estas líneas generalmente no son nítidas (Fig. 16, C y D), la línea media vertebral es más delgada y menos nítida, solamente en los ejemplares de Puebla esta línea es casi imperceptible en los machos (Fig. 16, C y D).

Los machos procedentes de zonas que cuentan con vegetación de Pino (Fig. 17 A y C), presentan colores marrón más claros similares a los de los organismos más jóvenes mientras que los de Bosques de Encino presentaron colores oliváceos a grises (Fig.17 B), en todos los casos la línea media vertebral y la línea lateral son nítidas, este fenómeno ha sido asociado en otras serpientes a necesidades de termorregulación, éxito reproductivo, protección contra depredadores (Jablonski *et al.*, 2017).



Figura 17. Diferentes coloraciones presentes entre machos de *Rhadinaea quinquelineata*. **A** UOGV3266, Zacatlán, Puebla; **B** UAEH SN, Pisaflores Hidalgo; **C** UOGV 175, Zacatlán, Puebla.

Con base en las características anteriores y el peso de cada variable dentro de los análisis de PCA y AD, se distinguen únicamente dos morfoespecies, *Rhadinaea montana* y *R. quinquelineata* (Cuadro 10).

Cuadro 10. Caracteres morfológicos de las especies que componen la serie

Especie	Porc	Ventrales	Sub	Subpreoc	Ocelos	OPV	Epínulas
<i>R. gaigeae</i>	39.36- 44.37	150-180	58- 111	Usualmente una	Continuos	6-8 hilera	14-17

<i>R. quinquelineata</i>	32.84- 44.78	166-179	57- 96	Usualmente una	Continuos	6-8 hilera	13-17
<i>R. montana</i>	41.56- 48.86	159-179	88- 113	Usualmente una	Continuos	6-8 hilera	18-23

Análisis filogenéticos

La reconstrucción filogenética de los análisis de MV e IB, recuperaron la monofilia de los miembros de la serie. Sin embargo, las relaciones filogenéticas del resto de los miembros del grupo *decorata* no se recuperaron, especialmente en el caso del análisis de IB, estas relaciones han sido retomadas en otras investigaciones con especies del grupo *Rhadinaea decorata*, y particularmente en el caso de *R. forbesi* se ha encontrado que junto con el clado que representa (Clado C, Figs. 11 y 12), requieren de un análisis más complejo (Sánchez, 2018), y con esto se excluye definitivamente del resto de la serie de interés.

Límites de especies

De acuerdo con el método WP, se pueden reconocer dos especies dentro de la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata*, el clado B (Fig. 11) conforma una sola especie, este clado lo conforman las muestras de Hidalgo, Puebla y Tamaulipas. No se obtuvo una hipótesis cuyo valor de soporte de acuerdo a los propuestos para inferencia Bayesiana (>0.90), proporcionarían información suficiente para proponer la independencia de las muestras de Zacatlán y Hueyapan, Puebla, del resto de las muestras del clado B. *Rhadinaea montana* de

Tamaulipas (FMQ3246), originalmente había sido asignada por García-Vázquez (2012) como *R. montana* y fue asignada convencionalmente así durante este estudio; sin embargo, después de la revisión morfológica, este ejemplar corresponde a *R. gaigeae*, por lo que reafirma la independencia de *R. montana* de Nuevo León (Fig. 11). El análisis de límite de especies con GMYC, sobreestima el número de especies bajo los dos umbrales, debido a que bajo el umbral single sugiere de 1-6 especies, mientras que en el caso del umbral múltiple propone de 1-4 especies probables, en ambas hipótesis se recupera la independencia de la muestra de *R. montana* del estado de Nuevo León (CIG 605). La segunda especie que se recupera en ambas hipótesis es la conformada por las muestras de *R. quinquelineata* de Puebla, las muestras de *R. gaigeae* de Hidalgo y *R. montana* de Tamaulipas, una tercer especie es *R. quinquelineata* de Puebla (MXC SN, R_quinque_Hueyapan), ambas muestras proceden de regiones cercanas en el municipio de Zacatlán y Hueyapan, al norte del estado, morfológicamente estas dos muestras no presentan diferencias significativas respecto al complejo formado por el resto de muestras analizadas durante los análisis de PCA y AD, en el caso de la muestra de *R. quinquelineata* de Zacatlán (MXC 097), la única diferencia significativa es la ausencia de la línea oscura vertebral, este mismo proceso se presentó en otro ejemplar colectado en la misma zona que presentaba una línea oscura vertebral que desapareció días posteriores a su fijación en formol, considerando que no existe un método de fijación adecuado que impida la decoloración de los ejemplares, producto del contacto con sustancias como formol o alcohol, se presenta la pérdida de caracteres importantes, lo que hace probable

que ésta línea haya desaparecido después de que los ejemplares hayan sido sacrificados y fijados en formol (Köhler, 2012; Shu, 2017) (Fig. 18).

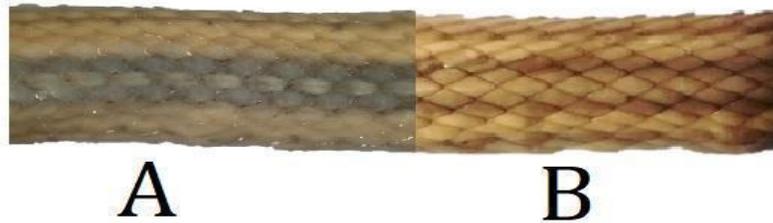


Figura 18. Patrón de coloración a mitad de cuerpo en los ejemplares catalogados como *R. quinquelineata* procedentes de Zacatlán, Puebla; **A**, UOGV175 (macho); **B**, MXC 097(macho).

Consideraciones taxonómicas

Myers reporta dos ejemplares catalogados como *R. quinquelineata* del estado de Oaxaca (MNHN 1904.506-7), posterior a la revisión morfológica sobre los patrones de coloración y el número de escamas, se encontró que si bien pertenecen al grupo *decorata*, se descarta la posibilidad de que pertenezcan a *R. quinquelineata* debido a que existe un amplio espacio geográfico disyunto entre esta población y la más sureña registrada en la SMO, en el norte de Puebla, esta distribución se ve interrumpida principalmente por la Faja Volcánica Trans-mexicana, cordillera que de acuerdo con estudios como el de Daza *et al.* (2009), ha influido al interrumpir el flujo génico entre poblaciones de serpientes distribuidas desde el atlántico hasta el pacífico dando lugar a nuevos taxones de serpientes.

Estos ejemplares presentan en parte el patrón de líneas laterales de *R. myersi*, en la tercera hilera de escamas, esta línea es interrumpida en la parte posterior de cada escama y posee una línea media vertebral discontinua, sin embargo, presenta dos áreas claras paravertebrales delimitadas por un par de líneas oscuras que ocupan la mitad de la séptima y octava hileras de escamas, ausentes en *R. myersi* (Fig. 19). Geográficamente se encuentra restringida de las poblaciones más cercanas de *R. myersi* (Fig. 20), por lo que no representan ejemplares de *Rhadinaea myersi* o *R. quinquelineata* y requieren de una revisión más detallada.



Figura 19. Patrones de coloración de los ejemplares de *Rhadinaea*, MNHN 1904.507, de Oaxaca.

