



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Evaluación del dimorfismo sexual en serpientes mexicanas:
estudio comparativo mediante modelos de crecimiento y
métodos tradicionales

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

Doctor en Ciencias Biológicas

P r e s e n t a

Mixtli Crisóstomo Pérez

Co-Directores

Dr. Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte

Dr. Aníbal Díaz de la Vega Pérez

Tlaxcala, Tlaxcala

Agosto 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Evaluación del dimorfismo sexual en serpientes mexicanas:
estudio comparativo mediante modelos de crecimiento y
métodos tradicionales

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta

Mixtli Crisóstomo Pérez

Comité Tutorial

Dr. Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte

Dr. Aníbal Díaz de la Vega Pérez

Dr. Amando Bautista Ortega.

Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz

Tlaxcala, Tlaxcala

Agosto 2023

|

Financiamiento

- Beca de Doctorado CONACyT (545210).
- PAPIIME DGPA FES Zaragoza UNAM: PE209120; PE204822

El Doctorado en Ciencias Biológicas se encuentra registrado en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC).



Universidad
Autónoma de
Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



**COORDINACIÓN DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Mixtli Crisóstomo Pérez** realiza para la obtención del grado de **Doctor en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Evaluación del dimorfismo sexual en serpientes mexicanas: estudio comparativo mediante modelos de crecimiento y métodos tradicionales”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
TLAXCALA, TLAX., A 16 DE AGOSTO DEL 2023

DR. MANUEL FERIA ORTIZ 	DR. AMANDO BAUTISTA ORTEGA 
DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO 	DRA. VERÓNICA MITSUI SAITO QUEZADA 
DR. JORGE VÁZQUEZ PÉREZ 	



Sistema Institucional de Autogestión de la Calidad Certificado bajo la
Norma: ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MEXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Laboratorio de Biometría y Biología Pesquera



Asunto: Revisión de plagio en tesis

**COMITÉ ACADÉMICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T E .**

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis realizada por el estudiante **Mixtli Crisóstomo Pérez** titulada “**Evaluación del dimorfismo sexual en serpientes mexicanas: Estudio comparativo mediante modelos de crecimiento y métodos tradicionales**” para optar por el grado de Doctor en Ciencias Biológicas.

El documento de tesis del alumno **Crisóstomo Pérez** fue revisado por el que signa la presente como director de sus estudios de grado antes de cada presentación tutorial y, posteriormente a las mismas, los miembros de su comité tutor hicieron sus respectivas observaciones. De esta forma, el documento fue sometido a un proceso de revisión por los profesores expertos en el tema. De manera adicional, en el mes de julio, el documento final de la tesis fue procesado por la rutina incluida en el programa Microsoft 365 (licenciado a la UNAM) el cual encontró una similitud del 5%. Los textos detectados corresponden con los títulos de los artículos y libros citados en la Bibliografía, por lo que esta similitud no puede considerarse como texto plagiado.

Por lo anterior, confirmo que el estudiante **no incurrió en ninguna práctica no deseable en la escritura de la tesis.**

Sin otro particular aprovecho para enviarles un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”
Ciudad de México, a 28 de julio de 2023.

DR. ISAÍAS HAZARMABETH SALGADO UGARTE
PROFESOR DE CARRERA TITULAR “C”
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

Agradecimientos

Agradezco a mis padres por su apoyo para poder cumplir todos mis objetivos personales y académicos, ya que me apoyaron en todo para poder culminar este logro.

Le agradezco mi tutor Isaías Salgado Ugarte y de igual manera a Verónica Mitsui Saito Quesada por el apoyo y guía para que se realizara este proyecto.

A Marcia María Ramírez Sánchez y a Zamira Anahi Ávila Valle por el apoyo en las técnicas.

A Gissele Islas López por todo su apoyo y consejos a lo largo de todo el proyecto.

Al CONACyT por otorgarme la beca Beca de Doctorado (545210); a PAPIME DGPA FES Zaragoza UNAM: PE209120; PE204822, y a la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales por la autorización en el documento: SGPA/DGVS/1258/19.

Resumen

El dimorfismo sexual es un fenómeno de alto interés biológico. En serpientes puede explicarse principalmente por la acción de: a) selección sexual (aumento de la probabilidad reproductiva por selección de uno de los sexos); b) selección por fecundidad (aumento del número de crías en la reproducción); c) divergencia de nicho (reducción de la competencia intersexual); d) costos de reproducción (recursos asignados a la producción de crías). Sin embargo, el estudio de estos aspectos no se ha hecho de manera conjunta. En este trabajo se propone su análisis de una manera integral considerando tres puntos principales: robustez y profundidad en los análisis estadísticos; descripción y análisis de la composición del cuerpo y crecimiento individual. Utilizando como modelos de estudio a las serpientes *Crotalus ravus*, *Conopsis biserialis* y *Thamnophis pulchrilatus* se planteó que presentan simultáneamente dimorfismo sexual originado por selección sexual con cuerpos más largos en los machos, selección por fecundidad con volúmenes mayores en el tronco del cuerpo de las hembras, divergencia de nicho con formas distintas de la cabeza entre machos y hembras y por costos de reproducción con distintas curvas de crecimiento, en donde los machos tienen un crecimiento más acelerado. Se evaluó el dimorfismo sexual mediante análisis del tamaño, forma, volumen y crecimiento. Para el tamaño, con base en once medidas morfométricas (seis nuevas propuestas), se llevaron a cabo pruebas uni y multivariadas mediante procedimientos paramétricos y no paramétricos y valores de medias (geométrica, armónica y heroniana) como índices morfométricos, para la forma se aplicó morfometría geométrica; para el volumen se utilizaron fórmulas geométricas; para el crecimiento se utilizó osteocronología para la estimación de la edad y modelos no lineales para ajustar funciones a partir de datos de tamaño-edad. Se encontró dimorfismo sexual atribuible a selección sexual, por fecundidad y costos de reproducción, en la misma especie, lo cual muestra evidencia de las diferentes fuerzas que están moldeando el cuerpo de las serpientes, estas comparaciones con estudios anteriores reflejan que el método aplicado proporciona una mejor aproximación al dimorfismo sexual por lo que finalmente se desarrolló una forma de robustecer la evaluación del dimorfismo sexual en serpientes.

Abstract

Sexual dimorphism is a phenomenon of high biological interest. In snakes it can be explained mainly by the action of a) sexual selection (increasing the reproductive probability by selecting one of the sexes of the individuals); b) selection for fecundity (increasing the number of offspring in reproduction); c) niche divergence (reduction of intersexual competition); d) reproduction costs (resources assigned to offspring production). At the same time, the study of these aspects has not been done jointly. This paper proposes its analysis in a more complete way, considering three main points: robustness and depth in the statistical analyses; description and analysis of body composition and individual growth. Using the snakes *Crotalus ravus*, *Conopsis biserialis* and *Thamnophis pulchrilatus* as study models, it was suggested that snakes simultaneously present sexual dimorphism caused by sexual selection with longer bodies in males, selection for fecundity with larger volumes in the female body trunks, niche divergence with different head shapes between males and females and reproduction costs, with different growth curves with males having faster growth. Sexual dimorphism was evaluated by analysis of size, shape, volume, and growth. For size, based on eleven morphometric measurements (six new proposals), univariate and multivariate tests were carried out by parametric and (if necessary) non-parametric procedures, and mean values (geometric, harmonic, and heronian) as morphometric indices; for the shape, geometric morphometry procedures were applied; for the volume geometric formulas were used; for growth, osteochronology was used to estimate age and non-linear models to fit functions from size-age data. Sexual dimorphism attributable to sexual selection, fecundity and reproduction costs was found, in the same species, which shows evidence of the different forces that are shaping the body of snakes, these comparisons with previous studies reflect that the applied method provides a better approximation to sexual dimorphism, a way to strengthen the evaluation of sexual dimorphism in snakes was found.

Contenido

Introducción	1
Antecedentes	15
Especies de estudio	16
Justificación	18
Hipótesis	18
Predicciones	18
Objetivo General	19
Objetivos particulares	19
Método	20
Alometría: relación longitud-volumen	22
Exploración por índices morfométricos	23
Edad.....	24
Modelos de Crecimiento	25
Resultados	27
Análisis de localidad	27
Aproximación del tamaño del cuerpo.....	30
Aproximación por forma de la cabeza	34
Alometría: Relación Longitud - Volumen	35
Comparación mediante índices morfométricos.....	37
Osteocronología	45
Discusión	53
Diversidad de enfoques	63
Conclusiones	64
Referencias	66
ANEXOS	84

Introducción

Uno de los imperativos biológicos más importantes para los seres vivos es la reproducción, es decir, la generación de otros seres similares. Producir descendientes implica invertir recursos los cuales, eventualmente, se ven limitados de modo que se desencadena la competencia entre los individuos para conseguirlos (Carranza-Almansa, 2002). La reproducción sexual ocurre cuando un individuo produce descendientes en los que sólo puede poner la mitad de su material genético, a la vez que otro individuo coloca en el mismo organismo 50% de un ADN diferente (Parker *et al.*, 1972). Algunos autores sugieren que el origen y mantenimiento del sexo es debido a la reparación del ADN. En los organismos diploides al poseer dos copias del material genético tienen una ventaja en comparación con los organismos haploides al enfrentar errores en la transcripción del ADN, manteniendo así la reproducción sexual (Engelstädter, 2008, Kodric-Brown y Brown, 1987, Muller, 1964).

La diploidía y el sexo han tenido éxito evidente. Si bien se encuentra presente el intercambio genético en haploides, la recombinación más completa está relacionada con los organismos diploides, (Carranza-Almansa, 2002). Los sexos y la reproducción por gametos evolucionaron en conjunto. Un gameto únicamente contiene la mitad del genoma del organismo que lo produjo y necesita a otro con el cual fusionarse, los gametos no tienen la capacidad de obtener nutrientes y procesarlos por sí mismos, y por tanto la supervivencia de los gametos depende de los nutrientes que tengan almacenados (Carranza-Almansa, 2002). Con el tiempo la producción de gametos grandes con alta cantidad de nutrientes en un tipo de individuos favoreció la estrategia de producir muchos gametos con poca o nula cantidad de nutrientes en otros. El aumento en el número de gametos pequeños propicia la competencia de estos y la de sus productores (Kodric-Brown y Brown, 1987, 1985). A los individuos que presentan gametos con alta cantidad de nutrientes los conocemos como hembras y a los de gametos pequeños como machos; tanto machos como hembras utilizan estrategias distintas con un mismo fin (producir descendencia) (Carranza-Almansa, 2002). La diferencia en las estrategias básicas es donde surge el dimorfismo sexual.

El dimorfismo sexual se define como la diferencia sistemática entre individuos de diferente sexo en la misma especie (Kratovichil y Frynta, 2002). Está presente en casi todas las

|

especies de animales con reproducción sexual, incluyendo reptiles (Hedrick y Temeles, 1989). Los machos y las hembras pueden diferir en aspectos tales como forma del cuerpo, patrón de coloración, la presencia o ausencia de estructuras morfológicas o mayor desarrollo de alguna estructura, las cuales tienen distintas explicaciones. El origen del dimorfismo sexual en serpientes puede explicarse principalmente por la acción de: a) selección sexual (aumento de la probabilidad reproductiva por selección de uno de los sexos de los individuos) (Shine, 1978); b) selección por fecundidad (aumento de del número de crías en la reproducción) (Shine, 1994); c) divergencia de nicho (reducción de la competencia inter sexual) (Shine, 1989); y d) costos de reproducción (recursos asignados a la fabricación de descendencia) (Madsen y Shine, 1994).

Selección sexual

La explicación más recurrente del dimorfismo sexual es la selección sexual (Moore, 1990). La selección sexual es el mecanismo de la selección natural que se aplica a la elección de pareja de un individuo; es decir, es el componente principal de la selección natural, en el cual los animales compiten por parejas potenciales dentro del mismo sexo y especie, en relación con el éxito reproductivo, generalmente mediante elección femenina y competencia masculina (Durham y Dunn, 2019). A pesar de que la generalidad es que los machos compitan por las hembras, existen casos en los cuales las hembras compiten por los machos (Hunt *et al.*, 2009). Se ha llegado a considerar que para que la selección sexual actúe es necesaria la presencia de anisogamia, la cual se define como la unión de dos gametos de distinto tamaño y forma; los gametos de mayores dimensiones y recursos se presentan en números considerablemente menores en comparación con los gametos pequeños, lo cual provoca la competencia de los gametos más pequeños y, por tanto, de los individuos que los producen (Bonduriansky, 2007, Carranza-Almasa, 2002, Randerson y Hurst, 2001, Kodric-Brown y Brown 1987, Parker *et al.*, 1972).

La anisogamia implica que la selección natural (o sexual) ha actuado de modo diferente en los productores de gametos grandes y pequeños, ya que su éxito reproductivo se basa en estrategias diferentes (Carranza-Almansa, 2002). Simplificando las estrategias, sobre las hembras recae toda la presión para la obtención de nutrientes para fabricar descendientes. Si bien los machos también necesitan nutrientes para la reproducción y compiten por ellos, el

destino principal de esos nutrientes no es para la fabricación de gametos, sino para la competencia con otros machos (Kodric-Brown y Brown 1987, 1985). Esta competencia por acceso a las hembras, en el caso en que los machos no provean ningún tipo de cuidados parentales o nutrientes para el desarrollo de las crías (no solo recursos en gametos) explicaría el desarrollo de mayores dimensiones corporales, para este caso las especies son generalmente territoriales (Cox *et al.*, 2003), y los machos luchan por el acceso reproductivo al mayor número de hembras.

En el caso de las serpientes, la selección sexual como única explicación del dimorfismo sexual tiene poco sustento (Cox *et al.*, 2007). En general, las serpientes presentan un mayor tamaño en las hembras y los machos combaten por el acceso a las hembras. No obstante, existe al menos un caso documentado en el que las hembras son hasta 10 veces más grandes aun cuando los machos combaten por las hembras (Cox *et al.*, 2007). Debemos considerar que la selección sexual también puede favorecer un tamaño reducido de los machos. Esta direccionalidad en la selección sexual (Shine, 2005) ocurre debido a que un tamaño menor de los machos favorece una cópula más dinámica, así como al acceso a un mayor número de hembras por macho (Pincheira-Donoso y Hun, 2017).

Selección por fecundidad

La selección por fecundidad ha sido considerada como el principal mecanismo que promueve la evolución de tamaños más grandes de camada, a través de la evolución de un tamaño corporal femenino de mayores dimensiones (Pincheira-Donoso y Hun, 2017, Cox *et al.*, 2007; Fairbairn, *et al.*, 2007, Shine, 1994). Darwin en 1874 propuso la primera hipótesis de selección por fecundidad para explicar el dimorfismo sexual en donde las hembras son de mayores dimensiones que los machos; esto en función de que las hembras tengan una mayor fecundidad, es decir un número mayor de crías por evento reproductivo (Williams, 1966). De esta forma, las hembras más grandes dejarán más copias de sus propios genes en las siguientes generaciones en comparación con las hembras más pequeñas (Shine, 1988). Lo anterior, combinado con una capacidad mayor de almacenamiento de energía para poder destinarlo a la reproducción (Calder, 1984) puede explicar porque observamos en las hembras tractos digestivos más largos que les permiten tener cuerpos más robustos y vidas más largas (Bonnet

|

et al., 1998). En reptiles (*sensu lato*, grupos tradicionales, Clase *Reptilia*) existen numerosas evidencias de la relación entre el tamaño y la fecundidad (Cox *et al.*, 2007; Shine, 1988), sobre todo en el mayor tamaño del abdomen de las hembras (Pincheira-Donoso y Hun, 2017). Esta influencia se ve principalmente en especies vivíparas de reptiles (Fitch, 1981). Sin embargo, se ha planteado que la selección por fecundidad es simplemente un efecto secundario de la selección sexual favoreciendo a los machos de tamaño menor (Pincheira-Donoso y Hun, 2017). Para poder visualizar con claridad la selección por fecundidad debemos observar principalmente el volumen corporal.

Divergencia de nicho (alimenticio)

En general el dimorfismo sexual por divergencia de nicho (para fines de este estudio se limita a nicho alimenticio) se basa en la disminución de la competencia intersexual por causas ecológicas (Shine 1989). Se ha considerado que en el caso de las serpientes la boca es una limitante como depredador (al engullir enteras a sus presas) debe influir en la capacidad de manejo de las presas y desempeñar un papel importante en la evolución del dimorfismo sexual (Madsen, 1983). En el caso de las serpientes, las adaptaciones morfológicas diferenciadas por sexo están relacionadas con evitar o disminuir la competencia por el alimento, lo cual explica la diferencia en el tamaño y/o forma de la cabeza (Shine, 1991). Es decir, cuando los machos se alimentan de una variedad de presas distintas de las que se alimentan las hembras.

Uno de los puntos que debe tenerse en cuenta en el dimorfismo que se origina por la divergencia de nicho ecológico, es que las estructuras donde este recae deben relacionarse únicamente con la alimentación y que no se utilicen para la competencia intrasexual, porque de ser así, la diferencia podría ser atribuida a la selección sexual más que a la divergencia de nicho (Shine, 1989). En el caso de las serpientes, durante las luchas los machos solamente utilizan el cuerpo (Carpenter, *et al.*, 1976). Para poder atribuir una diferencia sexual a la divergencia de nicho ecológico tendríamos que considerar principalmente que la forma sea distinta ya que el tamaño puede verse influenciado por selección sexual (Shine, 1989). La selección sexual, la selección por fecundidad y la divergencia de nicho ecológico pueden estar actuando simultáneamente en las especies.

Costos de reproducción

La explicación del dimorfismo sexual originado por los costos de reproducción se basa exclusivamente en la cantidad de recursos que son invertidos en la reproducción para el desarrollo de gametos (Bonnet *et al.*, 2011 y Taylor y Denardo, 2005). Estos costos son significativamente mayores en las hembras, lo que les reduce significativamente la energía disponible para el crecimiento. Una de las evidencias de que los costos energéticos de la reproducción son superiores en las hembras, en comparación con los machos en las serpientes, se ve reflejado en la frecuencia reproductiva, ya que, las hembras se reproducen cada dos años, en cambio los machos pueden reproducirse cada año (Madsen y Shine, 1993). Otro aspecto que nos refleja los costos de reproducción es la madurez sexual. Los machos alcanzan la madurez sexual con tallas menores, debido a que los costos de reproducción son menores. Los cuerpos de las hembras requieren un mayor tiempo para el almacenamiento de recursos y también un mayor tamaño para poder almacenarlos. En cambio, los machos no requieren una inversión tan significativa para la reproducción en términos de asignación energética a los gametos, lo cual les permite iniciar antes su vida reproductiva (Beaupre y Duvall, 1998; Madsen y Shine, 1993).

En especies vivíparas de reptiles Squamata, los costos que recaen sobre las hembras son todavía mayores, la movilidad de las hembras se ve reducida en comparación con los machos. Durante el periodo de gestación se reduce significativamente la capacidad de moverse, dificultando la obtención de alimento y haciéndolas más susceptibles a la depredación (Qualls y Shine, 1998; Sinervo *et al.*, 1991; Shine, 1980). Mientras se encuentran en periodos de gestación las hembras reducen su actividad, con el fin de disminuir el riesgo de depredación a costa de su ingesta alimenticia. Esta estrategia conductual, aumenta significativamente su longevidad y fecundidad (Cooper *et al.*, 1990). Se ha planteado que un mayor tamaño de las hembras puede no representar una ventaja reproductiva; dado que los recursos para el mantenimiento del cuerpo, sumado a la energía necesaria para la reproducción, puede llegar a tener un costo excesivo (Gibbons, 1972). En cambio, en los machos un mayor tamaño tendría una función de desincentivo para los depredadores y no tendría un costo energético significativo (Gibbons, 1972). Por lo que se espera que, en las especies vivíparas, los machos destinen una mayor cantidad de recursos hacia el crecimiento, alcanzando tallas superiores a las de las

hembras en el mismo tiempo de vida, teniendo como resultado el dimorfismo sexual con machos de mayores dimensiones. Para detectar cuando el dimorfismo sexual tiene su origen en los costos de reproducción es necesario comparar las curvas de crecimiento de cada sexo (Madsen y Shine, 1993). En las serpientes se ha visto que el crecimiento es un factor importante para detectar el dimorfismo sexual (Cox *et al.*, 2007, Castanet, 1994, Madsen y Shine, 1993).

¿Debemos esperar dimorfismo sexual en las serpientes?

Si bien muchas especies animales muestran dimorfismo sexual (Hedrick y Temeles, 1989) también existen casos en la naturaleza donde el monomorfismo sexual existe (Witte y Curio, 1999), incluyendo especies donde la anisogamia está presente. Con base en lo mencionado, la competencia del sexo que invierte “menos” y la selectividad del sexo que invierte “más” recursos, es lo que da origen y mantenimiento al dimorfismo sexual, donde en general el macho es el que intenta copular con la mayor cantidad hembras (poliginia) para poder así dejar la mayor cantidad de descendientes, invirtiendo poco o nada en el desarrollo de los gametos y/o las crías. En las especies sexualmente monomórficas ocurre que en general son monógamas (Kirkpatrick *et al.*, 1990; Kleiman, 1977), es decir, solo tienen una pareja reproductiva durante toda su vida, dejando de lado la competencia por la obtención de pareja en cada sesión reproductiva. A pesar de que los costos energéticos de la producción de gametos y la reducción de la movilidad de las hembras permanecen, los machos se convierten en proveedores en la etapa de gestación y participan en el cuidado de las crías, aportando ambos sexos la misma cantidad de recursos a la reproducción (Smiseth *et al.*, 2012) manteniendo el monomorfismo sexual, o dejándolo limitado al dimorfismo sexual por identificación (para reconocer quien es macho y quien hembra) y/o dimorfismo sexual por desempeño sexual (dimorfismo sexual originado para ayudar a la cópula).

En las serpientes no se tiene registro de especies monógamas. En cambio, se tienen estructuras que nos dan evidencia de competencia entre machos, como lo son las espinas en los hemipenes, las cuales sirven de anclaje en la cópula (Sales-Nunes *et al.*, 2014). Estas espinas ayudan a los machos a reducir la competencia espermática y que las crías de esa sesión sean únicamente de ese macho (King *et al.*, 2009). Esta estrategia solo pudo evolucionar en un contexto de poligamia. Dado que el monomorfismo sexual se asocia a la monogamia, los

|

resultados de monomorfismo sexual en serpientes son atribuidos a un análisis inadecuado o incompleto (Feriche *et al.*, 1993). Llama la atención los casos singulares como los de las especies de serpientes *Conopsis biserialis*, *Crotalus ravus* y *Thamnophis pulchrilatus* que no presentan dimorfismo sexual (Castañeda-Gonzales, 2011; Crisóstomo-Pérez, 2016) o no se tienen registros en tamaño o forma. Estas especies son vivíparas, sobre la base de lo anteriormente mencionado surge la pregunta ¿Qué está sucediendo en estas especies? Es necesario tomar en cuenta que las serpientes presentan una gran plasticidad fenotípica y un amplio intervalo de tallas en individuos adultos. Si no tomamos en cuenta el crecimiento, mortalidad y la longevidad, el dimorfismo sexual puede no ser detectado como se ha reportado (Brito y Rebelo, 2003; Shine, 1990; 1994; Fitch, 1981), donde la relación talla-edad difiere significativamente entre machos y hembras.

La familia Colubridae no presenta una tendencia clara en cuanto al dimorfismo sexual; por su parte la familia Viperidae presenta una tendencia hacia los machos de mayores dimensiones, sin embargo, en las dos familias algunas especies presentan dimorfismo sexual sesgado hacia tamaños mayores en los machos, otras en las hembras y otras más aparentemente no lo presentan (Cox *et al.*, 2007). Es posible que no se haya puesto suficiente atención a la composición del cuerpo de estos animales, subestimando su complejidad utilizando una o dos medidas corporales para describir el cuerpo (Shine, 1994). Se considera que para evaluar correctamente el dimorfismo sexual se deben tomar medidas morfométricas adicionales y utilizar herramientas estadísticas adicionales para vislumbrar sus patrones. Si tomamos el caso de Brito y Rebelo (2003) podemos observar que incluir como factores a la edad y el crecimiento en la evaluación del dimorfismo sexual, los resultados cambian significativamente. Lo anterior genera la pregunta ¿por qué ocurre esto? Para intentar responder, tendremos que considerar los siguientes aspectos: crecimiento, composición del cuerpo, evaluación del dimorfismo sexual, forma y medidas del cuerpo.

Crecimiento

El primer punto por considerar es el tipo de crecimiento de los organismos. Se han documentado dos tipos de crecimiento, determinado e indeterminado (Karkach, 2006). Para la evaluación del dimorfismo sexual en organismos de crecimiento determinado, sólo se consideran a los individuos adultos, que ya han alcanzado su tamaño máximo y desarrollado por completo sus caracteres sexuales secundarios, como en el caso de mamíferos y aves (Karkach, 2006). En organismos de crecimiento indeterminado o continuo los individuos aumentan de tamaño de manera significativa después de haber desarrollado sus caracteres sexuales por completo, dicho de otra manera, los individuos crecen durante toda su vida. Este tipo de crecimiento está presente en diversos grupos como peces, anfibios y reptiles (Karkach, 2006); en serpientes, al ser organismos de crecimiento continuo, nos enfrentamos a diversos retos al evaluar el dimorfismo sexual.

Si analizamos el dimorfismo sexual en relación con la talla surgen diversos inconvenientes. Uno de ellos es el gran intervalo de variación de las tallas; los organismos de crecimiento continuo son capaces de aumentar su tamaño de manera significativa durante toda su vida; por lo general, existe una relación entre el tamaño del organismo y su edad (Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020; Gomez-Marquez *et al.*, 2016; Karkach, 2006, Salgado-Ugarte *et al.*, 2005), por lo que al evaluar el dimorfismo sexual en organismos de crecimiento indeterminado tenemos que dar respuesta a las siguientes preguntas: ¿Qué organismos debemos elegir?, ¿Sólo se deben utilizar las tallas máximas?, ¿Cuánta es la variación de los adultos?, ¿Qué edad va relacionada con la talla?. Una solución a estas interrogantes es el uso de los modelos de crecimiento como en el caso de *Vipera latastei* (Brito y Rebledo, 2003).

El crecimiento de los organismos es un proceso complejo que ha requerido del uso de modelos estadísticos, de tal modo que se obtenga un buen ajuste y que los parámetros muestren las características del crecimiento (Trinidad-Bello, 2014). Los modelos de crecimiento son representaciones matemático-estadísticas obtenidas de la relación talla-edad que muestran las características del crecimiento (Trinidad-Bello, 2014). Se puede modelar el crecimiento definido por el aumento de masa, longitud, número de células, etc., en relación con el tiempo. Los modelos generales de crecimiento toman en cuenta la variación en la tasa de crecimiento.

|

El uso de los modelos generales de crecimiento es más adecuado para ser aplicado a los animales, ya que son sistemas con patrones complejos que crecen a diferentes velocidades durante las distintas etapas de su vida (Karkach, 2006). En los estudios biológicos, los modelos generales más utilizados son los de Gompertz, Richards, Logístico, Brody, von Bertalanffy y Monod (Trinidad-Bello, 2014).

El dimorfismo sexual originado por los costos de reproducción se ve reflejado en las trayectorias de crecimiento de machos y hembras, las curvas de crecimiento se separan al alcanzar la madurez sexual (Madsen y Shine, 1993). A pesar de su importancia pocos trabajos evalúan el crecimiento; la gran mayoría sólo toma una muestra general de medidas morfométricas. El inconveniente de esto es que registrar una muestra para evaluar el dimorfismo sexual, sin considerar la edad de los individuos, puede afectar la detección de las diferencias. El uso de curvas de crecimiento nos permite detectar estas diferencias que sin considerar el factor edad son imperceptibles, como se mostró en *Crotalus viridis oreganus* (Diller y Wallace, 2002) y *Vipera latastei* (Brito y Rebledo, 2003) donde la comparación entre machos y hembras solo arroja diferencias al usar los modelos de crecimiento.

Composición del cuerpo

Al evaluar el dimorfismo sexual se compara el cuerpo o determinadas estructuras corporales de manera sistemática entre machos y hembras. Las diferencias entre sexos pueden explicarse de diversas maneras. En serpientes, las diferencias sexuales en la cabeza se han atribuido a dos causas principales: una es que los machos presentan un mayor tamaño ya que les proporciona ventaja en la batalla por el acceso a las hembras. Esta explicación puede ser debatida al analizar el modo de lucha de las serpientes, en la que no usan la cabeza sino el cuerpo (Carpenter, *et al.*, 1976). Adicionalmente, se ha documentado que el ancho de la cabeza está determinado por un factor genético y no por la plasticidad motora de las serpientes (Henao-Duque y Ceballos, 2013). No obstante, debemos de tener en cuenta en especies inoculadoras de veneno, donde el ancho de la cabeza puede estar relacionado con la cantidad de veneno almacenado (Furtado *et al.*, 2006).

|

La segunda causa del dimorfismo en la cabeza es la diferencia en la dieta por sexo. Esta se basa en que machos y hembras consumen distintos tipos de presas. Por esta razón, las cabezas tienen tamaños y formas distintas. Esto reduce la competencia intraespecífica (Vincent, *et al.*, 2004), ya que las serpientes tragan entero su alimento. Sin embargo, algunos autores (Forsman, 1996; Houston y Shine, 1993; Frazzetta, 1966) mencionan que, dadas las grandes capacidades plásticas de la cabeza de las serpientes, el tragar una presa está influenciado por más que sólo el tamaño de la cabeza y en especies inoculadoras de veneno estas cualidades aumentan de manera significativa. No obstante, la consideración de la forma es la manera con menor grado de incertidumbre que refleja una divergencia de nicho ecológico (Shine, 1989). El tronco del cuerpo de las hembras es una parte anatómica importante a la cual se le atribuye la selección por fecundidad, debido a que es en donde se guardan los huevos o embriones. En los reptiles existe gran cantidad de evidencia empírica que respalda la selección por fecundidad donde a mayor tamaño de la hembra mayor cantidad de huevos o crías (Cox *et al.*, 2007). En el caso de los machos una mayor longitud se le atribuye a la lucha entre ellos siendo reflejo de selección sexual. En cuanto a la longitud de la cola existe un dimorfismo sexual claro en el cual el largo es significativamente mayor en machos que en hembras. Lo anterior debido a la presencia de los hemipenes en esta parte del cuerpo. Esta explicación es ampliamente aceptada en cuanto al dimorfismo sexual se refiere, considerándose una constante morfológica en las serpientes (King, 1989).

