



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ECOMORFOLOGÍA Y SEÑAL  
FILOGENÉTICA EN VÉRTEBRAS DE  
SERPIENTES**

**Tesis que para obtener el grado de  
LICENCIADO (A) EN BIOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**NUT XANAT SUÁREZ PÉREZ**

**Directores de Tesis:**

**DR. JOSÉ ALBERTO CRUZ SILVA**

**M. EN C. CIRENE GUTIÉRREZ**

**BLANDO**



Puebla, Pue., marzo 2021

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco profundamente al Dr. José Alberto Cruz Silva por apoyar el proyecto y la orientación. A la M. en C. Cirene Gutiérrez Blando por la asesoría en los métodos de morfometría geométrica.

A las revisoras: la Dra Dulce Figueroa y la Dra. Hortensia Carillo por sus atinados comentarios que enriquecieron este trabajo.

A Damián Villaseñor por su apoyo y compañía en la toma de las fotografías y a Ericka Cortés por la preparación de los esqueletos de las serpientes.

A los compañeros del laboratorio de paleontología.

A mis amigas de la carrera Ali, Xiumy y Adua.

A mi familia y amigos que estuvieron presentes durante la realización de este proyecto y a lo largo de toda mi carrera en biología.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<i>Ecomorfología</i> .....	3
<i>Morfometría geométrica y patrones evolutivos</i> .....	4
<i>Serpientes como modelos evolutivos</i> .....	7
<b>ANTECEDENTES</b> .....	8
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	11
<b>HIPÓTESIS</b> .....	12
<b>OBJETIVOS</b> .....	13
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	13
<i>Especímenes y colección</i> .....	13
<i>Morfometría geométrica</i> .....	16
<i>Análisis de datos</i> .....	17
<i>Señal filogenética y el cambio de la forma vertebral a través de la filogenia</i> .....	21
<i>Mapeado de hábitos locomotores mediante la filogenia</i> .....	24
<b>RESULTADOS</b> .....	27
<i>Morfometría Geométrica</i> .....	27
<i>Análisis de PCA y CVA</i> .....	28
<i>Diversidad morfológica</i> .....	36
<i>Señal filogenética y el cambio de la forma vertebral a través de la filogenia</i> .....	39
<i>Reconstrucción de los hábitos locomotores mediante la filogenia</i> .....	45
<b>DISCUSIÓN</b> .....	50
<i>Variación morfológica de los grupos monofiléticos y hábitos locomotores</i> .....	50
<i>Señal filogenética y señal ambiental de la forma vertebral de las serpientes</i> .....	53
<i>Reconstrucción de hábitos locomotores mediante la filogenia</i> .....	56
<i>Vértebras como modelos ecológicos y evolutivos</i> .....	58
<b>CONCLUSIONES</b> .....	60
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	61
<b>ANEXOS</b> .....	72

## RESUMEN

Las serpientes son un grupo evolutivamente diverso que se ha adaptado a una gran cantidad de hábitats. Se ha sugerido que esta diversidad se vea reflejada en la morfología vertebral de serpientes como microespecializaciones anatómicas que difieren de acuerdo con demandas funcionales requeridas por el ambiente en el que habitan las especies. Sin embargo, algunos trabajos previos sugieren contradictoriamente, que la morfología vertebral es producto de la gran carga filogenética del grupo y no de presiones ambientales. Para poder explorar las adaptaciones de las vértebras de serpientes a sus hábitos locomotores, se analizó la variación de la forma vertebral con morfométrica geométrica y una perspectiva filogenética de las especies de serpientes con distintas adaptaciones locomotoras y diferentes grupos taxonómicos. Los resultados indican que la morfología vertebral es más generalista que especialista y la historia evolutiva del clado se refleja predominantemente en la forma de las vértebras presentando una alta señal filogenética. Especies con hábitos locomotores similares no necesariamente presentan adaptaciones morfológicas que las distinguan de otros grupos ecológicos y sólo especies altamente especializadas como serpientes marinas presentan ciertas diferenciaciones microanatómicas. La disparidad a través del tiempo indica que, las características vertebrales de las serpientes han sido producto de estasis adaptativa, en donde los grupos más ancestrales presentaban la mayor parte de la diversidad morfológica que presentan las especies actuales y la fosorialidad es probablemente la condición ancestral de la raíz de la filogenia, e indica el inicio de los hábitos en las serpientes analizadas, posteriormente aparece el hábito terrestre, arborícola, acuático y marino. La morfología generalista de las serpientes y la ausencia de especializaciones vertebrales se debe a que las serpientes pueden cambiar de un modo locomotor a otro por cambios en el sustrato, o si las condiciones ambientales lo requieren, lo cual permite justificar que sean versátiles en una variedad de entornos y ayuda a explicar su gran éxito evolutivo.

## INTRODUCCIÓN

Procesos biológicos como los grandes cambios morfológicos en organismos ocurren a través de periodos de tiempo geológico, lo que impide que sean estudiados usando métodos experimentales. Por esta razón, el uso de la biología comparada, la cual intenta comprender la diversidad y complejidad de la vida desde los genes hasta el rol de los organismos en los ecosistemas (Ibáñez y Méndez, 2014), es un recurso central para aclarar los mecanismos que operan en el origen de la diversidad morfológica (Garamszegi, 2014; Revell, 2014).

Las comparaciones entre linajes se realizan principalmente por medio de estudios de abundancia y distribución de los organismos, ecofisiología, etología y ecomorfología, entre otros (Ibáñez y Méndez, 2014). Un factor importante en la comparación entre linajes es la historia filogenética, la cual toma en cuenta las relaciones entre especies (Revell, Harmon, y Collar, 2008) y permite comprender cómo es que la herencia filogenética y los procesos evolutivos han moldeado los rasgos que observamos en las especies actuales (Diaz, 2002; Ibáñez y Méndez, 2014). La historia filogenética también nos ayuda a entender cómo los rasgos determinan las formas de vida de las especies (Wainwright, 1996) generando hipótesis acerca de cómo han evolucionado y cuánto han cambiado (Ibáñez y Méndez, 2014) a través de millones de años.

El conocimiento de las relaciones evolutivas entre un grupo de especies es clave en el estudio de la biología comparada, ya que los datos de las especies no pueden ser considerados independientes debido a la historia evolutiva que comparten (Diaz, 2002; Revell, Harmon, y Collar, 2008; Revell, 2010). Este es el campo de los métodos comparativos filogenéticos que nos permiten estudiar la historia de la evolución de los organismos y su diversificación (Cornwell y Nakagawa, 2017) y que constituyen una variedad de enfoques estadísticos que se pueden utilizar para analizar árboles filogenéticos y datos asociados sobre los rasgos de las especies (Pennell y Harmon, 2013; Cornwell y Nakagawa, 2017).

En consecuencia, la filogenia y los rasgos de las especies son producto de procesos históricos, los cuales podrían dejar una marca distintiva entre los datos de los organismos (Revell, Harmon, y Collar, 2008). De esta manera, se pueden hacer inferencias sobre procesos como dinámica de clados (Hunt y Slater, 2016), evolución de caracteres, reconstrucción de caracteres, pruebas de señal filogenética y de modelos evolutivos (Pennell y Harmon, 2013; Cornwell y Nakagawa, 2017).

Uno de los principales objetivos de los métodos comparativos filogenéticos es entender el “*tempo y modo de evolución*” (Cornwell y Nakagawa, 2017). Es decir, representar matemáticamente el valor del cambio del rasgo a lo largo de cada rama de la filogenia y reconstruir la forma en que los rasgos cambian a través del tiempo (Cornwell y Nakagawa, 2017).