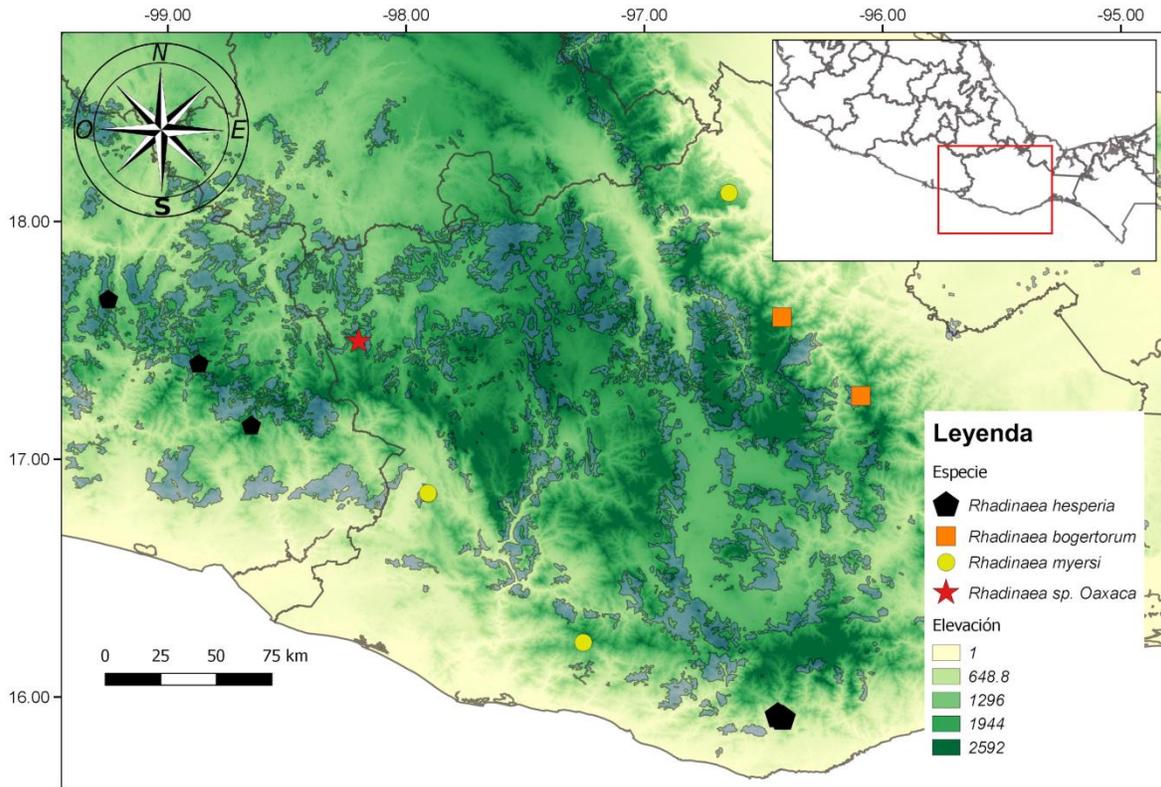


Figura 20. Distribución de los ejemplares MNHN 1904.506-507, respecto a las especies *Rhadinaea hesperia*, *R. myersi* y *R. bogertorum*, del grupo *decorata*.

Taxonomía

De acuerdo con los resultados de morfología, en relación con el tamaño, número de escamas y coloración existen varios patrones identificados en *R. gaigeae* y *R. quinquelineata* que son importantes de reconocer, debido a que este tipo de patrones no identificados anteriormente entre las poblaciones suponían la existencia de varias especies dentro del género *Rhadinaea* que actualmente son sinonimias, tales como las incluidas en *R. hesperia* y en grupos cercanos como *Rhadinella* (Myers, 1974).

Considerando que *Rhadinaea montana* se identificó como una identidad morfológica y filogenética exclusiva en todas las pruebas, se propone la independencia de esta especie y se comprueba su validez taxonómica; las características morfológicas de *Rhadinaea gaigeae* y *R. quinquelineata* son iguales, virtualmente presentan distribuciones simpátricas, filogenéticamente las tres especies representan un grupo parafilético y la prueba de límite de especie de WP las sugieren como una sola especie, se propone que *R. gaigeae* (Bailey, 1937) sea considerada como sinónimo menor de *R. quinquelineata* (Cope, 1866).

A continuación, se presenta la descripción de las especies propuestas del presente trabajo.

***Rhadinaea montana* Smith, 1944**

Holotipo: FMNH 30826, una hembra adulta en buenas condiciones procedente de Ojo de Agua, cerca de Galeana, Nuevo León, México, colectado el 11 de agosto de 1938 por Harry Hoogstral y colaboradores.

Diagnosis

Rhadinaea montana, representa una de las dos especies del grupo *decorata* con distribución más norteña, puede distinguirse del resto de los miembros del grupo *decorata* excepto de *R. quinquelineata* por poseer un par áreas claras a cada lado de la línea vertebral oscura, esta banda oscura ocupa desde la mitad de la sexta y hasta la mitad de la octava hilera de escamas; se distingue de *R. quinquelineata* porque esta banda siempre presenta bordes nítidos y más oscuros que el centro de la misma. Presenta dos manchas claras desde la punta del hocico, continúan

por arriba del ojo y posterior a él y son interrumpidas hacia el cuello, poseer un mayor número de escamas subcaudales (88-113 escamas) a diferencia de *R. quinquelineata* (Myers, 1974; Linner, 1996) (Fig. 21).

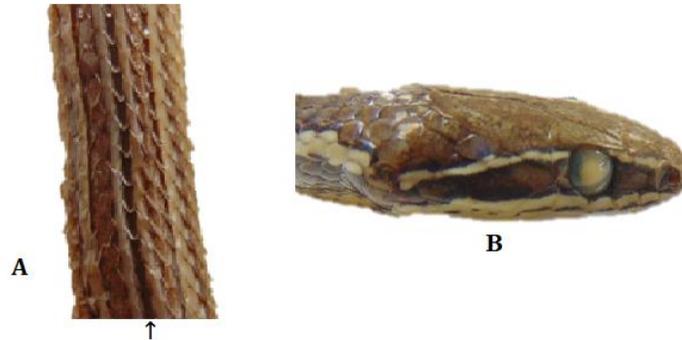


Figura 21. Patrones de coloración en *R. montana* (UANL-HERP5842); **A**, patrón de coloración a mitad de cuerpo; **B**, patrón de coloración de la cabeza.

Distribución. - *Rhadinaea montana* se encuentra distribuida en el estado de Nuevo León y Tamaulipas en las serranías que comprenden la última porción de la provincia fisiográfica de la Gran Sierra Plegada en dónde predominan los bosques de pino, pino encino y matorrales submontanos (Ruiz-Jiménez *et al.*, 2004). *R. montana* es endémica a la porción septentrional de la SMO limitada al sur por el cauce del Río Panuco (Espinosa-Organista, *et al.* 2004) (Fig. 22).