Evaluación del dimorfismo sexual

Al evaluar el dimorfismo sexual en el ámbito estadístico, es posible la ocurrencia de una distribución bimodal, (Kościński y Pietraszewski, 2004) en donde, idealmente, cada moda esté compuesta exclusivamente por un sexo, con solapamiento mínimo entre las campanas gaussianas. En los estudios biológicos es complicado obtener un número ideal de individuos por lo que la normalidad y/o homocedasticidad se asumen o no se analizan con rigor (Ellis, 2022; Lovari, 2012). Esto genera que las pruebas estadísticas paramétricas no funcionen de manera óptima, por lo que los resultados de estos estudios sean cuestionables.

|

En el caso de los organismos de crecimiento continuo y con reproducción anual, al estudiar la distribución de frecuencias de tallas y/o medidas morfométricas en una muestra poblacional poco selectiva, se tienen cohortes (grupos de organismos con edad semejante), que al graficarlas producen una distribución multimodal, donde cada moda representa una cohorte. En Ictiología y Biología Pesquera, se utiliza el análisis de frecuencia de tallas y se aplican procedimientos que permiten separar las diferentes cohortes de edad mezcladas en la población de donde proviene la muestra (Salgado Ugarte *et al.*, 2005), obteniendo así campanas gaussianas para cada cohorte (componente individual en la distribución mezclada), para el uso eficiente de estadística paramétrica. Sin embargo, este análisis de frecuencia de tallas requiere de un gran número de individuos (al menos cientos) capturados en un intervalo corto de tiempo para que se obtengan resultados satisfactorios.

Existen métodos tradicionales para evaluar el dimorfismo sexual comparando la media, mediana, análisis de mezcla finita, método de momentos e índice binomial de dimorfismo (Kościński y Pietraszewski, 2004). Además, existen herramientas de estadística multivariada, que ofrecen la opción de analizar un gran número de variables. Algunos ejemplos son las pruebas de T^2 de Hotelling, Análisis de Componentes Principales, Análisis Discriminantes y Análisis Multivariado de Covarianza, entre otros. A pesar de que existe una amplia gama de opciones y métodos para la evaluación del dimorfismo sexual, el estudio en serpientes se ha limitado a la simple comparación de medias (Shine, 1994). Sin duda en algunos casos el dimorfismo sexual reportado es reflejo de un patrón real, pero, en términos estadísticos, sería posible rechazar una hipótesis nula verdadera (error de tipo uno) o bien aceptarla siendo falsa (error de tipo dos) y que en algunos reportes de dimorfismo sexual no se refleje una verdad. Al utilizar las diversas herramientas estadísticas y metodológicas existentes, podemos determinar el nivel de influencia sobre los resultados de acuerdo con las pruebas utilizadas y tener un mayor sustento matemático-estadístico al evaluar el dimorfismo sexual.

Forma

La forma se define como una descripción geométrica del espacio ocupado por el objeto, según lo determinado por su límite exterior y sin tener en cuenta su ubicación y orientación en el espacio (Kendall, 1984) que se ha estudiado como otra expresión del dimorfismo sexual. En

este aspecto contamos con la morfometría tradicional y la morfometría geométrica. Esta última no se limita a la obtención de datos lineales, como medidas de alto o ancho, medidas que carecen de precisión al no considerar la riqueza de los datos geométricos (Toro-Ibacache, *et al.*, 2010). Por lo tanto, la integración del análisis geométrico de la forma proporciona más información que sólo la comparación de medidas de longitud corporal. Sin embargo, usando morfometría tradicional, se pueden utilizar medidas geométricas para dar un acercamiento más real a la forma y dimensiones corporales (Mossiman, 1970). Esta definición proporciona una idea de la dirección que deben seguir los procedimientos matemáticos-fundamentalmente geométricos, para llevar a cabo el análisis de la forma (Toro-Ibacache, *et al.*, 2010). Este es el punto donde la morfometría tradicional basada en medidas lineales en conjunto estadística univariada se ven limitadas, ya que solo se considera solamente un número y no la geometría o forma del objeto (Toro-Ibacache, *et al.*, 2010, Jaramillo, 2011).

La morfometría geométrica es la rama que se ha especializado en el estudio de la forma. Utilizando la definición de Kendall (1977) la cual dice que la forma es toda la información geométrica que resulta de retirar los efectos de la posición, escala y rotación de un objeto. La morfometría geométrica es entonces, el estudio de la variación de las conformaciones biológicas y su covariación con otras variables (Jaramillo, 2011; Adams, *et al.*, 2004; Rohlf y Marcus, 1993). La morfometría tradicional utiliza las distancias lineales entre dos puntos anatómicos, las cuales se traducen en el papel en cifras, perdiendo su relación con la forma biológica. Por el contrario, la morfometría geométrica conserva a través de los diferentes procesos analíticos la posición espacial relativa de los puntos anatómicos, cuya unión da la configuración geométrica de los organismos (Jaramillo, 2011).

Un individuo tiene un tamaño que es producto no sólo de su ontogenia sino de la interacción genética particular que fue heredada de sus padres. Las poblaciones al igual que las especies, también tienen atributos de tamaño propios, los cuales están codificados en los alelos que portan. El tamaño de los individuos de una especie fluctúa en un intervalo específico (Jaramillo, 2011), por lo cual el evaluar la forma pura de los individuos nos reduce en gran medida la variación permitiendo ver otro tipo de patrones. Recordemos que para atribuir el dimorfismo sexual originado por divergencia de nicho ecológico se deben cumplir ciertos

|

criterios (estructuras completamente tróficas y evaluar la forma y no el tamaño). Con relación a lo anterior, si queremos determinar la existencia de dimorfismo sexual por divergencia de nicho ecológico, debemos analizar la forma de la cabeza de las serpientes con la morfometría geométrica y limitar los puntos de análisis en la sección media de la cabeza. Esto último con el fin de disminuir los efectos de la plasticidad motora que se presenta en la cabeza de los ofidios.

Medidas del cuerpo

Generalmente en los estudios sobre dimorfismo sexual en las serpientes, solo se han utilizado un par de medidas morfométricas lo cual nos lleva a la pregunta ¿Será suficiente el uso de medidas lineales? En principio es insuficiente ya el cuerpo de todo organismo está compuesto por tres dimensiones. Si lo analizamos desde el punto de vista geométrico, cada dimensión está estrechamente relacionada con las demás; al afectar una dimensión, el volumen tamaño y forma se ven influenciados significativamente. Sin embargo, el cuerpo de los organismos responde a principios fisiológicos y funcionales por lo cual no puede haber una exageración en la dimensión del cuerpo. No obstante, el uso de una sola medida lineal puede ser no basta para describir apropiadamente el dimorfismo sexual. El uso de índices que representen el cuerpo en su totalidad puede ser una gran herramienta para la descripción y evaluación del dimorfismo sexual, tal como ocurre con los índices de condición utilizados para los estudios de reproducción (Gómez-Márquez *et al.*, 2016). Es necesario tener en cuenta algunos aspectos ecológicos que afectan los cuerpos de las serpientes. Se ha mencionado la posibilidad de que distintas causas próximas estén teniendo un efecto significativo en el dimorfismo sexual: la temperatura, la precipitación, la disponibilidad y tamaño de presas y hábitat (Slatkin, 1984). Si bien es de esperar que factores de la historia de vida afecten el crecimiento de los individuos, estas variaciones siempre existen entre los individuos y el ambiente.

En el caso específico del tamaño de las presas, existen diversos estudios que mencionan que puede ser un factor que influye de manera significativa en el tamaño del cuerpo de las serpientes, es decir a mayor tamaño de las presas, mayor es el tamaño promedio de las serpientes (Forsman, 1991, Keogh, *et al.*, 2005). El tamaño de las serpientes es una limitante cuando se trata de la capacidad de ingestión de presas (Shine, 1991), por lo cual es lógico pensar que sea la principal causa próxima de variación del tamaño del cuerpo en serpientes y por lo tanto una

|

causa del dimorfismo sexual. Sin embargo, existen diversos reportes donde el dimorfismo sexual aparece desde el nacimiento por lo cual es atribuido a un origen genético (Schuett, *et al.*, 2005; Shine, 1991), dejando de lado este aspecto como fuente de influencia sobre el dimorfismo sexual, en tal caso solo podría atribuirse a una diferencia poblacional.

Debemos recordar en cuanto a las distintas fuerzas a las que se les atribuye el origen del dimorfismo sexual que se tiene evidencia en la forma de la cabeza a la divergencia de nicho, en el volumen del tronco del cuerpo a la selección por fecundidad, en el tamaño total a la selección sexual, en las trayectorias de crecimiento y en la talla de madurez sexual a los costos de reproducción. En este estudio se siguen principalmente dos líneas de investigación: a) la edad, el crecimiento y la longevidad de las serpientes como reflejo de los costos de reproducción, son los principales factores que influyen sobre el dimorfismo sexual; y b) existe dimorfismo sexual de diferentes orígenes coexistiendo al mismo tiempo en las serpientes.

Antecedentes

Se ha descrito el dimorfismo sexual en las serpientes en diversas partes del cuerpo con un origen independiente a cada uno de ellos: la selección sexual con una mayor longitud del cuerpo en machos (Shine, 1994), la selección por fecundidad con el volumen del tronco del cuerpo de hembras (Madsen y Shine, 1994), diferencias en la forma de la cabeza, originadas por divergencia de nicho (Shaw *et al.*, 2004, Shine, 1989) y costos de reproducción viéndose reflejado en las trayectorias de crecimiento (Madsen y Shine 1994). En teoría, las fuerzas que moldean los cuerpos de los ofidios no son excluyentes. Estas podrían coexistir cada una favoreciendo la misma característica, pero en sexos distintos. Ya que hasta el momento la evidencia apunta a que las serpientes son polígamas y la poligamia es principal motor del dimorfismo sexual, se considera que los resultados que muestran una falta de dimorfismo sexual en las serpientes provienen de un análisis incompleto (Feriche *et al.*, 1993). Los resultados de ausencia de dimorfismo sexual pueden estar relacionados con la forma en la que se evalúa el dimorfismo sexual. La forma más común de evaluar el dimorfismo sexual en serpientes ha sido a través de la comparación de medias de dimensiones corporales (ver Shine, 1994). Otra manera es con el uso de modelos de crecimiento que permiten comparar las trayectorias de crecimiento entre sexos, tomando en cuenta la edad y el tamaño de los individuos (Castanet, 1994; Brito y Rebelo, 2003). Otra herramienta poco explorada es el uso de índices morfométricos.

En 1970, Mossiman utilizó la tradicional media geométrica obtenida de diferentes dimensiones corporales para el estudio de la alometría, procedimiento que fue conocido después como el “Método de Mossiman” el cual se ha utilizado para la descripción de ecomorfos y considerado como uno de los precursores de la morfometría geométrica. La morfometría geométrica ha llevado más lejos esta idea desarrollando toda una rama que podría considerarse perteneciente tanto a la morfometría como a la estadística. Con esta herramienta, el análisis de la forma y la importancia de esta ha generado una notable cantidad de estudios sobre el tema. Lovich y Gibbons (1992) propusieron un índice con el cual se puede cuantificar el dimorfismo sexual mediante un cociente resultado de la división del promedio de talla del sexo más grande entre el promedio de talla del sexo más pequeño. Ese mismo año Shine y Charnov (1992)

sugirieron el uso potencial de los modelos de crecimiento con los cuales se pueden calcular aspectos importantes de la biología de los reptiles Squamata como lo es el dimorfismo sexual.

Ferliche *et al.* (1993) toma en cuenta más que solo las longitudes de las partes del cuerpo de las serpientes incluyen diámetros corporales con el uso de análisis discriminantes obtuvieron monomorfismo sexual en una de las especies analizadas. Este resultado es atribuido a una falta de potencia del análisis realizado. Anteriormente, Shine (1991) había realizado un análisis volumétrico utilizando la fórmula de un cilindro para evaluar el dimorfismo sexual en serpientes, donde se mostró el interés en refinar el análisis del dimorfismo sexual. Para esto es necesario tomar en cuenta que el dimorfismo sexual puede tener diversos orígenes y estos actúan en diferentes partes del cuerpo, por lo que hay que analizarlo de manera independiente (Pincheira-Donoso y Hun, 2017). Existe una tendencia general a profundizar en el análisis del dimorfismo sexual en algunos grupos como los anuros (Hayek y Heyer, 2005) e incluso en los homínidos (Kościński y Pietraszewski, 2004), donde los resultados sobre dimorfismo sexual presentan un alto grado de incertidumbre, integrando diferentes métodos para la evaluación del dimorfismo sexual buscando disminuir de manera significativa la incertidumbre.

Especies de estudio

Se escogieron las especies de serpientes *Crotalus ravus*, *Conopsis biserialis* y *Thamnophis pulchrilatus*, debido a que las tres especies son vivíparas, y con base en lo anteriormente mencionado es de esperar que presente algún patrón de dimorfismo sexual en las tres especies a pesar de sus hábitos distintos.

Conopsis biserialis es una especie endémica de México del Eje Neovolcánico Transversal, es un colúbrido de talla pequeña, con una longitud hocico cloaca (LHC) promedio de 200 mm, ligeramente robusta, con cabeza puntiaguda generalmente de color canela, con un diseño manchado con puntos oscuros de diferente intensidad (Uribe-Peña *et al.*, 1999). La serpiente de cascabel pigmea mexicana *Crotalus ravus* es una serpiente perteneciente de vipérido endémica del centro de México de complejión robusta y alcanza los 900 mm de LHC (Greene y Campbell, 1992 y Uribe-Peña, *et al.*, 1999). *Thamnophis pulchrilatus* es una culebra listada endémica de México, con hábitos acuáticos para la búsqueda de alimento, conocida como culebra de agua, con un tamaño moderado con una LHC de 772 mm. Su distribución es irregular

|

ocupando zonas montañosas de la Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental (Dixon y Lemos-Espinal, 2010) y Faja Volcánica Transmexicana (Lazcano-Villarreal, *et al.*, 2010; García-Vázquez, *et al.*, 2009).

Justificación

El estudio simultáneo de las diferentes causas del dimorfismo sexual tales como la selección sexual, selección por fecundidad, divergencia de nicho y costos de reproducción, así como la inclusión de factores como la edad y el crecimiento son de vital importancia para la contribución significativa y confiable al conocimiento sobre la biología de las serpientes especialmente en aquellas donde existe alta incertidumbre en cuanto al dimorfismo sexual.

Hipótesis

Las especies de estudio presentan uno o diversos tipos de dimorfismo sexual originado simultáneamente por: selección sexual con cuerpos más largos en los machos, selección por fecundidad con volúmenes mayores en el tronco del cuerpo de las hembras, divergencia de nicho con formas distintas de la cabeza entre machos y hembras, y por costos de reproducción con distintas curvas de crecimiento donde los machos tienen un crecimiento más acelerado independientemente de los hábitos de la especie, debido a los efectos simultáneos de la selección sexual, selección por fecundidad divergencia de nicho y costos de reproducción.

Predicciones

- El volumen del tronco del cuerpo será significativamente mayor en hembras que en machos.
- La longitud hocico cloaca de machos será significativamente mayor en machos que en hembras.
- Se presentarán diferencias significativas en la forma de la cabeza entre los sexos.
- Los machos presentarán una mayor longitud y volumen de la cola.
- Los índices morfométricos mostrarán diferencias significativas entre machos y hembras; los machos serán de mayores dimensiones que las hembras, tanto en las pruebas tradicionales como en los modelos alométricos.
- Las curvas de crecimiento de machos y hembras se separarán al alcanzar la madurez sexual; los machos presentarán un crecimiento mayor que las hembras.

Objetivo General

Estudiar el dimorfismo sexual en serpientes desde diversas aproximaciones teniendo un contraste entre las diversas metodologías, principalmente a los modelos de crecimiento y los métodos tradicionales (comparación de medias) con el fin de disipar las dudas sobre la presencia del dimorfismo sexual en ofidios.

Objetivos particulares

- Evaluar el dimorfismo sexual en *Conopsis biserialis*, *Crotalus ravus* y *Thamnophis pulchrilatus* mediante procedimientos tradicionales con diversas aproximaciones (longitud, volumen y forma).
- Utilizar índices morfométricos como herramienta para el estudio del dimorfismo sexual en *Conopsis biserialis*, *Crotalus ravus* y *Thamnophis pulchrilatus*.
- Estimar la edad y el crecimiento para la evaluación del dimorfismo sexual en *Conopsis biserialis*, *Crotalus ravus* y *Thamnophis pulchrilatus*.

Método

Los datos se obtuvieron consultando las siguientes colecciones biológicas: Colección Herpetológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM, Colección herpetológica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, Colección Herpetológica de la Escuela de Biología de la BUAP y la Colección Herpetológica del Centro de Investigaciones Biológicas de UAEH (Tabla 1). Los organismos fueron colocados sobre una placa de referencia milimétrica y se tomaron fotografías de alta resolución con una cámara digital (Nikon D300 con un lente AF-s dx NIKKOR VR 18-55mm 1 3.5-5.6 G II), a una distancia de 50 cm de distancia para el cuerpo entero, y a 30 cm de distancia para tomar fotografías de la cabeza y de la cola sobre una base graduada en milímetros.

Las fotografías tienen un tamaño de 4000 x 6000 píxeles con una resolución de 300 x 300 ppp (JPG). Se utilizó una sonda para diferenciar machos de hembras (Schaefer, 1934). Los adultos fueron separados de los juveniles utilizando los criterios de Castañeda-González *et al.* (2011) para *Conopsis biserialis* (adultos ≥ 185 mm de longitud hocico-cloaca), y de (Crisóstomo-Pérez, 2016) para *Crotalus ravus* (adultos ≥ 387 mm de longitud hocico-cloaca), Para el caso de *Thamnophis pulchiriatus*, no se obtuvo suficiente información sobre su talla de madures sexual. Se consideraron únicamente a los animales completos, descartando los organismos que presentaron signos de emaciación o de otra señal de degradación de la condición corporal, deshidratación o descomposición del ejemplar. Se analizaron las fotografías utilizando el software ImageJ v1. 52a (Schneider *et al.*, 2012) con configuración estándar. Se tomaron las siguientes medidas corporales: I) LHC = Longitud hocico cloaca (desde la punta del hocico hasta la cloaca); II) LCOL = Longitud de la cola (desde la cloaca hasta el final de la cola, en el caso de *Crotalus ravus* no se tuvo en cuenta el cascabel); III) ACAB = Ancho de la cabeza (después de las placas dorsales de la cabeza, en la parte más ancha de la cabeza); IV) LCAB= Longitud de la cabeza (desde la punta del hocico hasta la parte posterior de los huesos de la mandíbula); V) DIO = Distancia Interocular (al nivel de las escamas preoculares); VI) AMCA = Ancho Medio de la Cabeza (al final de la escama frontal); VII) NUC = Ancho de la Nuca (después de los huesos de la mandíbula); VIII) AMC = Ancho de la sección media del cuerpo

(a la mitad de la longitud hocico-cloaca); IX) APFC = Ancho de la parte final del Cuerpo (al nivel de la quinta escama ventral antes de la cloaca); y X) ACOL = Ancho de la Cola (al nivel de la quinta escama ventral después de la cloaca); y XI) LT = Longitud Total longitud total (desde la punta del hocico hasta la cola final, en el caso de *Crotalus ravus* no se tomó en cuenta el cascabel. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software “Stata” v.16.0 (StataCorp. 2016).

Tabla 1: Número de organismos por colección herpetológica

Colección Herpetológica	<i>Conopsis biserialis</i>		<i>Crotalus ravus</i>		<i>Thamnophis pulchiratus</i>	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
FES Zaragoza, UNAM	23	30	6	11	5	5
EB, BUAP	0	0	18	6	0	0
CIB, UAEH	0	0	1	0	3	1
ENCB, IPN	8	11	6	7	16	11

FES = Facultad de Estudios Superiores; UNAM = Universidad Nacional Autónoma de México; EB = Escuela de Biología; BUAP = Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; CIB = Centro de Investigaciones Biológicas; UAEH = Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; ENCB = Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; IPN = Instituto Politécnico Nacional.

Análisis de localidad

Con el objetivo de evaluar la influencia de la variación geográfica de los rasgos morfológicos, se utilizaron los valores de temperatura y precipitación anual del sitio de colecta recuperados de las capas de WorldClim (2019); los valores de altitud se obtuvieron del programa Google Earth. Inicialmente, se realizó un análisis de covarianza con interacción entre factores (sexo) y covariable (temperatura, precipitación, altitud). Si la interacción no fue significativa se utilizó el ANCOVA el resultado sin interacción (respuesta con factor y covariable). Para este análisis se utilizaron únicamente individuos adultos.

Aproximación del tamaño del cuerpo

Para evaluar el dimorfismo sexual en tamaño, se utilizaron solo individuos adultos aplicando los siguientes procedimientos: en primer lugar, se aplicaron procedimientos estadísticos multivariantes (prueba de T^2 de Hotelling, análisis multivariante de covarianza (MANCOVA) y análisis discriminante) incluyendo el total de medidas morfológicas y el sexo

como variable de agrupación; posteriormente, para observar la tendencia de cada variable morfométrica en relación con el sexo se aplicaron : prueba t de Student (para cada caso se aplicó una prueba de igualdad de varianzas para determinar si la prueba t sería para muestras con varianzas iguales o diferentes), análisis de covarianza (ANCOVA) y prueba de Kolmogorov-Smirnov para comparación de distribuciones .

Aproximación de la forma de la cabeza

Para analizar la forma de la cabeza se consideraron 14 puntos de referencia (landmarks) para ello se utilizaron las escamas de la región central de la cabeza. Para digitalizar los landmarks, se empleó la rutina del programa tpsUtil32 (Rohlf, 2019) para construir el archivo TPS que luego utilizó el software TPSdig123 (Rohlf, 2019). Para evaluar el dimorfismo sexual de la forma, se aplicaron los siguientes pasos: la alineación de coordenadas se realizó a través del análisis general de Procrustes para objeto simétrico (La teoría del análisis de Procrustes es un conjunto de herramientas matemáticas de mínimos cuadrados para estimar directamente y realizar transformaciones de semejanza simultáneas entre los puntos de coordenadas de un modelo matricial hasta su ajuste máximo. (según Devrim, 2003, Se evita la definición y la solución de los sistemas clásicos de ecuaciones normales): se realizó un análisis de función discriminante con 1000 permutaciones utilizando el programa “Morpho J” (Klingenberg 2011). Como la forma de la cabeza está relacionada con la dieta (Vincent *et al.*, 2004) y la dieta cambia con el desarrollo de la serpiente (Mociño-Deloya *et al.*, 2015) comparamos de forma independiente juveniles y adultos de cada sexo para reconocer la existencia de diferencias significativas entre ellos y decidir si se combinan o no ambos grupos de edad por sexo.

Alometría: relación longitud-volumen

Para estimar el volumen del cuerpo de las serpientes, Shine (1991) usó la fórmula del cilindro (aproximaciones del cilindro). Debido a que el cuerpo de las serpientes no tiene un ancho único (como un tubo) y para obtener un resultado más preciso, dividimos el cuerpo de la serpiente en dos partes: el tronco y la cola. El volumen del tronco del cuerpo (VT) fue calculado considerando dos conos truncos, y el volumen de la cola (VCol) usando la fórmula de un cono, aplicando las siguientes fórmulas:

$$VT = \left(\frac{1}{3} \pi \frac{LHC}{2} \left(\frac{NUC^2}{2} + \frac{AMC^2}{2}\right) + \left(\frac{NUC}{2} * \frac{AMC}{2}\right)\right) + \left(\frac{1}{3} \pi \frac{LHC}{2} \left(\frac{AMC^2}{2} + \frac{APFC^2}{2}\right) + \left(\frac{AMC}{2} * \frac{APFC}{2}\right)\right)$$

$$VCol = \frac{\pi \frac{ACOL}{2} LCOL}{3}$$

Posteriormente, se estimaron las curvas individuales de crecimiento relativo mediante las relaciones alométricas Volumen- Tamaño (Volumen del tronco corporal - Longitud hocico cloaca y Volumen de la cola - Longitud hocico cloaca) de machos y hembras mediante regresión no lineal y comparamos sus vectores de parámetros con una prueba multivariada de T^2 de Hotelling modificada para comparar los dos parámetros de la función alométrica potencial (Bernard, 1981; Salgado-Ugarte, *et al.*, 2005; Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020).

Exploración por índices morfométricos

Se escogieron la media geométrica, armónica y heroniana para realizar aproximación de forma, tamaño y volumen respectivamente, este fue el único caso en el cual fue viable pudieron aplicar análisis a la culebra de agua *Thamnophis pulchiratus*. Se utilizaron las siguientes fórmulas para calcular los índices morfométricos:

Media Geométrica

$$MG = \sqrt[11]{LHC * LCOL * ACAB * LCAB * LT * DIO * AMCA * NUC * AMC * APFC * ACOL}$$

Media Armónica

MA

$$= \frac{11}{\frac{1}{LHC} + \frac{1}{LCOL} + \frac{1}{ACAB} + \frac{1}{LCAB} + \frac{1}{LT} + \frac{1}{DIO} + \frac{1}{AMCA} + \frac{1}{NUC} + \frac{1}{AMC} + \frac{1}{APFC} + \frac{1}{ACOL}}$$

Media Heroniana

$$\begin{aligned} MH & \\ &= \frac{2}{3} \\ & * \frac{LHC + LCOL + ACAB + LCAB + LT + DIO + AMCA + NUC + AMC + APFC + ACOL}{2} \\ & + \frac{1}{3} * \sqrt{LHC * LCOL * ACAB * LCAB * LT * DIO * AMCA * NUC * AMC * APFC * ACOL} \end{aligned}$$

Se realizaron pruebas de homocedasticidad y comparación univariada de medias (*t* de Student). Adicionalmente se calcularon modelos de las medias con la longitud total los cuales se ajustaron mediante regresión no lineal.

Edad

Debido a que las serpientes no presentan características externas que reflejen la edad se recurrió a la osteocronología. Para lo cual se utilizaron dos costillas de la región media del cuerpo obtenidas a través de una cuidadosa disección desde la región peritoneal con el fin alterar en lo mínimo a los especímenes. Las muestras óseas fueron colocadas en frascos criogénicos de tapa rosca con capacidad de 2 ml y fijadas con alcohol etílico al 70%. Para su corte y tinción se siguieron los siguientes pasos:

- Limpieza: retirando la mayor cantidad de carne y tejidos.
- Descalcificación: mediante la inclusión en ácido nítrico a una concentración del 5% durante un periodo de 4 horas.
- Fijación: con una solución de alcohol 96%-Xilol en partes iguales durante 24 horas.
- Inclusión: en resina poliéster tipo cristal usando una proporción de 30 gotas de catalizador por cada 50 ml de resina y se dejaron secar por un periodo mínimo de 72 horas.
- Corte: usando una cortadora circular con doble cuchilla separada por 1 mm.

- Pulido: sin dejar que la costilla se deshidrate, el corte es pulido con una lija de agua del número 2500, quitando las marcas generadas por las cuchillas.
- Tinción: los cortes (secciones) se tiñeron con una solución de Hematoxilina de Harris durante 4 minutos.
- Lavado: con agua destilada durante 5 minutos.
- Montaje: los cortes se montaron en un portaobjetos y se cubrieron con un sellador comercial de nitrocelulosa.

Este método se desarrolló utilizando como referencia los utilizados por Smirina (1985), Wayne y Gregory (1998), y McCreary *et al.* (2008).

Los cortes se observaron con un microscopio óptico Zeigen 36XAL 10X equipado con una cámara digital y con el uso del programa ImageJ v1.52aa (Schneider *et al.*, 2012) se midieron los radios de los anillos de crecimiento (Anulli).

Modelos de Crecimiento

Se exploró la relación entre el número de anillos en la costilla con las tallas de los individuos. Se verificó (por regresión y coeficientes de determinación) la relación talla del cuerpo (LHC) – tamaño de estructura (radio de la estructura ósea seleccionada desde el centro hasta el margen) y se realizó el retro-cálculo de las longitudes a las cuales se produjeron marcas anteriores al borde, se siguió el método propuesto por Ricker (1968). Estos procedimientos se realizaron de manera independiente para machos y hembras de cada especie. Se utilizó la corrección para recuperar los anillos perdidos propuesta por (Griebeler *et al.*, 2013) a causa del crecimiento del espacio de la médula ósea en la región central de la costilla.