Por otro lado, los rasgos observables más importantes en los organismos son los rasgos morfológicos. Al ser de gran importancia en la sistemática por el papel que juega la variación morfológica y cómo esta variación define las brechas entre especies, la morfología hace a cada taxón único y diagnosticable, en una estructura jerárquica que refleja la magnitud del cambio morfológico que puede resultar de un gran número de procesos evolutivos (MacLeod y Forey 2002). Sin embargo, interpretar la magnitud y direccionalidad de los cambios morfológicos requiere establecer hipótesis de sus causas, incluyendo la genética, la funcional, la filogenética, la ontogenética, la ecológica y la etológica (Betz, 2006). Por ese motivo, en este trabajo, se consideró a la ecomorfología que utiliza principalmente a la filogenia y la ecología en un mismo contexto.

### *Ecomorfología*

La mayoría de las hipótesis evolutivas, se han generado a partir de observaciones en organismos actuales y de características morfológicas que pueden ser relacionadas con su comportamiento, distribución, alimentación, reproducción, la función que cumplen en los ecosistemas y el nicho ecológico del cual obtienen

recursos, en otras palabras, la relación entre la morfología y el ambiente (Wainwright, 1991; Barr y Scott, 2014; Barr, 2018)

Los trabajos ecomorfológicos que estudian las relaciones entre el diseño funcional de un organismo y su ambiente (Losos, 1990; Wainwright, 1991; França et al., 2008) han optado por probar dos hipótesis: 1) El efecto del ambiente sobre el diseño funcional de un organismo, donde la adopción de morfologías similares en taxa filogenéticamente separados que se desarrollan en hábitats similares, suponen fuertes evidencias para pensar que se tratan de características adaptativas (Losos 1990; Wainwright, 1991; Barr, 2014, 2015); 2) y el efecto del diseño sobre la ecología del organismo, considerando el rol de su historia filogenética como una explicación complementaria al diseño corporal y funcional de los organismos (Wainwright, 1991; Barr, 2014, 2015).

En ecomorfología, la filogenia permite incluir información histórica clave sobre los determinantes de la forma, función y ecología de los organismos (França et al., 2008). Además, posibilita la reconstrucción de la secuencia histórica de cambios morfológicos a través del tiempo (Lauder, 1981; Richter y Wirkner, 2014). Sirve como una hipótesis a partir de la cual se pueden detectar los cambios morfológicos, e indica el sentido en el que se deben explicar las correlaciones entre la morfología y el entorno (Lauder, 1981).

### *Morfometría geométrica y patrones evolutivos*

La descripción, análisis e interpretación cuantitativa de las formas y su variación es el campo de la morfometría (Rohlf, 1990). Con la morfometría, es posible conocer la relación entre la diversidad morfológica y factores bióticos o abióticos (Toro-Ibacache et al., 2010; Cooke y Terhune, 2014).

El uso de dimensiones lineales en la morfometría tradicional describe variaciones en ancho, largo o área de un organismo. Sin embargo, estas medidas contienen menos información de lo que se esperaría *a priori*. Por ejemplo, dos figuras geométricas distintas como lo son un triángulo y un cuadrado pueden presentar

variables lineales iguales como altura y ancho (Toro-Ibacache, (2010), por lo tanto, no es posible garantizar su independencia geométrica (Zelditch et al., 2012; Sánchez, 2014).

En cambio, los métodos de morfometría geométrica son apropiados para una amplia variedad de preguntas relacionadas con la forma (*shape*) (Zelditch et al., 2012), muchas de las cuales habían existido anteriormente como descripciones cualitativas, ya que este método opera con una definición establecida de la forma y respaldada por una estadística robusta (Curran, 2018). Esto permite proporcionar una descripción de alta resolución de la forma, analizar una característica anatómica como una unidad, visualizar las diferencias de forma y relacionar la forma con aspectos ambientales (Curran, 2018).

El rápido avance de las técnicas de morfometría geométrica ha sido posible gracias al desarrollo matemático de la teoría de la forma. En esta teoría, la forma de un organismo engloba el conjunto de sus características geométricas exceptuando su tamaño, posición y orientación (Kendall, 1977). Por lo tanto, estas tres variables se pueden extraer sin riesgo de perder información relativa a la forma del objeto (Dryden y Mardia, 1998; Zelditch et al., 2012), ya que el único criterio para determinar si dos estructuras tienen la misma forma es su similitud geométrica (Sánchez, 2014).

En morfometría geométrica, toda la información referida a la forma queda retenida en la configuración de marcas (Zelditch et al., 2012). Una marca corresponde a un punto anatómico de referencia, pues se encuentra en estructuras anatómicas fácilmente diferenciables y en coordenadas cartesianas (x, y), tanto en formas bidimensionales como tridimensionales (x, y, z), que son las que describen su posición en el espacio de la forma (Bookstein, 1997; Zelditch et al., 2012; Toro-Ibacache et al., 2010; Cooke y Terhune, 2014; Curran, 2018).

Sin embargo, una marca individual no puede ser objeto de comparación al estudiar toda la forma (Zelditch et al., 2012). De este modo, las comparaciones se realizan entre las configuraciones de marcas y los resultados del estudio se basan en el

conjunto de los datos que si reflejan la forma (Zelditch et al., 2012), en lugar de basarse en una sola variable, como ocurre en la morfometría tradicional. Además, no existen correlaciones entre las marcas como podría ocurrir entre las medidas realizadas en morfometría tradicional. Las medidas de morfometría tradicional generan un número excesivo de variables correlacionadas que en términos geométricos son redundantes y representan dificultades en su interpretación (Richtsmeier et al., 2002; Zelditch et al., 2012).

Representar la forma de un organismo mediante su configuración de marcas puede dejar fuera aspectos importantes como la curvatura (Zelditch et al., 2012). La curvatura es una característica inherente a la forma y se mantiene después de filtrar los efectos de la localización, escala y traslación (Zelditch et al., 2012). Sin embargo, no es capturada de forma eficiente por la configuración de un conjunto de marcas. Para solventar este problema se hace uso de las semimarcas. Estos corresponden a puntos localizados en una curva o contorno de acuerdo con la posición de otras marcas (Bookstein, 1997; Zelditch et al., 2012; Toro-Ibacache et al., 2010; Cooke y Terhune, 2014).

El análisis de las diferencias entre formas biológicas y la aplicación de la teoría de la forma requiere de dos abstracciones. La primera consiste en reducir la forma del organismo a un conjunto de marcas localizables. La segunda, requiere representar cada una de las configuraciones de marcas como un solo punto en el espacio morfométrico en donde se haya removido la variación producida por tamaño, posición y orientación de los objetos (Rohlf y Slice, 1990; Rohlf, 1999; Webster y Sheets, 2010), entendiendo que cada punto representa la forma completa de un individuo en el espacio morfométrico. De esta manera, la información relativa a la geometría de los organismos o estructuras se puede recuperar, permitiendo la visualización de cambios morfológicos (Toro-Ibacache et al., 2010), en estructuras complejas (Baszio y Weber, 2002).

Con el uso de la morfometría geométrica en el ámbito evolutivo, la identificación e interpretación de diferencias morfológicas entre organismos o estructuras se ha vuelto un tema central en muchos estudios biológicos y es el método estándar en

estudios evolutivos de morfología (Curran, 2018). Además, es considerada una poderosa herramienta para la comprensión de aspectos funcionales y taxonómicos de estructuras en vertebrados fósiles y actuales (Baszio y Weber, 2002), que pueden ser correlacionadas morfométricamente con requerimientos específicos del hábitat (Baszio y Weber, 2002; Barr, 2014; Curran, 2018) o de su historia filogenética (McLeod y Forey, 2002).