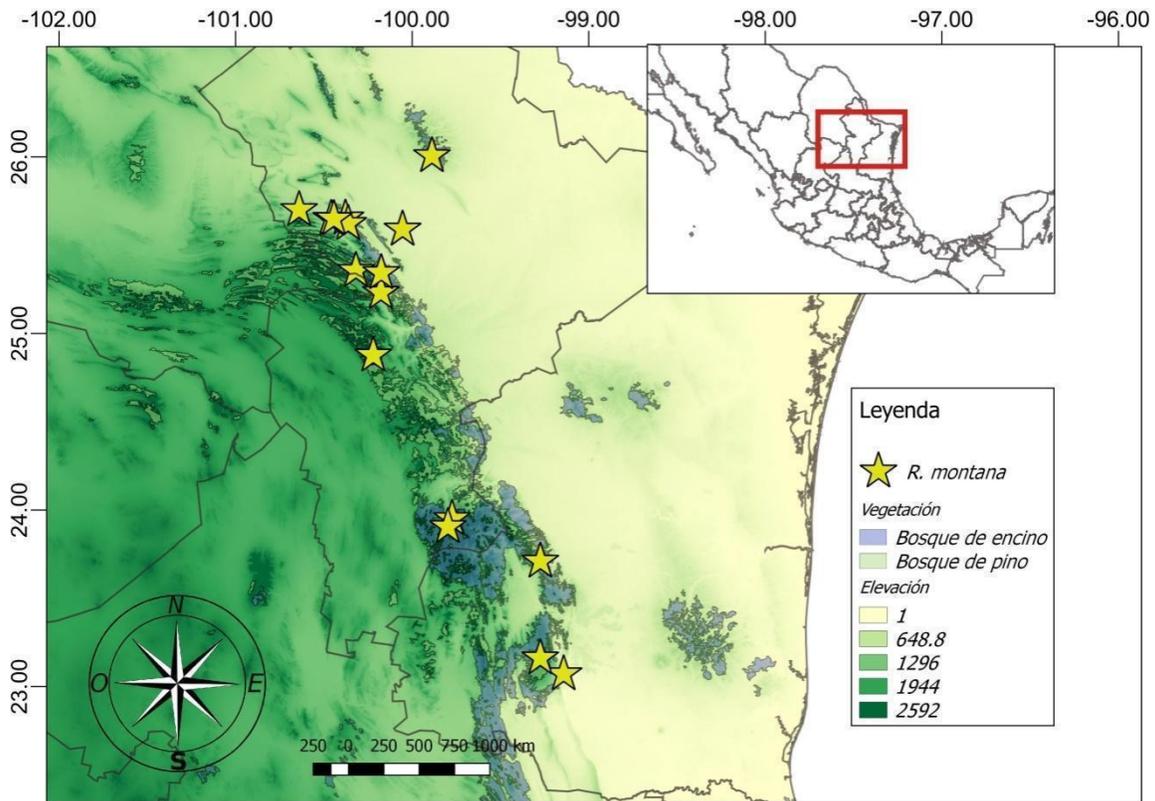


Figura 22. Distribución geográfica de *Rhadinaea montana*.

Descripción. - Son serpientes pequeñas de hasta 309 mm, la longitud de la cola respecto al resto del cuerpo representa el 41.6-48.8%, posee de 159-179 escamas ventrales. Puede o no presentar una escama pequeña subpreocular insertada entre la tercer y cuarta escamas supralabiales. Posee de 9-11 escamas infralabiales, posee de 8-9 escamas supralabiales. Los machos presentan hemipenes simples, unilobulados, monosulcado, el capitulum con cálices papilados, en la parte media poseen más de 18-23 espínulas grandes arregladas en cuatro hileras, la base presenta pequeñas espínulas (Fig.9).

Coloración. - Presenta una línea media vertebral justo por la mitad de la novena hilera de escamas, posee un par de áreas claras paravertebrales delimitadas por

un par de bandas oscuras entre la séptima y octava hilera de escamas, las líneas son contrastantes en todos los casos.

***R. quinquelineata* Cope, 1886**

Diadophis decoratus Garman, 1883

Liophis decorata Barbour y Amaral, 1924

Rhadinaea gaigeae Bayley, 1937 (Nuevo sinónimo)

Rhadinaea crassa Smith, 1942

Lectotipo: USNM 31350, Una hembra (aparentemente adulta) de [Teziutlán], Puebla, México, colectada por Santiago Bernard. Lectotipo designado por Bailey (1940, p. 11).

Diagnosis

Es diferente de otras especies de *Rhadinaea* (excepto de *R. montana*) por poseer una línea oscura vertebral bordeada por un área clara a cada lado de la línea oscura vertebral. Las áreas claras paravertebrales se encuentran delimitadas por una banda oscura con bordes nítidos que ocupa principalmente la séptima hilera de escamas y puede ocupar parte de la sexta hasta y octava hilera de escamas, difiere de *R. montana* por la ausencia de un par de ocelos posteriores a los ojos.

Distribución. - *R. quinquelineata* se encuentra distribuida en los Bosques de Pino-Encino, Bosques Mesófilos de Montaña y Bosques de Pino y en la Selva Mediana Superennifolia, desde los 200 msnm hasta los 2683 msnm, en las porciones de la

SMO que comprende a los estados de Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo y Puebla (Myers, 1974; McCoid y Dixon, 1981; Canseco-Márquez *et al.*, 2004; Dixon *et al.*, 2011) (Fig. 23).

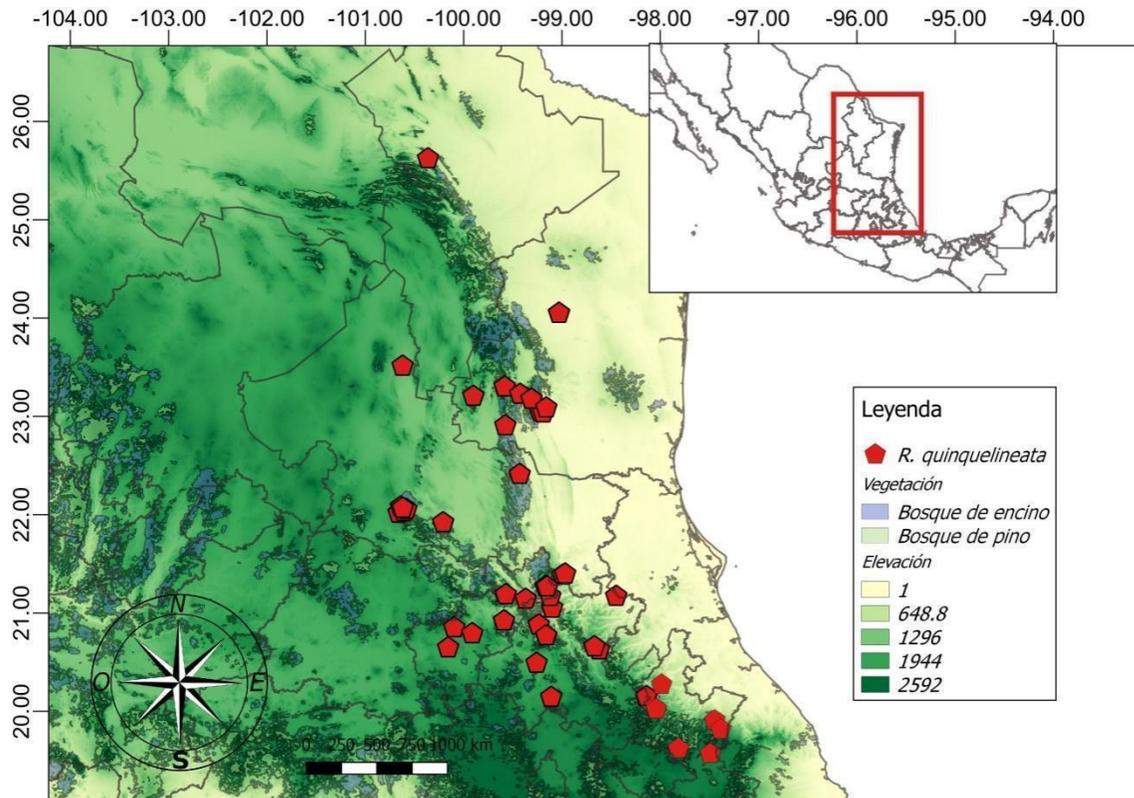


Figura 23. Distribución geográfica de *R. quinquelineata*.