Con las edades y tamaños estimados se ajustaron los modelos de crecimiento. Para el modelo de von Bertalanffy. Los parámetros L_{∞} , P_{∞} , k y t_0 se estimaron por los métodos de Ford-Walford, Gulland, Beverton y Holt, así como directamente por regresión no lineal (Salgado-Ugarte *et al.*, 2005; Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020). Para el cálculo de las curvas Logística y Gompertz se utilizó la regresión no lineal (Salgado-Ugarte *et al.*, 2005). Adicionalmente se calcularon el criterio de Información de Akaike (Ogle, 2006) y el criterio de información Bayesiano (Schwarz, 1978). Se compararon las trayectorias de crecimiento entre

|

sexos del modelo matemático que mejor se ajustó, mediante la prueba multivariada de T^2 de Hotelling (Bernard, 1981) con las correcciones y adecuaciones señaladas por Headrick y Margraf (1982) y consideradas por Salgado-Ugarte *et al.* (2005) y Salgado-Ugarte y Saito-Quezada (2020).

Resultados

El caso de la especie *Thamnophis pulchrilatus* no se encontró suficiente evidencia en literatura ni suficientes organismos que permitieran realizar todos los análisis con el rigor que se pretendía por eso se omite en diversos análisis.

Análisis de localidad

Los individuos de *Conopsis biserialis* procedían de una localidad de Huitzilac, Estado de Morelos, México. Se obtuvieron 53 organismos; por lo tanto, no se pudo aplicar el análisis de covarianza.

Las serpientes de cascabel *Crotalus ravus* provinieron de dieciséis sitios. Se obtuvieron 54 individuos. Las pruebas ANCOVA no presentaron interacciones significativas entre el sexo y todas las variables climáticas, excepto el ancho final del cuerpo con la altitud (Tabla: 2).

Las serpientes *Thamnophis pulchrilatus* provienen de 14 municipios (n =37). No se encontraron interacciones entre las medidas corporales y las variables de temperatura, precipitación y altitud, en conjunto no se encontraron diferencias significativas entre los sexos (Tabla: 3).

Tabla 2: Análisis de covarianza para las medidas morfométricas de *Crotalus ravus* por sexo con temperatura, precipitación media anual (precipitación) y valores de altitud de las localidades de origen como covariables (Grados de libertad = 21)

Variable	Valores de p			
	Interacción	Temperatura	Sexo	Media machos/hembras (mm)
LHC	0.150	0.362	0.014*	592.21 / 468.58
LCOL	0.937	0.257	0.027*	51.98 / 38.11
ACAB	0.170	0.390	0.023*	23.76 / 19.51
LCAB	0.285	0.728	0.013*	35.43 / 29.23
LT	0.899	0.936	0.076	644.20 / 544.05
DIO	0.188	0.456	0.196	11.47 / 10.37
AMCA	0.220	0.586	0.027*	22.69 / 18.67
NUC	0.259	0.581	0.234	15.22 / 13.07
AMC	0.280	0.030*	0.746	28.71 / 26.51
APFC	0.078	0.260	0.296	13.82 / 14.19
ACOL	0.146	0.330	0.046*	10.50 / 8.13
	Precipitación			
LHC	0.458	0.186	0.008*	592.21 / 468.58
LCOL	0.162	0.017*	0.010*	51.98 / 38.11
ACAB	0.896	0.465	0.014*	23.76 / 19.51
LCAB	0.603	0.177	0.014*	35.43 / 29.23
LT	0.150	0.579	0.071*	644.20 / 544.05
DIO	0.700	0.600	0.278	11.47 / 10.37
AMCA	0.284	0.414	0.019*	22.69 / 18.67
NUC	0.570	0.929	0.175	15.22 / 13.07
AMC	0.772	0.302	0.461	28.711 / 26.51
APFC	0.715	0.649	0.421	13.82 / 14.19
ACOL	0.438	0.382	0.027*	10.50 / 8.13
	Altitud			
LHC	0.262	0.377	0.018*	592.21 / 468.58
LCOL	0.759	0.142	0.037*	51.98 / 38.11
ACAB	0.559	0.238	0.031*	23.76 / 19.51
LCAB	0.305	0.238	0.031*	35.43 / 29.23
LT	0.688	0.869	0.070	644.20 / 544.05
DIO	0.164	0.432	0.184	11.47 / 10.37
AMCA	0.255	0.378	0.037*	22.69 / 18.67
NUC	0.290	0.480	0.271	15.22 / 13.07
AMC	0.189	0.031*	0.859	28.711 / 26.51
APFC	0.039*	0.047*	0.025*	13.82 / 14.19
ACOL	0.146	0.330	0.043*	10.50 / 8.13

LHC: Longitud hocico cloaca; LCOL: Longitud de la cola; ACAB: Ancho de la cabeza; LCAB: Longitud de la cabeza; DIO: Distancia Interocular; AMCA: Ancho Medio de la cabeza; NUC: Ancho de la Nuca; AMC: Ancho de la sección media del cuerpo; APFC: Ancho de la parte final del Cuerpo; ACOL: Ancho de la Cola; LT : Longitud Total.

Tabla 3: Análisis de covarianza para las medidas morfométricas de *Thamnophis pulchrilatus* por sexo con temperatura, precipitación media anual (precipitación) y valores de altitud de las localidades de origen como covariables (Grados de libertad = 9).

Variable	Interacción	Valores de <i>p</i>			Media machos / hembras (mm)
		Temperatura	Sexo		
LHC	0.557	0.059	0.922	434.06 / 440.14	
LCOL	0.950	0.916	0.747	88.40 / 96.06	
ACAB	0.542	0.604	0.961	12.07 / 12.10	
LCAB	0.666	0.347	0.745	18.01 / 18.86	
LT	0.751	0.515	0.873	523.05 / 517.94	
DIO	0.926	0.955	0.352	6.10 / 6.82	
AMCA	0.674	0.614	0.936	12.13 / 12.35	
NUC	0.562	0.684	0.736	10.64 / 10.12	
AMC	0.537	0.561	0.882	15.01 / 14.51	
APFC	0.336	0.367	0.874	9.21 / 9.90	
ACOL	0.268	0.407	0.715	5.68 / 6.43	
Precipitación					
LHC	0.320	0.175	0.922	434.06 / 440.14	
LCOL	0.518	0.526	0.747	88.40 / 96.06	
ACAB	0.641	0.797	0.961	12.07 / 12.10	
LCAB	0.956	0.128	0.745	18.01 / 18.86	
LT	0.688	0.001	0.873	523.05 / 517.94	
DIO	0.956	0.823	0.352	6.10 / 6.82	
AMCA	0.559	0.953	0.936	12.13 / 12.35	
NUC	0.586	0.664	0.736	10.64 / 10.12	
AMC	0.786	0.799	0.882	15.01 / 14.51	
APFC	0.675	0.815	0.874	9.21 / 9.90	
ACOL	0.829	0.592	0.715	5.68 / 6.43	
Altitud					
LHC	0.485	0.057	0.922	434.06 / 440.14	
LCOL	0.880	0.916	0.747	88.40 / 96.06	
ACAB	0.414	0.480	0.961	12.07 / 12.10	
LCAB	0.680	0.364	0.745	18.01 / 18.86	
LT	0.999	0.312	0.873	523.05 / 517.94	
DIO	0.857	0.940	0.352	6.10 / 6.82	

AMCA	0.618	0.500	0.936	12.13 / 12.35
NUC	0.407	0.483	0.736	10.64 / 10.12
AMC	0.317	0.482	0.882	15.01 / 14.51
APFC	0.174	0.426	0.874	9.21 / 9.90
ACOL	0.121	0.426	0.715	5.68 / 6.43

LHC: Longitud hocico cloaca; LCOL: Longitud de la cola; ACAB: Ancho de la cabeza; LCAB: Longitud de la cabeza; DIO: Distancia Interocular; AMCA: Ancho Medio de la cabeza; NUC: Ancho de la Nuca; AMC: Ancho de la sección media del cuerpo; APFC: Ancho de la parte final del Cuerpo; ACOL: Ancho de la Cola; LT : Longitud Total.

Aproximación del tamaño del cuerpo

Para el caso de *Conopsis biserialis* se obtuvieron 53 serpientes (40 Adultos: 17 machos y 23 hembras; 13 juveniles: 7 machos y 6 hembras). La prueba multivariada de T^2 de Hotelling mostró diferencias significativas entre sexos ($T^2 = 382.726$, $F = 28.389$, $gl = 11, 27$, $p = 0.000$). Pruebas univariadas de t de Student señalaron diferencias en la longitud de la cola ($t = 10.05$, $gl = 38$, $p < 0.01$), longitud total ($t = 2.394$, $gl = 38$, $p = 0.021$) y distancia inter ocular ($t = 2.797$, $gl = 38$, $p < 0.01$) (Tabla 3). La prueba de Kolmogorov - Smirnov mostró distribuciones similares entre los sexos a excepción de la longitud de la cola ($D = 0.913$, $D_{\infty} < 0.01$), distancia inter ocular ($D = 0.519$, $D_{\infty} = 0.005$) y la longitud total ($D = 0.485$, $D_{\infty} = 0.01$) (Tabla 4).

En el caso de *Crotalus ravus*, se analizaron 54 serpientes (32 Adultos: 19 machos y 13 hembras; 22 juveniles: 11 machos y 11 hembras). La prueba multivariada de T^2 de Hotelling arrojó diferencias significativas entre sexos ($T^2 = 47.434$, $F = 2.825$, $gl = 11, 19$, $p = 0.022$). La prueba univariada de t de Student mostró diferencias significativas entre sexos en longitud hocico cloaca ($t = 2.88$, $gl = 30$, $p < 0.01$), longitud de cola ($t = 3.723$, $gl = 30$, $p < 0.01$), ancho de cabeza ($t = 3.980$, $gl = 29$, $p < 0.01$), largo de la cabeza ($t = 3.081$, $gl = 30$, $p < 0.01$), largo total ($t = 2.891$, $gl = 30$, $p < 0.01$), ancho promedio de la cabeza ($t = 3.427$, $gl = 29$, $p < 0.01$) y ancho de cola ($t = 2.561$, $gl = 30$, $p = 0.015$) (Tabla 4). La prueba de Kolmogorov - Smirnov mostró diferencias significativas entre sexos en longitud hocico cloaca ($D = 0.554$, $D_{\infty} < 0.01$), longitud de la cola ($D = 0.664$, $D_{\infty} < 0.01$), ancho de la cabeza ($D = 0.602$, $D_{\infty} < 0.01$), longitud de la cabeza ($D = 0.534$, $D_{\infty} < 0.01$), longitud total ($D = 0.554$, $D_{\infty} < 0.01$), anchura media de

la cabeza ($D = 0.568$, $D_{\infty} < 0.01$) distribuciones y anchura de la cola ($D = 0.461$, $D_{\infty} = 0.041$) (Tabla 4).

Tabla 4: Pruebas de comparación (machos-hembras) de desviación estándar y medias para *Conopsis biserialis* y *Crotalus ravus*. * indica significancia estadística, entre paréntesis los grados de libertad (*gl*).

	<i>Conopsis biserialis</i>				<i>Crotalus ravus</i>			
	Prueba <i>F</i> de Fisher		Prueba <i>t</i> de Student		Prueba <i>F</i> de Fisher		Prueba <i>t</i> de Student	
	<i>F (gl)</i>	<i>p</i>	<i>t (gl)</i>	<i>p</i>	<i>F (gl)</i>	<i>p</i>	<i>t (gl)</i>	<i>p</i>
LHC	1.616 (16, 22)	0.292	0.610 (38)	0.545	2.508 (18, 12)	0.108	2.888 (30)	0.007*
LCOL	2.249 (16, 22)	0.078	10.057 (38)	0.000*	2.863 (19, 11)	0.067	3.723 (30)	0.000*
ACAB	0.582 (16, 22)	0.270	0.661 (38)	0.512	3.648 (17, 12)	0.027*	3.619 (29)	0.001*
LCAB	1.140 (16, 22)	0.762	0.725 (38)	0.472	1.514 (17, 12)	0.470	3.081 (30)	0.004*
LT	1.831 (16, 22)	0.186	2.394 (38)	0.021*	2.872 (18, 12)	0.067	2.891 (30)	0.007*
DIO	0.936 (16, 22)	0.908	2.797 (38)	0.008*	2.390 (17, 12)	0.129	1.293 (29)	0.206
AMCA	0.856 (16, 21)	0.762	1.425 (37)	0.162	3.164 (17, 12)	0.047*	3.427 (29)	0.001*
NUC	1.144 (16, 21)	0.760	-0.237 (37)	0.813	1.874 (17, 12)	0.273	1.810 (29)	0.080
AMC	1.219 (16, 21)	0.660	-0.544 (37)	0.589	1.233 (18, 12)	0.723	0.336 (30)	0.739
APFC	1.658 (16, 21)	0.275	-1.476 (37)	0.148	0.667 (18, 12)	0.425	-1.306 (30)	0.201
ACOL	0.841 (16, 21)	0.734	1.857 (37)	0.071	1.010 (18, 12)	0.987	2.561 (30)	0.015*

LHC: Longitud hocico cloaca; LCOL: Longitud de la cola; ACAB: Ancho de la cabeza; LCAB: Longitud de la cabeza; DIO: Distancia Interocular; AMCA: Ancho Medio de la cabeza; NUC: Ancho de la Nuca; AMC: Ancho de la sección media del cuerpo; APFC: Ancho de la parte final del Cuerpo; ACOL: Ancho de la Cola; LT: Longitud Total.

Tabla 5: Pruebas de Kolmogorov-Smirnov para *Conopsis biserialis* y *Crotalus ravus*; * indica significancia estadística.

Variable	<i>Conopsis biserialis</i>		<i>Crotalus ravus</i>	
	<i>D</i>	<i>D</i> _∞	<i>D</i>	<i>D</i> _∞
LHC	0.253	0.447	0.554	0.008*
LCOL	0.913	0.000*	0.664	0.001*
ACAB	0.299	0.249	0.602	0.004*
LCAB	0.225	0.602	0.534	0.013*
LT	0.485	0.010*	0.554	0.008*
DIO	0.519	0.005*	0.290	0.429
AMCA	0.291	0.287	0.568	0.007*
NUC	0.152	0.960	0.448	0.055
AMC	0.288	0.298	0.198	0.869
APFC	0.347	0.129	0.352	0.201
ACOL	0.308	0.240	0.461	0.041*

LHC: Longitud hocico cloaca; LCOL: Longitud de la cola; ACAB: Ancho de la cabeza; LCAB: Longitud de la cabeza; DIO: Distancia Interocular; AMCA: Ancho Medio de la cabeza; NUC: Ancho de la Nuca; AMC: Ancho de la sección media del cuerpo; APFC: Ancho de la parte final del Cuerpo; ACOL: Ancho de la Cola; LT : Longitud Total.

En el análisis multivariado de covarianza donde se aplicó como variables de respuesta la longitud de la cola, ancho de la cabeza, longitud de la cabeza, distancia interocular, ancho medio de la cabeza, ancho de la nuca, ancho de la sección media del cuerpo, ancho de la parte final del cuerpo y ancho de la cola, como la variable covariante la longitud hocico cloaca y el sexo como variable categórica para *Conopsis biserialis* (n= 39) mostró diferencias significativas entre sexos ($F = 10$, $gl = 27$, $p < 0.01$). El análisis univariado de covarianza mostró diferencias significativas entre sexos en longitud de la cola ($F = 250.98$, $gl = 38$, $p < 0.01$), longitud total ($F = 241.21$, $gl = 38$, $p = 0,000$), distancia interocular ($F = 9.33$, $gl = 38$, $p < 0.01$) y ancho de la parte final del cuerpo ($F = 4.80$, $p = 0.034$) (Tabla 6). En *Crotalus ravus* (n = 31) en el análisis multivariado de covarianza no se encontraron diferencias significativas entre sexos ($F = 1.82$, $gl = 28$, $p = 0.126$). Las pruebas univariadas mostraron diferencias significativas en la longitud de la cola ($F = 5.59$, $gl = 31$, $p < 0.01$) y ancho de la parte final del cuerpo ($F = 7.99$, $gl = 31$, $p < 0.01$) (Tabla 6). El análisis discriminante con la combinación que logro la mejor separación de los sexos *Crotalus ravus* se obtuvo con la longitud hocico cloaca, la longitud de la cola, el ancho de la cola, la longitud total, la distancia interocular y el ancho medio del cuerpo (Tabla

7). En *Conopsis biserialis* el análisis discriminante con la mejor separación de sexos se obtuvo con longitud de la cola, ancho interocular, ancho promedio de la cabeza, ancho medio del cuerpo y ancho de la cola (Tabla 7).

Tabla 6: Análisis de Covarianza: Como variable categórica el sexo y como variable covariada la longitud hocico cloaca (* indica significancia estadística).

Variable	<i>Conopsis biserialis</i>			<i>Crotalus ravus</i>		
	F(gl = 38)	R ² Ajust	p	F(gl= 31)	R ² Ajust	p
LCOL	250.98	0.898	0.000*	5.59	0.4154	0.025*
ACAB	0.11	0.443	0.744	2.80	0.6105	0.105
LCAB	0.15	0.696	0.696	1.08	0.5773	0.306
LT	241.21	0.988	0.000*	0.04	0.9825	0.840
DIO	9.33	0.474	0.004*	0.16	0.2752	0.691
AMCA	1.72	0.476	0.197	2.70	0.4965	0.111
NUC	0.77	0.403	0.385	0.57	0.1252	0.455
AMC	1.33	0.330	0.255	2.04	0.2932	0.163
APFC	4.80	0.318	0.034*	7.99	0.2552	0.008*
ACOL	3.15	0.363	0.084	0.70	0.4670	0.408

LCOL: Longitud de la cola; ACAB: Ancho de la cabeza; LCAB: Longitud de la cabeza; DIO: Distancia Interocular; AMCA: Ancho Medio de la cabeza; NUC: Ancho de la Nuca; AMC: Ancho de la sección media del cuerpo; APFC: Ancho de la parte final del Cuerpo; ACOL: Ancho de la Cola; LT: Longitud Total.

Tabla 7: Análisis Discriminante para *Conopsis biserialis* con las variables longitud de la cola, distancia interocular, ancho medio de la cabeza, ancho de la sección media del cuerpo, y ancho de la cola, para *Crotalus ravus* se utilizó la longitud hocico cloaca, largo de la cola, ancho de la cola, longitud total, distancia interocular y ancho de la parte media del cuerpo.

Sexo real	<i>Conopsis biserialis</i>			<i>Crotalus ravus</i>		
	Clasificación			Clasificación		
	Machos	Hembras	Total	Machos	Hembras	Total
Machos	29	2	31	14	5	15
%	93.55	6.45	100	73.68	26.32	100
Hembras	2	38	40	1	12	10
%	5	95	100	7.6	92.31	100
Total	31	40	71	15	17	32
%	43.66	56.34	100	46.88	53.13	100

escama supra ocular y escama prefrontal del lado izquierdo y derecho respectivamente; Punto 7 y 9 intersección entre escama frontal, escama supraocular y escama parietal del lado derecho e izquierdo respectivamente; Punto 8: intersección de la escama frontal con ambas escamas parietales; Punto 10 y 11: intersección entre escama frontal, escama parietal y escama posocular, lado izquierdo y derecho respectivamente; Punto 12: último punto de contacto entre las dos escamas parietales en dirección a la cola del animal; Punto 13 y punto 14: límite máximo de escamas parietales dirección a la cola del organismo lado izquierdo y derecho respectivamente.

Alometría: Relación Longitud - Volumen

Volumen del Tronco del Cuerpo y Longitud Hocico Cloaca

Los parámetros del modelo de longitud hocico cloaca con el volumen de tronco del cuerpo en *Conopsis biserialis* no mostraron diferencias significativas ($T^2 = 7.238$; $T^2_{0.01: 3,49} = 13.140$, Fig. 2). *Crotalus ravus* no mostró diferencias significativas en los parámetros del modelo de relación alométrica en los organismos pequeños, en contraste en las serpientes de mayor tamaño se encontraron diferencias significativas ($T^2 = 58.524$; $T^2_{0.01: 3,49} = 13.140$), las curvas que muestran que el volumen del tronco del cuerpo de las hembras es mayor que el de los machos. (Fig. 2; Tabla 8).

Tabla 8. Prueba multivariada de T^2 para machos y hembras en el Volumen del tronco del cuerpo (y) – Longitud hocico cloaca (x) modelo ($y = ax^b$) en *Crotalus ravus*.

$T^2 = 58.5240$	$T^2_{0.01: 3,49} = 13.1407$	$F_{0.01: 3,49} = 4.2084$
99 % Intervalos de Confianza		F Crítica
-0.0645	$\leq a_m - a_f \geq$	0.1577
-0.9972	$\leq b_m - b_f \geq$	-0.1646
		0.7409
		8.1953

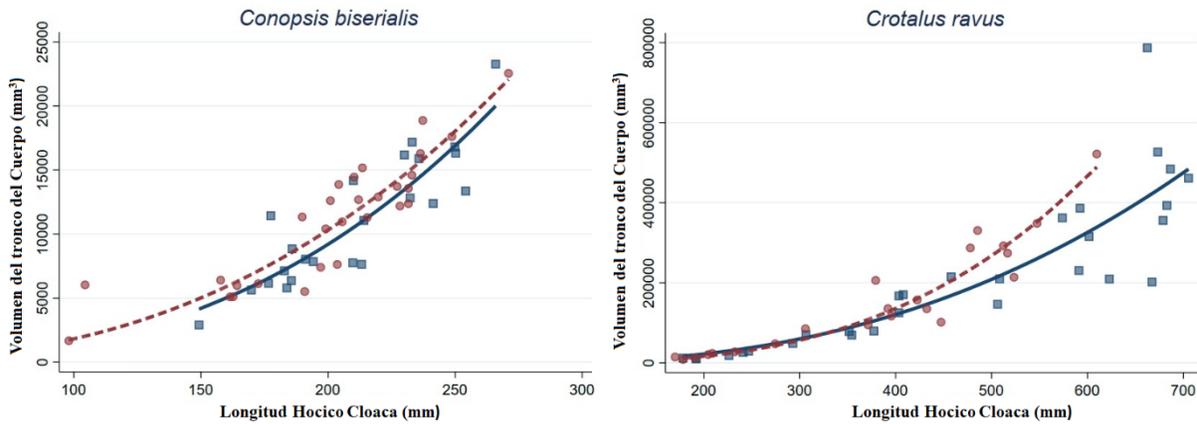


Figura 2. Relación entre el volumen del tronco del cuerpo y la longitud hocico-cloaca de *Conopsis biserialis* (izquierda) y *Crotalus ravus* (derecha); machos (cuadrados, líneas continuas), hembras (círculos, líneas punteadas).

Volumen de la Cola y Longitud Hocico Cloaca.

La culebra de tierra *Conopsis biserialis* mostró diferencias significativas en los parámetros de la función alométrica ($T^2 = 23.9093$; $T^2_{0.01; 3,48} = 13.1811$; Fig 3; Tabla 9). Para la serpiente cascabel *Crotalus ravus*, la relación entre la longitud hocico cloaca y el volumen de cola no mostró diferencias significativas entre sexos en los parámetros de la función ($T_2 = 10.5423$; $T^2_{0.01; 3,49} = 13.1407$; Tabla 9). Sin embargo, a mayor longitud los machos tendían a tener un mayor volumen de cola (Fig. 3).

Tabla 9. Prueba multivariada de T^2 para machos y hembras en el Volumen de Cola (y) Longitud Hocico cloaca (x) función alométrica ($y = ax^b$) en *Conopsis biserialis*.

<i>Conopsis biserialis</i>			
$T^2 = 23.9093$	$T^2_{0.01; 3,48} = 13.1811$	$F_{0.01; 3,48} = 4.2180$	
99 % Intervalo de Confianza		Valor crítico F	
- 0.0752	$\leq a_m - a_f \geq$	0.0327	1.3258
0.0903	$\leq b_m - b_f \geq$	0.3594	3.8473

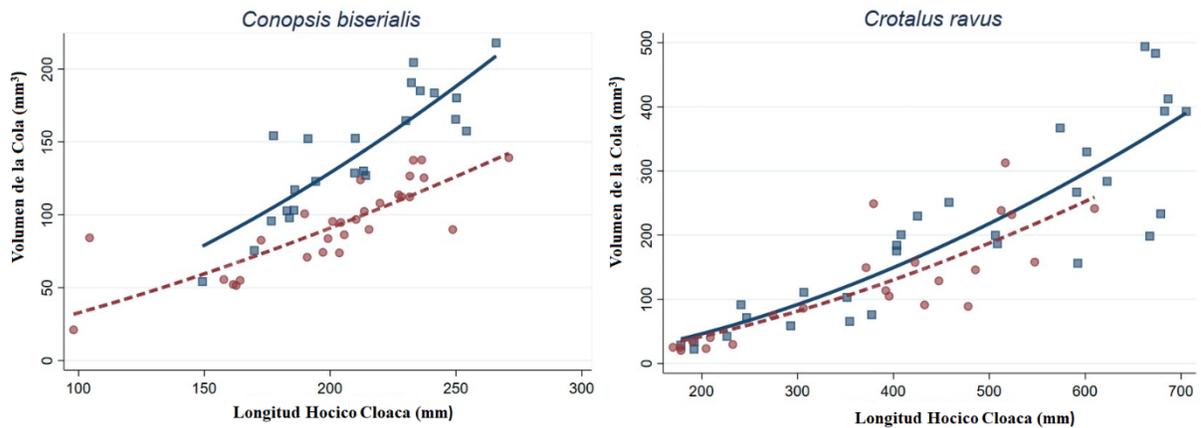


Figura 3. Relación entre el volumen de la cola y la longitud hocico-cloaca de *Conopsis biserialis* (izquierda) y *Crotalus ravus* (derecha); machos (cuadrados, líneas continuas), hembras (círculos, líneas punteadas).

Comparación mediante índices morfométricos

Para el caso de *Crotalus ravus* las comparaciones de medias como índices morfométricos para la evaluación del dimorfismo sexual mostraron diferencias significativas entre sexos en todos los índices morfométricos utilizados (Tabla 10). En el caso de *Conopsis biserialis* únicamente la media heroniana mostró diferencias significativas entre los sexos (Tabla 10). *Thamnophis pulchiratus* no mostro diferencias significativas entre sexos en ninguno de los índices morfométricos utilizados.

Tabla 10: Comparación de medias como índices morfométricos de *Crotalus ravus*, *Conopsis biserialis* y *Thamnophis pulchiratus*.

Media como índice morfométrico	Desviación estándar	Media		
<i>Crotalus ravus</i>				
	<i>F (gl)</i>	<i>p</i>	<i>t(gl)</i>	<i>p</i>
Geométrica	2.596 (17, 12)	0.098	2.696 (29)	0.011*
Armónica	2.066 (17, 12)	0.205	2.349 (29)	0.025*
Heroniana	1.296 (17,12)	0.657	1.969(29)	0.058

<i>Conopsis biserialis</i>				
Geométrica	1.204 (5,6)	0.814	1.278 (11)	0.227
Armónica	1.671 (5,6)	0.548	0.561 (11)	0.561
Heroniana	1.671 (5,6)	0.548	2.361 (11)	0.037*
<i>Thamnophis pulchiratus</i>				
Geométrica	0.143 (3,7)	0.138	-1.109 (10)	0.109
Armónica	0.375 (3,7)	0.452	-1.157 (10)	0.302
Heroniana	0.231 (3,7)	0.256	-0.817 (10)	0.432

Comparación de Regresiones

En el caso de *Crotalus ravus* se presentaron diferencias significativas en los parámetros de la función, en todas las regresiones calculadas (Tabla 11, Figura 4) y en *Conopsis biserialis* todas las regresiones se presentaron diferencias significativas en al menos un parámetro de la función, (Tabla 12, Figura 5). En el caso de *Thamnophis pulchiratus* ninguna regresión mostró diferencias o tendencia a la diferencia (Tabla 13, Figura 6).

Tabla 11: Comparación de regresiones de machos y hembras utilizando la media geométrica, armónica y heroniana contra la longitud total en *Crotalus ravus*.