### *Serpientes como modelos evolutivos*

Las serpientes son un grupo evolutivamente reciente dentro de los reptiles (Holman, 2000; Caldwell, 2019). Su historia evolutiva abarca los últimos 170 millones de años (Caldwell, et al., 2015), caracterizándose por ser un clado altamente especializado (Longrich et al., 2012; McCartney, 2015) y ecológicamente diverso entre los vertebrados. Se reconocen alrededor de 3700 especies, mismas que exhiben una gran diversidad de formas, tamaños, patrones de colores e historia natural (O' Shea, 2018).

Las serpientes habitan la mayoría de los nichos disponibles en su área de distribución, por lo que, en consecuencia, en este grupo ha evolucionado una gran diversidad de estrategias de alimentación, locomoción y usos del hábitat (McCartney, 2015). Investigaciones recientes en este grupo, indican que incluso las serpientes más antiguas proveen señales de radiación adaptativa, radiación filogenética y evolución (Caldwell et al., 2015).

Las serpientes han desarrollado especializaciones locomotoras que varían con el tamaño del organismo y principalmente con las demandas de su entorno particular (Greene, 1997; Polly, Head y Cohn, 2001), dando lugar a una variedad de hábitos ecológicos. El tipo de hábito se define a partir de observaciones en campo de serpientes que ocupan nichos ecológicos similares y que, a su vez, exhiben características morfológicas similares, independientemente de sus relaciones filogenéticas o su distribución biogeográfica (Mahler et al, 2013; Tinius et al., 2018).

Dentro de la amplia variedad de hábitos locomotores que se reconocen en las serpientes, se pueden mencionar las siguientes: i) arborícolas, que utilizan músculos especializados del tronco para realizar extensiones de sus cuerpos y así, escalar grietas de rocas verticales (Greene, 1997) y copas de árboles ii) acuáticas, con especializaciones en cabeza, ojos y fosas nasales para atrapar presas en medios acuáticos (Segall et al., 2016); iii) terrestres, que viven la mayor parte del tiempo sobre la superficie terrestre; y iv) fosoriales capaces de cavar el suelo y moverse entre raíces de arbustos (Greene, 1997).

En general, las adaptaciones para escalar, nadar y enterrarse proporcionan numerosos ejemplos de evolución estructural convergente en serpientes (Greene, 1997). Es probable que estos hábitos ecológicos sean resultado de especializaciones anatómicas que difieren en cuanto a exigencias físicas locomotoras (Houssaye et al., 2013) propias del hábitat.

Debido a la carencia de extremidades, las serpientes dependen de la columna vertebral para realizar todas las funciones que en la mayoría de los vertebrados son realizadas por las extremidades (McCartney, 2015). La locomoción es sustentada por grandes movimientos de la columna y las presas son retenidas usando el tronco para impulsar la cabeza hacia delante, logrando movimientos de constricción (Cundall y Greene, 1997; Cundall et al., 2007). La importancia del tronco en diversos comportamientos posiciona a la morfología vertebral como un aspecto importante en el estudio de la locomoción y hábitos ecológicos de este grupo (McCartney, 2015). Por lo tanto, para entender el curso de la evolución de las serpientes, es importante estudiar su morfología vertebral (McCartney, 2015).

## **ANTECEDENTES**

El estudio de los animales que presentan morfologías similares y que han radiado de manera independiente en nichos ecológicos similares, se ha centrado en correlacionar las diferencias en extremidades para determinar los factores que influyen en la locomoción. Esto se ha realizado principalmente en lagartijas del género *Anolis*, que se han convertido en organismos modelo para el estudio de

radiaciones adaptativas. Especialmente para las especies del Mar Caribe y Florida, las cuales presentan variaciones morfológicas en extremidades y estas se relacionan con el estilo de locomoción en distintos ecomorfos (Herrel et al., 2008). En las especies de *Anolis* de las Antillas Mayores del Caribe, las variaciones morfológicas de la cintura pélvica en tres ecomorfos parecen ser consistentes con la mecánica locomotora que exige cada microhábitat (Tinius et al., 2018).

Investigaciones en otros grupos de reptiles como las serpientes han permitido determinar que la morfología corporal en las familias Colubridae, Viperidae, Elpidae y Boide está determinada en mayor grado por el factor filogenético y en menor grado por hábitos ecológicos (França et al., 2008). De igual forma, se ha descrito que la morfología craneana está altamente asociada a las preferencias de dieta (Vincent et al., 2006; Silva et al., 2018), en las subfamilias Natricinae (Hampton, 2011) y Xenodontinae (Klaczko, Sherratt y Setz, 2016), siendo estos, ejemplos de señal filogenética.

Algunos otros trabajos en serpientes han restado importancia a las relaciones filogenéticas y han puesto mayor énfasis en la morfología funcional. Los resultados de Segall et al. (2016) muestran que las serpientes acuáticas presentan la región anterior de la cabeza angosta, ojos y nostrilos posicionados dorsalmente y que esta morfología es independiente de las relaciones filogenéticas, sugiriendo que el ambiente acuático direcciona la evolución de la forma de la cabeza en serpientes. Allemand et al. (2017) determinó que, el efecto del ambiente sobre la morfología de la caja craneana se modifica mediante: la reducción del bulbo óptico (*proceso tectum*) y glándula pituitaria en especies fosoriales, el pobre desarrollo lateral de hemisferios cerebrales en especies marinas, y en alto grado de desarrollo en el bulbo óptico y hemisferios cerebrales en especies arborícolas y terrestres.

Los únicos estudios que relacionan aspectos locomotores con base en la morfología vertebral y la preferencia de hábitat son los realizados por Jhonson (1955), donde las tendencias adaptativas se expresan entre pocas especies de serpientes y la morfología vertebral relaciona evolutivamente a las especies

agrupandolas en una categoría taxonómica más que ecológica. Houssaye et al. (2013) concluye que los taxa altamente especializados presentan modificaciones microanatómicas, mientras que la mayoría de las serpientes mantienen una morfología vertebral general que les permite moverse eficientemente en distintos ambientes.

Estos estudios de la variación vertebral en ofidios han sido principalmente cualitativos y los pocos cuantitativos se han centrado simplemente para describir la morfología (Jhonson, 1955; França et al., 2008; Hampton, 2011; Houssaye et al., 2013). Los resultados de estos trabajos muestran que la señal filogenética es la responsable de la forma de los organismos en lugar de los procesos adaptativos (Jhonson 1955; França et al., 2008; Hampton, 2011; Houssaye et al., 2013).

Por otro lado, el reciente uso de la morfometría geométrica en trabajos de morfología funcional arroja dos tipos de resultados: i) la morfología esta mayormente determinada por señales filogenéticas dentro de un grupo monofilético específico (Klaczko, Sherratt y Setz, 2016; Silva et al., 2018) y ii) la morfología en grupos funcionales y no monofiléticos se define por el factor ambiental (Segall et al., 2016; Allemand et al., 2017; Silva et al., 2018; Da Silva et al., 2018).

Silva et al. (2018) usando morfometría tradicional y geométrica exploraron la morfología ósea de la especie *Micrurus surinamensis* en comparación con especies terrestres y acuáticas del mismo género y otros grupos relativamente distantes para definir si la morfología craneana es resultado de convergencias adaptativas entre las serpientes acuáticas o producto de conservación filogenética. Los resultados arrojan dos posturas: utilizando la morfometría tradicional *Micrurus surinamensis* es convergente con las especies acuáticas en la forma del cráneo, mientras que los resultados de los estudios con morfometría geométrica indican que el cráneo posee características que refieren a la alimentación exclusiva del género *Micrurus* dando mayor importancia a la conservación de caracteres morfológicos debido a la historia filogenética compartida entre las especies del género (Silva et al., 2018).