Descripción

Son serpientes pequeñas de hasta 420 mm de longitud, la longitud de la cola respecto al resto del cuerpo representa del 29-55%, posee de 150-180 escamas ventrales. Posee de 10-11 escamas infralabiales, siempre con 8 supralabiales. Los machos presentan un hemipene simple, unilobulado, monosulcado, que se bifurca en el segundo tercio del capitulum del hemipene, el capitulum con calices

papilados, las papilas son pequeñas, en la parte media poseen de 13-17 espínulas de mayor tamaño arregladas en cuatro hileras, la base del hemipene presenta numerosas espinas pequeñas.

Coloración. - presenta una línea media vertebral oscura justo por la mitad de la novena hilera de escamas, un par de áreas claras bordeando la línea media vertebral limitadas por un par de bandas oscuras sin bordes nítidos que ocupan principalmente la séptima hilera de escamas y parte de las hileras adyacentes. Los organismos inmaduros presentan el mismo patrón de coloración las cinco bandas oscuras son evidentes, aunque con coloraciones más claras

Conclusiones

Los miembros de la serie *Rhadinaea gaigeae-montana-quinquelineata* se recuperan como un grupo monofilético, y se presenta independiente del resto de los miembros del grupo *decorata*.

En el presente trabajo las muestras de las especies *Rhadinaea gaigeae* y *R. quinquelineata* no se mostraron como especies diferentes y de acuerdo con los criterios morfológicos y de límites de especies representan una sola especie, por lo que se plantea la sinonimia entre *R. gaigeae* y *R. quinquelineata*, y se propone el nombre de ésta última como nombre válido.

La variación ontogénica en algunos caracteres diagnósticos es un factor que juega un papel importante en la determinación de las especies, por lo que debería ser considerado inherentemente a la hora de describir una nueva especie y en

aquellas especies con amplia distribución geográfica, como en este caso donde *R. quinquelineata* presenta una amplia variación morfológica a lo largo de su distribución.

Se reporta por primera vez dimorfismo sexual en *R. quinquelineata* con relación al tamaño corporal, la proporción de la cola respecto a la longitud hocico cloaca y el número de escamas subcaudales.

Las reconstrucciones filogenéticas en grupos morfológicamente muy similares como el del presente estudio, representa un papel importante en la distinción de especies, debido a que incluyen información de tipo molecular de herencia materna con tasas de evolución rápidas (mtDNA), en la línea de tiempo evolutivo que ayudan a dilucidar los cambios que se dan de poblaciones a especies.

Los ejemplares de Oaxaca son diferentes a los taxones descritos para *Rhadinaea* por lo que deben ser analizados a profundidad e incluir más muestras de la misma región para establecer la situación taxonómica de los mismos respecto al género.

Rhadinaea montana representa una especie independiente de *R. quinquelineata* y el resto de las muestras del grupo *decorata* incluidas en este trabajo; esta especie es endémica a la porción norte de la SMO y representa junto con *R. quinquelineata* la especie con distribución más norteña dentro del grupo *decorata*.

Literatura citada

Angarita-Sierra, T. G. 2009. Variación geográfica de *Ninia atrata* en Colombia (Colubridae: Dipsadinae). Papéis Avulsos de Zoologia, Museu de Zoologia da Universidade de Sao Paulo 49 (22): 277-288

Angarita-Sierra, T. 2014. Hemipenial morphology in the semifossorial snakes of the genus *Ninia* and a new species from Trinidad, West Indies (Serpentes: Dipsadidae). South American Journal of Herpetology 9: 114-130

Arquilla, A. M. y R. M. Lehtinen. 2018. Geographic variation in head band shape in juveniles of *Clelia clelia* (Colubridae). Mesoamerican Herpetology 5: 112-120

Ascenso, A. C., J. L. Costa y A. L. C. Prudente. 2019. Taxonomic revision of the *Erythrolamprus regina* species group, with description of a new species from Guiana Shield (Serpentes: Xenodontinae). Zootaxa 4586 (1): 65-97

Bayley, J. R. 1937. A new species of *Rhadinaea* from San Luis Potosi. Copeia 1937(2):118-119

Bayley, J. R. 1940. The Mexican snakes of the genus *Rhadinaea*. Occasional Papers of the Museum of Zoology University of Michigan 412:1-19

Berger, S. A., A. Stamatakis y R. Lücking. 2011. Morphology-based phylogenetic binning of the lichen genera *Graphis* and *Allographa* (Ascomycota: Graphidaceae) using molecular site weight calibration. Taxon 60(5): 1450-1457

Bergman, C. 1847. Ueber die Verhältnisse der warmeconomie des thieres zu ihrer grosse. Gottinger Studien 3: 595-708.

Bouckaert, R., J. Heled, D. Kühnert, T. Vaughan, C. Wu, D. Xie, M. A. Suchard, A. Rambaut y A. J. Drummond. 2014. BEAST 2: A software Platform for Bayesian evolutionary analisis. PLos. Computational Biology 10(4): 1-6

Cacciali, P. y H. Cabral. 2015. The genus *Chironius* (Serpentes, colubridae) in Paraguay: composition, distribution, and morphology. Basic and Aplied Herpetology 29: 51-60

Cain, A. J. 1954. Animal species and their evolution. Hutchinson's University Library. Londres.

Canseco-Márquez, L., F. Mendoza-Quijano y M. G. Gutiérrez-Mayén. 2004. Análisis de la distribución de la herpetofauna. pp. 417-438. En: Biodiversidad de la sierra Madre Oriental, I. Luna-Vega, J. J. Morrone y D. Esparza (eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Cope, E. D. 1863. Descriptions of new American Squamata, in the Museum of the Smithsonian Institution, Wasingthon. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia 15, 100-106.

Cope, E. D. 1885 (1886b). Thirteenth contributions to the herpetology of tropical America. Proceedings of the American Philosophical Society 23(122): 271-287

Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis en R. F. Johnston (ed.), Current Ornithology. Plenum Press 159-187

Daza, J. M., E. N. Smith, V. P. Páez y C. L. Parkinson. 2009. Complex evolution in the Neotropics: The origin and diversification of the widespread genus *Leptodeira* (Serpentes: Colubridae). Molecular Phylogenetics and Evolution 53: 653-667

De Jesús-Bonilla, V. S., L. Barrientos-Lozano y A. Zaldívar-Riverón. 2017. Sequenced-based species delineation and molecular phylogenetics of the transitional Nearctic-Neotropical grass hopper genus *Taeniopoda* (Orthoptera, Romaleidae). Systematics and Biodiversity 15(6): 600-617

Devitt, T. J., Travis J. LaDuc y J. A. McGuire. 2008. The *Trimorphodon biscutatus* (Squamata: Colubridae) species complex revisited: a multivariate statistical analysis of geographic variation. Copeia. 2008(2):370-387

Domínguez–Domínguez, O. y E. Vázquez–Domínguez. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. Animal biodiversity and conservation 32(1): 59–70.