<i>Media Geométrica</i>			
$T^2 = 67.393 \quad T^2_{0.01:3,47} = 13.223 \quad F_{0.01:3,47} = 4.227$			
Intervalo de Confianza 99 %			<i>F</i>
-0.537	$\leq B0m - B0h \leq$	-0.143	12.578
0.076	$\leq B1m - B1h \leq$	0.211	19.130
<i>Media Armónica</i>			
$T^2 = 44.1599 \quad T^2_{0.01:3,47} = 13.223 \quad F_{0.01:3,47} = 4.2279$			
-0.445	$\leq B0m - B0h \leq$	- 0.083	9.042
0.066	$\leq B1m - B1h \leq$	0.237	13.240

|

Media Heroniana

$T^2 = 13.758$	$T^2_{0.01: 3,47} = 13.223$	$F = 4.2279$	
-0.158	$\leq B0m - B0h \leq$	- 0.083	2.889
-0.005	$\leq B1m - B1h \leq$	0.237	3.214

Regresiones para *Crotalus ravus*

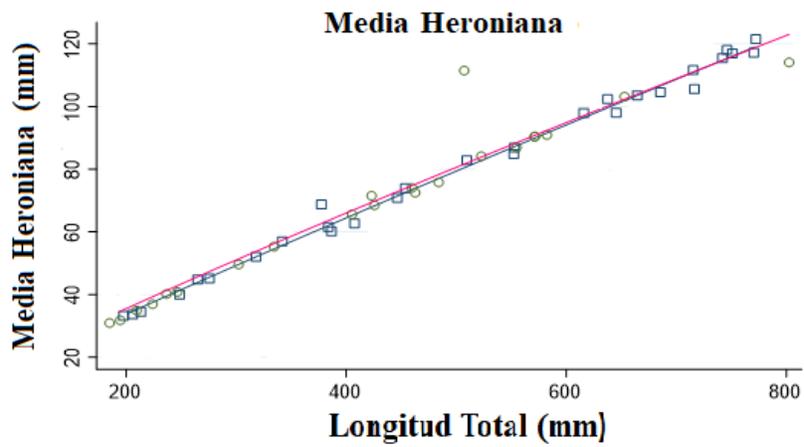
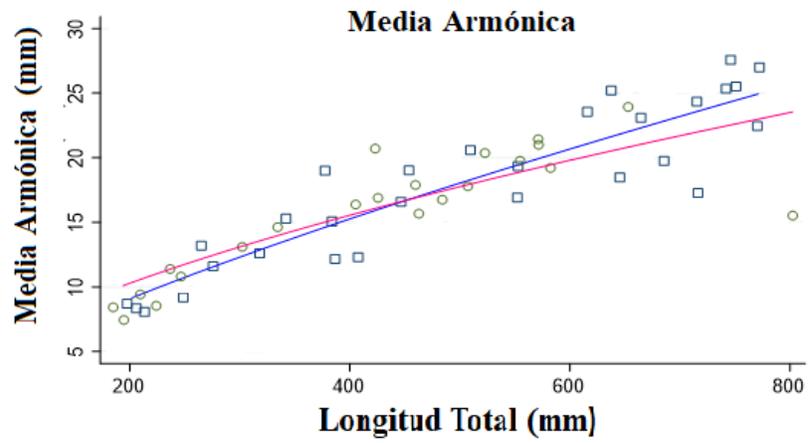
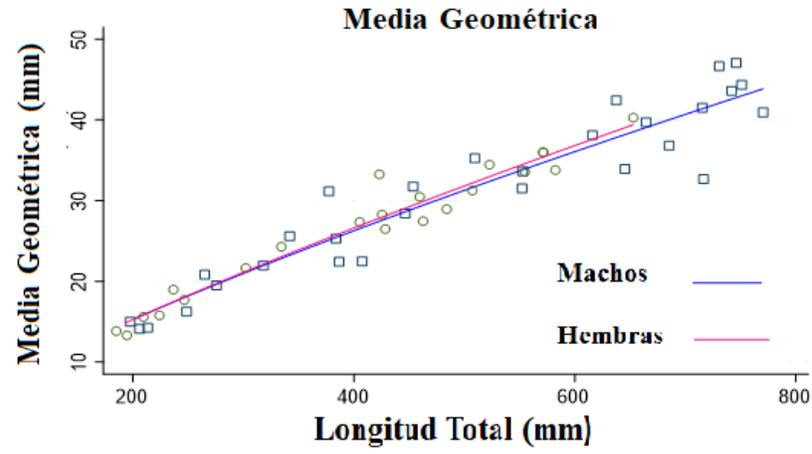


Figura 4: Relación de la función potencial entre la media heroniana, geométrica y heroniana en relación con la longitud total en *Crotalus ravus*. Los machos se representan con cuadrados y las hembras con círculos.

Tabla 12: Comparación de regresiones de machos y hembras utilizando la media geométrica, armónica y heroniana contra la longitud total en *Conopsis biserialis*.

<i>Media Geométrica</i>			
$T^2 = 41.887 \quad T^2_{0.01: 3,67} = 12.630 \quad F =_{0.01: 3,67} = 4.088$			
Intervalo de Confianza 99 %			<i>F</i>
-0.226	$\leq B0m - B0h \leq$	-0.065	13.404
0.058	$\leq B1m - B1h \leq$	0.208	13.000
<i>Media Armónica</i>			
$T^2 = 41.8871 \quad T^2_{0.01: 3,67} = 12.6306 \quad F =_{0.01: 3,67} = 4.0882$			
-0.2743	$\leq B0m - B0h \leq$	-0.0781	13.1942
0.0714	$\leq B1m - B1h \leq$	0.2630	12.4605
<i>Media Heroniana</i>			
$T^2 = 41.8871 \quad T^2_{0.01: 3,67} = 12.6306 \quad F =_{0.01: 3,67} = 4.0882$			
-0.064	$\leq B0m - B0h \leq$	-0.021	18.114
0.017	$\leq B1m - B1h \leq$	0.051	17.815

Regresiones para *Conopsis biserialis*

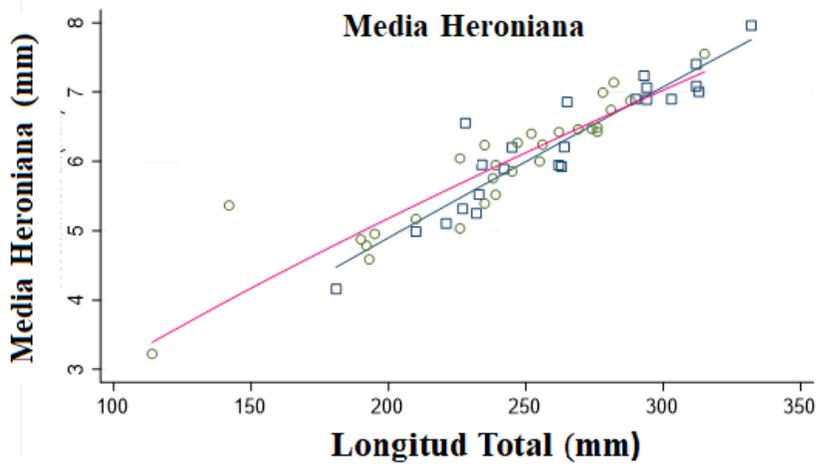
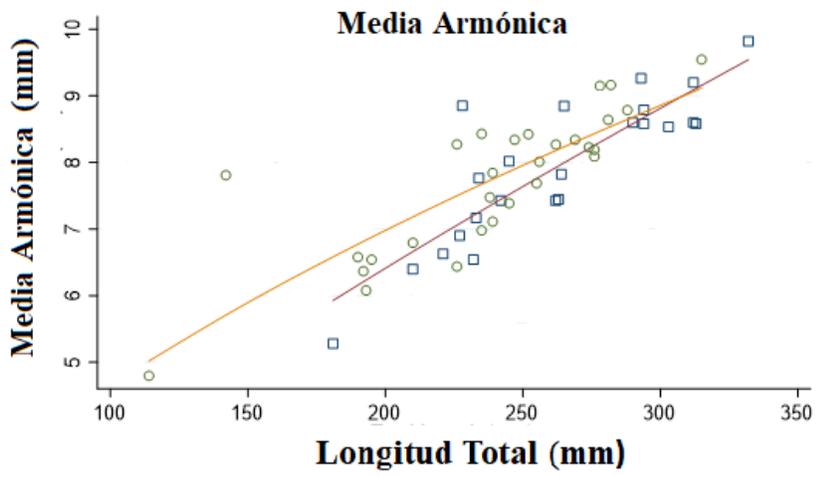
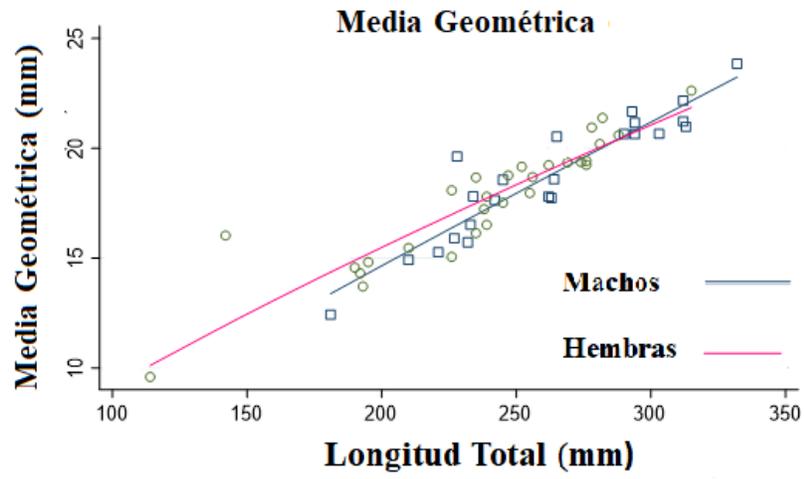


Figura 5: Relación de la función potencial entre la media heroniana, geométrica y heroniana en relación con la longitud total en *Conopsis biserialis*. Los machos se representan con cuadrados y las hembras con círculos.

Tabla 13: Resultados de las comparaciones de las curvas según el tipo de media en *Thamnophis pulchrilatus*.

Media	
Armónica	$T^2 = 2.823$ $T^2_{0.01: 3,30} = 14.431$ $F_{0.01: 3,30} = 4.509$
Geométrica	$T^2 = 7.415$ $T^2_{0.01: 3,30} = 14.432$ $F_{0.01: 3,30} = 4.509$
Heroniana	$T^2 = 22.251$ $T^2_{0.01: 3,30} = 14.431$ $F_{0.01: 3,30} = 4.509$

Regresiones para *Thamnophis pulchrilatus*

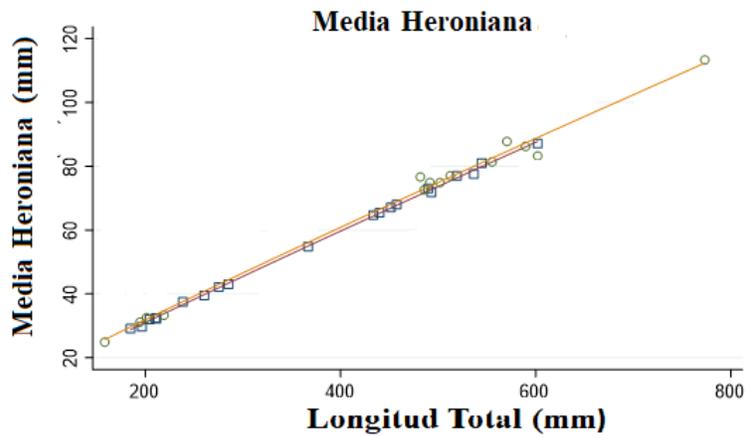
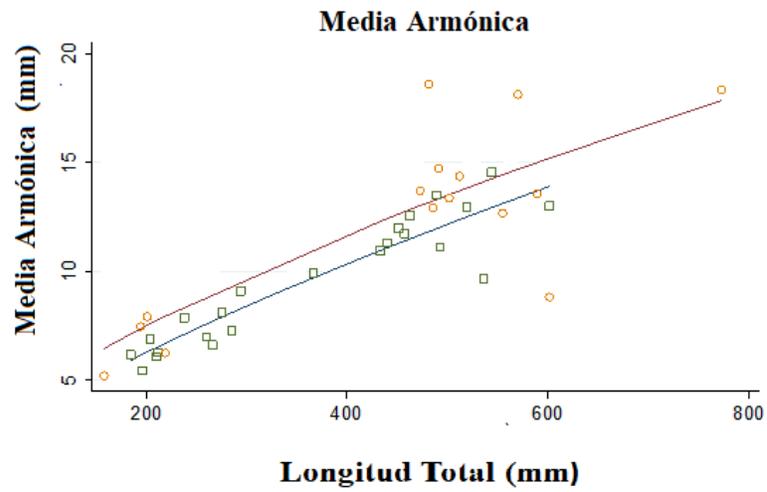
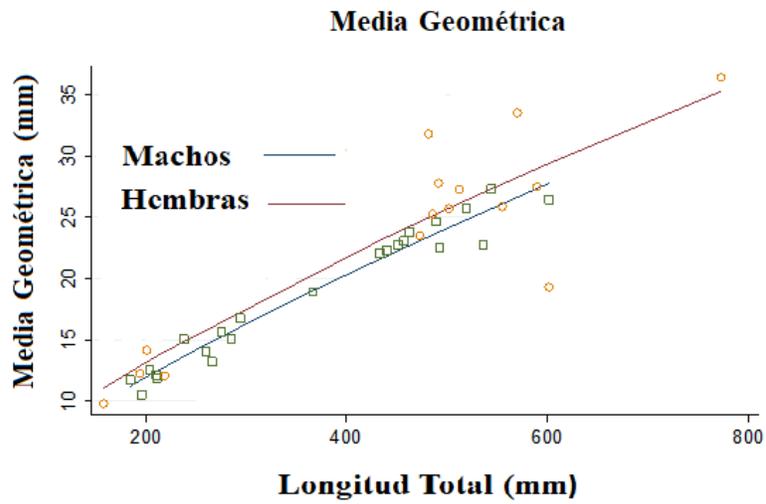


Figura 6: Relación de la función potencial entre la media heroniana, geométrica y heroniana en relación con la longitud total en *Thamnophis pulchrilatus*. Los machos se representan con cuadrados y las hembras con círculos.

Osteocronología

Forma de la Costilla

Se encontró que la forma de las costillas cambia en relación con el tamaño y la edad de los individuos. En las primeras etapas de la vida, los cortes tienen una forma aproximadamente circular, pero a medida que aumenta el tamaño del organismo, se alargan en dirección proximal-distal y se estiran dorso-ventralmente para adquirir una forma similar al contorno del símbolo infinito (∞) (Figura 7). Todos los cortes en las especies analizadas (*Crotalus ravus* y *Conopsis biserialis*) presentan las mismas características a las cuales se les nombraron como: cresta distal, caudal y depresión, depresión proximal y grueso frontal (Figura 8). El abultamiento frontal se utilizó para contar y medir los anillos de crecimiento.

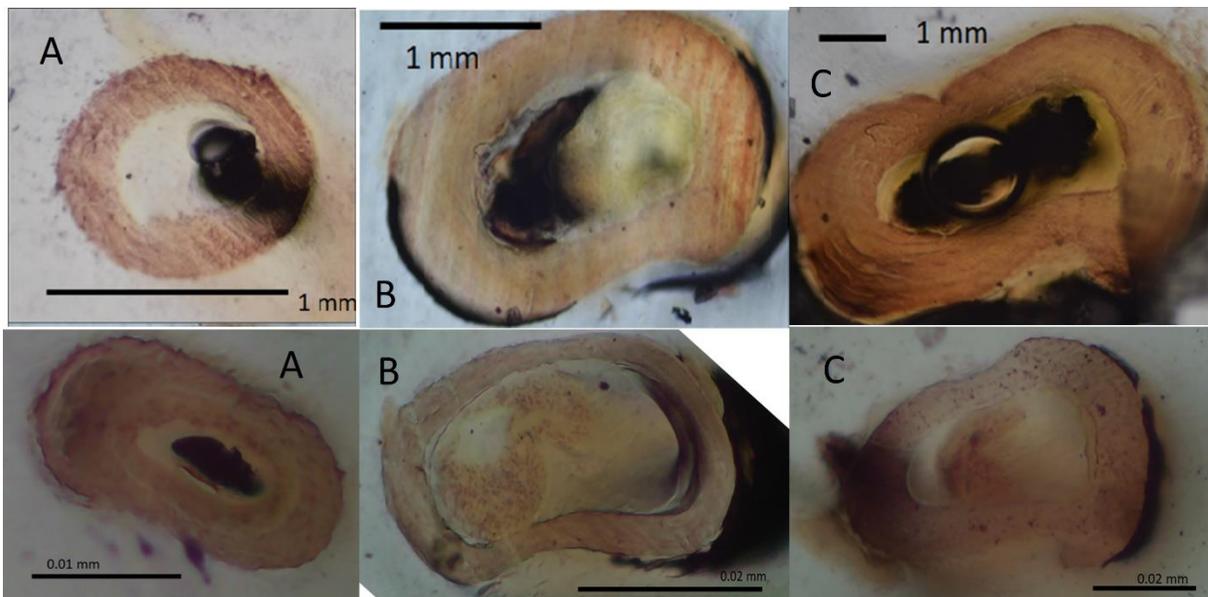


Figura 7: Cambio de la forma en el corte de costilla en *Crotalus ravus* parte superior y *Conopsis biserialis*, sección inferior; A- sección de costilla de serpiente pequeña, B- sección de costilla de serpiente mediana; C- sección de costilla de serpiente más grande.

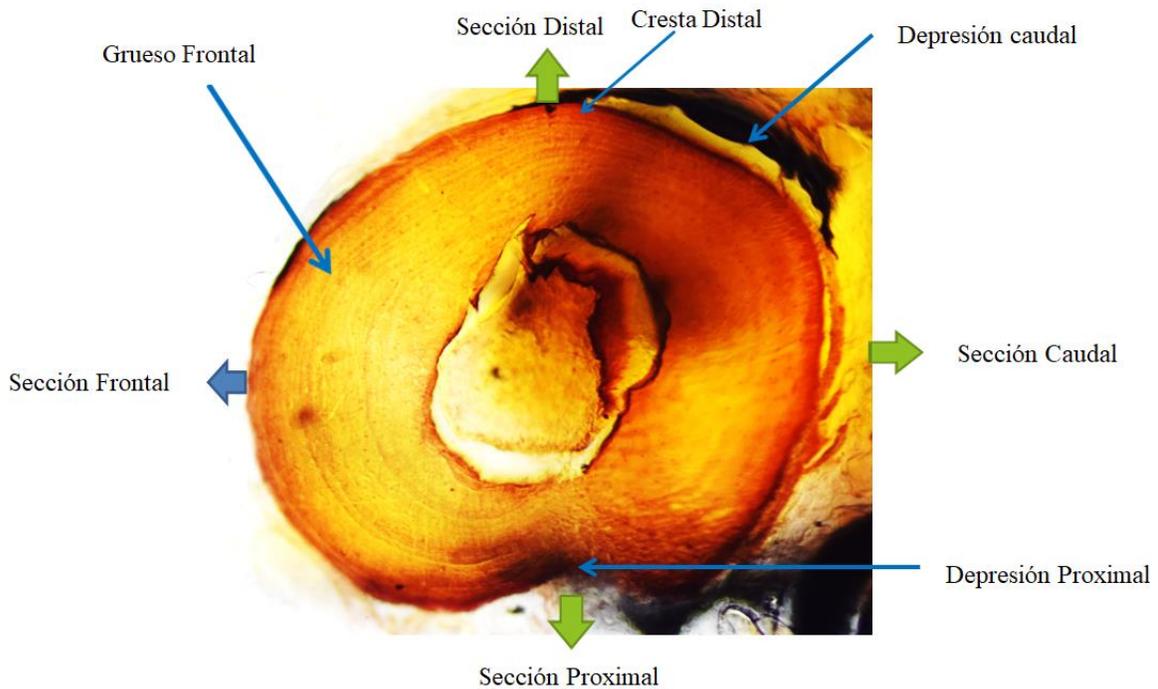


Figura 8: Descripción general de la morfología de un corte de costilla.

Edad

Crotalus ravus

La relación entre el radio total de las costillas y la LHC de cada organismo fue directa, alta y significativa (Figura 9). Se calcularon los promedios y medias de la LHC para cada número de anillos de crecimiento por medio del retro-cálculo para obtener las tallas a las que se formaron las marcas anteriores al borde de la costilla y con estos datos talla-edad se ajustaron los modelos de crecimiento de von Bertalanffy, Logístico y Gompertz (Tabla 14).

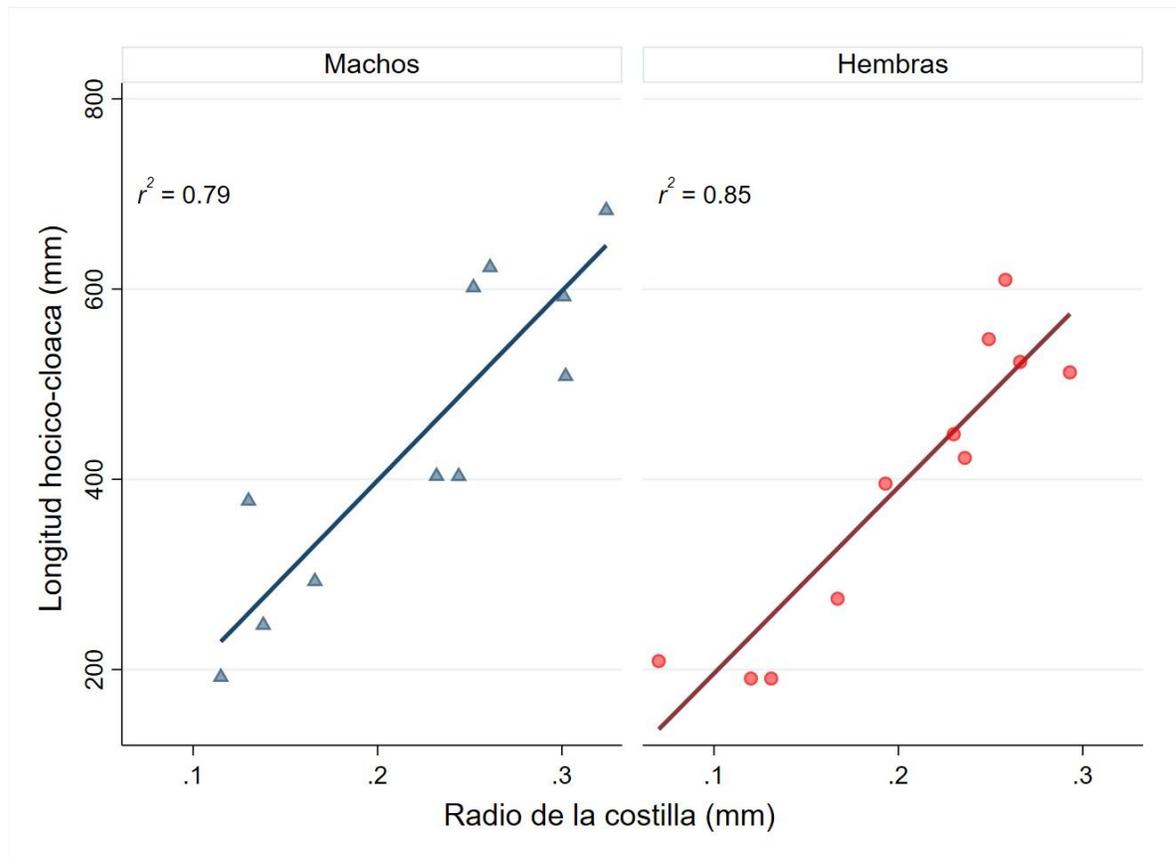


Figura 9: Relación entre el radio total de las costillas y la longitud hocico cloaca de *Crotalus ravus* (Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

Tabla: 14 Comparativa de los parámetros de las funciones de crecimiento de von Bertalanffy y Gompertz.

		AIC	BIC	Li
von Bertalanffy				
Machos	Media	74.61227	75.20394	745.911
Hembras	Media	73.95279	74.86055	727.1953
Machos	Mediana	71.29107	71.88274	721.8592
Hembras	Mediana	83.91066	84.81842	562.6139
Gompertz				
Machos	Media	73.64891	74.24059	669.2752

Hembras Media	72.75758	73.66533	630.0755
Machos Mediana	70.92264	71.51431	656.4595
Hembras Mediana	85.3352	86.24295	542.0829

AIC: Criterio de información de Akaike, BIC: Criterio de información Bayesiano y Li: L infinita (Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

Se escogió el modelo de von Bertalanffy como el que mejor describe el crecimiento de *Crotalus ravus*, el cual presentó diferencias significativas entre machos y hembras en dos de los parámetros de la función: k y t_0 (Tabla 15, Tabla 16), (Figura 10).

Tabla 15: Comparativa de las curvas de crecimiento entre machos y hembras en *Crotalus ravus*.

$T^2 = 593.85$ $T^2_{0.01: 3,15} = 18.417$, $F_{0.01: 3,15} = 5.417$			
Intervalo de Confianza 99 %			F
-131.088	$\leq Li\ m - Li\ h \leq$	168.519	0.084
0.006	$\leq k\ m - k\ h \leq$	0.125	6.607
0.530	$\leq t_0\ m - t_0\ h \leq$	3.368	21.092

(Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

Tabla 16: Parámetros de crecimiento de Machos y Hembras en *Crotalus ravus*.

Parámetro	Machos	Hembras
$L\ infinita$	745.911	727.195
k	0.160	0.094
t_0	-1.345	-3.580
Longevidad	13.004	20.797

(Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

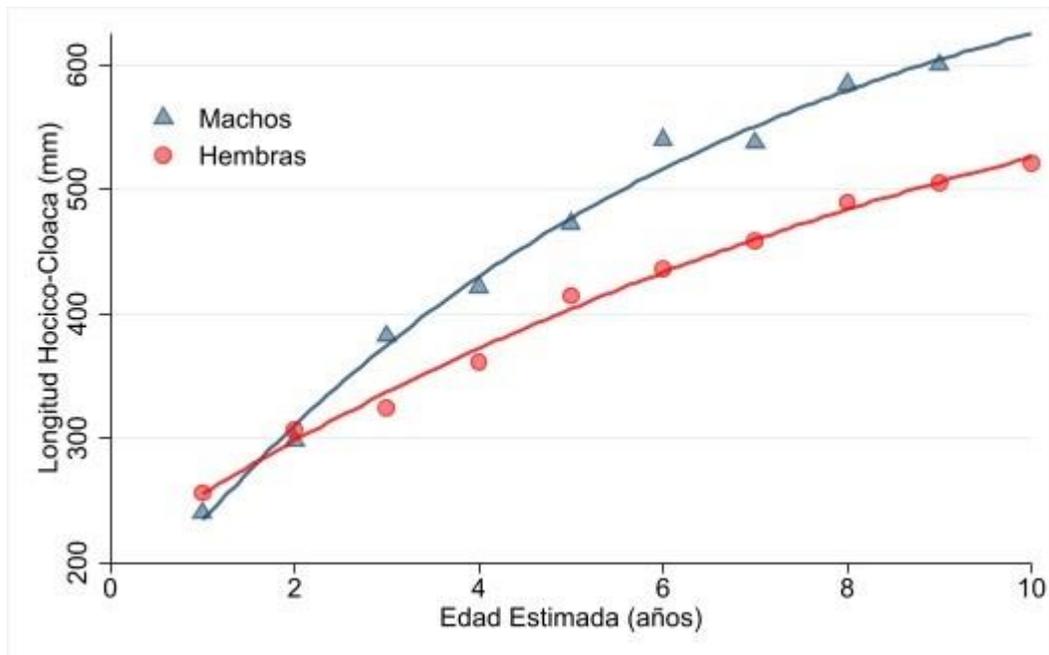


Figura 10: Modelo de crecimiento von Bertalanffy ajustado a *Crotalus ravus* (Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

Conopsis biserialis

Se encontró una relación directa, elevada y significativa entre el radio total de las costillas y la LHC de cada organismo (Figura: 11). Se calcularon los promedios y las medianas de la LHC por el número de anillos de crecimiento obtenidos del retro-cálculo, lo cual permitió obtener las tallas a las que se formaron las marcas anteriores al borde de la costilla y se ajustaron los modelos de crecimiento de von Bertalanffy, Logístico y Gompertz (Tabla 17).

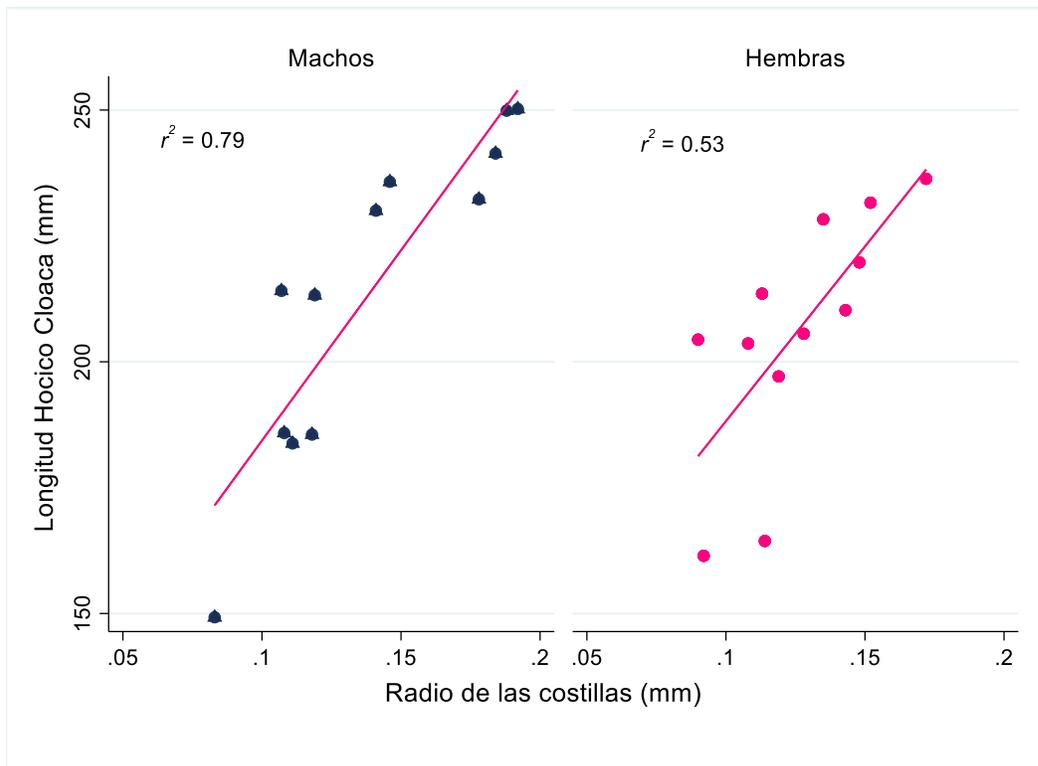


Figura 11: Relación entre el radio total de las costillas y la longitud hocico cloaca de *Conopsis biserialis*. (Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

Tabla 17: Comparativa de los parámetros de la función de crecimiento de Gompertz, von Bertalanffy y Logístico.