El uso de la ecomorfología en métodos comparativos filogenéticos ha sido usado para conocer la evolución de caracteres morfológicos a lo largo de la historia evolutiva de los organismos (Lajmi et al., 2020). Por medio del mapeado de hábitos ecológicos en la filogenia se pueden conocer los modelos evolutivos que expliquen las dinámicas de cambios de caracteres a nivel macroevolutivo (Hagey et al., 2017). Sin embargo, en las serpientes pocos trabajos exploran con métodos comparativos filogenéticos la evolución y dirección de caracteres morfológicos con hábitos ecológicos (Cyriac y Kodandaramaiah, 2018) o su diversidad (Arrigo et al., 2019).

## **JUSTIFICACIÓN**

En México, existen pocos trabajos osteológicos para serpientes neotropicales, ya que los estudios que se tienen están enfocados para la región norte de México y Estados Unidos (Lawing et al., 2012). Además, se tienen pocos trabajos para explicar la variación vertebral interespecífica como el de LaDuke (1991) y sólo se cuenta con el trabajo de Jhonson (1955) y Houssaye et al. (2013) para relacionar aspectos evolutivos y ambientales con la estructura de las vértebras de las serpientes.

En serpientes, la convergencia morfológica en cráneos es ampliamente estudiada, pero la anatomía interna del esqueleto poscreaneal, en un contexto ecomorfológico ha sido rara vez explorada (Lawing et al., 2012; Sherratt y Sanders, 2020). y los pocos trabajos de ecomorfología en vertebras de serpientes se centran en el uso de morfometría tradicional (Jhonson, 1955; Houssaye et al., 2013) Actualmente, no se tiene registro de ningún trabajo que explore la forma de las vértebras de serpientes por medio de la morfometría geométrica y su relación con el hábito locomotor y la filogenia, lo cual podría arrojar resultados que ayuden en la comprensión de la relación forma-ambiente. Por lo que la ampliación del conocimiento osteológico y evolutivo tanto de taxa fósiles como actuales está tomando gran auge en la paleontología y este trabajo contribuye en este sentido (Smith y Gauthier, 2013; Caldwell, 2019).

## **HIPÓTESIS**

Las serpientes al ser un grupo altamente especializado han desarrollado características morfológicas consistentes con las demandas de los distintos tipos de hábitats que han explotado. De esta manera, se espera que las vértebras de las serpientes conserven características morfológicas similares entre especies que presenten los mismos hábitos locomotores.

Las vértebras comprenden una parte anatómica importante del esqueleto de las serpientes y están fuertemente involucradas en los diferentes hábitos de la locomoción. Sin embargo, debido a la historia filogenética y ancestría compartida, las similitudes morfológicas entre especies pueden estar definidas por el grupo monofilético al que pertenece cada especie sin importar la estrategia locomotora que utilice.

Las serpientes fosoriales más antiguas son consideradas representantes de los estados tempranos en la historia evolutiva del grupo (Caldwell, 2019). Por ello, el hábito ecológico de los nodos ancestrales de las serpientes deberá ser fosorial.

## OBJETIVOS

### *General*

- ✦ Relacionar la morfología de las vértebras de serpientes actuales con los hábitos locomotores y la historia filogenética del clado.

### *Particulares*

- ✦ Analizar la forma de las vértebras de las serpientes utilizando morfometría geométrica.
- ✦ Caracterizar la morfología de las vértebras de serpientes, describiendo la magnitud y dirección del cambio en la forma de las vértebras de las serpientes con respecto al tipo de hábito locomotor o grupo monofilético al que pertenecen.
- ✦ Identificar el factor (filogenético o ambiental) que influye en mayor grado en la variación morfológica de la forma de las vértebras de serpientes.
- ✦ Reconstruir la historia evolutiva del hábito locomotor en las serpientes utilizando la filogenia más completa existente y la información de la literatura.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *a) Especímenes y colección*

Para la toma de medidas vertebrales se utilizaron 54 organismos atropellados y por donación a la colección osteológica de referencia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAPALO; Cuadro 1). Los organismos fueron diseccionados quitando primero la piel, y posteriormente eviscerados, finalmente, se removió la mayor cantidad de tejido muscular posible. Los organismos se colocaron en recipientes de vidrio con agua y se dejaron a la intemperie para que bacterias y otros microorganismos degradasen el material orgánico restante hasta

que quedaron los huesos desarticulados. Esto se realizó bajo la metodología de Hill (1975), Gofur y Khan (2010) y Allouch (2014).

La muestra consistió en un total de 390 fotografías de vértebras pertenecientes a 54 especies, 6 familias, 9 subfamilias y 33 géneros de serpientes (Cuadro 1).

La columna vertebral de las serpientes se divide en 5 regiones: cervical, tronco medio, tronco posterior, cloacal y caudal (LaDuke, 1991). Las vértebras del tronco medio son las que comprenden en su mayoría el cuerpo de las serpientes.

Además están asociadas a músculos principales en la locomoción y han sido consideradas como elementos óseos de importancia taxonómica (LaDuke, 1991).

Por lo que en este trabajo, únicamente se trabajó con vértebras del tronco medio en las serpientes actuales.

**Cuadro 1.** Especies utilizadas para el análisis ecomorfológico de las vértebras de las serpientes con relación al tipo de hábitat. El material proviene de la colección osteológica de referencia de la BUAP (BUAPALO). Aquellos especímenes que no están registrados en la colección se indican con un signo de interrogación (?) en el número de catálogo.

Familia	Subfamilia	Género	Especie	Número de catálogo	Número de fotos		
				BUAPALO			
Viperidae	Crotalinae	<i>Agkistrodon</i>	<i>Agkistrodon bilineatus</i>	276	5		
			<i>Bothrops</i>	<i>Bothrops asper</i>	239	5	
		<i>Crotalus</i>	<i>Crotalus aquilus</i>	148, 157	8		
			<i>Crotalus catalinensis</i>	302	4		
			<i>Crotalus catenatus</i>	346	5		
		<i>Crotalus molossus</i>		133, 140, 248, 284, 296	25		
			<i>Crotalus ravus</i>	121, 14, 358, 364, 373	25		
		Pythonidae		<i>Porthidium</i>	<i>Crotalus triseriatus</i>	13	5
					<i>Porthidium nasutum</i>	125	4
				<i>Python</i>	<i>Python regius</i>	297	5
Leptotyphlopidae	Epictinae	<i>Epictia</i>	<i>Epictia resetari</i>	349	5		
Elapidae	Hydrophiinae	<i>Hydrophis</i>	<i>Hydrophis platura</i>	144	5		
	Elapinae	<i>Micrurus</i>	<i>Micrurus diastema</i>	?	5		
Colubridae	Colubrinae	<i>Coluber</i>	<i>Coluber mentovarius</i>	283, 298	3		
			<i>Conopsis</i>	<i>Conopsis lineatus</i>	18, 19	7	
		<i>Drymarchon</i>	<i>Drymarchon melanurus</i>	235	5		
			<i>Fiscimia</i>	<i>Fiscimia publia</i>	131	4	
		<i>Lampropeltis</i>	<i>Lampropeltis triangulum</i>	10, 282	10		
			<i>Leptophis</i>	<i>Leptophis ahaetulla</i>	?	2	
		<i>Leptophis mexicana</i>		132	6		
		<i>Masticophis</i>	<i>Masticophis mentorarius</i>	138, 141	10		
			<i>Masticophis schotti</i>	?	5		
			<i>Oxybelis</i>	<i>Oxybelis aeneus</i>	285	5	
				<i>Pituophis</i>	<i>Pituophis deppei</i>	136, 142, 286	15
			<i>Pituophis lineaticolis</i>		277	5	
			<i>Salvadora</i>	<i>Salvadora bairdi</i>	353	5	
				<i>Salvadora grahamie</i>	348	4	
			<i>Senticolis</i>	<i>senticolis triapsis</i>	130, ?	11	
			<i>Sonora</i>	<i>Sonora semiannulata</i>	ECV13	5	
			<i>Spillotes</i>	<i>Spillotes pullatus</i>	307	4	
		Natricinae		<i>Trimorphodon</i>	<i>Trimorphodon tau</i>	122, 238	10
					<i>Storeria</i>	<i>Storeria dekayi</i>	349
				<i>Storeria storeroides</i>		?	4
					<i>Thamnophis</i>	<i>Thamnophis cyrtopsis</i>	1, 2, 3, 128, ?
				<i>Thamnophis eques</i>		4, 361, 365, 388, ?	19
				<i>Thamnophis lineri</i>	RV25	5	
<i>Thamnophis melanurus</i>	342, 368, 370, 371, 376			25			
<i>Thamnophis scalaris</i>	135			5			
<i>Thamnophis scaliger</i>	127			6			
<i>Thamnophis sirtalis</i>	?			1			
<i>Thamnophis bogerti</i>	356	5					
Dipsadinae		<i>Coniophanes</i>	<i>Coniophanes imperialis</i>	123, 327, 372	10		
			<i>Diadophis</i>	<i>Diadophis punctatus</i>	16, 350	9	
		<i>Geophis</i>	<i>Geophis dubius</i>	354	5		
			<i>Geophis multitorques</i>	23, 369, 377	8		
		<i>Hypsiglena</i>	<i>Hypsiglena ochoryncha</i>	21	5		
<i>Hypsiglena torquata</i>	409	4					