Dixon, J. R. y J. A. Lemos-Espinal. 2010. Anfibios y reptiles del estado de Querétaro, México. Texas A & M University. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Dixon, J. R., D. Lazcano, J. Banda-Leal y J. A. Chávez-Cisneros. 2011. The status of *Rhadinaea montana*, *R. gaigeae*, and *R. quinquelineata* of the Sierra Madre

Oriental of Eastern Mexico. Bulletin of the Chicago Herpetological Society 46(6): 69-73

España-Luna, M. P., A. González-Hernández, O. G. Alvarado-Gómez y J. Lozano-Gutiérrez. 2008. Identificación molecular de especies crípticas de *Trichogramma westwood* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) de importancia agrícola en México. Acta Zoológica Mexicana 24(1): 1-14

Flores-Villela O. y U. O. García-Vázquez. 2014. Biodiversidad de reptiles en México. Revista mexicana de biodiversidad 85(1): 467-475.

Fraga R., S. 2014. Caracterización taxonómica y ecología de especies crípticas o pseudocrípticas de dinoflagelados nocivos, (Tesis doctorado). Universidade de Vigo. España

Fujita, M. K., A. D. Leaché, F. T. Burbrink, J. A. McGuire y C. Moritz. 2012. Coalescent-based species delimitation in a integrative taxonomy. Trends in ecology and evolution 27(9): 480-488

García-Vázquez, U. O., L. Canseco-Márquez, G. Gutiérrez-Mayen y M. Trujano-Ortega. 2009. Actualización del conocimiento de la fauna herpetológica en el estado de Puebla. Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana 17(1): 12-36

García-Vázquez, U. O. 2012. Geographic distribution: *Rhadinaea montana*. Herpetological review 43(2): 309

García-Vázquez, U. O., C. J. Pavón-Vázquez, J. C. Blancas-Hernández, E. Blancas-Calva y E. Centenero-Alcalá. 2018. A new rar especies of the Rhadinaea

decorata group from the Sierra Madre del Sur of Guerrero, México (Squamata, Colubridae). ZooKeys 780: 137-154

Goyenechea, I. 2007. Sistemática: su historia, sus métodos y sus aplicaciones en las serpientes del género *Conopsis*, CIENCIA ergo sum 14(1):54-62

Günther, A. 1858. Catalogue of Colubrine snakes of the British Museum. London, I-XVI, 1-281

Hey, J. y A. C. Machado. 2003. The study of structured populations-new hope for a difficult and divided science. Nature Reviews Genetics 4(7): 535-543

Hillis, D. M. y J. J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. SystematicBiology 42(2): 182-192

Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. 1996. Molecular systematics, second edition, Sinauer Associates, Sunderland, Mass.

Hoyos, M. A., Otero, R., Saldarriaga, M., y Jaramillo, N. 2013. Divergencia morfométrica entre *Bothrops atrox* y *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae). Actualidades Biológicas, 25(79), 157-165

Jablonski, D., M. Szabolcs, A. Simovic y E. Mizsei. 2017. Color and pattern variation of the Balkan whip snake, *Hierophis gemonensis* (Laurenti, 1768). Turkish Journal of Zoology 41: 363-369

James, F. C. y C. E. McCulloch. 1990. Multivariate Analysis in ecology and systematics: panacea or Pandora's box?. Annual review of ecology and systematics 21(1):129-166

Johnson, J. D., L. D. Wilson, V. Mata-Silva, E. García-Padilla y D. L. De Santis. 2017. The endemic herpetofauna of Mexico: organisms of global significance in severe peril. *Mesoamerican Herpetology* 4(3): 544-620

King, R. B. 1997. Variation in brown snake (*Storeria dekayi*) morphology and scalation: sex, family, and microgeographic differences. *Journal of Herpetology* 31(3): 335-346

Köhler G. 2012. Color catalogue for field biologists. Offenbach: Herpeton. Germany pp 49

Lanfear R., B. Calcott, S.Y.W. Ho., y S. Guignon. 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution* 29(6):1695-1701

Lemos-Espinal, J. A. y J. R. Dixon. 2013. Amphibians and Reptiles of San Luis Potosí. Eagle Mountain Publishing

Linnaeus, C. 1758. *Systema Nature per Regna Tria Naturae, Secundum Classes, Ordines, Genera cun Characteribus, Differentis, Synonymis, Locis.* Editio Decima, Reformata. Holmiae Impensis. Direct, Laurentii Salvii

Lis, J. T. 1980. Fractionation of DNA fragments by polyethylene glycol induced precipitation. *Methods in Enzymology* 65: 347-353

Lowson, R., J. B. Slowinski, B. I. Crother y F. T. Burbrink. 2005. Phylogeny of the Colubroidea (Serpentes): new evidence from mitochondrial and nuclear genes. *Molecular phylogenetics and evolution* 37(2):581-601

Lynch, J. D. 2009. Snakes of the genus *Oxyrhopus* (Colubridae: Squamata) in Colombia: taxonomy and geographic variation. *Papéis Avulsos Zologia, Museu de Zoologia da Universidade de Sao Paulo* 49 (25): 319-337

Mata-Silva, V., J. D. Johnson, L. D. Wilson y E. García-Padilla. 2015. The herpetofauna of Oaxaca, México: composition, physiographic distribution, and conservation status. *Mesoamerican Herpetology* 2(1):6-62

Mata-Silva, V., A. Rocha, A. Ramírez-Bautista, C. Beriozabal-Islas y L. D. Wilson. 2019. A new species of forest snake of the genus *Rhadinaea* from Tropical Montane Rainforest in the Sierra Madre del Sur of Oaxaca, México (Squamata, Dipsadidae). *Zookeys* 813:55-65

McCoid, M J. y J. R. Dixon. 1981. Notes on Mexican *Rhadinaea* (Serpentes: Colubridae). *The Soutwestern Naturalist* 26(4): 436-437

Medina-Romero, M., Castillo-Cerón, J. e I. Goyenechea. 2016. Riqueza herpetofaunística y potencial en la provincia biogeográfica de la Sierra Madre Oriental. Pp 303-328. En *Ecología y conservación de anfibios y reptiles de México*. Gutiérrez-Mayén, M. G., Ramírez-Bautista, A. y E. Pineda-Arredondo (Eds.). Sociedad Herpetológica Mexicana. México.

Miyamoto, M. M. y W. M. Fitch. 1995. Testing species phylogenies and phylogenetic methods with congruence. *Systematic Biology* 44(1): 64-76

Myers, C. W. 1974. The systematics of *Rhadinaea* (Colubridae), a genus of New Worldsnakes. *Bulletin American Museum of Natural History*. 153(1): 1-262

Myers, C. W. 2011. A New Genus and New Tribe for *Enicognatus melanauchen* Jan, 1863, a neglected South American snake (Colubridae: Xenodontinae) with taxonomic notes on some Dipsadinae. American Museum Novitates 3715:1-33

Myers, C. W. y J. E. Cadle. 1994. A new genus for South American snakes related to *Rhadinaeae obtusa* Cope (Colubridae) and resurrection of *Taenophallus* Cope for *Rhadinaeae brevirostris* group. American Museum novitates 3102: 1-33.

Myers C. W. y J. E. Cadle. 2003. On the snake hemipenis, with notes of *Psomophis* and techniques of eversion: a response to Dowling. Herpetological Review 34: 295-302.