		AIC	BIC	Li
von Bertalanffy				
Machos	Media	287.6076	292.5203	1202.602
Hembras	Media	236.6781	241.1676	349.950
Machos	Mediana	292.0614	296.9741	1909.098
Hembras	Mediana	180.6393	185.1288	322.7596
Gompertz				
Machos	Media	278.3162	283.229	345.9174
Hembras	Media	230.782	235.2715	252.6623

Machos Mediana	278.9827	283.8954	390.3474
Hembras Mediana	185.1004	189.5899	241.5665

Logístico			
Machos Media	284.0061	279.0933	293.7156
Hembras Media	225.1417	229.6312	227.0414
Machos Mediana	275.9199	280.8326	326.6969
Hembras Mediana	189.7325	194.222	217.5358

AIC: Criterio de información de Akaike, BIC: Criterio de información Bayesiano y Li: L infinita (Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

Se eligieron los modelos de Gompertz para los machos, y Logístico para las hembras. Para *C. biserialis* es muy notoria la diferencia entre los modelos de crecimiento entre ambos sexos (Tabla 18, Figura 12).

Tabla 18: Parámetros de crecimiento de Machos y Hembras en *Conopsis biserialis*.

Parámetro	Machos	Hembras
<i>L infinita</i>	345.91	227.041
K	0.364	0.683
<i>t₀</i>	2.325	1.580
Longevidad	8.64	5.6

(Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

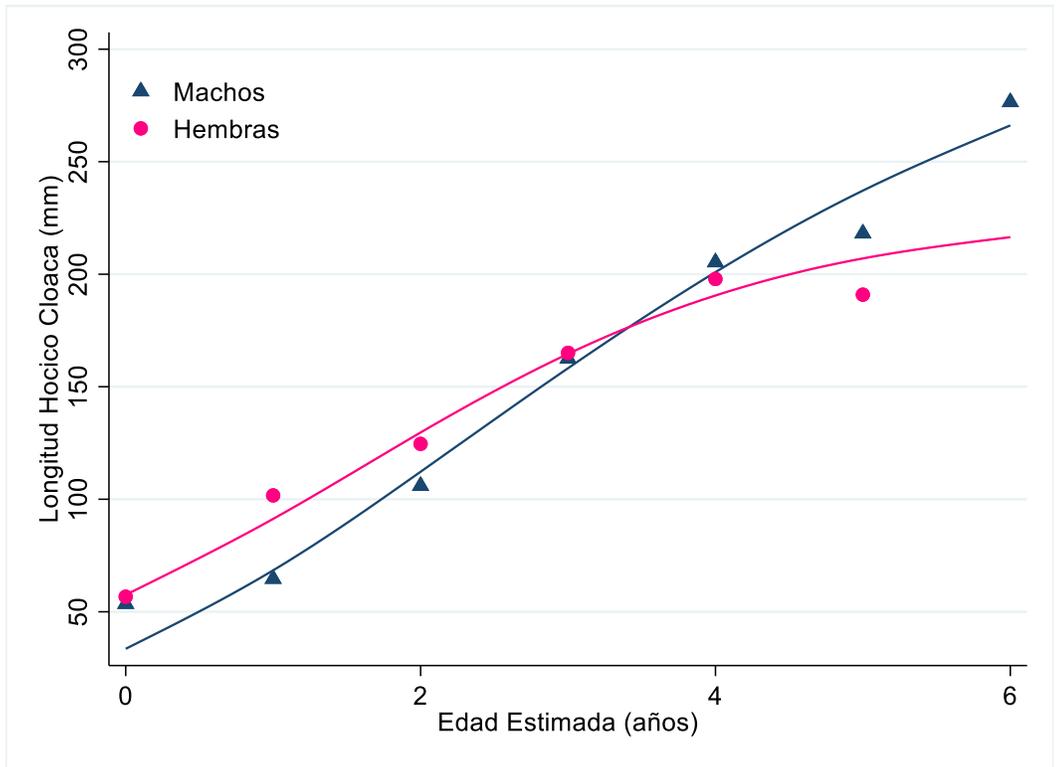


Figura 12: Modelo de crecimiento Gompertz para machos y Logístico para las hembras de *Conopsis biserialis*. (Tomada de Crisóstomo-Pérez *et al.*, 2023)

Discusión

Análisis de Localidad

A pesar de que los factores ecológicos y geográficos pueden influir significativamente en el tamaño de los individuos (Aragón y Fitze, 2014), no se encontró que los parámetros climáticos de acuerdo con ubicación geográfica afectaran significativamente el tamaño promedio de los individuos adultos en las dos especies, a excepción del ancho de la parte final del cuerpo en *Crotalus ravus* con altitud. Esta ausencia de efecto geográfico podría explicarse porque todos los organismos analizados provenían de la misma región biogeográfica (Eje Neovolcánico Transversal) hay que tener en cuenta que la variación en el tamaño corporal de los reptiles escamosos Squamata no tiene una respuesta sencilla (Olalla-Tárraga *et al.*, 2006). Por lo tanto, las diferencias sexuales mostradas no son atribuibles a diferencias en la localidad de origen de los organismos.

Dimorfismo sexual por tamaño

Los machos en *Crotalus ravus* presentan una mayor longitud hocico cloaca, lo que corresponde al patrón general de dimorfismo sexual atribuido a la selección sexual (Rivas y Burghardt 2001; Bonnet *et al.*, 1998; Shine, 1994; King, 1989). Esta ampliamente documentado que las especies del género *Crotalus* presentan luchas entre machos (Shine 1994), por lo que se esperaba una mayor longitud de los machos ya que estos luchan para reproducirse (Shine, 1994) adicionalmente en la familia Viperidae existe una tendencia a que los machos presenten mayores longitudes (Cox *et al.*, 2003). En contraste, *Conopsis* no tiene reportes de peleas entre machos, y aquí no encontramos dimorfismo sexual en la longitud hocico cloaca lo que concuerda con lo reportado.

En contraste, *Crotalus ravus* y *Conopsis biserialis*, en el volumen del tronco del cuerpo de las hembras fue mayor que el de los machos, siendo esta diferencia significativa en *Crotalus ravus*. Esto se puede atribuir a la selección de la fecundidad ya que las hembras con una longitud hocico cloaca similar a la de los machos tienen volúmenes significativamente mayores; adicionalmente, en las dos especies las hembras fueron más grandes en ancho de la parte final del cuerpo en comparación con los machos. Esto puede ser una señal de tractos digestivos femeninos más largos (Bonnet *et al.*, 1998) posiblemente debido a una mayor necesidad de

recursos para la reproducción. En *Crotalus ravus* parece posible que la fecundidad y la selección sexual actúen simultáneamente favoreciendo el aumento de la longitud de los machos (peleas) y el volumen de las hembras (número de crías y tamaño de camada). En *Conopsis biserialis* la comparación del volumen del tronco del cuerpo no mostró diferencias significativas, pero, en general, el volumen corporal de las hembras fue mayor que el de los machos, probablemente debido a la selección de fertilidad en *Conopsis biserialis* (Shine, 1981; Stewart, 1989; Luiselli et al., 1996).

Las medidas de la cabeza de *Crotalus ravus* y *Conopsis biserialis* mostraron diferencias entre sexos, pero estas diferencias no pueden atribuirse a un efecto de divergencia de nicho alimenticio, ya que las diferencias de tamaño están más bien asociadas con la selección sexual (Shine, 1989). Sin embargo, los análisis de covarianza (donde se eliminó el efecto de la longitud hocico cloaca) dieron como resultado diferencias significativas, en las cuales no aparecieron las medidas de la cabeza. La morfometría geométrica cabeza no mostró diferencias significativas en la forma de la cabeza, en este caso la morfometría geométrica elimina el efecto del tamaño y la rotación, por lo que no podemos asegurar que haya evidencia de divergencia de nicho, aunque se aprecia una tendencia a mostrar diferencias en la cabeza en el caso de *Conopsis biserialis*. En el caso de *Crotalus ravus*, la mayor variación se encontró en la región de la cabeza donde se encuentran los sacos de veneno, a pesar de que los puntos de referencia se eligieron en la región central de la cabeza para disminuir el efecto que pueden tener los sacos de veneno. Para evitar este inconveniente en estudios posteriores de especies inoculadoras de veneno se recomendable tomar las fotografías de los individuos inmediatamente después de realizarles una ordeña (extracción del veneno).

Por otro lado, para *Conopsis biserialis* la única diferencia que presentó en la cabeza es en la distancia interocular. Esto podría deberse a la selección sexual, ya que el tamaño puede estar relacionado con la selección sexual y el nicho ecológico (Shine, 1989). No podemos asumir que las diferencias provengan de la selección sexual para pelear, ya que las serpientes no usan su la cabeza para pelear (Senter et al., 2014; Carpenter et al., 1976). La diferencia en los nichos alimenticios ha sido la explicación más citada para el dimorfismo sexual en el tamaño y la forma de la cabeza, ya que evita la competencia por la alimento, machos y hembras cazan diferentes

tipos de presas (Vincent *et al.*, 2004; Houston y Shine, 1993; Shine, 1991b) Algunos autores han mencionado que la ingestión de presas responde a las interacciones de las estructuras craneales involucradas y no solo al tamaño de la cabeza (Forsman, 1996; Houston y Shine, 1993; Frazzetta 1966), por lo que no podemos atribuir las diferencias en la cabeza a la divergencia de nicho, únicamente podría ser un efecto secundario del tamaño de los individuos.

El dimorfismo sexual más común reportado en las serpientes es el de la longitud de la cola, este fenómeno se considera una constante morfológica (King, 1989). La cola más grande de los machos se ha explicado por la gran proporción de espacio ocupada por los hemipenes y los músculos retractores (King, 1989). Se encontraron diferencias significativas en el volumen de la cola. Esto es consistente con la talla a la que se alcanza la madurez sexual y el desarrollo de los hemipenes (King, 1989). Este patrón concuerda con nuestros resultados en *Conopsis biserialis*, en contraste *Crotalus ravus* no se presentaron diferencias estadísticas significativas sin embargo presenta una tendencia similar a la de *Conopsis biserialis*.

Las relaciones alométricas son un primer paso en el análisis del dimorfismo sexual originado a partir de los costos de reproducción (Madsen y Shine, 1994) que precede a la comparación de las curvas de crecimiento individual (aumento de talla por edad) para cada sexo (Salgado -Ugarte *et al.*, 2005). Es importante tener en cuenta que las serpientes, como todos los reptiles, son animales de continuo crecimiento (Karkach, 2006) y si no tenemos en cuenta este factor, la evaluación del dimorfismo sexual puede no dar los resultados correctos, debido al amplio abanico de tallas en individuos adultos, como se demostró en *Crotalus viridis oregonus* (Diller y Wallace, 2002) y *Vipera latastei* (Brito y Rebledo, 2003) donde la comparación entre machos y hembras solo muestra diferencias utilizando modelos de crecimiento.

Los modelos alométricos potenciales para describir la relación entre el volumen del tronco del cuerpo y el volumen de la cola con la longitud hocico cloaca, permitieron observar el dimorfismo sexual de una manera clara. En el caso del volumen del tronco del cuerpo al utilizar esta aproximación es posible poner a prueba la hipótesis de selección por fecundidad y complementando con los datos de madurez sexual. Se pueden hacer consideraciones similares en relación con el volumen de la cola, en *Crotalus ravus* y *Conopsis biserialis* al observar el desarrollo de los hemipenes en los machos.

Índices morfométricos

Los índices morfométricos nos muestran un gran potencial como aproximación general para el estudio y descripción del cuerpo de las serpientes, la media geométrica ya ha sido utilizada para describir ecomorfos (Mossiman, 1970), se ha aplicado a otras especies de reptiles escamosos como son el grupo Anolis (Siliceo-Cantero *et al.*, 2016; Bulter y Losos, 2002), la media geométrica es la mejor media para el estudio de la forma del cuerpo de la serpiente, en las comparaciones la media geométrica y la media armónica se comportan de manera similar, estos comportamientos se pueden explicar debido a que la media armónica es la inversa de la media aritmética, una de las ventajas de la media armónica es representar de una mejor manera la proporción de las dimensiones corporales de la serpientes. Para el caso de la media heroniana su principal ventaja es poder representar el volumen del cuerpo debido a que se usa para calcular volúmenes de cuerpos geométricos irregulares (ver: Janous, 2000)

Con los modelos de funciones potenciales, hacemos una aproximación al crecimiento individual de las especies de estudio, estos modelos pueden ser el primer análisis para estudiar el dimorfismo sexual y otros temas con estrechas relaciones con el crecimiento en reptiles. La importancia de las exploraciones de modelos potenciales se basa en que los diferentes grupos de reptiles presentan un ajuste significativo con los modelos potenciales (Kaufman y Gibbons, 1975). Es cierto que el método propuesto tiene una menor precisión que los modelos generales de crecimiento, y más comúnmente utilizados como Gompertz y von Bertalanffy (Trinidad-Bello, 2014), nuestra propuesta tiene varias ventajas. El punto principal es que los suministros para este método son significativamente más bajos en comparación con los modelos de Gompertz y von Bertalanffy que necesitan el factor de edad conocido (Salgado-Ugarte *et al.*, 2005, Trinidad-Bello, 2014).

En el caso de las serpientes, el conocer la edad es complicado debido a que estos animales no muestran características externas que reflejen la edad, (Wayne y Gregory, 1998). Para resolver esta complicación en poblaciones silvestres se tienen varias opciones, una opción es el método de captura-marcado-recaptura pero para la aplicación de este método es necesaria una importante inversión de tiempo y recursos (Lieury *et al.*, 2017) y por otro lado tenemos métodos esqueleto-cronológicos, cabe resaltar que en ocasiones esta opción no se puede aplicar

|

en todas las especies, debido a que requieren el sacrificio o en su defecto la mutilación del organismo (Ergül Kalayci *et al.*, 2017; ; Wayne y Gregory, 1998; Castanet, 1994; Smirina, 1985) en especies altamente amenazadas o raras, los métodos esqueleto-cronológicos éticamente no son la mejor opción (Wayne y Gregory, 1998).

El método propuesto de índices morfométricos y el cálculo de modelos potenciales para la aproximación al crecimiento es recomendable para determinar si existen diferencias significativas y cómo se desarrollaron estas diferencias, y este método puede ser un paso preliminar para las investigaciones de largo plazo en poblaciones silvestres, donde se ocupen técnicas como la marca y recaptura o métodos esqueleto-cronológicos, al menos en especies de serpientes en las que no parece evidente el dimorfismo sexual, pero no se descarta su aplicación en otros organismos.

Osteocronología

El cambio en la forma de las costillas lo largo del tiempo se puede atribuir a la importancia que tienen las costillas en la locomoción de las serpientes (Campano, 2020), el cambio en la forma lo podemos relacionar al crecimiento de los individuos respondiendo al cambio en el peso de los mismos, modificando la forma para una mejor adaptación de acuerdo al estrés mecánico sufrido conforme lo describe la ley de Wolff (Boskey y Coleman, 2010), las elongaciones que observamos en las costillas en *Crotalus ravus* y *Conopsis biserialis* son resultado del efecto de la locomoción de estos organismos como lo describe Capano (2020)

Se determinó que el mejor modelo de crecimiento para *Crotalus ravus* es el de von Bertalanffy, a pesar de que los criterios de información de Akaike y Bayesiano en los modelos de Gompertz tienen valores menores, e incluso que en algunos casos se ha encontrado que el modelo logístico es la mejor aproximación, cuando se considera el volumen para ajustar los modelos de crecimiento (Shine y Charnov, 1992) para esta especie el valor de L_{∞} obtenido para la función de crecimiento de von Bertalanffy es el que mejor se ajusta al tamaño máximo reportado de 800 mm de LHC (Campbell y Lamar, 1989; Uribe-Peña *et.al.*, 1999; Campbell y Lamar, 2004). En nuestro estudio las tallas máximas encontradas rondan este valor. Es necesario recordar que el parámetro L_{∞} se refiere a la longitud teórica de un individuo infinitamente viejo

|

ajustado por regresión no lineal (dado que los animales en continuo crecimiento nunca dejan de crecer), por lo que sería posible tener individuos con LHC mayores y menores que L_{∞} por lo que el modelo de Gompertz no se ajusta a la realidad de la especie. Adicionalmente el modelo de von Bertalanffy se ha ajustado otras especies de serpientes (Dicka y Mebert, 2017; Jenkins *et al.*, 2009; Brito y Rebledo, 2003; Shine y Charnov, 1992)

Crotalus ravus presentó dimorfismo sexual con machos más grandes que las hembras a la misma edad (coincidiendo con el análisis de LHC en la aproximación por magnitud); del mismo modo, los parámetros de las curvas de crecimiento mostraron diferencias significativas. Este dimorfismo puede atribuirse a los costos de reproducción (Madsen y Shine, 1994), dado que en los modelos de crecimiento el parámetro que resultó significativamente diferente entre sexos es K . Es decir, la tasa de crecimiento es diferente entre machos y hembras. Adicionalmente se observa una tendencia a diferenciarse las curvas de desde el nacimiento, dando lugar a que las hembras tengan cifras de L_{∞} y longevidades mayores que los machos.

En cuanto a *Conopsis biserialis* se encontraron diferencias significativas en los modelos de crecimiento, donde los machos son más grandes que las hembras y pueden alcanzar tallas mayores. Este fenómeno se puede atribuir a la selección sexual (Moore, 1990), sin embargo, si tomamos únicamente la selección sexual como explicación del dimorfismo sexual tiene poco sustento (Cox *et al.*, 2007). Este fenómeno se puede atribuir a los costos de reproducción (Madsen y Shine, 1994), dado que en los modelos de crecimiento el parámetro que resultó ser significativamente diferente entre los sexos es K ; dicho en otras palabras, la velocidad de crecimiento es diferente entre machos y hembras. En *Crotalus ravus* y *Conopsis biserialis* desde el nacimiento presentan diferencias significativas al igual que en su talla teórica máxima, donde las hembras tienen una mayor longevidad. este fenómeno puede ser explicado por la asignación de recursos para la reproducción y el crecimiento difiere significativamente entre los sexos, los machos asignan mayores recursos al crecimiento que las hembras y en el comportamiento de las hembras en la etapa gestante puede disminuir su riesgo de depredación (Brodie III, 1989, Bauwens y Thoen, 1981) por lo que logran vivir más y alcanzar tallas superiores (Cooper *et al.*, 1990).

|

El que se presente un mayor volumen del tronco del cuerpo, no necesariamente implica que las hembras presenten un tamaño (longitud) mayor que los machos, ya que para las hembras puede no representar una ventaja reproductiva; dado que los recursos para el mantenimiento del cuerpo sumado a la energía necesaria para la reproducción, puede llegar a tener un costo demasiado alto (Gibbons, 1972), en cambio en los machos un mayor tamaño tendría una función de desincentivo para los depredadores y no tendría un costo energético significativo (Gibbons, 1972). Por lo cual es de esperar que, en las especies vivíparas, los machos destinen una mayor cantidad de recursos hacia el crecimiento, alcanzando tallas superiores a las de las hembras en el mismo tiempo de vida, teniendo como resultado el dimorfismo sexual con machos de mayores dimensiones. Los cuerpos de las hembras requieren más tiempo para el almacenamiento de recursos y también un mayor tamaño para poder almacenarlos (Madsen y Shine, 1993, Beaupre y Duvall, 1998).

Uno de los fenómenos de mayor interés en los resultados de este estudio es el caso de *Conopsis biserialis* donde el modelo de crecimiento de machos y hembras no se ajusten al mismo modelo general de crecimiento. Para esto debemos recordar que el modelo logístico representa mejor el aumento de masa de los individuos (Shine y Charnov, 1992). En los resultados, las hembras de *Conopsis biserialis* se ajustan mejor al modelo logístico, lo cual podemos suponer que es efecto de la selección por fecundidad actuando en las hembras, favoreciendo el aumento de masa para la producción de hijos (Cox, *et al.*, 2007), en conjunto con los resultados de el volumen del tronco del cuerpo nos invita a realizar un análisis con mayor profundidad.

Composición del cuerpo

Dentro de los aspectos más importantes se encuentran las medidas utilizadas para la descripción del cuerpo. En este estudio se utilizaron 11 medidas morfométricas que, en conjunto, mostraron ser una mejor aproximación para la descripción del cuerpo, en comparación con sólo las medidas lineales tradicionales de longitud hocico cloaca, longitud de la cola y ancho de la cabeza. Con las medidas adicionales que se agregaron fue posible conseguir una mayor profundidad en la caracterización del cuerpo de las serpientes, al cuantificar tamaño y volumen con dichas medidas. Si consideramos la relación costo beneficio de tomar un mayor número de

medidas morfométricas, es claro que podemos realizar un análisis profundo de diversos fenómenos, como selección sexual y selección por fecundidad, que podemos estudiar con estas mismas medidas sin un aumento considerable de tiempo y/o recursos en la obtención de datos.

Otro de los aspectos relevantes del presente estudio fue el de no considerar una simplificación excesiva del cuerpo de las serpientes, reduciéndolo a la forma de un “tubo”, como lo hizo Shine (1991) quien consideró de una manera muy sencilla el cuerpo de las serpientes debido a la carencia de extremidades. Esta simplificación no siempre es aplicable. Por ejemplo, la serpiente marina *Pelamis platurus* presenta como una de sus principales características taxonómicas una cola aplanada en forma de remo (Campell y Lamar, 2004), modificación corporal estrechamente relacionada con sus hábitos natatorios marinos. Bajo la misma premisa, en especies terrestres pertenecientes al género *Crotalus*, fosoriales del género *Conopsis*, semi acuáticas como el género *Thamnophis* o arborícolas como el género *Boa*, deben presentar diferencias en la forma del cuerpo. Se han reportado con anterioridad diferencias en el largo proporcional de la cola dependiendo del hábitat de las especies (Pizzatto, *et al.*, 2018), por lo que las diferencias en el cuerpo de las serpientes por pequeñas o imperceptibles que a primera vista puedan parecer deben ser examinadas mediante un análisis exhaustivo basado en una descripción apropiada del cuerpo. Este examen será aplicable a diferentes tópicos adicionales al dimorfismo sexual, como pueden ser la influencia de los factores ecológicos, fisiológicos o evolutivos. Incluso, las medidas propuestas en este estudio tienen el potencial de extrapolarse a otros grupos de organismos con morfologías corporales diferentes (pisciformes y/o vermiformes).

Si bien la longitud hocico cloaca ha sido tomada como la medida de referencia estándar para el tamaño de una serpiente y lagartijas (Cox *et al.*, 2007; Shine, 1994), no siempre es la más adecuada, a pesar de haber sido tradicionalmente considerada para explicar el que las hembras sean de mayor tamaño que los machos por selección por fecundidad (Cox *et al.*, 2007). En su lugar, consideramos al volumen del tronco del cuerpo como la métrica que refleja de mejor manera esta diferencia. Shine (1991) al calcular el volumen del cuerpo en las serpientes utilizó la fórmula de un cilindro para este propósito. No obstante, utilizando esta fórmula estaríamos simplificando demasiado la forma del cuerpo de las serpientes. Utilicemos de

ejemplo las serpientes del género *Atropoides* comúnmente llamadas “Manos de metate”, cuyo cuerpo después del cuello se va ensanchando hasta la parte media y posterior a ésta se va reduciendo. Este mismo patrón, en menor o mayor grado, se vislumbra en la mayoría de las serpientes por lo que, para este estudio, se decidió utilizar dos conos truncos para describir el volumen del cuerpo, como una mejor aproximación que la forma cilíndrica, ya que el ancho del cuerpo no es constante con terminación abrupta, como la forma de “tubo” tradicionalmente utilizada.

Aplicación de estadística multimetodológica

Una de las premisas que originaron este estudio es la alta incertidumbre que se ha presentado en las evaluaciones del dimorfismo sexual. Si bien, en la planificación de un estudio es donde se elige la forma de analizar los datos para obtener respuestas a las interrogantes planteadas, generalmente se utilizan como base estudios previos. Es común que en muchas ocasiones no nos detenemos a pensar si los métodos utilizados son los idóneos y no se toman en cuenta las fortalezas y debilidades de los estadígrafos que pondremos a prueba. En el caso específico del dimorfismo sexual en serpientes, la idea de modificar el análisis no es nueva, ya que existen reportes donde la falta de dimorfismo sexual ha sido atribuida a un análisis insuficiente o incompleto (Feriche *et al* ,1993). En este estudio se abordó el dimorfismo sexual con base en el concepto de iluminación recíproca entre las diferentes pruebas estadísticas. Las pruebas multivariadas proporcionaron una visión general, donde las pequeñas diferencias o tendencias presentes en las variables que por sí solas pueden no marcar una diferencia, con estas pruebas se hacen visibles; las pruebas univariadas reflejan un patrón puntual y las pruebas no paramétricas (Kolmogórov-Smirnov) nos reflejaron diferencias en las distribuciones el análisis discriminante permitió encontrar combinaciones de variables morfométricas que produjeron la diferenciación sexual más clara (Kościński y Pietraszewski, 2004). El hecho de que las diferentes pruebas nos muestren diferencias en las mismas variables robustece los resultados obtenidos por lo que es de esperar que los mismos reflejen una verdad natural y no solamente algún efecto de falso positivo o negativo (error tipo 1 o tipo 2) debido a las características específicas de las pruebas y medidas. Es por esto posible considerar que las conclusiones derivadas presentan mayor certeza.

|

La propuesta de usar modelos potenciales con las medidas utilizadas en esta investigación plantea una solución que no implica una diferencia significativa en inversión de tiempo y recursos, que en cambio proporciona un importante aporte de conocimiento biológico de la especie reduciendo la significativamente la incertidumbre causada por el abanico de tallas de los individuos.

Factor edad y su importancia

Otra de las premisas de este estudio siempre fue la importancia de considerar la edad de los organismos, confirmando lo fundamental del parámetro para el estudio del dimorfismo sexual en serpientes, y que ésta siempre debe ser considerada con todos los organismos de crecimiento continuo. La presencia de un amplio abanico de tallas de organismos adultos dificulta vislumbrar los patrones, lo cual se ha reportado en otras especies de serpientes (Brito y Rebelo, 2003; Castanet, 1994). Este aspecto ha sido abordado también en otros grupos de organismos como peces (Salgado-Ugarte, 2005) y moluscos (Saito-Quezada *et al.*, 2018).

Se utilizó la osteocronología para estimar la edad de los individuos (Castanet, 1994; Castanet y Baez, 1991; Castanet y Smirina, 1990, Smirina, 1985). Esta técnica es de amplio uso para estimar la edad de organismos de grupos diversos como peces (Salgado-Ugarte, 1995), moluscos (Saito-Quezada, 2018) y anfibios (Smirina, 1985). Para este trabajo se planteó el empleo de las costillas para este propósito debido a que los organismos pertenecen a colecciones científicas y la extracción de las costillas fue la mejor opción para reducir el daño a los ejemplares, en comparación con el causado al utilizar secciones del cráneo, mandíbulas o vértebras. Adicionalmente la propuesta de Wayne y Gregory (1998) de usar las vértebras de la parte final de la cola en organismos vivos presenta complicaciones éticas en su aplicación a especies terrestres (*Crotalus spp.*), o marinas (*Hydrophis platurus*) donde la cola forma parte fundamental de su comportamiento y locomoción respectivamente.

Diversidad de enfoques

En este estudio se abordó el dimorfismo sexual al utilizar diversas aproximaciones simultáneamente: tamaño, forma, volumen, índices morfométricos y curvas de crecimiento, con las cuales se pueden distinguir los efectos de la selección sexual, selección por fecundidad, divergencia de nicho y costos de reproducción. De esta forma se pudo analizar de una manera más completa las fuerzas que moldean el cuerpo de las serpientes que dan origen al dimorfismo sexual, las cuales no son excluyentes entre sí. Con esto, podemos aumentar de manera significativa el conocimiento de las especies estudiadas.

El análisis realizado al dimorfismo sexual en serpientes utilizando simultáneamente de diversos enfoques, tanto metodológicos como evolutivos permitió tener una visión amplia y profunda de los procesos que originan y mantienen este fenómeno, respondiendo el por qué no siempre sea detectable. Si el dimorfismo se estudia de manera inadecuada, sin tomar en cuenta los factores de crecimiento y la complejidad del cuerpo tendremos como resultado una visión limitada, por lo que es necesario abordar cada aspecto de manera conjunta,

Conclusiones

La inclusión del análisis de parámetros climáticos minimizo las incertidumbres en las variaciones en la dimensión del cuerpo de la serpiente causadas por variables ambientales. En estudios posteriores se recomienda comparar modelos de crecimiento individuales y variables ambientales adicionales como la vegetación

El análisis de dimorfismo sexual al aplicar un enfoque multimetodológico, permite detectar dimorfismo sexual, el uso de las medidas morfométricas tradicionales nos da una imagen limitada. La aplicación simultánea de varias aproximaciones de longitud, la forma volumen y modelos de crecimiento permite obtener una mejor descripción del dimorfismo sexual

Coexiste dimorfismo sexual atribuible a dos o más orígenes en la misma especie: Las hembras de *Crotalus ravus* presentan volúmenes del tronco más grandes, lo que puede atribuirse a la selección por fecundidad, mientras que los machos presentan cuerpos más largos lo que atribuimos a selección sexual y dimorfismo sexual atribuible a los costos de reproducción donde a la misma edad los machos son más grandes que las hembras sin embargo estas alcanzan mayor longitud y viven más que los machos.

El uso de medias como índices morfométricos es una opción viable para estudios preliminares sobre la descripción del cuerpo de las serpientes, con aproximaciones de tamaño forma y volumen. El uso de los modelos potenciales permite ver el cambio de tamaño forma y volumen en relación al aumento de tamaño.