		<i>Imantodes</i>	<i>Imantodes cenchoa</i>	347	5
			<i>Imantodes gemmistratus</i>	346	4
		<i>Leptodeira</i>	<i>Leptodeira annulata</i>	15	3
		<i>Ninia</i>	<i>Ninia sebae</i>	?	5
		<i>Tropidodipsas</i>	<i>Tropidodipsas</i>	?	5
Boidae	Boinae	<i>Boa</i>	<i>Boa imperator</i>	159, 234	10
			<i>Boa sigma</i>	25	5

### b) Morfometría geométrica

Se realizaron tomas fotográficas de vértebras de la región del tronco medio de cada especie de serpiente (Cuadro 1). Las fotografías fueron tomadas con una escala a la altura de cada vértebra con una cámara digital VE-LX1800 instalada a un microscopio estereoscópico Miotic SMZ-168. Las vértebras se fotografiaron en vista lateral ya que ésta exhibe características de las vistas anterior, posterior y es posible eliminar efectos de distorsión de la vista ventral (Jhonson, 1955; Sarris et al., 2012).

Todas las fotografías fueron procesadas en el Software Make-Fan v.6.0 (Sheets, 2001) en donde se anclaron abanicos (“*Fans*”) como referencias visuales para colocar posteriormente las marcas y *semi*-marcas. Las marcas fueron elegidas por su capacidad de representar la forma de la vértebra y se colocaron con ayuda del software TpsDig2 v.2.16 (Rohlf, 2010) de manera manual. Se buscó que las configuraciones de marcas y semimarcas fueran las mismas en todas las especies analizadas (Cuadro 2, Figura 1).

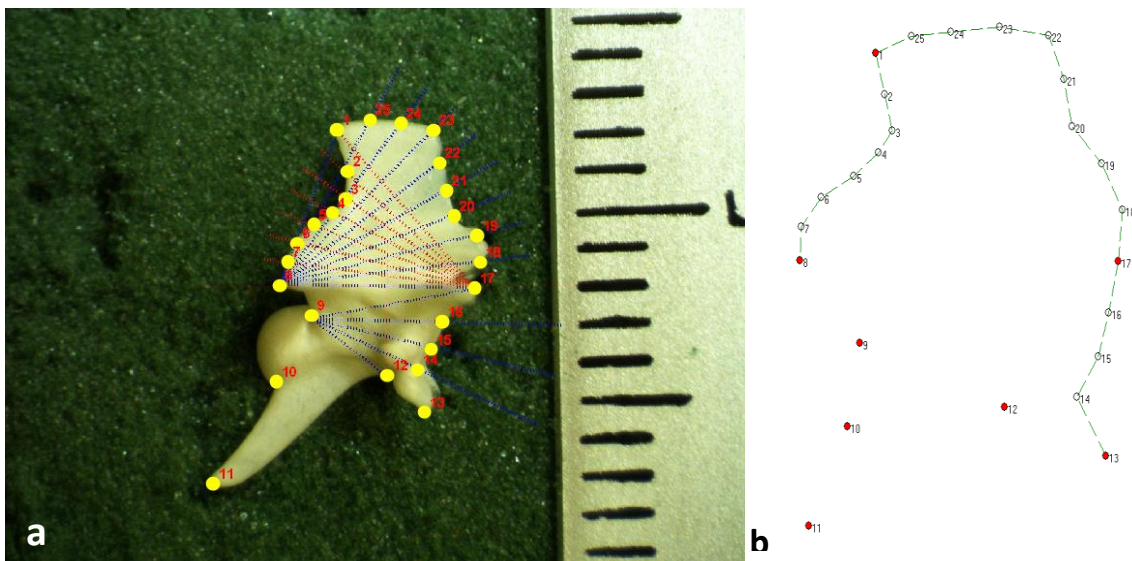
Posteriormente, las semimarcas fueron digitalizadas bajo el criterio de deslizamiento en un archivo de curvas en el programa TPSUtil v.1.56 (Rohlf, 2013). Se colocaron un total de 8 *marcas* (puntos 1,8-13, 17) y 17 *semimarcas* en la vista lateral de las vértebras de serpientes (puntos 2-7,14-16,18-25) (Cuadro 2, Figura 1).

**Cuadro 2.** Numeración y ubicación anatómica de la configuración marcas y semimarcas en las vértebras de serpientes

Marcas	Ubicación anatómica
1	Punta del borde posterior de la espina neural
8	Espina epizigapofiseal
9	Intersección del cóndilo y el cuerpo vertebral
10	Intersección del cóndilo, el borde subcentral y la quilla hemal
11	Punta de la quilla hemal (hipapofisis)
12	Intersección de la quilla hemal y la parapofisis
13	Punta distal de la parapofisis
17	Punta distal del precigapofisis

Semimarcas	Ubicación anatómica de los puntos de la curva
2-7	Curvatura del borde posterior de la espina neural
14-16	Périmetro de la sinapofisis y el proceso accesorio precigapofiseal
18-25	Curvatura del borde anterior de la espina neural



**Figura 1.** Configuración de *marcas* y *semimarcas* utilizados para representar la forma de las vértebras. **a)** Configuración completa marcas y semimarcas digitalizadas en TPSdig. **b)** Método de deslizamiento para análisis de semimarcas. Marcas en puntos color rojo y semimarcas en círculos blancos unidos por líneas que definen la curvatura de las vértebras.

### c) *Análisis de datos*

La configuración de marcas y semimarcas fue sometida a una superimposición de Procrustes para remover la variación en cuanto a posición, orientación (Klingenberg, 2011) por medio de la plataforma RSudio en el software R (R Core Team, 2018) y el paquete Geomorph (Adams et al., 2018).