Ortíz, D. y O. F. Francke. 2016. Two DNA barcodes and morphology for multi-method species delimitation in *Bonnetin a tarantulas* (Araneae: Theraphosidae). Molecular phylogenetics and evolution 101:176-193

Peña, C. 2011. Métodos de inferencia filogenética. Revista peruana de biología 18(2): 265-267

Percino-Daniel, R., E. Cruz-Ocaña, W. Pozo-Ventura y E. Velázquez-Velázquez. 2013. Diversidad de reptiles en dos microcuencas del rio Grijalva, Chiapas, México. Revista mexicana de biodiversidad 84(3): 938-948.

Pérez-Ramos E., L. Saldaña y Z. Uribe-Peña. 2000. A checklist of the reptiles and amphibians of Guerrero, México. Anales del Instituto de Biología. Serie Zoología 71(1): 21-40

Pisani, G. R. y J. Villa. 1974. Guía de técnicas para la preservación de anfibios y reptiles. Society for the study of amphibians and reptiles. Circular Herpetológica 2:1-24

Pons, J., T.G. Barraclough, J. Gomez-Zurita, A. Cardoso, D. P. Duran, S. Hazell, S. Kamoun, W. D. Sumlin y A. P. Vogler. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. Systematic Biology 55(4): 595 - 609.

Porto M. y R. Fernandes. 1996. Variation and natural history of the snail-eating snake *Dipsas nevai* (Colubridae: Xenodontidae). Journal of Herpetology. Society for the Study of Amphibians and Reptiles 30 (2): 269-271

Rambaut, A. y A. J. Drummond. 2007. Tracer v1.4. Aviable for <http://beast.bio.ed.ac.uk/tracer>

RStudioTeam 2015. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Rivera-González, D. E. 2009. Estudio comparativo entre especies del género *Atractus* (Colubridae: Dipsadinae) del Perú: análisis de sus relaciones fenéticas utilizando caracteres de la morfología externa, morfometría y merística. Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas. Lima-Perú

Ronquist, F., M. Teslenko, P. Van Der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, S. y J. P. Huelsenbeck. 2012. Mr.Bayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference

and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology* 61(3): 593-542

Rutschmann, F. 2006. Molecular dating of phylogenetic trees: A brief review of current methods that estimate divergence times. *Diversity and Distributions* 12(1): 35-48

Savage, J. M. y B. I. Crother. 1989. The status of *Pliocercus* and *Urotheca* (Serpentes: Colubridae), with a review of included species of coral snake mimics. *Zoological journal of the Linnean Society* 95(4): 335-362.

Shu, G., Y. Gong, F. Xie, N. C. Wu y C. Li. 2017. Effects of long-term preservation on amphibian body conditions: implications for historical morphological research. *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.3805, 1-15

Silvestro, D. y I. Michalak. 2012. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity & Evolution* 12(4): 335-337

Smith, H. M. 1944. Snakes of the Hoogtraal expeditions to northern Mexico. *Field Museum of Natural History* 29: 135-152

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(12): 2725-2729

Templeton A. R. 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and process. *Molecular Ecology* 10(3): 779-791

Thiele, K. 1993. The holy grail of the perfect character: the cladistic treatment to morphometric data. *Cladistics* 9(3): 275-304

Uetz, P., Freed, P. & JiríHošek (eds.). The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>. acceso 25 de febrero 2019

Wiens, J. J. 2001. Character analysis in morphological phylogenetics: problems and solutions. *Systematic Biology* 50(5): 689-699

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(1):69 - 91

Yang, Z. 1994. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods. *Journal of Molecular evolution* 39(3): 306-314

Zamora-Camacho, F. J., S. Reguera y G. Moreno-Rueda. 2014. Bergmann's rules body size in an ectotherm: heat conservation in a lizard along a 2200 metre elevational gradient. *Journal of Evolutionary Biology* 27(12):2820-2828

Zhang, J., P. Kapli, P. Pavlidis y A. Stamatakis. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics* 29(22): 2869-2876

Zink, R. M. y J. V. Jr Remsen. 1986. Evolutionary process and patterns of geographic variation in birds, p- 1-69. En *Current Ornithology*. F. Johnston (Ed), Vol. 4. Plenum Press, New York.

Zolano-Zavaleta, I y A. Nieto-Montes de Oca. 2018. Species limits in the morelet's alligator lizard (Anguidae: Gerrhonotidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 120: 16-27

Anexo I

Localidades de los ejemplares incluidos en la revisión morfológica y en la elaboración de los mapas. (*) indica los ejemplares revisados

Rhadinaea bogertorum

Oaxaca: **MZFC 16079** A lo largo de la carretera de Totontepec; **27182** Desviación a San Isidro, aproximadamente 23 km norte de la desviación a San Pedro Yulox

Rhadinaea gaigeae

Nuevo León: ***UANL-HERP 5623** Cañón San Isidro; Querétaro: ***MZFC13866** a 7 km SE Tres Lagunas, Landa de Matamoros, ***AMH 674** ejido el piñon; San Luis Potosí: ***MCZ 24982, MCZ 19047** Álvarez, ***RICB 340** Rio verde, Cerro el cabezón, ***CNAR 15207, 15209** Zaragoza, ***FMNH 73384** Álvarez, **LSU 262, 602, 601, 264, 603** Región de Xilitla; Tamaulipas ***MZFC 8528** Gómez Farias Carretera La Gloria-Las palmas; ***UANL-HERP 4121** Carretera Tula-Ocampo entronque con terracería N km 20, **7092** Sierra Mancha, sobre Carr. Al Refugio (La Unión), 13 Km E-NE de Tula, **7107** Reserva de la Biósfera "El cielo"

Rhadinaea hesperia

Guerrero: **MZFC 28409** Camino hacia barranca Panal, 6 km de Xochiatenco, **CNAR 9845** 4 km al Oeste de Ayutla, **BMNH 94.5.25.5** AMULA; Oaxaca: **UCM 41192-93** Cerro San Felipe.

Rhadinaea montana

Nuevo León: ***UANL-HERP 2194** Los Canelos; **2704** 1 Km de Potrero Redondo camino el Salto- Potrero Redondo; **28321** Km al O de Puerto Genovevo; **3164**El Nopal, Sierra de Higueras- Marin; **3302**El Salto; **38221.5** Km La Trinidad; **4111** Carretera La Encantada- Zaragoza rumbo a Zaragoza la cañada; **5310** Col. Del Valle; **53251** Km al O de Puerto Genovevo; **5749**Col. Cumbres (a un lado de la Sierra Madre); **5623, 5842, 7077 y 7584** Cañon San Isidro; **5559, 5797,6194, 6334-36, 6836, 6959** Parque Ecológico Chipinque; **6333** ND; **6676-77** Boquillas y Atongo; **6802**Cañón de Novillero; 6915 5 de mayo y Juárez,Carr. Km 5; **7248** Charco Azul, Col. San Roque; **7249** Dr. Arroyo – Galeana; **7258** Ruta Caracol al pico Norte, Cerro de la Silla; **7626** Las Moras 1.5Km, Parque Ecológico Chipinque; ***FMNH 30826** (Holotipo), Monterrey, ***ANSP 15355** (Paratipo) Monterrey.