El crecimiento individual siempre debe ser considerado en el contexto del dimorfismo sexual en especies de crecimiento continuo, ya que sin tomar en cuenta el crecimiento los patrones de dimorfismo sexual son poco claros o imperceptibles.

El modelo de crecimiento de von Bertalanffy es la mejor opción para describir el crecimiento de *Crotalus ravus*.

Los modelos de crecimiento de *Conopsis biserialis* es descrito con modelos distinto en machos y hembras, los hábitos fosoriales de la especie y plantea una nueva pregunta de investigación.

|

La diferencia en el crecimiento entre machos y hembras de *Conopsis biserialis* es atribuible a costos de reproducción.

La diferencia de modelos de crecimiento es un reflejo de las estrategias distintas entre machos (crecimiento rápido en longitud) y hembras.

Las costillas son una buena estructura para estimar la edad y calcular el crecimiento en serpientes.

Referencias

- Aragón, P. Fitze, P. S. 2014.** Geographical and temporal body size variation in a reptile: roles of sex, ecology, phylogeny and ecology structured in phylogeny. *Plos One*, 9,e104026. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104026>.
- Bauwens D and Thoen C.** 1981. Escape Tactics and Vulnerability to Predation Associated with Reproduction in the Lizard *Lacerta vivipara*. *Journal of Animal Ecology*, **50**, (3) 733-743.
- Beaupre, S.J., y D. Duvall.** 1998. Integrative Biology of Rattlesnakes Contributions to biology and evolution. *BioScience*, **48**(7): 531-538.
- and evolution. *BioScience*, **48**(7): 531-538.
- Bernard, D. R.** 1981. Multivariate analysis as a means of comparing growth in fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 233-236.
- Beverton, R. J. H. and S.J.Holt.** 1957. On the dynamics exploited fish populations Fish. Invest". *Minst. Agriculture. Fish. Food*, (G.B)Ser.II,19 , 533p.
- Bhattacharya, C.G.** 1967. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometrics* 23: 115-135.
- Bonnet, X. S. L., Shine, R., Naulleau, G., Vacher-Vallas. M. 1998.** Sexual dimorphism in Snakes: Different reproductive roles favour different body plans. *Proceedings of the Royal Society of London B* 265:179-183.
- Bonduriansky, R.** 2007. The Genetic Architecture of Sexual Dimorphism: The Potential Roles of Genomic Imprinting and Condition-Dependence Dimorphism: En Sex, Size and Gender Roles: Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism. Edited by D.J. Fairbairn, T. Szekely, and W.U. Blanckenhorn Oxford University Press, pp. 176
- Bonnet, X.S.L., D. Pearson, F. Aubret, D. Bradshaw y V.D.T. Fauvel.** 2011. Which Proximate Factor Determines Sexual Size Dimorphism in Tiger Snakes? *Biological Journal of the Linnean Society*. **103**: 668–680.
- Bonnet, X.S.L., R. Shine. G. Naulleau, y M. Vacher-Vallas.**1998. Sexual Dimorphism in Snakes: Different Reproductive Roles Favour Different Body Plans. *Proceedings of Royal Society (London) B*. **265**(1392):179-183.

- Boskey A.L. and Coleman R.** 2010. "Aging and bone" *The Journal of Dental Research* **89**(12),1333-1348.
- Brito J.C., Rebelo. R.** 2003. Differential growth and mortality affect sexual size dimorphism in *Vipera latastei*. *Copeia* **4**: 865-871.
- Brodie III E.D.** 1989. Modification as a Means of Reducing the Cost of Reproduction. *The American Naturalist*. 134: 225-238.
- Bronikowski, A.M. y S.T. Arnold.** 1999. The Evolutionary Ecology of Life History Variation in The Garter Snake *Thamnophis Elegans*. *Ecology*. **80** (7) :2314-2325.
- Bruce, R., J. Castanet J. y H. Francillon-Vieillot.** 2002. Skeletochronological Analysis of Variation in Age Structure, Body Size, and Life History in Three Species of Desmognathine Salamanders. *Herpetologica*. **58** (2): 181-193.
- Bryuzgin, V. L.** 1939. A Procedure for Investigating Age and Growth in Reptilia. C. R. (Doklady). *The Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. **23**: 403-405.
- Butler M.A. y J. B. Losos.**2002. Multivariate Sexual Dimorphism, Sexual Selection, And Adaptation in Greater Antillean Anolis Lizards. *Ecological Monographs*, **72**(4), 2002: 541–559
- Calder, W. A.** 1984. *Size, Function and Life History*. Harvard University Press, Massachusetts.
- Campbell, J.A. and Lamar W.W.** 1989. "The venomous reptiles of Latin America" (Ed) Ithaca Cornell University Press, 425pp.
- Campbell, J.A. and Lamar W.W.** 2004. "The venomous reptiles of the Western Hemisphere V II", (Ed) Ithaca Cornell University Press, 870 pp
- Capano J.G.** 2020. Reaction forces and rib function during locomotion in snakes. *Integrative & Comparative Biology*. **60** (1), 215-231.
- Carpenter, C.C., J.C. Guillingham y J.B. Murphy.** 1976. The Combat Ritual of the Rock Rattlesnake (*Crotalus lepidus*). *Copeia*. **4**(1976): 764-780.

- Carranza-Almansa, J.C.** 2002. La Evolución del Sexo. *En. Evolución: la Base de la Biología*. Proyecto Sur Ediciones. 177-192 pp.
- Casewell, R. N., W. Wüster, F. J. Vonk, R. A. Harrison y B. G. Fry.** 2013. Complex Cocktails: The Evolutionary Novelty of Venoms. *Trends in Ecology and Evolution*. **28**(4): 219- 229.
- Castanet, J.** 1994. Age Estimation and Longevity in Reptiles. *Gerontology*. **40**(2-4): 174-192.
- Castanet, J., y E.M. Smirina.** 1990. Introduction to the Skeletochronological Method in Amphibians and Reptiles. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie*. **11**: 191-196.
- Castanet, J., y M. Baez.** 1991. Adaptation and Evolution in Gallotia Lizards from the Canary Islands: Age, Growth, Maturity and Longevity. *Amphibia-Reptilia***12**:.81-102.
- Castañeda-Gonzalez, O., J. Manjarrez, I. Goyenechea y V. Fajardo.** 2011. Ecology of a Population of the Earthsnake *Conopsis bicerialis* in the Mexican Transvolcanic Axis. *Herpetological Conservation and Biology*.**6**(3): 364–371.
- Castilla, M.A., y J. Castanet.** 1985. Growth Age and Longevity of *Lacerta lepida* Assessed by Skeletochronology. *En Studies in Herpetology Proceedings of the European Herpetological Meeting (3rd Ordinary General Meeting of the Societas Europea Herpetologica) Prague 1985*. Charles University, Prague Checoslovaquia URSS.
- Chen C.H. and Fassois S.D.** 1992. Maximum likelihood identification of stochastic Weiner-Hammerstein-type non-linear systems. *Mechanical Systems and Signal Processing*, **6**(2),135-153.
- Colleman , M. S, J.S Albert y H.B.L.** 2016. The Evolution of Tail Length in Snakes Associated Whith Different Gravitational Environments. *Functional Ecology*. **30**:244-254.
- Cooper, W. E., Jr., Vitt, L. J., Hedges, R. y Huey, R.** 1990. Locomotor Impairment and Defense in Gravid Lizards (*Eumeces laticeps*): Behavioural Shift in Activity May Offset Costs Of Reproduction in An Active Forager. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. **27**: 153-157.

- Cope, E.D., 1865.** Third contribution to the herpetology of tropical America. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. 17, 185-198.
- Cox, R.M., M.A. Butler y H.B. John-Alder.** 2007. The Evolution of Sexual Size Dimorphism in Reptiles, *In Sex, Size and Gender Roles: Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism*. Edited by D.J. Fairbairn, T. Szekely, and W.U. Blanckenhorn Oxford University Press, pp. 38-49.
- Cox, R.M., S. L. Skelly, y H. B. John-Alder.** 2003. A Comparative Test of Adaptive Hypotheses for Sexual Size Dimorphism in Lizards. *Evolution*. **57**(7):1653–1669.
- Crisóstomo-Pérez, M. 2016.** Reproducción y dimorfismo sexual en la víbora de cascabel *Crotalus ravus*. *Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Biológicas FES Zaragoza UNAM*, México DF.
- Cuadrado, M.** 2002. Sistemas de Apareamiento en Reptiles: Una Revisión. *Revista Española de Herpetología*. **2002**: 61-69.
- Darwin , C.** 1871. The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex. (Ed.) John Murray, Albermarle Street, London UK.
- Devrim, A. 2003.** Generalized Procrustes Analysis and its applications in Photogrammetry. Swiss
- Dicka D.C.D., Mebertb K.** (2017), “Between housing and deep forest: Long-term population biology and dispersal of suburban Smooth snakes (*Coronella austriaca*)”, *Zool. Anz. - A Journal of Comparative Zoology* **270**, 98-106.
- Diller, L.V. y R.L. Wallace.** 2002. Growth, Reproduction, and Survival in A Population of *Crotalus viridis oreganus* in North Central Ohio. *Herpetological Monographs*, **16**(1): 26-45.
- Durham, J.D; y S. M. Dum.** 2019. Sexual Selection. En *Encyclopedia of Personality and Individual Differences*. 1510 pp.

- Duvall D, and Beaupre S.J.** (1998),” Sexual strategy and size dimorphism in rattlesnakes: Integrating proximate and ultimate causation” *Am. Zool.* **38**, 152-165.
- Engelstädter, J.** 2008. Muller's Ratchet and the Degeneration of Chromosomes: A Simulation. *Study.Genetics.* **180**(2): 957-967.
- Ergül Kalayci T., A Altunýbýk, C. Gül, M. Tosunođlu, N. Özdemir.** 2017. Age Structure of the Caucasian Agama (Paralaudakia Caucasia) From Elmadađ, Iđdýr, Turkey: Preliminary Data from Small Sample Size. *Russian Journal of Herpetology.* **24** (4), 318-322.
- Erickson, G.M.** 2003. Using External Vertebral Growth Rings to Assess Longevity in the Bengal Monitor (*Varanus bengalensis*). *Copeia.* **4** (2003): 872-878.
- Fairbairn, D. J., Blanckenhorn,W. U. y Szekely, T.** 2007. *Sex, Size & Gender Roles. Evolutionary studies of sexual size dimorphism.* Oxford University Press, Oxford.
- Fairbairn, D.J.** 1997. Allometry for sexual size dimorphism: pattern and process in the coevolution of body size in males and females. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics,* **28**: 659–87
- Feriche, M., Pleuezuelos, J.M, Cerro, A.** **1993.** Sexual dimorphism and sexing of mediterranean colubrids based on external characteristics. *Journal of Herpetology* 27: 357-362.
- Fitch, H. S.** 1981. Sexual Size Differences in Reptiles. *University of Kansas Museum of Natural History, Miscellaneous Publications.* **70**: 1-72.
- Ford, E.** 1933. An account of the herring investigations conducted at Plymouth during the years from 1924-1933*Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom.* **19.** 305–384.
- Forsman A.** 1991. Variation in Sexual Size Dimorphism and Maximum Body Size Among Adder Populations: Effects Prey Size. *Journal of animal ecology.* **60**:253-267.

- Forsman A.** 1996. An Experimental Test for Food Effects on Head Size Allometry in Juvenile Snakes. *Evolution*, **50**(6): 2536-2542
- Frazzetta, T. H.** 1966. Studies on the morphology and function of the skull in the boidae (serpentes). 2. morphology and function of the jaw apparatus in python sebae and *Python molurus*. *Journal of Morphology* 118: 217–296.
- Furtado, M. F.D., S. R. Travaglia-Cardoso y M. M. T. Rocha.** 2006. Sexual Dimorphism in Venom of *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae). *Toxicon*.**48**: 401-410.
- Gibbons, J.W.** 1972. Reproduction, Growth and Sexual Dimorphism in the Canebrake rattlesnake (*Crotalus horridus atricaudatus*). *Copeia* **2**: 222-226.
- Gómez-Márquez, J.L., Cervantes-Sandoval A., Salgado-Ugarte I.H., Peña-Mendoza B., Alejo-Plata Ma. Del C., Guzmán-Santiago J.L., Mendoza-Vallejo E. and Machuca-Rodríguez C.** (2016), “*Temas Selectos de Biología Pesquera*”. DGAPA y FES Zaragoza, UNAM, México pp 337.
- González-Hernández, A., D.M. Moro-Hernández y J.A. Cruz.** 2016. Distribution and Habitat use of *Thamnophis pulchrilatus* (Cope, 1855) in Chignahuapan, Puebla, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana*. **32**(3): 390-392.
- Griebeler, E.M., N. Klein y P. M. Sander.** 2013. Aging, Maturation and Growth of Sauropodomorph Dinosaurs as Deduced from Growth Curves Using Long Bone Histological Data: An Assessment of Methodological Constraints and Solutions. *PLoS ONE* 8(6): e67012. doi:10.1371/journal.pone.0067012.
- Gulland, J.A.** 1983. Fish Stock Assessment. A manual of basic methods. John Wiley and Sons, Chichester, 223 pp.
- Heanao- Duque A.M. y C.P. Ceballos.** 2013. Sex- Related Head Size and Shape Dimorphism in Mapaná Snakes (*Bothrops asper*) Kept in Captivity. *Revista de Ciencias Precuarias*. **26**(3):201-210.
- Hedrick, A.V; E. J. Temeles.** 1989. The Evolution of Sexual Dimorphism in Animals: Hypotheses and Tests. *Trends in Ecology & Evolution*.**4**(5): 136-138.

- Houston, D., Shine, R. 1993.** Sexual dimorphism and niche divergence: Feeding habits of the arafura file snake. *Journal of Animal Ecology* 62: 737–748.
- Hunt, J., Casper J. Breuker, Jennifer A. Sadowskià y A.J. Moore. 2009.** Male–Male Competition, Female Mate Choice And Their Interaction: Determining Total Sexual Selection. *Journal Evolutionary Biology*. **22**: 13–26
- Jaramillo O.N. 2011.** Morfometría geométrica: principios teóricos y métodos de empleo. En. Fronteras de investigación en enfermedades infecciosas. Modelo enfermedad de Chagas, Edition: 1, Universidad de Antioquia. 69 – 87pp.
- Jenkins, C.L., C. R. Peterson, S. C. Doering y V. A. Cobb. 2009.** Microgeographic Variation in Reproductive Characteristics among Western Rattlesnake (*Crotalus oreganus*) Populations. *Copeia*, **4** : 774–780.
- John-Alder H, Cox RM. 2007.** Development of sexual size dimorphism in lizards: testosterone as a bipotential growth regulator. En: Fairbairn DJ, Blackenhorn WU, Székely T, editors. Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism. New York:Oxford University Press.
- Kardong, K.V. 1982.** The Evolution of the Venom Apparatus in Snakes form Colubrids to Viperids & Elapids. *Memórias do Instituto de Butantan*. **46**: 105-118.
- Karkach, A.S. 2006.** Trajectories and Models of Individual Growth. *Demographic Research*. **15**: 347-400.
- Kaufman G. A. y J. W. Gibbons. 1975.** Weight-Length Relationships in Thirteen Species of Snakes in the Southeastern United States. *Herpetologica*. **31**(1): 31-37.
- Kendall, D.G. 1984.** Shape Manifolds, Procrustean Metrics, and Complex Projective Spaces. *Bulletin of the London Mathematical Society* **16** (2): 81-121
- Keogh J.S; I.A.W. Scott y C. Hayes. 2005.** Rapid and Repeated origin of insular Gigantism and Dwarfism in Australian Tiger Snakes. *Evolution*. **59**(1): 226-233.

- Kimura, D.K.** 1980. Likelihood Methods for the von Bertalanffy Growth Curve. *Fishery Bulletin*. **77**: 765-776.
- King, R. B.** 1989. Sexual Dimorphism in Snake Tail Length: Sexual Selection, Natural Selection, or Morphological Constraint? *Biological Journal of Linnean Society*, **38**(2):133-154
- King, R.B; R.C. Jardin, M. Grue y H.D. Walley.** 2009. Behavioural Correlates with Hemipenis Morphology in New World Natricine Snakes. *Biological Journal of the Linnean Society*.**98**(1): 110–120.
- Kirkpatrick, M., T.Price, y S. Arnold.** 1990. The Darwin-Fisher Theory of Sexual Selection in Monogamous Birds. *Evolution*, **44**(1): 180-193.
- Kleiman, D. G.** 1977. Monogamy in mammals. *The Quarterly Review of Biology*. **52**(1): 39-69.
- Klingenberg, C., P. 2011.** MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*. 11: 353–357.
- Kodric-Brown E y James H. Brown.** 1987. Anisogamy, Sexual Selection, and The Evolution and Maintenance of Sex. *Evolutionary Ecology*. **1**: 95-105.
- Kodric-Brown, A. and Brown, J. H.** 1985. Animal advertising: why the fittest are prettiest. *The Sciences* Sept./Oct 26-33.
- Kościński K. y S. Pietraszewski** 2004. Methods to Estimate Sexual Dimorphism from Unsexed Samples: A Test with Computer-Generated Samples. *Anthropological Review*. **67**:33-55.
- Kratochvil L. y D. Frynta.** 2002. Body Size Male Combat and the Evolution of Sexual Dimorphism in Eublepharid Geckos (Squamata: Eublepharidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. **76**(2): 303-314.
- Kristin, M. S., y R. B. King** 2004. Growth, Survival, and Reproduction in a Northern Illinois Population of the Plains Gartersnake, *Thamnophis radix*. *Copeia*: **3** (2004): 465-478.

- Lieury, N., S. Devillard, A. Besnard, O. Gimenez, O. Hameau, C. Ponchon, y A. Millona,** 2017. Designing Cost-Effective Capture-Recapture Surveys for Improving the Monitoring of Survival in Bird Populations. *Biological Conservation*. **214**: 233-241.
- Lillywhite, H.B.** 2005. Cardiovascular adaptations to gravity: Lessons from comparative studies of snakes. In: *Adaptation Biology and Medicine*, Eds. Hargens, A.; Takeda, N.; Singal, PK., Vol 4 Current Concepts. Narosa Publishing House; New Delhi, India. 68-81.
- Lovich, J.E. and J.W. Gibbons.** 1992. A Review of Techniques for Quantifying Sexual Size Dimorphism. *Growth. Development & Aging*. **56**(4):269-281.
- Luiselli, L., Capula, M., Shine, R.** 1996. Reproductive output, costs of reproduction, and ecology of the smoothsnake, *Coronella austriaca*, in the eastern Italian Alps. *Oecologia*, 106: 100 – 110.
- Madsen T. and Shine R.,** (1993), “Costs of reproduction in a population of European adders”, *Oecologia*, **94** (4), 488-495.
- Madsen T., and Shine R.,** 1994. Cost of Reproduction Influence the Evolution of Sexual Size Dimorphism in Snakes. *Evolution*, **48**(4), 1389-1397.
- Madsen, T.** 1983. Growth Rates, Maturation and Sex- Ual Size Dimorphism in A Population of Grass Snakes, *Natrix natrix*, in Southern Sweden. *Oikos*. **40**(2): 277-282.
- Madsen, T.** 1987. Cost of Reproduction and Female Life-History Tactics in a Population of Grass Snakes, *Natrix natrix*, in Sweden. *Oikos*. **49**(2):129-132.
- Madsen, T.** 1988. Reproductive Success, Mortality and Sexual Size Dimorphism in the Adder, *Vipera berus*. *Holarctic Ecology*. **11**:77-80.
- Madsen, T. y Shine, R.** 1993. Costs of Reproduction in A Population of European Adders. *Oecologia*. **94**(4): 488-495.
- Madsen, T., y R. Shine.** 1994. Cost of Reproduction Influence the Evolution of Sexual Size Dimorphism in Snakes. *Evolution*.**48**(4): 1389-1397.

- Madsen, T., y R. Shine.** 1992. Determinants of Reproductive Success in Female Adders *Vipera berus*. *Oecologia*. **92**:40-47.
- Maher, A.E., Burin, G., Cox, P.G., Maddox T.W., Maidment, S.C.R., Cooper, N., Schachner, E.R., Bates, K.T.** 2022. Body size, shape and ecology in tetrapods. *Nature Communications* 13:4340.
- Marques de Cantú M.J.** 1990. *Probabilidad y Estadística Para Ciencias Químico-Biológicas*. McGRAW-HILL Interamericana de México Mexico DF.657 Pp.
- McCreary, B., C.A. Pearl y M.J. Adams.** 2008. *A Protocol for Aging Anurans Using Skeletochronology*. U.S. Geological Survey Open-File Report 2008-1209 39 Pp.
- Minakami, K.** 1979. An Estimation of Age and Life-Span of the Genus *Trimeresurus* (Reptilia, Serpentes, Viperidae) on Amami Oshima Island. *Japan. Journal of Herpetology*. **13**(2):147 -152.
- Mociño-Deloya E., Setser, K., Heacker, M., Peurach, S.** 2015. Diet of New México Ridgenosed rattlesnake (*Crotalus willardi obscurus*) in the sierra San Luis and sierra Pan Duro, México. *Journal of Herpetology* 49:104-107.
- Mociño-Deloya, E.** 2015. *Ecología Trófica de Tres Especies de Serpientes de Cascabel en México: Crotalus aquilus, Crotalus polystictus y Crotalus willardi*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, España.
- Monteiro, L. R. and Reis, S. F.** 1999. *Principios de morfometria geométrica*. Ribeirao Preto: Holos. 188 p.
- Moore A. J.** 1990. The Evolution of Sexual Dimorphism by Sexual Selection: The Separate Effects of Intrasexual Selection and Intersexual Selection. *Evolution*. **44**(2): 315-331.
- Mosimann, J.E.** 1970. Size Allometry: Size and Shape Variables with Characterizations of the Lognormal and Generalized Gamma Distributions. *Journal of the American Statistical Association*. **65**(330): 930-945.

- Müller, H.J.** 1964. The Relation of Recombination to Mutational Advance. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. **1** (1): 2-9.
- Ogle, D.H.** 2016. *Introductory Fisheries Analyses with R*. CRC Press. Boca Raton, Florida, EUA: 317 p.
- Olalla-Tárraga, M.A., Rodríguez, M.A., Hawkins, B.A.** 2006. Broad-scale patterns of body size in squamate reptiles of Europe and North America. *Journal of Biogeography* **33**: 781–793.
- Owens, I. P. F., Hartley, I.R.** 1998. Sexual dimorphism in birds: why are there so many different forms of dimorphism? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **265**: 397-407.
- Parker, G.A., Baker, R.R. y Smith V.G.F.** 1972. The Origin and Evolution of Gamete Dimorphism and The Male-Female Phenomenon. *Journal of Theoretical Biology*. **36**(3): 529-553.
- Peabody, F.E.** 1958. A Kansas Drouth Recorded in Growth Zones of a Bullsnake. *Copeia*. **2** (1958): 91-94.
- Pincheira-Donoso, D., Hunt, J.** 2017. Fecundity selection theory: Concepts and evidence. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*. **92**(1): 341-356.
- Pizzatto, L., J. Lima de Oliveira, O.A.V. Marques, y M. Martins.** 2018. Body Shape and Food Habits of South American Goo-Eater Snakes of the Genus *Sibynomorphus*. *South American Journal of Herpetology*. **13**(3): 300–307
- Pounds, J. A.** 1988. Ecomorphology, locomotion, and microhabitat structure: patterns in a tropical mainland Anolis community. *Ecological Monographs*. **58**:299-320.
- Qualls, C.P. y R. Shine.** 1998. Costs of Reproduction in Conspecific Oviparous and Viviparous Lizards, *Lerista bougainvillii*. *Oikos*. **82**(3): 539-551.
- Ralls K. y S. Mesnick.** 2009. Sexual Dimorphism. *En Encyclopedia of Marine Mammals* (Second Edition) (Eds). Bernd Wursig, William Perrin, Bernd Wursig, J. Thewissen. Elsevier. USA.1160 Pp

- Ralls, K. 1977.** Sexual dimorphism in mammals: Avian models and unanswered questions. *The American Naturalist* 111: 917-938.
- Randerson, J.P. y Hurst, L.D. 2001.** The Uncertain Evolution of the Sexes. *Trends in Ecology & Evolution*. **16**: 571-579.
- Ricker, W. E. 1968.** Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters. IBP Handbook No. 3. F. A. Davis, Philadelphia, Pennsylvania. 328 Pp.
- Rivas, J.A., Burghardt, G. M. 2001.** Understanding sexual size dimorphism in snakes: wearing the snake's shoes. *Animal Behaviour* 62, F1-F6.
- Roff, D.A. 2006.** *Introduction to Computer-Intensive Methods of Data Analysis in Biology*. Cambridge University Press. Nueva York, EUA: 368 Pp.
- Rohlf, F.J. 2019.** a. tps Dig 2.3.2 program Ecology and Evolution and Anthropology Stony Brook University.
- Ruth-Moreno B., F. de J. Rodríguez-Romero, A. S. Velázquez-Rodríguez y P. Sánchez-Nava. 2014.** *Análisis Ecomorfológicos Y Estudios De Caso En México*. (ISBN: 978-607-422-500-6). México: Universidad Autónoma del Estado de México 149 Pp.
- Saito-Quezada, V.M., E. Uría-Galicia, J. L. Gómez-Márquez, A. B. Villaseñor-Martínez, Ma. de L. Jiménez-Badillo y I. H. Salgado-Ugarte. 2018.** Reproductive Cycle of *Hexaplex princeps* (Broderip, 1833) from One Artisanal Fishery at The Southern Coast of Mexico. *Latin America Journal in Aquatic Research*. **46**(1): 91-103.
- Sales-Nunes, P.M; F.F. Curcio; J.G.Roscito y M.T.Rodrigues. 2014.** Are Hemipenial Spines Related to LimbReduction? A Spiny Discussion Focusedon Gymnophthalmid Lizards (Squamata:Gymnophthalmidae). *The Anatomical Record*. **297**(3): 482–495.
- Salgado-Ugarte, I.H. y V.M. Saito-Quezada, 2020.** *Métodos Cuantitativos Computarizados para Biología Pesquera*. FES-Zaragoza, UNAM, México: 487 Pp.
- Salgado-Ugarte, I.H., Gómez-Márquez, J.L., Peña-Mendoza, B. 2005.** *Métodos Actualizados para Análisis de Datos Biológico-Pesqueros*. DGAPA y FES-Zaragoza, UNAM. México.

- Schaefer W. F.** 1934. Diagnosis of Sex in Snakes. *Copeia*, 1984 (4), 181.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., y Eliceiri, K. W.** 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9: 671–675.
- Schneider, C. A., Rasband, W.S., Elicker, K. W.** 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* 9: 671-675, PMID 22930834.
- Schuett G.W; D. L. Hardy Sr, R.L. Earley Y H. W. Greene.** 2005. Does Prey Size Induce Head Skeleton Phenotypic Plasticity During Early Ontogeny In The Snake *Boa constrictor*? *Journal of Zoology* (London). **267**(4): 363–369.
- Seigel R.A. y N.B. Ford.** 1987. Reproductive Ecology, *En R. A. Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*. Seigel, J. T. Collins, and S. S. Novak (eds.) Macmillan, New York, USA. 210-252.
- Seigel, R. A., N.B. Ford, y L. Mahrt.** 2000. "Ecology of an Aquatic Snake (*Thamnophis marcianus*) in a Desert Environment: Implications of Early Timing of Birth and Geographic Variation in Reproduction," *The American Midland Naturalist* **143**(2): 453-462.
- Senter, P., Shannon, M., Danielle, H., Kent, L.** 2014. Phylogeny of courtship and male-male combat behavior in Snakes. *Plos One* **9**: e107528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107528>.
- Sheehy III, C.M., J.S. Albert Y H.B. Lillywhite.** 2016. The Evolution of Tail Length In Snakes Associated With Different Gravitational Environments. *Functional Ecology* **30**: 244–254
- Shine R.** 1978. Sexual size dimorphism and male combat in snakes. *Oecologia*, **33**(3), 269-278.
- Shine R.** 1980. "Cost" of Reproductions in Reptiles, *Oecologica*. **46**, 92-100.
- Shine R.** 1988. The evolution of large body size in females: a critique of Darwin's "fecundity advantage" model. *The American Naturalist* **131** (1), 124-131.

- Shine R.** 1989. Ecological Causes for the Evolution of Sexual Dimorphism a Review of the Evidence. *The Quarterly Review of Biology*. **64**(4): 419-461.
- Shine R.** 1991 b. Intersexual dietary divergence and the evolution of sexual dimorphism in snakes. *The American Naturalist* 138:103–122.
- Shine R. and Charnov E.L.** 1992. Patterns of survival, growth, and maturation in snakes and lizards. *The American Naturalist*. **139**(6), 1257-1269.
- Shine R.**, 1980. "Cost" of Reproductions in Reptiles, *Oecologica*. **46**, 92-100.
- Shine, R.** 1978. Sexual Size Dimorphism and Male Combat in Snakes. *Oecologia*.**33**: 269-278.
- Shine, R.** 1981. Venomous snakes in cold climates: ecology of the Australian genus *Drysdalia* (Serpentes: Elapidae). *Copeia* 14 – 25.
- Shine, R.** 1988. The Evolution of Large Body Size in Females: A Critique of Darwin's "Fecundity Advantage" model. *American Naturalist*. **131**(1): 124-131.
- Shine, R.** 1989. Ecological causes for the evolution of sexual dimorphism a review of the evidence. *The Quarterly Review of Biology* **6**: 419-461.
- Shine, R.** 1990. Proximate Determinants of Sexual Differences in Adult Body Size. *The American Naturalist*. **135**(2): 278-283.
- Shine, R.** 1991, **a.** Relative clutch mass and body shape in lizards and snakes is reproductive investment constrained or optimized? *Evolution* **46**:828-833.
- Shine, R.** 1991. Intersexual Dietary Divergence and the Evolution of Sexual Dimorphism in Snakes. *The American Naturalist*.**138**(1):103-122.
- Shine, R.** 1994. Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia* **2**: 326–346.
- Shine, R.** 2005. Life-History Evolution in Reptiles. *Annual Reviews of Ecology, Evolution and Systematics* **36**: 23-46.
- Shine, R. y E.L. Charnov.**1992. Patterns of Survival, Growth, and Maturation in Snakes and Lizards. *The American Naturalist*. **139**(6):1257-1269.