Con las nuevas coordenadas procrustes de la muestra se generó una matriz de varianza-covarianza que fue usada en un análisis de componentes principales (PCA) con el cual es posible visualizar cualitativamente el cambio de forma asociado a un componente principal determinado (Claude, 2008). También se realizó un análisis de variables canónicas (CVA) usando las especies como clasificadores por tipo de hábito (marino, acuático, fosorial, arborícola y terrestre) y un segundo CVA con especies como clasificadores de acuerdo con la familia o subfamilia (Leptotyphlopidae, Boinae, Pythonidae, Crotalinae, Elapidae, Colubrinae, Natricinae, Dipsadinae) a la que pertenecen como estudios exploratorios de la configuración de la forma de las vértebras.

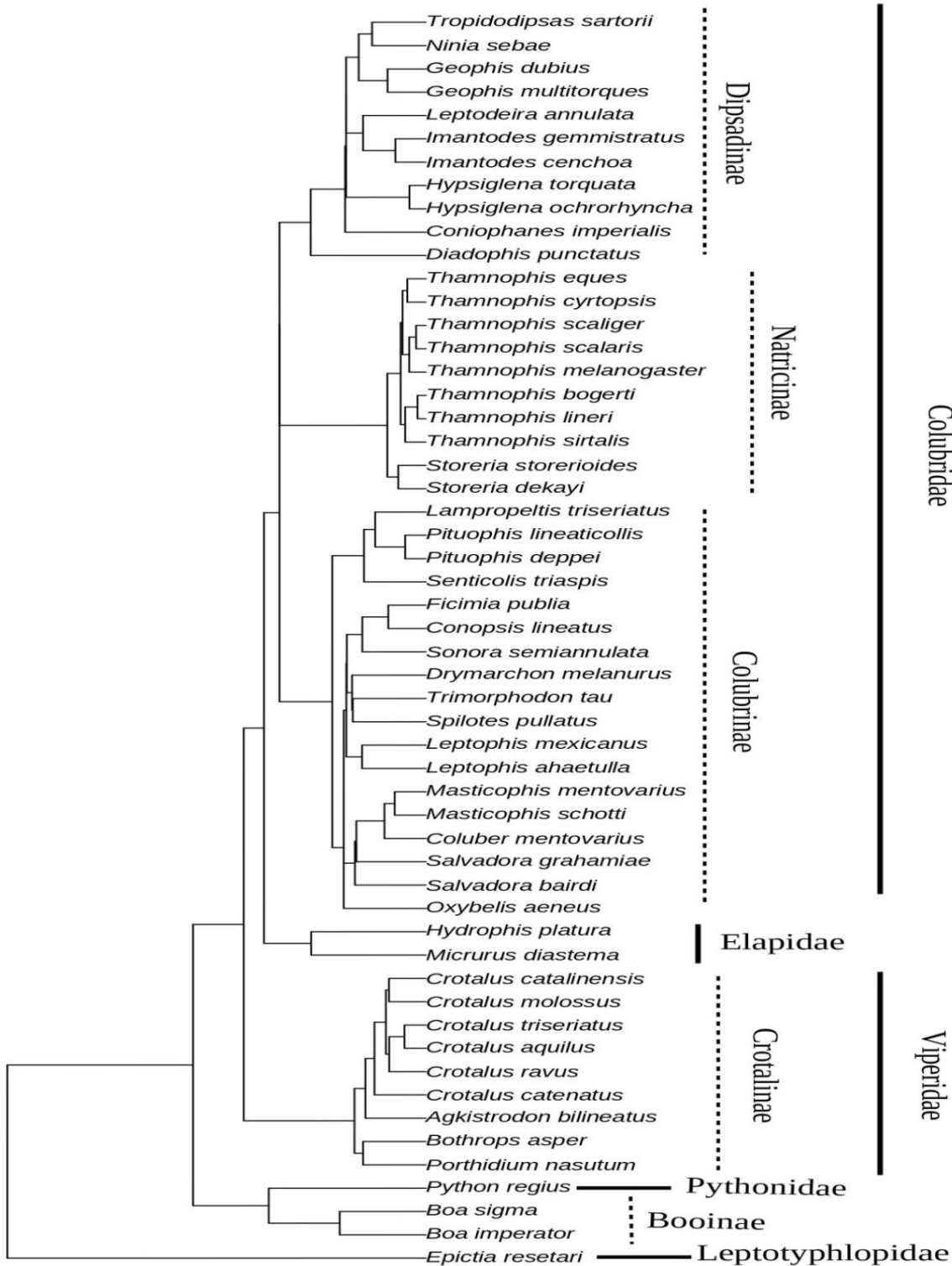
Las gradillas de deformación basadas en “*Thin plate spline*” se utilizaron para representar la variación en la forma de las vértebras y se realizó una gráfica de “Brokenstick” (varilla rota) en el paquete Vegan (Oksanen et al., 2013) para conocer los PC’s relevantes que expliquen la mayor proporción de variación en las vértebras.

Se computaron los valores de disparidad morfológica (o diversidad morfológica) por tipos de hábitos ecológicos, y por subfamilias con el paquete Geomorph (Adams et al., 2018).

La disparidad se calculó a partir de distancias euclidianas medias por pares entre especies, un método relacionado con la varianza de estimar la dispersión de puntos en el espacio multivariante que es insensible al tamaño de la muestra (Harmon et al., 2003).

Para todos los análisis morfométricos relacionados con la filogenia, se utilizó como base la filogenia publicada por Pyron et al. (2013) y se eliminaron todas las especies de las cuales no se tuvieron datos morfométricos. Esto se realizó con la paquetería ape (Paradis et a., 2004) en la cual se seleccionó el nodo correspondiente al clado de serpientes. Posteriormente, las especies con datos morfométricos se empalmaron con las especies de la filogenia eliminando las especies sin datos. De esta forma se obtuvo una filogenia correspondiente a las 54 especies de este estudio, sin alterar las relaciones entre ellas. (Figura 2).

Primero se calculó la diversidad morfológica o disparidad para todo el clado y luego para cada subclado o subfamilia definido por un nodo en esa filogenia y para cada grupo definido por tipo de hábito. Las disparidades relativas para cada subclado y grupo por tipo de hábito se estandarizaron dividiendo la disparidad de un subclado o grupo ecológico por la disparidad de todo el clado (Harmon et al., 2003).



**Figura 2.** Filogenia modificada de Pyron et al. (2013), de la cual se obtuvieron únicamente las relaciones de las 54 especies de serpientes con las que se contaba información morfométrica.

*d) Señal filogenética y el cambio de la forma vertebral a través de la filogenia*

Para conocer la historia evolutiva de la forma de las vértebras, fue necesario definir el modelo evolutivo al cual corresponden los datos morfométricos. Los modelos evolutivos más comunes son Movimiento Browniano, Orstein Uhenbeck, y Early Burst (O'Meara et al., 2006). Las pruebas de señal filogenética y disparidad a través del tiempo (DTT) se usaron para determinar el modelo evolutivo al que mejor se ajusten los datos en relación con la filogenia.

La prueba de señal filogenética nos sirve para probar explícitamente si la distribución del rasgo, en este caso de las coordenadas de las vértebras es más congruente con la filogenia de lo que se esperaría de un carácter en evolución aleatoria (Zelditch et al., 2012).

La prueba de señal filogenética en los datos morfométricos se realizó en Rstudio (R Core Team, 2018), utilizando el paquete Geomorph versión 3.2.1 (Adams et al., 2018) y la función physignal, en donde se toma como base la filogenia molecular de serpientes publicada por Pyron et al. (2013). Con esta prueba se evaluó el grado de señal filogenética en un conjunto de coordenadas relativo a lo que se esperaría bajo un modelo evolutivo de movimiento browniano (Adams y Collyer, 2019), esto mediante permutaciones de los datos (coordenadas Procrustes de serpientes) entre las puntas de la filogenia de serpientes. Como resultado se obtiene el estimado de la señal filogenética en valores de la estadística K propuesta por Blomberg et al., (2003).