Rhadinaea myersi

Oaxaca: **MZFC 9946-47** San Martín Caballero; **13547** Guadalupe Zacatepec camino a Santa Ana del Progreso; **13548** Rumbo a Santa Ana del Progreso; **19373** Carretera Cerro del Vidrio-Santa Catarina Juquila

Rhadinaea quinquelineata

Puebla: *JCSG 002, *UOGV 175, *MXC 097, UOGV 3266, Valle de Piedras
Encimadas, Zacatlán; *MFO 832, Ixtacamaxtitlan; *R_QUINQUE_HUEYAPAN,
Hueyapan; USNM 31350, Teziutlan

Anexo II

#NEXUS

BEGIN DATA;

DIMENSIONS NTAX=14 NCHAR=464;

FORMAT DATATYPE = DNA GAP = - MISSING = ?;

MATRIX

R_gaigeae_AMH_674_cytb_L15584

CAAGAACAATGCTTTATTTTAAGCTACCAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATT
TTGTTTTCTGACCAACCCAGTAATGGATTCATAATGAAGAATAGGAAGTATAG
GATGGAGGTTGTTTGGCTAATAAGGGTGAATGGGGTTCTACTGGTTTGGTG
GCTGCTCAAGTGATTGTTATAAATGTAGCGACTAGTGTTCAAATGTAAGTTGT
ATTAGGGGGCGGAATGTTATTGGCCGTATGTGTGATGTGTGGGTAAATGGGG
TTGTGATTAGAATAGTAATTGATATGATTAAGGCTAAGGTGCCCCCAGTTTAT
TTGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAAGAAATATCATTCCGGTTTA
ATGTGTTGTGGTGTACTATGGGATTGGCCTTTGAAAAGTTCTCTGGGTCGTT
AAAAATGTTGGGGGAGAATGTCAGGATAATGAATAGTA-

R_quinque_Huey_SN_60_26_L15584

CAAGAACAATGCTTTATTTTAAGCTACCAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATT
TTGTTTTCTGACCAACCCAGCAATGGACTCATAACGAAGAATAGGAAGTATAG
GATGGAGGTTGTTTGGCTAATAAGGGTGAATGGGGTTCTACTGGTTTGGTG
GCTGCTCAAGTGATTGTTATAAATGTAGCGACTAGTGTTCAAATGTAAGTTGT
ATTAGGGGGCGGAATGTTATTGGCCGTATGTGTGATGTGTGGGTAAATGGGG
TTGTAATTAGGATAGTAATTGATATGATTAAGGCTAAGGTGCCCCCTAGTTTAT
TTGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAAGAAATATCATTCCGGTTTA

ATGTGTTGTGGTGTACTATAGGATTGGCCTTTGAAAAGTTTTCTGGGTCGTTA
AAAATGTTGGGGGTGAATGTTAGGATAATGAATAGTA-

R_cuneata_DGM_52_L15584

CAAGAACAATGCTTTATTTTAAGCTACTAGAACTAAGATTAGGTATTTATGATTT
TGTTTTCTGACCAGCCCAGTAATGGGCTGGTGTGATGAAGAATAAAAAGTATAGA
ATGGAGGTTGTTTGTCCAATAAGTGTGAATGGTGGTTCTACTGGTTTAGTGGC
GGCTCATGTAATTGTTATGAATGTAGCGACTAAGGTTCAAATATAAGTTGGG
TTAGTGGGCGGAATGTTATTGGTCGTACGTGGGCTGTGTGAGTGAATGGGGT
TGTAATAAGAATAGCAATAGATATGATTAGGGCTATGGTTCCCCCAGTTTATT
TGGGATTGATCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAAGAAGTACCACTCTGGTTTAA
TGTGCTGTGGTGTACCAGGGGGTTAGCTTTTGAGAAGTTTTCTGGGTCATTA
AAGATGTTGGGGGAGAATGTTAAAATAATGAATAATA-

R_forbesi_JRM_3800_30_1

CAAGAACAATGCTTTATTTTAAGCTACTAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATTT
TGTTTTCTGATCAGCCCAGTAGTGGGCTGGTGTGATGAAGAATAAAAAGTATAGG
ATGGAGGTCGTTTGTCCAATAAGTGTGAATGGTGGCTCTACTGGTTTGGTGG
CGGCTCACGTGATTGTTATGAATGTAGCGATCAGGGTTCAAATATAAGTTGG
GTTAGTGGACGGAATGTTATTGGTCGTACATGGGCTGTGTGGGTGAATGGGG
TTGTGATAAGGATAGCGATAGATATAATTAGGGCTATGGTTCCTCCCAGTTTAT
TTGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAGGAAGTATCATTCTGGTTTG
ATGTGTTGTGGTGTACCATGGGGTTAGCTTTTGAGAAGTTTTCTGGGTCGTT
AAAATGTTGGGGGAGAATGTTAAGATGATAAATATTA-

R_marcellae_ANMO_4339_L15584

CAAGAACAATGCTTTATTTTAAGCTACTAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATTT
TGTTTTCTGATCAGCCCAGTAGTGGGCTGGTGTGATGAAGAATAAAAAGTATAGG
ATGGAGGTTGTTTGTCCAATAAGTGTGAATGGTGGTTCTACTGGTTTGGTGGC
GGCTCATGTGATTGTTATGAATGTAGCGACTAGGGTTCAAATATAAGTTGGG
TTAGTGGGCGGAATGTTATTGGTCGTACATGGGCTGTGTGGGTAAATGGGGT
TGTAATAAGGATAGCGATGGATATAATTAGGGCTATGGTTCCTCCCAGTTTATT
TGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAAAGCAAATAGGAAGTATCATTCCGGGTTTGA
TGTGTTGTGGTGTACCATGGGGTTAGCTTTTGAGAAGTTTTCTGGGTCGTTA
AAGAATGTTGGGGGAGAATGTTAAGCATGATAAATAT-

R_decorata_RRA_301_R44_39

GAACAACGCTTTAAAGGTTTAAGCTATTAGAGCAGTGGTTAGGTATTTATGATT
TTGTTTTCTGATCAGCCCAGTAGGGGGTTTGTGATGAAGAAAAGGAAGTATAG
AATGGAGGTTGTTTGTCCAATTAGAGTAAATGGGGGTTCTACGGGTTTGGTGG
CTGCTCATGTAATTGTTATGAATGTGGCAATTAGGGTTCAGAATATAAGTTGG

GTTAGGGGTCGGAATGTTATTGGTCGTACATGGGATGTGTGGGTAAATGGTG
TTGTGAGAAGGATGGCAATGGATATTACTAGGGCTAAGGTTCCGCCTAGTTTG
TTTGGGATAGATCGGAGAATTCCGTAGGCCAAATAGGAAATATCATTCCGGGTTT
AATGTGTTGTGGTGAATCATGGGGTTAGCTTTTGAGAAGTTTTCTGGGTCGT
TGAAGATGTTAGGGGTGAATGATATRATAATGAATAGTA-

R_mcdougalli_JAC_21633

CAAGAACAATGCTTTAATTTAAGCTACTAGAACTAAGACTAAGTGTTTATGATT
TTGTTTTCTGATCAACCCAGTAGTGGGCTGGTGATAAAGAATAAAAAGTATAG
AATGGAGGTCGTTTGTCCGATAAGTGTGAATGGTGGTTCTACTGGTTTGGTGG
CGGCTCATGTAATTGTTATAAATGTGGCGACTAGGGTTCAGAATATAAGTTGG
GTTAATGGGCGGAATGTTATTGGTCGTATGTGGGCTGTGTGAGTGAATGGGG
TTGTAATAAGAATAGCGATAGACATAATTAGGGCTATAGTTCCCCCTAATTTAT
TAGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAGGCCAAATAGGAAGTACCATTCTGGTTTA
ATGTGTTGTGGTGTACTATGGGGTTAGCTTTTGAGAAGTTTTCTGGGTCGTT
GAAAATGTTGGGGGAGAATGTTAAGATAATAAATAACA-