- Shine, R. y E.L. Charnov.1992. Patterns of Survival, Growth, and Maturation in Snakes and Lizards. *The American Naturalist*. **139**(6):1257-1269.
- Shine, R.** 1980. “Cost” of Reproductions in Reptiles. *Oecologia*. **46**: 92-100.
- Siliceo-Cantero, H.H., A. Garcia, R. G. Reynolds, G. Pacheco y B. C. Lister.** 2016 Dimorphism and divergence in island and mainland Anoles *Biological Journal of the Linnean Society*. **118**(4): 852–872.
- Sinervo, B., Hedges, R. y Adolph, S. C.** 1991. Decreased Sprint Speed as A Cost of Reproduction in The Lizard *Sceloporus occidentalis*: Variation Among Populations. *Journal of Experimental Biology*. **155**(1): 323-336.
- Slatkin, M.** 1984. Ecological Causes of Sexual Dimorphism. *Evolution*.**38**(3): 622-630.
- Smirina, E.M.** 1985. Some Results of the Studies of Growth in Anura. En *Studies in Herpetology Proceedings of the European Herpetological Meeting (3rd Ordinary General Meeting of the Societas Europea Herpetologica) Prague 1985*. Charles University, Prague Checoslovaquia URSS.
- Smiseth, T; M. Kölliker y N.J. Royle.** 2012. What is parental care? En *The evolution of Parental Care*. (Eds) First Edition. Edited by Nick J. Royle, Per T. Smiseth, and Mathias Kölliker Oxford University Press UK. 1-14 p.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J.** 1981. Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 2nd ed. W.H. Freeman and Company, New York: 859p.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J.** 2003. Bioestadística. Ed. Reverté, México: 362p.
- Stamps J. A.** 1993. Sexual size dimorphism in species with asymptotic growth after maturity. *Biological Journal of the Linnean Society* **50**: 123-145.
- Stamps, J.A. y R.M. Andrews.** 2002. Estimating Asymptotic Size Using the Largest Individuals per Sample. *Oecologia* **92**: 503-512.
- StataCorp.** 2016. Stata Statistical Software: Release 16. College Station, TX: StataCorp LP.
- Stewart, J. R.** 1989. Facultative placentotrophy and the evolution of squamate placentation:

- quality of eggs and neonates in *Virginia striatula*. *American Naturalist* 133: 111–137.
- Taylor, E. H., y H.M Smith.** 1942. The snake genera *Conopsis* and *Toluca*. *University of Kansas Science Bulletin*. **28** (15): 325-363
- Taylor, E.N. y F.D. Denardo.** 2005. Sexual Size Dimorphism and Growth Plasticity in Snakes: an Experiment on the Western Diamond-Backed Rattlesnake (*Crotalus atrox*). *Journal of Experimental Zoology*. **303**(7): 598–607.
- Tinkle D. W.** 1957. Ecology, Maturation and Reproduction of *Thamnophis Sauritus Proximus*. *Ecology*.**38**(1): 69-77.
- Toro-Ibacache. M. V.; Manriquez, S. G. y Suazo, G. I.** 2010. Morfometría Geométrica Y El Estudio De Las Formas Biológicas: De La Morfología Descriptiva A La Morfología Cuantitativa. *International Journal of Morphology*, **28**(4): 977-990.
- Trinidad-Bello, A.** 2014. Modelos de Crecimiento en Biología, su Significado Biológico y Selección del Modelo por su Ajuste. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. D.F. México 101p.
- Uribe-Peña, Z., A. Ramírez-Bautista, G. Casas-Andreu.** 1999. Anfibios y Reptiles de las Serranías del Distrito Federal. *Cuadernos del Instituto de Biología* Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 32.
- Vincent, S. E., A. Herrel y D.J. Irschick.** 2004. Sexual Dimorphism in Head Shape and Diet in the Cottonmouth Snake (*Agkistrodon piscivorus*). *Journal of Zoology* (London) **264**(1): 53–59.
- von Bertalanffy, L.** (1938), “A quantitative theory of organic growth (inquires on growth laws. II)”, *Hum. Biol*, **10**,181-213.
- Vrieze S. I.** (2012), “Model selection and psychological theory: A discussion of the differences between the Akaike information criterion (AIC) and the Bayesian information criterion (BIC)”, *Psychol. Methods*, **17**(2), 228–243.

- |
- Walford, L. A.** (1946). “A new graphic method of describing the growth of animals”, *Biol. Bull. Rev.*, **90**, 141–147.
- Waye, H.L. y P. T. Gregory.** 1998. Determining the Age of Garter Snakes (*Thamnophis* spp.) by Means of Skeletochronology. *Canadian Journal of Zoology.* **76**(2): 288-294.
- Williams, G. C.** 1966. *Adaptation and Natural Selection.* Princeton University Press, New Jersey.USA.
- Witte, K., y E. Curio.** 1999. Sexes of A Monomorphic Species Differ in Preference for Mates with a Novel Trait. *Behavioral Ecology.* **10**(1): 15-21.
- Zullinger, E.M., R.E. Ricklefs, K.H. Redford y G.M. Mace.** 1984. Fitting Sigmoidal Equations to Mammalian Growth Curves. *Journal of Mammalogy.* **65**(4): 607-63.

ANEXOS



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
COMITÉ EDITORIAL
OFICIO N° CEFES-Z-048/2023**

A QUIEN CORRESPONDA:

PRESENTE

Por este medio, hago constar que el manuscrito "Estudios esclerocronológicos sobre edad y crecimiento de algunos vertebrados (peces y serpientes) e invertebrados (moluscos y equinoideos)", resultado del proyecto PAPIME PE209120 y que fue que presentó el **Dr. Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte** (coordinador) al Comité Editorial de esta Facultad para dictamen, fue evaluado por pares y **APROBADO**.

Actualmente el documento se encuentra en formación y diseño editorial para posteriormente realizar el trámite de **ISBN** ante INDAUTOR.

Sin más por el momento, agradezco la atención a la presente y aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

México D.F., a 23 de mayo de 2023.

**LIC. CARLOS RAZIEL LEÑOS CASTILLO
COORDINADOR DE COMUNICACIÓN SOCIAL Y GESTIÓN DE MEDIOS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
VOCAL DEL COMITÉ EDITORIAL**

Estudios Esclerocronológicos sobre
Edad y Crecimiento de Peces,
Moluscos, Equinodermos,
Crustáceos y Reptiles

Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte
Verónica Mitsui Saito Quezada
José Isoteco Palemón
Eduardo Palma Barrón
Iztzel Pérez Olivares
Mario Antonio Gatica Martínez
Angélica Cruz Ramírez
Edgar Omar Guzmán Urieta
Mariana Evelyn Meléndez Contreras
Hilda Rangel Rocha
Ana Gabriela González Castillo
María Alicia Rivera Barrera
Mixtli Crisóstomo Pérez

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

Esta obra se realizó con apoyo de la UNAM a través de la DGAPA, PAPIME
PE209120 y la FES Zaragoza

Capítulo 10

Estimación de la edad y crecimiento en ofidios (serpientes) mediante el uso de estructuras duras.

Mixtli Crisóstomo Pérez

Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte

Aníbal Díaz de la Vega-Pérez

El estudio del crecimiento individual es una importante herramienta para la generación de conocimiento biológico de las especies. Dicha importancia no se limita a intereses propios de los biólogos como por ejemplo el dimorfismo sexual (Madsen y Shine, 1994; Taylor y Denardo, 2005). El crecimiento de los individuos que por sí solo es un fenómeno biológico de alto interés (Karkach, 2006; Trinidad-Bello, 2014) también es de gran interés para sectores como la industria alimentaria o peletera. Los estudios del crecimiento se han realizado en un amplio abanico de especies pertenecientes a distintos grupos de organismos, tanto de invertebrados, como vertebrados, vivos o extintos: mamíferos (Nacarino-Meneses, 2015), peces (Branstetter, 1987), anfibios (Smirina, 1985; Kumbar y Pancharatna, 2003; Yamasaki, et al., 2017), tortugas (Germano, 1998; Guarino et al., 2004), cocodrilos (Hutton, 1986; Tucker, 1997), dinosaurios (Chinsamy, et al., 1995; Horner, et al., 1999), Mosasaurios (Pellegrini, 2007), tuátaras (Castanet et al., 1988), aves (Murawska, 2017), lagartijas (Ortega-Rubio, et al., 1993; Kumaş y Ayaz, 2014) y serpientes (Thomas y Leal, 1993; Fornasiero et. al; 2016, Collins y Rodda, 1994).

Podemos definir el crecimiento como el aumento de masa, longitud, número de células, etc., en relación al tiempo. Por lo tanto, el crecimiento individual es el aumento de tamaño de un individuo a través del tiempo, este es un proceso complejo, que ha requerido del uso de modelos matemáticos ajustados estadísticamente, de tal modo que se obtenga una buena descripción cuantitativa y que los valores que los definen (parámetros) recuperen el patrón característico del crecimiento del organismo (Trinidad-Bello, 2014). Los modelos de crecimiento son representaciones matemático-estadísticas obtenidas de la relación talla-edad, que muestran las características del crecimiento (Trinidad-Bello, 2014).

Los modelos generales de crecimiento toman en cuenta la variación en la velocidad de crecimiento. El uso de los modelos generales de crecimiento es más adecuado para ser aplicado a los animales, ya que son sistemas con patrones complejos, que crecen a diferentes velocidades durante las distintas etapas de su vida (Karkach, 2006). En los estudios biológicos los modelos generales más utilizados son funciones exponenciales asintóticas entre las que destacan los de Gompertz, Richards, Logístico, Brody, von Bertalanffy y Monod (Trinidad-Bello, 2014).

Uno de los insumos necesarios para el cálculo de los modelos de crecimiento es la edad de los individuos (Salgado- Ugarte et al., 2005; Salgado- Ugarte y Saito-Quezada, 2020) dado que el crecimiento es el aumento de tamaño en relación con el tiempo. Desafortunadamente las serpientes no presentan características externas que reflejen la edad. Por lo tanto, para conocer la edad de las serpientes tenemos tres opciones: la primera es a través de un proceso de marca y recaptura; esta técnica en ocasiones puede no ser práctica, ya que puede ser muy difícil recapturar a los individuos como es el caso de la serpiente marina *Hydrophis platurus* (*Pelamis platurus*) en el cual solamente se ha logrado la recaptura el uno por ciento de los organismos (Kropach, 1975; Lillywhite, et al., 2015). La segunda opción es mantener en cautiverio a los individuos desde el nacimiento. Este procedimiento tiene el inconveniente de que no refleja la realidad de las poblaciones silvestres.

La tercera es por medio de la Osteocronología (Castanet, 1994) que se refiere a la recuperación de información de eventos ocurridos en el pasado por el estudio de las marcas formadas en estructuras esqueléticas de los individuos. Este enfoque ha sido utilizado con las estructuras duras de los peces. No obstante, a diferencia de las escamas de los peces, las cuales van creciendo con los organismos (Salgado-Ugarte, et al., 2005), las escamas de las serpientes son epidérmicas y se renuevan en cada muda (Arroyo y Cerdas, 1986). Es por esto por lo que no se pueden utilizar para estimar la edad. La otra opción es utilizar estructuras óseas, en las que se puede ver el crecimiento de estos individuos. En serpientes se han utilizado diferentes partes del cráneo como mandíbulas y vértebras (Minakami, 1979; Waye y Gregory, 1998); en restos óseos fosilizados de dinosaurios la osteocronología ha utilizado a las costillas (Waskow y Mateus, 2017).

Debido a que en las serpientes recaen diversos prejuicios negativos, muchas especies de estos organismos están en alguna categoría de riesgo o protección, por lo que resulta difícil obtener muestras de cráneo, mandíbulas o costillas debido a que su uso implica el sacrificio del organismo y el uso de falanges no es aplicable, como lo es en especies de anuros (Smirina, 1985) y lacertilios (Comas, et al., 2016). Para superar este inconveniente es factible utilizar las vértebras caudales y así evitar el sacrificio de los organismos (Waye y Gregory 1998). Otra solución a este problema es el uso de animales preservados en colecciones biológicas (Ergül Kalayci, et al; 2017). Con estos especímenes es posible la extracción cuidadosa de algunas costillas lo que afecta mínimamente a los individuos, conservando la valiosa información contenida en los ejemplares de colección.

Otro aspecto importante para tomar en cuenta es la abundancia de ofidios, ya que suelen tener una menor abundancia que otros grupos de animales (bivalvos, crustáceos o peces). Todo lo anterior en conjunto con otros factores trae como resultado la disponibilidad de un número limitado de organismos con los cuales poder trabajar. No obstante, es posible modelar el crecimiento de una especie con un reducido número de organismos (Ergül Kalayci, et al., 2015; Eroğlu, et al., 2017; Ergül Kalayci, 2017).

En general, el patrón de crecimiento de los organismos puede describirse adecuadamente por medio de curvas que siguen una función matemática. ¿Qué información nos dan estas curvas de crecimiento? Para dar respuesta a esta interrogante es necesario conocer que hay reportados dos tipos de crecimiento: determinado e indeterminado (Karkach, 2006); el crecimiento determinado es aquel en el cual los organismos alcanzan un tamaño máximo y dejan de crecer al desarrollar por completo sus caracteres sexuales secundarios como en el caso de mamíferos y aves (Karkach, 2006). En organismos de crecimiento indeterminado o continuo, los individuos aumentan de tamaño de manera significativa después de haber desarrollado sus caracteres sexuales por completo; dicho en otras palabras, los individuos crecen durante toda su vida. Este tipo de crecimiento está presente en diversos grupos como peces, anfibios y reptiles (Karkach, 2006).

Por otra parte, las curvas de crecimiento, al ser ajustadas estadísticamente, hacen posible detectar diferencias que sin considerar el factor edad son imperceptibles. En relación con las serpientes tenemos los casos de *Crotalus viridis oreganus* (Diller y Wallace, 2002) y *Vipera latastei* (Brito y Rebledo, 2003) donde la diferencia entre machos y hembras solo es visible a través de los modelos de crecimiento.

Método

Para este estudio consideramos a dos especies de serpientes endémicas de México: la culebra de tierra *Conopsis biserialis* y la víbora de cascabel *Crotalus ravus*.

Conopsis biserialis es un colúbrido de talla pequeña: los adultos cuentan con una longitud hocico cloaca (LHC) de unos 200 mm. Es una especie ligeramente robusta, con cabeza puntiaguda y color generalmente castaño claro con hábitos fosoriales (Uribe-Peña et al., 1999; Castañeda-González, et al., 2011).

Crotalus ravus es un vipérido de talla pequeña. Es una serpiente de complejión robusta y los adultos alcanzan de 400 a 650 mm de LHC (longitud hocico-cloaca) y ocasionalmente llegan a medir más de 700 mm (Castro-Franco y Aranda-Escobar, 1984; Campbell y Lamar, 1989; Greene y Campbell, 1992; Uribe-Peña, 1999; Crisóstomo-Pérez y Feria-Ortiz, 2017).

Los datos se obtuvieron consultando las siguientes colecciones biológicas: Colección Herpetológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM, Colección Herpetológica de la Escuela de Biología de la BUAP y la Colección Herpetológica del Centro de Investigaciones Biológicas de UAEH.

La Longitud Hocico Cloaca de los organismos se midió fueron colocados sobre una placa de referencia milimétrica y se tomaron fotografías de alta resolución con una cámara digital (Nikon D300 con un lente AF-s dx NIKKOR VR 18-55mm 1 3.5-5.6 G II), a una distancia de 55 cm de. Posteriormente se utilizó el programa ImageJ v1.52a (Schneider et al., 2012) para medir la LHC a partir de las fotografías tomadas.

Para el análisis osteocronológico se utilizaron dos costillas de la región media del cuerpo obtenidas a través de una cuidadosa disección desde la región peritoneal con el fin alterar en lo mínimo a los especímenes. Las muestras óseas fueron colocadas en frascos criogénicos de tapa rosca con capacidad de 2 ml y fijadas con alcohol etílico al 70%. Para su corte y tinción se siguieron los siguientes pasos:

- Limpieza: retirando la mayor cantidad de carne y tejidos.
- Descalcificación: mediante la inclusión en ácido nítrico a una concentración del 5% durante un periodo de 4 horas.
- Fijación: con una solución de alcohol 96%-Xilol en partes iguales durante 24 horas.
- Inclusión: en resina poliéster tipo cristal usando una proporción de 30 gotas de catalizador por cada 50 ml de resina y se dejaron secar por un periodo mínimo de 72 horas.
- Corte: usando una cortadora circular con doble cuchilla separada por 1 mm.
- Pulido: sin dejar que la costilla se deshidrate, el corte es pulido con una lija de agua del número 2500, quitando las marcas generadas por las cuchillas.
- Tinción: los cortes (secciones) se tiñeron con una solución de Hematoxilina de Harris durante 4 minutos.
- Lavado: con agua destilada durante 5 minutos.
- Montaje: los cortes se montaron en un portaobjetos y se cubrieron con un sellador comercial de nitrocelulosa.

Este método se desarrolló utilizando como referencia los utilizados por Smirina (1985), Wayne y Gregory (1998), y McCreary, et al. (2008).

Los cortes se observaron con un microscopio óptico Zeigen 36XAL at 10X equipado con una cámara digital y con el uso del programa ImageJ v1.52aa (Schneider et al., 2012) se midieron los radios de los anillos de crecimiento (Anulli).

Modelos de Crecimiento

Se exploró la relación entre el número de anillos en la costilla con las tallas de los individuos. Se verificó (por regresión y coeficientes de determinación) la relación talla del cuerpo (LHC) – tamaño de estructura (radio de la estructura ósea seleccionada desde el centro hasta el margen) y se realizó el retro-cálculo de las longitudes a las cuales se produjeron marcas anteriores al borde, se siguió el método propuesto por Ricker (1968). Estos procedimientos se realizaron de manera independiente para machos y hembras de cada especie.

Se utilizó la corrección para recuperar los anillos perdidos propuesta por (Griebeler, et al., 2013) a causa del crecimiento del espacio de la médula ósea en la región central de la costilla.

Con las edades y tamaños estimados se ajustaron los modelos de crecimiento. Para el modelo de von Bertalanffy. Los parámetros L_{∞} , P_{∞} , k y t_0 se estimaron por los métodos de Ford-Walford, Gulland, Beverton y Holt, así como directamente por regresión no lineal (Salgado-Ugarte, et al., 2005; Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020). Para el cálculo de las curvas Logística y Gompertz se utilizó la regresión no lineal (Salgado-Ugarte, et al., 2005). Adicionalmente se calcularon el criterio de Información de Akaike (Ogle, 2006) y el criterio de información Bayesiano (Schwarz, 1978).

Se compararon las trayectorias de crecimiento entre sexos del modelo matemático que mejor se ajustó, mediante la prueba multivariada de T^2 de Hotelling (Bernard, 1981) con las correcciones y adecuaciones señaladas por Headrick y Margraf (1982) y consideradas por Salgado-Ugarte, et al. (2005) y Salgado-Ugarte y Saito-Quezada (2020).

Resultados

Se describió la morfología de las costillas de las serpientes. En las dos especies se encontraron las mismas características físicas y que la mejor región para poder contar los anillos de crecimiento es la del grueso frontal (Figura: 1).

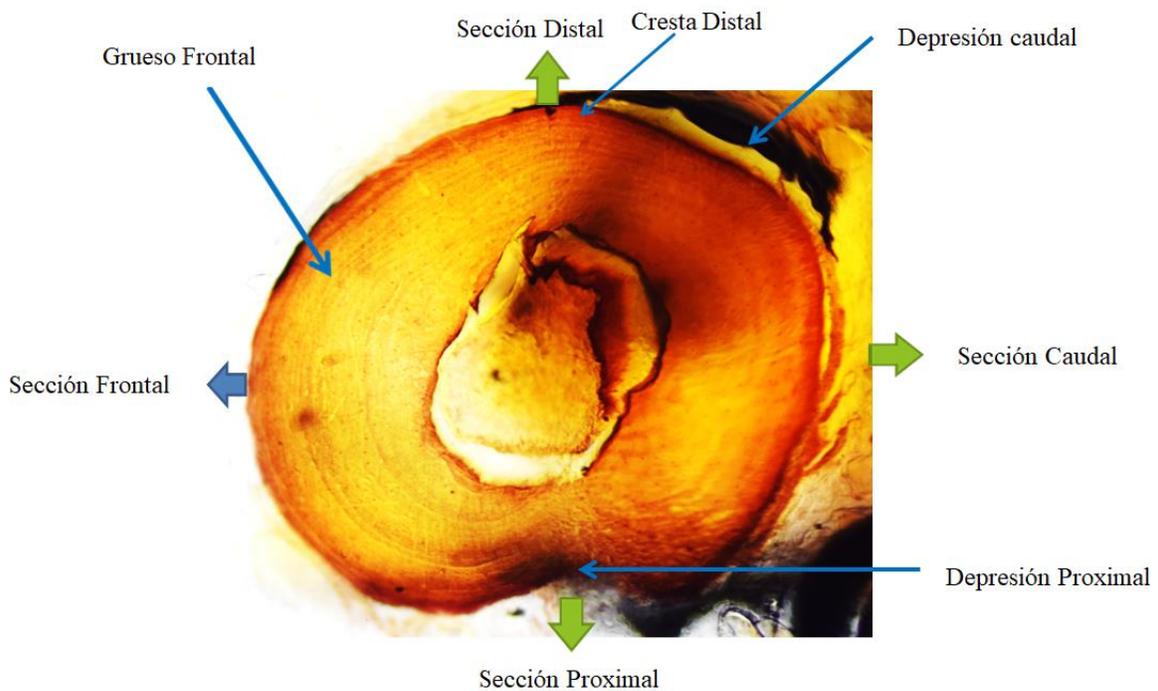


Figura 1: Descripción general de la morfología de un corte de costilla.

Crotalus ravus

La relación entre el radio total de las costillas y la LHC de cada organismo fue directa, alta y significativa (Figura: 2). Se calcularon los promedios y medias de la LHC para cada número de anillos de crecimiento por medio del retro-cálculo para obtener las tallas a las que se formaron las marcas anteriores al borde de la costilla y con estos datos talla-edad se ajustaron los modelos de crecimiento de von Bertalanffy, Logístico y Gompertz (Tabla: 1).

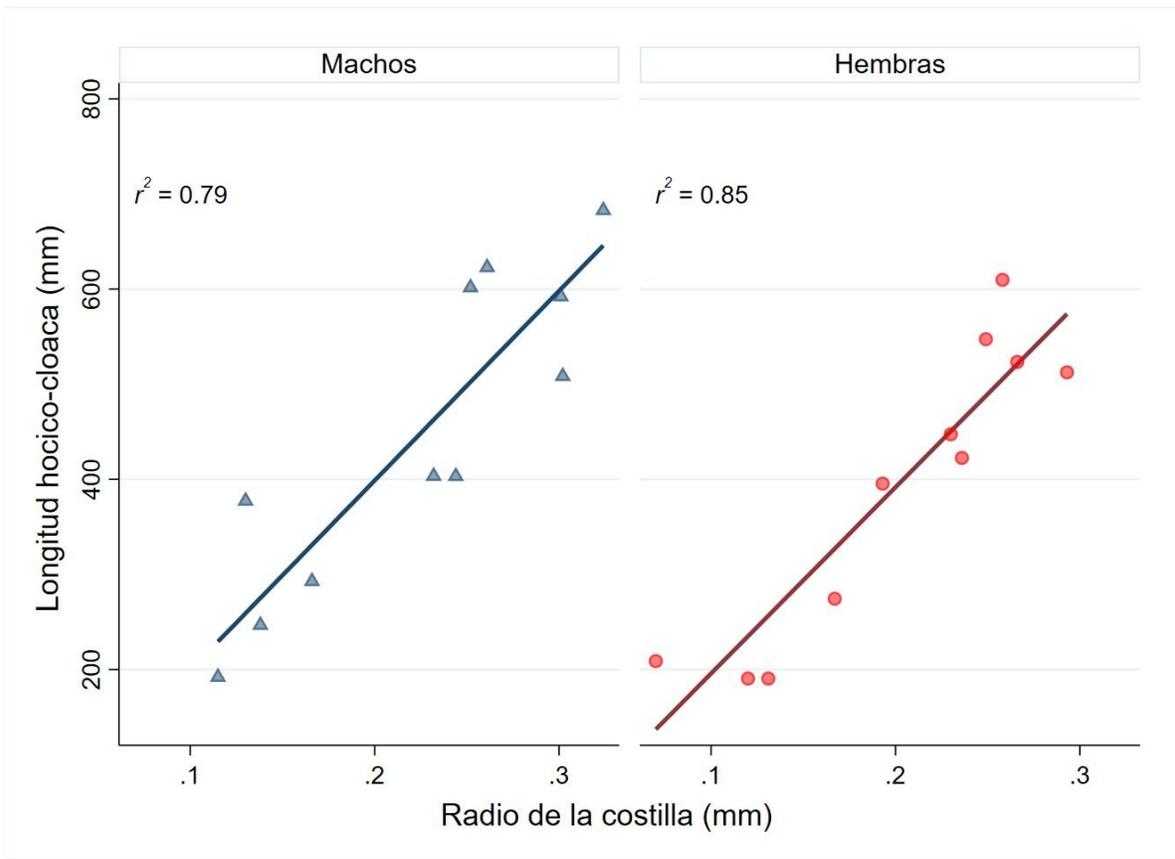


Figura 2: Relación entre el radio total de las costillas y la longitud hocico cloaca de *Crotalus ravus*

Tabla: 1 Comparativa de los parámetros de las funciones de crecimiento de von Bertalanffy y Gompertz

	AIC	BIC	Li
von Bertalanffy			
Machos Media	74.61227	75.20394	745.911
Hembras Media	73.95279	74.86055	727.1953
Machos Mediana	71.29107	71.88274	721.8592
Hembras Mediana	83.91066	84.81842	562.6139
Gompertz			
Machos Media	73.64891	74.24059	669.2752
Hembras Media	72.75758	73.66533	630.0755
Machos Mediana	70.92264	71.51431	656.4595
Hembras Mediana	85.3352	86.24295	542.0829

AIC: Criterio de información de Akaike, BIC: Criterio de información Bayesiano y Li: L infinita

Se escogió el modelo de von Bertalanffy como el que mejor describe el crecimiento de *Crotalus ravus*, el cual presentó diferencias significativas entre machos y hembras en dos de los parámetros de la función: k y t_0 (Tabla: 2, Tabla 3), (Figura: 3)

Tabla 2: Comparativa de las curvas de crecimiento entre machos y hembras en *Crotalus ravus*.

T ² = 593.85 T20.01: 3,15 = 18.417 F 0.01: 3,15 = 5.417			
Intervalo de Confianza 99 %			F
-131.088	≤ Li m – Li h ≤	168.519	0.084
0.006	≤ k m – k h ≤	0.125	6.607
0.530	≤ t0 m - t0 h ≤	3.368	21.092

Tabla 3: Parámetros de crecimiento de Machos y Hembras en *Crotalus ravus*.

Parámetro	Machos	Hembras
<i>L infinita</i>	745.911	727.195
<i>k</i>	0.160	0.094
<i>t₀</i>	-1.345	-3.580
Longevidad	13.004	20.797

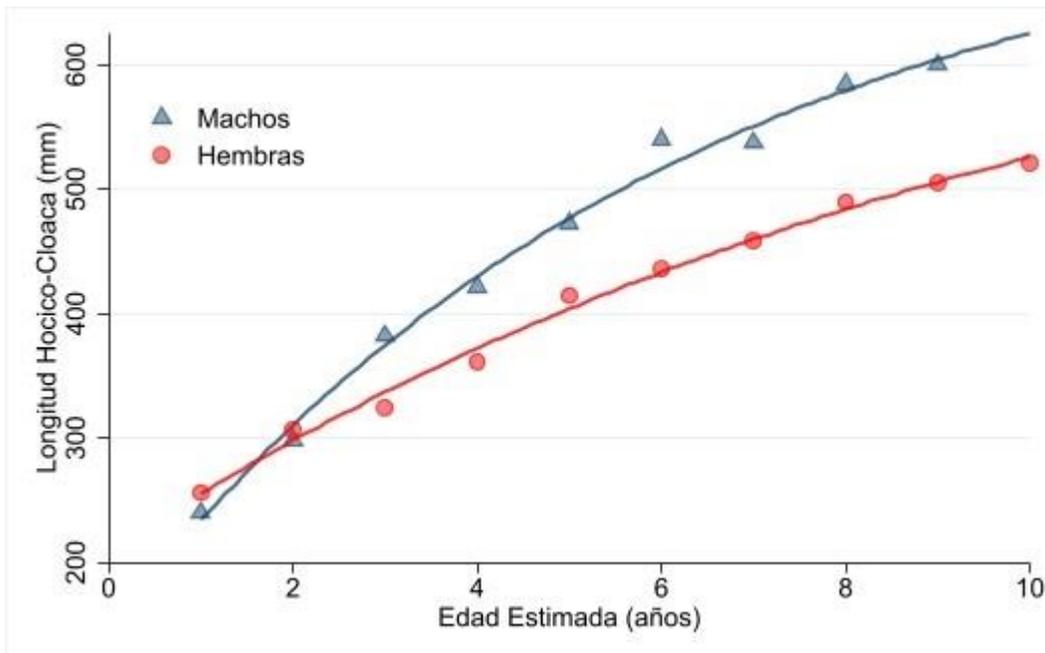


Figura 3: Modelo de crecimiento von Bertalanffy ajustado a *Crotalus ravus*

Conopsis biserialis

Se encontró una relación directa, elevada y significativa entre el radio total de las costillas y la LHC de cada organismo (Figura: 4). Se calcularon los promedios y las medianas de la LHC por el número de anillos de crecimiento obtenidos del retro-cálculo, lo cual permitió obtener las tallas a las que se formaron las marcas anteriores al borde de la costilla y se ajustaron los modelos de crecimiento de von Bertalanffy, Logístico y Gompertz (Tabla: 5).