Para identificar las similitudes y diferencias anatómicas en la forma de las vértebras entre géneros del mismo hábito locomotor se realizaron comparaciones de configuraciones de marcas sobre la filogenia y entre nodos que tuvieran el mismo hábito locomotor. La forma de realizar estas comparaciones es de manera visual con gradillas propias de morfometría geométrica en los clados más representativos de los hábitos locomotores (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Taxa utilizados para la comparación de las gradillas de deformación de los mismos hábitos locomotores en diferentes clados dentro de la filogenia.

Hábito ecológico	Nodo			
	Referencia en la filogenia	Nodos de comparación en la filogenia		
Fosorial	Leptotyphlopidae	<i>Geophis</i>	<i>Conopsis-Ficimia</i>	
Arborícola	<i>Boa</i>	<i>Leptophis</i>	<i>Bothrops-</i> <i>Porthidium</i>	<i>Imantodes</i>
Terrestre	<i>Crotalus</i>	<i>Storeria</i>	<i>Pituophis</i>	<i>Hypsiglena</i>

De la misma forma, se obtuvieron gradillas de deformación para la comparación entre especies de distinto hábito locomotor pero pertenecientes al mismo clado en la filogenia (Cuadro 4). Con la finalidad de observar de manera visual si las configuraciones de la forma de las vértebras en las serpientes cambiaban entre hábitos locomotores o entre grupos monofiléticos.

Todas las comparaciones del *Thin Plate spline* se realizaron con la Funcion *PlotRefToTarget* del paquete *Geomorph* versión 3.2.1 (Adams et al., 2018) en donde se grafican nodos referencia con respecto a un nodo en la filogenia construida con las 54 especies.

**Cuadro 4.** Taxa utilizados para la comparación de las gradillas de deformación de diferentes hábitos ecológicos dentro de un mismo clado.

<b>Clado</b>	<b>Nodo Referencia</b>	<b>Nodo de comparación</b>
Crotalinae	<i>Bothrops</i> (arborícola)	<i>Crotalus</i> (terrestre)
Colubrinae	<i>Leptophis</i> (arborícola)	<i>Fiscimia</i> (fosorial)
Natricinae	<i>Storeria</i> (terrestre)	<i>Thamnophis</i> (acuática)
Dipsadinae	<i>Geophis</i> (terrestre)	<i>Imantodes</i> (arborícola)
Elapidae	<i>Hydrophis</i> (marina)	<i>Micrurus</i> (fosorial)

Para examinar la historia de la diversificación morfológica se usaron los datos de coordenadas *Procrustes* de vértebras de todas las 54 especies de serpientes fotografiadas y se realizó un análisis de disparidad a través del tiempo (DTT) con la función *dtc* del paquete *geiger* (Harmon et al., 2008). El análisis DTT realiza simulaciones entre los datos morfométricos de vértebras de serpientes y los tiempos de origen dados en la filogenia de serpientes para construir una hipótesis de los cambios morfológicos desde el clado más tempranamente derivado hasta los subclados más recientes de la filogenia utilizando el estadístico de la información mínima discriminante (MDI, *minimum discrimination information*) (Pennell et al., 2014).

Para calcular cuánta disparidad media difiere, de la esperada bajo una hipótesis nula de evolución de los caracteres por el movimiento Browniano sin restricciones, se realizaron 1000 simulaciones de diversificación morfológica en la filogenia de cada taxón (Pennell et al., 2014). El análisis consiste en tomar la filogenia desde la raíz y en cada evento de divergencia (es decir, cada nodo), se calcula la disparidad relativa media para ese punto en el tiempo como el promedio de las disparidades relativas de todos los subclados cuyos linajes ancestrales estaban

presentes en ese momento (Harmon et al. 2003). Los valores cercanos a 0 implican que los subclados contienen poca de la variación presente dentro del taxón en su conjunto y que, en consecuencia, la mayoría de las variaciones se dividen como diferencias entre subclados. Por el contrario, los valores cercanos a 1 implican que los subclados contienen una proporción sustancial de la variación total y, por lo tanto, es probable que se superpongan ampliamente, lo que indica que los subclados han evolucionado independientemente para ocupar regiones similares del espacio morfológico (Harmon et al., 2003).

*e) Mapeado de hábitos locomotores mediante la filogenia*

El mapeo de caracteres ancestrales requiere modelos que expliquen su evolución, además de una representación de las relaciones filogenéticas entre especies (Pagel et al., 2004). Como base para los análisis filogenéticos y el mapeado de tipos de hábitos ancestrales, se tomó la filogenia de serpientes publicada por Pyron et al. (2013) que incluye 4161 especies de reptiles de las cuales 1261 especies corresponden únicamente a serpientes.

Se realizó una base de datos que incluyó todas las especies de serpientes para las que se tiene información bibliográfica sobre su tipo de hábito locomotor. Este análisis es independiente del análisis de morfometría geométrica, ya que se utilizó la información del hábito locomotor disponible en la literatura de las especies de serpientes incluidas en la filogenia de Pyron et al.,(2013) La base de datos estuvo conformada por un total de 530 especies de serpientes actuales con su respectivo tipo de hábitat: terrestre, arborícola, fosorial y acuático. La base de datos se realizó de acuerdo a literatura especializada que incluye guías de identificación como Köhler (2003), Heimes (2016), Canseco- Márquez y Gutierrez-Mayén (2010), artículos científicos como Jhonson (1955), Pizzatto et al. (2007), Pyron et al. (2013), Houssaye et al. (2013), McCartney (2015), libros de divulgación científica de reptiles y serpientes como Villarreal et al., (2010), Fernandez-Badillo et al. (2017), O´Shea (2018) y las plataformas digitales The Reptile Database (Uetz et al., 2019) y Enciclovida de CONABIO (<http://enciclovida.mx/>) que incluyeran el tipo de hábito que presenta cada especie.

Para el caso de especies que en la literatura se definen como semi arborícolas (hábito terrestre y arborícola), semi acuáticas (hábito terrestre y acuático) y semi fosoriales (hábito terrestre y fosorial) se determinaron como el hábito que no es terrestre, ya que presentan adaptaciones para movilizarse ya sea en árboles (para especies semi arborícolas), por debajo del suelo (en especies semi fosoriales) y en ambientes acuáticos (en el caso de especies semi acuáticas). Las serpientes que se encontraron dentro de la literatura como marinas y acuáticas al mismo tiempo, se definieron únicamente como marinas, ya que si una serpiente es capaz de sobrevivir en ambientes marinos puede ser considerada acuática pero una serpiente acuática no necesariamente es marina. Dentro de la filogenia utilizada (Pyron et al., 2013), se cambiaron los nombres de 17 especies de serpientes por aquellas especies con las que se encontraran mas cercanamente emparentadas (para no cambiar las relaciones filogeneticas originales) y de las cuales, si se tiene información del hábito locomotor, además de actualizar la asignación taxonómica de los géneros propuestos por Pyron et al. (2013).

Los cambios realizados en la filogenia fueron *Epictia goudotii* (presente en la filogenia) por la especie con la que se encuentra mayormente emparentada *E. resetari* (no presente en la filogenia) y de la cual se tiene información ecológica, *Boa constrictor* por *B. imperator*, *Coluber taeniatus* por *C. mentovarius*, *Sistrurus catenatus* por *Crotalus catenatus*, *Ficima streckeri* por *F. publia*, *Geophis godmani* por *G. dubius* , *Atractus zidoki* por *Geophis multitorques*, *Dendrophidion dendrophis* por *Leptophis mexicanus*, *Coluber constrictor* por *Masticophis mentovarius*, *Coluber flagellum* por *Masticophis schotti*, *Ninia atrata* por *N. sebae*, *Salvadora mexicana* por *S. bairdi*, *Tantilla melanocephala* por *Salvadora grahamiae*, *Storeria occipitomaculata* por *S. storerioides*, *Trimorphodon biscutatus* por *T.tau*, *Tantalophis discolor* por *Coniophanes imperialis* y *Drymarchon corais* por *D. melanurus*. De esta manera es posible incluir la mayor cantidad de datos posibles sin alterar las relaciones entre las especies.