R_montana_CIG_605_cytb

CAAGAACAATGCTTTATTTAAGCTACTAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATTT
TGTTTTCTGATCAACCAAGTAATGGATTTATAATGAAGAATATAAAGTATAGGA
TGGAGGTTGTTTGGCTAATAAGGGTGAATGGGGGTTCTACTGGTTTGGTAGC
TGCTCAAGTGATTGTTATAAATGTAGCGATTAGTGTTCAAAATGTAAGTTGTAT
TAAAGGGCGGAATGTTATTGGTCGTATGTGTGATGTGTGGGTAAATGGGGTT
GTAATTAGAATAGTAATTGATATGATTAAGGCTAAGGTGCCTCCAGTTTATTT
GGGATTGATCGTAGAATTCCGTAGGCCAAATAAGAAGTACCATTCTGGTTTAAAT
ATGTTGTGGTGTACCATAGGATTGGCCTTTGAAAAATTCTCTGGATCATTAAA
AATGTTGGGGGTGAGTGTTAGGATAATAAATAGTA-

R_laureata_AZR_211_cytb

CAAGAACAATGCTTTA?TTTAAGCTACTAGAACTGAGACTAAGTGTTTATAATTT
TGTTTTCTGATCAACCTAATAATGGATTAGTAATGAAAAATAGAAAGTATAGGG
TGGAGGTTGTTTGGCCAATGAGGGTAAATGGGGGTTCTACTGGTTTAGTTGCT
GCTCAAGTGATTGTGATAAATGTGGCGATTAGGGTTCAGAATATAAGTTGTAT
TAGGGGGCGGAATGTTATTGGTCGTACGTGAGATGTGTGGGTAAATGGGGTT
GTAATTAGAATAGTAATTGATATAATTAGGGCTAATGTGCCTCCTAGCTTGTTT
GGGATTGACCGTAAGATTCCATAGGCCAAATAGGAAATATCACTCAGGTTTAAAT
GTGTTGTGGTGTACTATGGGGTTTGCTTTAGAGAAGTTTTCTGGGTCGTTGA
AAATGTTAGGGGTGAATGTTAGGATAATAAATAATA-

R_quinque_MXC_SN_cytb

CAAGAACAATGCTTTATTTAAGCTACCAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAAATT

TTGTTTTCTGACCAACCCAGCAATGGACTCATAACGAAGAATAGGAAGTATAG
GATGGAGGTTGTTTGGCTAATAAGGGTGAATGGGGTTCTACTGGTTTGGTG
GCTGCTCAAGTGATTGTTATAAATGTAGCGACTAGTGTTCAAATGTAAGTTGT
ATTAGGGGGCGGAATGTTATTGGCCGTATGTGTGATGTGTGGGTAATGGGG
TTGTAATTAGGATAGTAATTGATATGATTAAGGCTAAGGTGCCCCCTAGTTTAT
TTGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAAGAAATATCATTCCGGTTTA
ATGTGTTGTGGTGTACTATAGGATTGGCCTTTGAAAAGTTTTCTGGGTCGTTA
AAAATGTTGGGGGTGAATGTTAGGATAATGAATAGTA-

R_quinque_JCSG_2_CYTB

CAAGAACAATGCTTTATTTAAGCTACCAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATT
TTGTTTTCTGACCAACCCAGCAATGGATTCATAATGAAGAATAGGAAGTATAG
GATGGAGGTTGTTTGGCTAATAAGGGTGAATGGGGTTCTACTGGTTTGGTG
GCTGCTCAAGTGATTGTTATAAATGTAGCGACTAGTGTTCAAATGTAAGTTGT
ATTAGGGGGCGGAATGTTATTGGCCGTATGTGTGATGTGTGGGTAATGGGG
TTGTGATTAGGATAGTAATTGATATGATTAAGGCTAAGGTGCCCCCAGTTTAT
TTGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAAGAAATATCATTCTGGTTTAA
TGTGTTGTGGTGTACTATGGGATTGGCCTTTGAAAAGTTCTCTGGGTCGTTA
AAAATGTTGGGGGAGAATGTCAGGATAATGAATAGTA-

R_flavilata_cytb

??CTAAGTGTTTATAATTTTGTTTTC
TGATCAACCGAGTAATGGATTTGTGATGAAGAATAGAAAGTATAGGATGGAAG
TTGTTTGGCTAATAATAAATGGTGGTTCTACTGGTTTGGTGGCAGCTCAA
GTAATTGTTATGAATGTAGCGATTAATGTTCAGAATGTAAGTTGTATTAGGGGG
CGGAATGTTATTGGTCGTATGTGTGATGTATGTGTAAATGGGGCAGAGATTAA
AATGGTAATTGATATGATTAAGGCTAGGGTGCCTCCTAATTTATTTGGAATTGA
TCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAGGAAGTATCATTCTGGTTTAATATGTTGTG
GTGTTACTATAGGGTTAGCCTTTGAAAAGTTTTCTGGGTCGTTAAAGATGTTG
GGGTAGAATGTTAGAATAATAAATAATA-

R_montana_FMQ_3246_cytb

CAAGAACAATGCTTTATTTAAGCTACCAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATT
TTGTTTTCTGACCAACCCAGTAATGGATTCATAATGAAGAATAGGAAGTATAG
GATGGAGGTTGTTTGGCTAATAAGGGTGAATGGGGTTCTACTGGTTTGGTG
GCTGCTCAAGTGATTGTTATAAATGTAGCGACTAGTGTTCAAATGTAAGTTGT
ATTAGGGGGCGGAATGTTATTGGCCGTATGTGTGATGTGTGGGTAATGGGG
TTGTGATTAGGATAGTAATTGATATGATTAAGGCTAAGGTGCCCCCAGTTTAT
TTGGGATAGATCGTAGAATTCCGTAGGCAAATAAGAAATATCATTCCGGTTTA

ATGTGTTGTGGTGTACTATAGGATTGGCCTTTGAAAAGTTCTCTGGGTCGTT
AAAATGTTGGGGGAGAATGTCAGGATAATGAATAGTA-

R_quinque_UOGV_175_CYTB

CAAGAACAATGCTTTATTTTAAGCTACCAGAACTAAGACTAAGTGTTTATAATT
TTGTTTTCTGACCAACCCAGCAATGGATTCATAATGAAGAATAGGAAGTATAG
GATGGAGGTTGTTTGGCTAATAAGGGTGAATGGGGGTTCTACTGGTTTGGTG
GCTGCTCAAGTGATTGTTATAAATGTAGCGACTAGTGTTCAAATGTAAGTTGT
ATTAGGGGGCGGAATGTTATTGGCCGTATGTGTGATGTGTGGGTAAATGGGG
TTGTGATTAGGATAGTAATTGATATGATTAAGGCTAAGGTGCCCCCAGTTTAT
TTGGGATAGATCGTAGAATTCGTAGGCAAATAAGAAATATCATTCTGGTTTAA
TGTGTTGTGGTGTACTATGGGATTGGCCTTTGAAAAGTTCTCTGGGTCGTTA
AAAATGTTGGGGGAGAATGTCAGGATAATGAATAGTA-

;

END;

beginassumptions;

charset partition_1 = 1-39;

charset partition_2 = 40-463\3;

charset partition_3 = 41-463\3;

charset partition_4 = 42-463\3;

end;