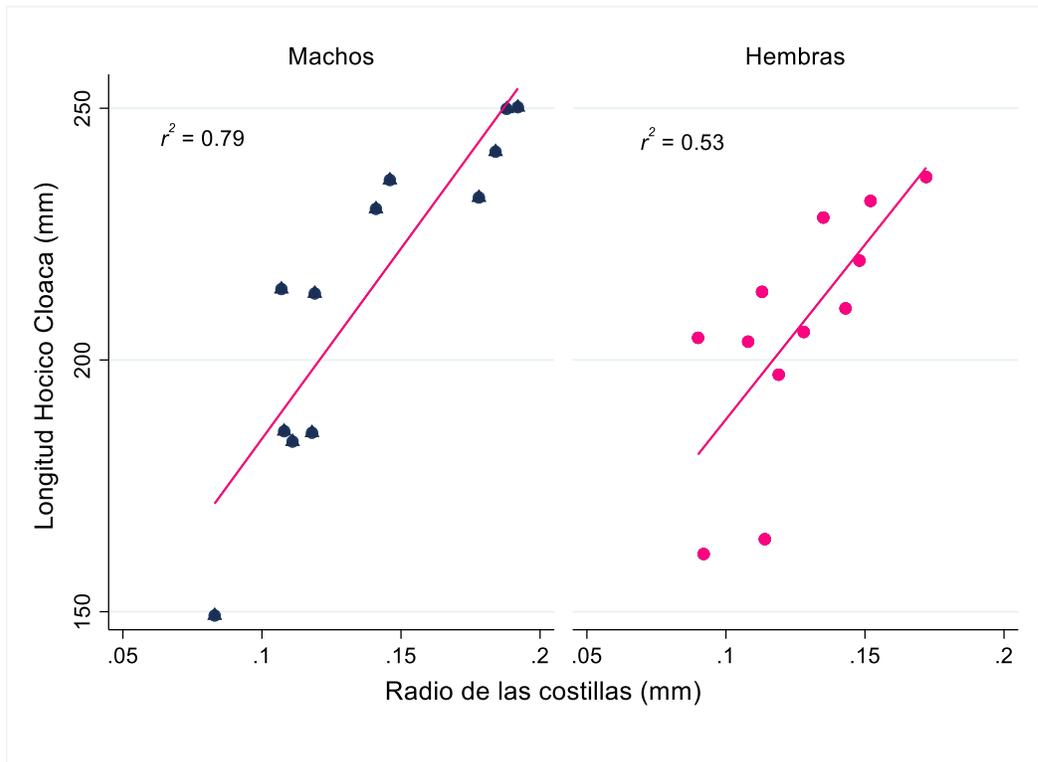


Figura 4: Relación entre el radio total de las costillas y la longitud hocico cloaca de *Conopsis biserialis*

Tabla 5: Comparativa de los parametros de la funcion de crecimiento de Gompertz, von Bertalanffy y Logistico

	AIC	BIC	Li
<hr/> von Bertalanffy <hr/>			
Machos Media	287.6076	292.5203	1202.602
Hembras Media	236.6781	241.1676	349.950
Machos Mediana	292.0614	296.9741	1909.098
Hembras Mediana	180.6393	185.1288	322.7596
<hr/> Gompertz <hr/>			
Machos Media	278.3162	283.229	345.9174
Hembras Media	230.782	235.2715	252.6623
Machos Mediana	278.9827	283.8954	390.3474
Hembras Mediana	185.1004	189.5899	241.5665
<hr/> Logístico <hr/>			
Machos Media	284.0061	279.0933	293.7156
Hembras Media	225.1417	229.6312	227.0414
Machos Mediana	275.9199	280.8326	326.6969
Hembras Mediana	189.7325	194.222	217.5358

AIC: Criterio de información de Akaike, BIC: Criterio de información Bayesiano y Li: L infinita

Se eligieron los modelos de Gompertz para los machos, y Logístico para las hembras. Para *C. biserialis* es muy notoria la diferencia entre los modelos de crecimiento entre ambos sexos (Tabla: 6, Figura: 5)

Tabla 6: Parámetros de crecimiento de Machos y Hembras en *Conopsis biserialis*

Parámetro	Machos	Hembras
<i>L infinita</i>	345.91	227.041
K	0.364	0.683
t_0	2.325	1.580
Longevidad	8.64	5.6

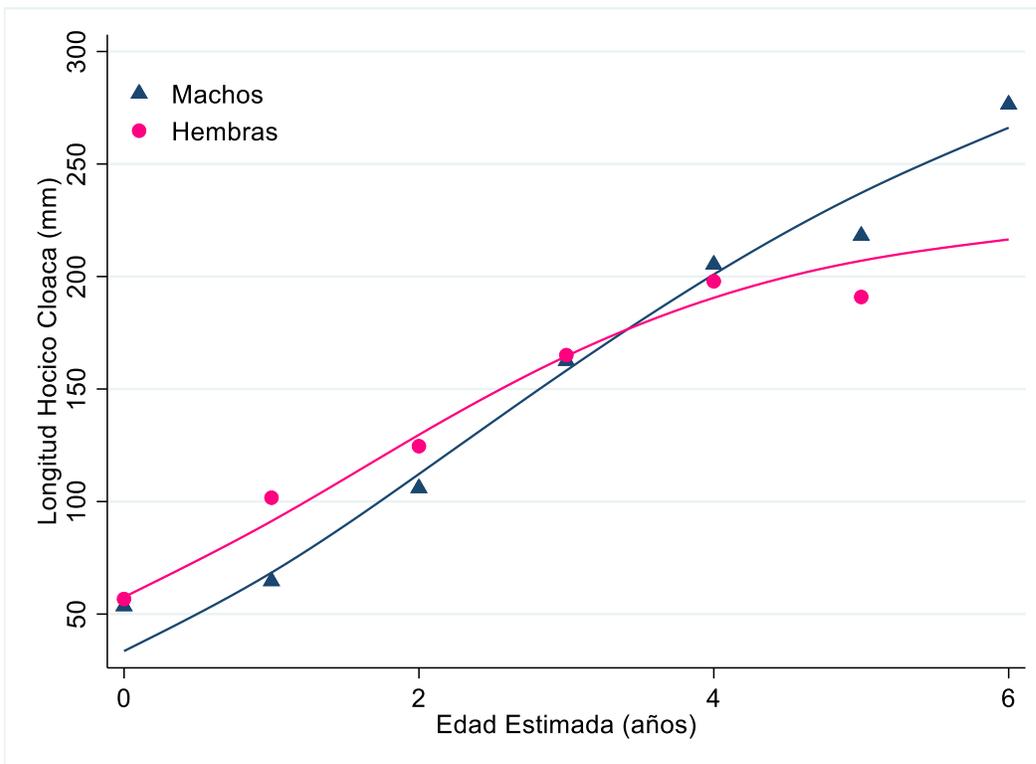


Figura 5: Modelo de crecimiento Gompertz para machos y Logístico para las hembras de *Conopsis biserialis*

Discusión

El modelo de crecimiento que se ajustó mejor a la especie *Crotalus ravus* es el de von Bertalanffy sobre todo debido a la “*L infinita*” que se asemeja mejor a las tallas reportadas de la especie. El modelo de crecimiento de von Bertalanffy ya se ha reportado en otras especies de serpientes (Shine y Charnov, 1992, Brito y Rebledo, 2003; Jenkins et al., 2009).

En los modelos de crecimiento uno de los parámetros que resultó ser significativamente diferente entre los sexos es “*k*”; dicho en otras palabras, las tasas de crecimiento son diferentes entre machos y hembras. También desde el nacimiento presentan diferencias significativas; en el caso de la talla teórica máxima no se presentaron diferencias significativas, pero cabe resaltar que las hembras tienen una mayor longevidad. Este fenómeno puede ser explicado por la diferente asignación de recursos entre los sexos: los machos asignan mayores recursos al crecimiento y en el comportamiento de las hembras en la etapa gestante puede disminuir su riesgo de depredación por lo que logran vivir más tiempo. Es por esto que llegan a alcanzar tallas similares a los machos que crecen a una mayor velocidad.

En cuanto a *Conopsis biserialis* encontramos modelos sigmoidales de crecimiento diferentes, lo que implica un crecimiento relativamente lento a las primeras edades y acelerado después del punto de inflexión de la curva (a edades mayores), efecto que es mayor en los machos los cuales, por la antisimetría de la curva de Gompertz presentan velocidades de crecimiento mayores lo que los hace ser más grandes. Con la información actual sobre esta especie podríamos suponer que el crecimiento diferencial entre machos y hembras se debe a causas evolutivas, posiblemente a selección sexual en machos, donde la selección natural está favoreciendo el aumento de tamaño en machos. El modelo logístico se ha considerado mejor para describir el crecimiento individual si hablamos de volumen (Shine y Charnov, 1992). El que las hembras se ajusten mejor al modelo logístico podría ser reflejo de selección por fecundidad. Sin embargo, no podemos descartar que los hábitos fosoriales de esta especie puedan afectar de manera significativa el crecimiento de esta especie.

Es importante resaltar que los estudios de edad y crecimiento en serpientes son escasos, pero con este estudio se pretende mostrar su importancia y potencial, ya que nos permiten vislumbrar historias y presiones evolutivas que moldean los cuerpos de los organismos. El ajuste de dos tipos diferentes de crecimiento en la misma especie es un fenómeno peculiar que nos invita a seguir investigando, ya que nos ha dejado algunas preguntas interesantes como son ¿Es común que se presenten

dos tipos diferentes de crecimiento en la misma especie? ¿Es común en especies fosoriales en el género *Conopsis*? ¿Si utilizamos el volumen en *Crotalus ravus* se presentará el mismo fenómeno? ¿Será generalizado? Por mencionar algunas.

Finalmente, y por lo anterior, consideramos que el método mostrado en este trabajo pudiera aplicarse de manera generalizada a las serpientes, para conseguir una mayor comprensión de las peculiaridades biológicas de este importante grupo de reptiles.

Referencias

- Arroyo, G.O. y L. Cerdas. 1986. Microestructura de las Escamas Dorsales de Nueve Especies de Serpientes Costarricenses (Viperidae). *Revista de Biología Tropical*. **34** (1): 123-126.
- Bernard, D.R. 1981. Multivariate Analysis as a Means of Comparing Growth in Fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **38** (2): 233-236.
- Branstetter, S. 1987. Age and Growth Estimates for Blacktip, *Carcharhinus limbatus*, and Spinner, *C.brevipinna*, Sharks from the Northwestern Gulf of Mexico. *Copeia*. **4** (1987): 964-974.
- Brito, J.C., y R. Rebelo. 2003. Differential Growth and Mortality Affect Sexual Size Dimorphism in *Vipera latastei*. *Copeia*. **4** (2003): 865-871.
- Campbell, J.A. y W.W Lamar. 1989. *The Venomous Reptiles of the Latin America*. Comstock, Cornell University Press, Ithaca and London. 425 p.
- Castañeda-Gonzalez, O., J. Manjarrez, I. Goyenechea y V. Fajardo. 2011. Ecology of a Population of the Earthsnake *Conopsis biserialis* in the Mexican Transvolcanic Axis. *Herpetological Conservation and Biology*. **6** (3):364–371.
- Castanet, J. 1994. Age Estimation and Longevity in Reptiles. *Gerontology*. **40** (2-4): 174-192.
- Castanet, J., D. G. Newman y H. Saint Girons. 1988. Skeletochronological Data on the Growth, Age, and Population Structure of the Tuatara, *Sphenodon punctatus*, on Stephens and Lady Alice Islands, New Zealand. *Herpetologica*. **44** (1): 25-37.
- Castro-Franco, R y Aranda-Escobar E. 1984. *Estudio Preliminar Sobre La Ecología De Los Reptiles Del Estado De Morelos*. Tesis de licenciatura, Escuela de Biología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos México. 120 p.
- Chinsamy, A., S.A. Hanrahan, R. M. Neto y M. Seely. 1995. Skeletochronological Assessment of Age in *Angolosaurus skoogi*, a Cordylid Lizard Living in an Aseasonal Environment. *Journal of Herpetology*. **29** (3): 457-460.

- Collins, E.P. y G. H. Rodda. 1994. Bone Layers Associated with Ecdysis in Laboratory-Reared *Boiga irregularis* (Colubridae). *Journal of Herpetology*. **28** (3): 378-381.
- Comas, M., S. Reguera, F. J. Zamora–Camacho, H. Salvadó y G. Moreno–Rueda. 2016. Comparison of the Effectiveness of Phalanges vs. Humeri and Femurs to Estimate Lizard Age with Skeletochronology. *Animal Biodiversity and Conservation*. **39** (2016): 237-240.
- Crisóstomo-Pérez M., M. Feria-Ortiz. 2017. *Dimorfismo Sexual y Aspectos Reproductivos de Crotalus ravus Estudio Ecológico*. Editorial Académica Española, Balti Moldavia 61p.
- Diller, L.V. y R.L. Wallace, 2002. Growth, Reproduction, and Survival in A Population of *Crotalus viridis oreganus* in North Central Ohio. *Herpetological Monographs*. **16** (1): 26-45.
- Ergül Kalayci T., A Altunýþýk, C. Gül, M. Tosunođlu, N. Özdemir. 2017. Age Structure of The Caucasian Agama (Paralaudakia Caucasia) from Elmadađ, İđdýr, Turkey: Preliminary Data from Small Sample Size. *Russian Journal of Herpetology*. **24** (4): 318-322.
- Ergül Kalayci T., A. Altunişik, Ç. Gül, N. Özdemir y M. Tosunođlu. 2015. Preliminary Data on the Age Structure of *Asaccus barani* (Baran's leaf-toed gecko) from Southeastern Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Zoology* **39** (4):1-5.
- Erođlu, A. İ; Erođlu, U. Bülbul y M. Kurnaz. 2017. Age Structure and Growth in a Turkish Population of the Italian Wall Lizard *Podarcis siculus* (Rafinesque-Schmaltz,1810) (Reptilia: Lacertidae). *Acta Zoologica Bulgarica*. **69** (2): 209-214.
- Fornasiero, S, X. Bonnet, F. Dendi y M., A., L., Zuffi. 2016. Growth, Longevity and Age at Maturity in the European whip Snakes, *Hierophis viridiflavus* and *H. carbonarius*. *Acta Herpetologica* **11** (2): 135-149.
- Germano, D. J. 1998. Scutes and Age Determination of Desert Tortoises Revisited. *Copeia*. **2**(1998): 482-484.
- Greene, H. W., y J. A. Campbell. 1992. *The Future of Pit Vipers*. En *Biology of the Pit Vipers*. Jonathan A. Campbell, Edmund D. Brodie (Eds) Selva, Tyler, Texas, 467p.
- Griebeler, E.M., N. Klein y P. M. Sander. 2013. Aging, Maturation and Growth of Sauropodomorph Dinosaurs as Deduced from Growth Curves Using Long Bone Histological Data: An Assessment of Methodological Constraints and Solutions. *PLoS ONE* **8**(6): e67012. doi:10.1371/journal.pone.0067012.
- Guarino, F.M., A. Di Maio y V. Caputo. 2004. Age Estimation by Phalangeal Skeletochronology of *Caretta caretta* from the Mediterranean Sea. *Italian Journal of Zoology*. **71** (S2): 175-179.

- Horner, J.R., A. de Ricqlès y K. Padian. 1999. Variation in Dinosaur Skeletochronology Indicators: Implications for Age Assessment and Physiology. *Paleobiology*. **25** (3): 295-304.
- Hutton, J.M. 1986. Age Determination of Living Nile Crocodiles from the Cortical Stratification of Bone. *Copeia*. **2** (1986): 332-341.
- Jenkins, C.L., C. R. Peterson, S. C. Doering, y V. A. Cobb. 2009. Microgeographic Variation in Reproductive Characteristics among Western Rattlesnake (*Crotalus oreganus*) Populations. *Copeia*. **4** (2009): 774-780.
- Karkach, A.S. 2006. Trajectories and Models of Individual Growth. *Demographic Research*. **15** (2006): 347-400.
- Kumaş M, y D., Ayaz. 2014. Age Determination and Long Bone Histology in *Stellagama stellio* (Linnaeus, 1758) (Squamata: Sauria: Agamidae) Populations in Turkey. *Vertébrate Zoology*. **64** (1): 113 – 126.
- Kumbar, S., R. y K. Pancharatna. 2003. Formation and Bone Growth Mark Patterns in The Indian Skipper Frog *Rana cyanophlyctis*. *Russian Journal of Herpetology*. **10** (2): 135 – 139.
- Lillywhite, H. B., M. S. Coleman, F. Ois Brischoux y J. B. Pfaller. 2015. On the Abundance of a Pelagic Sea Snake. *Journal of Herpetology*: **49** (2): 184–189.
- Kropach, C. 1971. Sea Snake (*Pelamis platurus*) aggregations on slicks in Panama. *Herpetologica*. **27** (2):131–135.
- Madsen, T., y R. Shine. 1994. Cost of Reproduction Influence the Evolution of Sexual Size Dimorphism in Snakes. *Evolution*. **48** (2):1389-1397.
- McCreary, B., C.A. Pearl y M.J. Adams. 2008. A Protocol for Aging Anurans Using Skeletochronology. U.S. *Geological Survey Open-File Report* 2008-1209, 38p.
- Minakami, K. 1979. An Estimation of Age and Life-Span of the Genus *Trimeresurus* (Reptilia, Serpentes, Viperidae) on Amami Oshima Island. *Japan. Journal of Herpetology*. **13** (2):147 -152.
- Murawska, D. 2017. The Effect of Age on Growth Performance and Carcass Quality Parameters in Different Poultry Species. En. *Poultry Science*. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/64860>
- Nacarino-Meneses, C X. Jordanaa, y M. Köhler. 2015. First Approach to Bone Histology and Skeletochronology of *Equus hemionus*. *Comptes Rendus Palevol*. **15** (1-2): 267-277.
- Ogle, D.H. 2016. Introductory Fisheries Analyses with R. Chapman and Hall/CRC. New York 337 p.

- Ortega-Rubio, A., M. Khodaddost y R. Servin. 1993. Skeletochronology in the Mezquite Lizard, *Sceloporus grammicus*. *The Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*. **73** (1993): 31-34.
- Pellegrini, R. 2007. Skeletochronology of the Limb Elements of Mosasaurs (Squamata; Mosasauridae). *Transactions of the Kansas Academy of Science*. **110** (1/2): 83-99.
- Ricker, W. E. 1968. *Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters*. IBP Handbook No. 3. F. A. Davis, Philadelphia, Pennsylvania. 328 p.
- Salgado-Ugarte, I.H. y V.M. Saito-Quezada, 2020. *Métodos Cuantitativos Computarizados para Biología Pesquera*. FES-Zaragoza, UNAM, México: 487 p.
- Salgado-Ugarte, I.H., J.L. Gómez-Márquez y B. Peña-Mendoza. 2005. *Métodos Actualizados para Análisis de Datos Biológico-Pesqueros*. FES-Zaragoza, UNAM. 240 pp.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., y Eliceiri, K. W. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, **9** (7): 671–675.
- Schwarz, G. E. 1978. Estimating the Dimension of a Model. *Annals of Statistics*. **6**(2): 461-464.
- Shine, R. y E.L. Charnov.1992. Patterns of Survival, Growth, and Maturation in Snakes and Lizards. *The American Naturalist*. **139** (6):1257-1269.
- Smirina, E.M. 1985. Some Results of the Studies of Growth in Anura. En *Studies in Herpetology Proceedings of the European Herpetological Meeting* (3rd Ordinary General Meeting of the Societas Europea Herpetologica) Prague Checoslovaquia URSS. 754p.
- Taylor, E.N. y F.D. Denardo. 2005. Sexual Size Dimorphism and Growth Plasticity in Snakes: An Experiment on the Western Diamond-Backed Rattlesnake (*Crotalus atrox*). *Journal of Experimental Zoology*. **303** (7): 598–607.
- Thomas, R. y Leal M. 1993. Feeding Envenomation by *Arrhyton exiguum* (Serpentes: Colubridae). *Journal of Herpetology*. **27** (1):107-109.
- Trinidad-Bello, A. 2014. Modelos de Crecimiento en Biología, su Significado Biológico y Selección del Modelo por su Ajuste. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. D.F. México 101p.
- Tucker, A.D. 1997. Validation of Skeletochronology to Determine Age of Freshwater crocodiles (*Crocodylus johnstoni*). *Marine Freshwater Reserch*. **48** (4): 343–51.
- Uribe-Peña, Z., A. Ramírez-Bautista, G. Casas-Andreu. 1999. Anfibios y Reptiles de las Serranías del Distrito Federal. *Cuadernos del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México*. Vol. 32, 119p.

Waskow, K., y O. Mateus. 2017. Dorsal Rib Histology of Dinosaurs and a Crocodylomorph from Western Portugal: Skeletochronological Implications on Age Determination and Life History Traits. *Comptes Rendus Palevol.* **16** (2017): 425-439.

Wayne, H.L. y P. T. Gregory. 1998. Determining the Age of Garter Snakes (*Thamnophis* spp.) by Means of Skeletochronology. *Canadian Journal of Zoology.* **76** (2): 288-294.

Yamasaki, H., Yuki Taguchi, S., Minami, K., Kuwabara y N., Shimizu. 2017. Age Determination by Skeletochronology of the Japanese Giant Salamander *Andrias Japonicus* (Amphibia, Urodela). *Bulletin of the Hiroshima University Museum.* **9** (2017): 41-47.

Agradecimientos

Agradecemos a M. Feria Ortiz, H. Eliosa León, I. Goyenechea Mayer Goyenechea y J. C. López Vidal por la autorización para examinar los especímenes de las colecciones científicas y a Genaro Montaña Arias por su apoyo en el trabajo de campo.

Este trabajo recibió apoyo por la DGAPA, PAPIME (proyectos PE207417, PE209120 y PE204822) y la FES Zaragoza, UNAM (IHSU); por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (beca de doctorado número 545210; MCP) y Cátedras CONACyT, número de proyecto 833 (ADVP). Este escrito se realizó como parte de las actividades del primer autor dentro del Programa del Doctorado en Ciencias Biológicas, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.



Modalidad: Cartel

DIMORFISMO SEXUAL EN LA SERPIENTE DE TIERRA *Conopsis biserialis* MEDIANTE DOS APROXIMACIONES

1,2Míxtli Crisóstomo Pérez, 1Isaías H. Salgado Ugarte, 2Aníbal H. Díaz de la Vega Pérez, 1Zamira A. Ávila Valle, 1Verónica M. Saito Quezada, 1Candelario Jiménez Olivares y 1Gissele Islas López.

1 Laboratorio de Biometría y Biología Pesquera. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Campus II, UNAM, Batalla del 5 de Mayo esq. Fuerte de Loreto, Col. Ejército de Oriente, Iztapalapa, 09230, CDMX.

2 Laboratorio de Ecofisiología, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATX. Carretera Tlaxcala-Puebla Km 1.5 C.P. 90062, Tlaxcala, Tlaxcala.

El dimorfismo sexual es, la diferencia sistemática entre individuos de diferente sexo, en la misma especie, en las serpientes vivíparas esperaríamos la presencia de dimorfismo sexual. Las formas más comunes en las que el dimorfismo sexual se presenta en serpientes son, en longitud hocico cloaca, longitud de la cola y forma y /o tamaño de la cabeza, pero el caso de *Conopsis biserialis* no se tiene reporte de este fenómeno, una posible explicación es por un análisis superficial del dimorfismo sexual. Por lo cual evaluamos el dimorfismo sexual en *Conopsis biserialis* mediante la Morfometría tradicional y la geométrica. Para ello se registraron las siguientes medidas morfométricas: I) longitud hocico cloaca (LHC) II) longitud de la cola (LCOL) III) Ancho de la cola (ACOL); IV) Ancho de la cabeza (ACAB); V) Distancia Interocular (DIO) VI) Ancho Medio de la Cabeza (AMCA); VII) Ancho de la Nuca (NUC) VIII) Ancho de la sección media del cuerpo (APMC) IX) Ancho de la parte final del Cuerpo (APFC). Se realizaron los análisis T2 de Hotelling, t de Student, ANMUCOVA, ANCOVA y Discriminante. En cuanto a la Morfometría geométrica se escogieron 14 marcas y se aplicó un análisis discriminante. Se encontraron diferencias significativas entre los sexos, en la pruebas univariadas se encontraron diferencias significativas en la LCOL, LT y DIO. Los análisis de covarianza mostraron diferencias significativas en LCOL, LT Y APFC. En cuanto a la forma de la cabeza, se encontraron diferencias significativas, las hembras poseen una cabeza más fina. Con lo que concluimos que hasta el momento, la evaluación del dimorfismo sexual, se había realizado de manera superficial evitando observar las diferencias entre sexos en *Conopsis biserialis*.

Palabras clave: Morfometría, Morfometría Geométrica, Dimorfismo Sexual, Colubridae



Experimental evidence of polyandry and prolonged copulations in *Photinus palaciosi*, a synchronous firefly with brachypterous females (Coleoptera: Lampyridae)

ALDAIR VERGARA¹, TANIA LÓPEZ-PALAFIX^{2,*}, JAIME CAMACHO-GARCÍA³, DAVID XOCHIPILTECATL³, MIXTLI CRISÓSTOMO⁴ and CARLOS CORDERO^{3,*} 

¹ Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, EDOMEX, 54090, México; e-mail: doctorlobo18@gmail.com

² Posgrado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, 04510, México; e-mail: tnpalafix@gmail.com

³ Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, 04510, México; e-mails: holajimy@gmail.com, d_xochipiltecatl@ciencias.unam.mx, cordero@ecologia.unam.mx

⁴ Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, 90070, México; e-mail: mixtli89@hotmail.com

Key words. Mating behaviour, mating system, copula duration, mate guarding

Abstract. Males of some species of the firefly *Photinus* produce nutritious spermatophores (nuptial gifts) the production of which is associated with a specific reproductive morphology. In fireflies and other insects, the production of nuptial gifts favours the evolution of polyandry. On the other hand, in fireflies, wing reduction (brachyptery) in females is associated with the lack of nuptial gifts. *P. palaciosi* is a synchronous firefly with brachypterous females, which would indicate an absence of nuptial gifts and a monandrous mating system. However, the reproductive morphology of *P. palaciosi* is like that of species producing nuptial gifts, which indicates this species should be polyandrous. Here, the results of an experimental study designed to test if females of the synchronous firefly *Photinus palaciosi* are polyandrous or monandrous are reported. The duration of copula was determined because this trait is associated with absence/presence of nuptial gifts in fireflies: it is very short (few minutes) in species lacking nuptial gifts and long (hours) in gift-giving species. More than sixty percent of the females mated with several males and the duration of each copulation was long. Thus, these results, together with those of previous studies on the morphology of the reproductive system, strongly indicate that males produce spermatophores (which usually contain nutrients and are, thus, considered nuptial gifts), which provides a possible explanation of both polyandry and prolonged copulations in *P. palaciosi*.

INTRODUCTION

Fireflies are charismatic insects that recently have been used as a flagship group for conservation biology due to their susceptibility to habitat destruction and light pollution (Lewis et al., 2020), with some species, particularly those considered to be synchronous fireflies, being the focus of ecotourist activities (Lemelin et al., 2021; Lewis et al., 2021). Their charisma and fragility are, in part, a result of the fascinatingly diverse mating biology of the bioluminescent nocturnal species (Lewis & Cratsley, 2008). For example, while some fireflies occur at very low densities, synchronous fireflies are characterized by relatively short nightly mating periods (typically 1–2 h) during which very large numbers of flying males (usually thousands) produce bioluminescent signals, continuously or sporadically in synchrony (Lewis, 2016). Another intriguing feature of

fireflies is the variation in the degree of wing reduction in females (Lewis & Cratsley, 2008; South et al., 2011): whereas in many species females have well developed, fully functional wings, there are species in which females exhibit different degrees of wing reduction (a condition known as brachyptery) and cannot fly. Furthermore, in fireflies there is variation in ejaculates, with males of several species producing nutritious spermatophores that females use to increase their reproductive success (Lewis & Cratsley, 2008). The physiological trade-off between flight and reproduction led Lewis & Cratsley (2008) to propose that in fireflies with females that can fly selection would favour the evolution of nutritious spermatophores (hereafter, nuptial gifts) that would compensate in part for the resources invested by females in flying. The evolution of nuptial gifts, in turn, favours the evolution of polyandry in fireflies

* Corresponding authors; e-mails: tnpalafix@gmail.com, cordero@ecologia.unam.mx