De la base de 530 especies, se utilizaron únicamente 262 (ANEXO 1) especies para los análisis de reconstrucción filogenética, ya que el resto no estaban

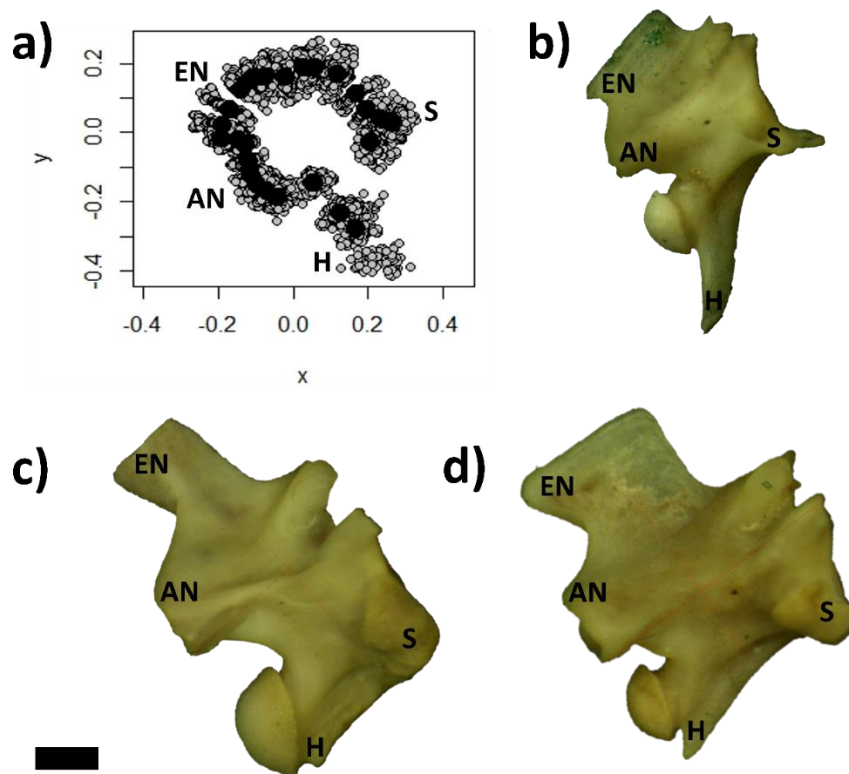
incluidas en la filogenia de Pyron et al. (2013). Los datos de hábitos de serpientes y la filogenia de Pyron et al. (2013) se empalmaron para asignar a cada especie en la filogenia un tipo de hábito ecológico obteniendo una filogenia con 262 especies y su respectivo hábito locomotor.

Con la filogenia obtenida en el empalmado de especies, se estimó el hábito locomotor de cada nodo en el árbol usando una reconstrucción de máxima verosimilitud de los hábitos locomotores de las serpientes (arborícola, acuático, marino, terrestre y fosorial) como caracteres discretos, utilizando un modelo de probabilidad MK, donde las tasas de transición son iguales para cada carácter y se obtienen las probabilidades marginales (probabilidades de cada hábito locomotor de ser el ancestral en cada nodo) (Pagel et al., 2004). Con la reconstrucción se realizó un mapeado estocástico de caracteres para observar las transiciones de los hábitos ecológicos a través de los clados en la filogenia e inferir el tipo de hábito en el nodo ancestral de toda la filogenia. El modelo evolutivo MK sirve para caracterizar los procesos evolutivos responsables de la evolución de caracteres y la filogenia especifica las probables rutas por las cuales cada taxón ancestral dio lugar a las especies actuales (Pagel et al., 2004). Finalmente, se estimaron los valores de probabilidad de ancestría para cada tipo de hábito en cada nodo de la filogenia. Esto se realizó en la plataforma Rstudio (R Core Team, 2018) y los paquetes Phytools (Revell, 2012) y phangorn 2.5.5 (Schliep, 2011).

## RESULTADOS

### *Morfometría Geométrica*

Se obtuvo un análisis de *Procrustes* de las coordenadas de vértebras digitalizadas de 54 especies serpientes (Figura 3). La variación observada en la forma de las vértebras es mucha, principalmente en la zona de la hipapófisis donde se ve una mayor distancia entre el centroide de esa zona con respecto a todos los organismos analizados. La segunda estructura con amplia variación es la espina neural (Figura 3).



**Figura 3.** Forma de las vértebras de las serpientes obtenida con las coordenadas *procrustes* de las vértebras de 390 especímenes de serpientes (a) y su comparación con el género *Crotalus* (b, terrestre), el género *Boa* (c, arborícola) y el género *hidrophis* (d, marino). Todas las configuraciones de coordenadas están rotadas en el punto 0,0 y se eliminaron los efectos de traslación y tamaño. Los puntos negros muestran la configuración consenso del total de la muestra y los puntos grises muestran la configuración de las marcas de cada uno de los organismos reflejando su posición y la variación en el espacio morfométrico. AN=Parte posterior del arco neural, EN=parte anterior de la espina neural, H= Punta dista de Hipapófisis, S=Parte posterior de sinapófisis. Escala=1mm.

## Análisis de PCA y CVA

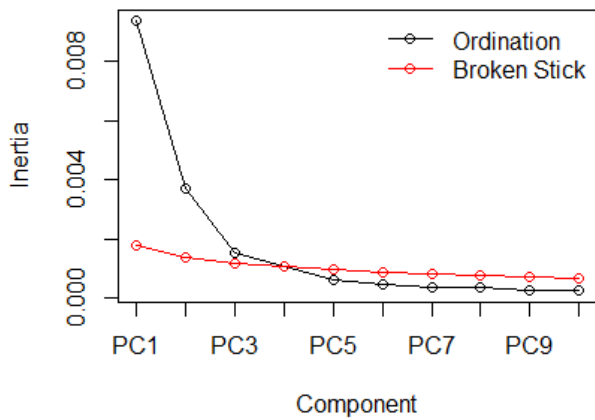
Del análisis de componentes principales se obtuvo un modelo de broken stick (varilla rota) el cual indica que en conjunto, los primeros tres componentes explican el 74.6% de la variación total. El componente 1 explica el 48%, el componente 2 el 19% y el componente 3 el 0.77% de la variación en la forma de las vértebras de serpientes analizadas (Cuadro 5, Figura 4).

El análisis de componentes Principales PCA representa la variación de la muestra en el morfoespacio (Figura 5). La variación explicada por el PC1 corresponde a las regiones anteriores y posteriores de la espina neural, siendo estos bordes los más deformados, resultando en vértebras con cuerpo aplanado dorso-ventralmente y alargado antero-posteriormente. Los cambios se observan en el tamaño de la espina neural y en la hipapofisis siendo ésta reducida (en este caso recibe el nombre de quilla hemal). La variación que explica el PC2 corresponde principalmente a la altura de la espina neural y la prominencia de la hipapofisis. Los cambios se observan en vertebras altas y con cuerpo rectangular.

Los PC's indican que la variación de la forma de las vértebras está dada principalmente por la espina neural y la hipapofisis, seguida de la parte posterior de la vértebra donde se encuentran la sinapofisis y la parte posterior del arco neural, y finalmente menor variación en la parte anterior del arco neural (Figura 3, 5).

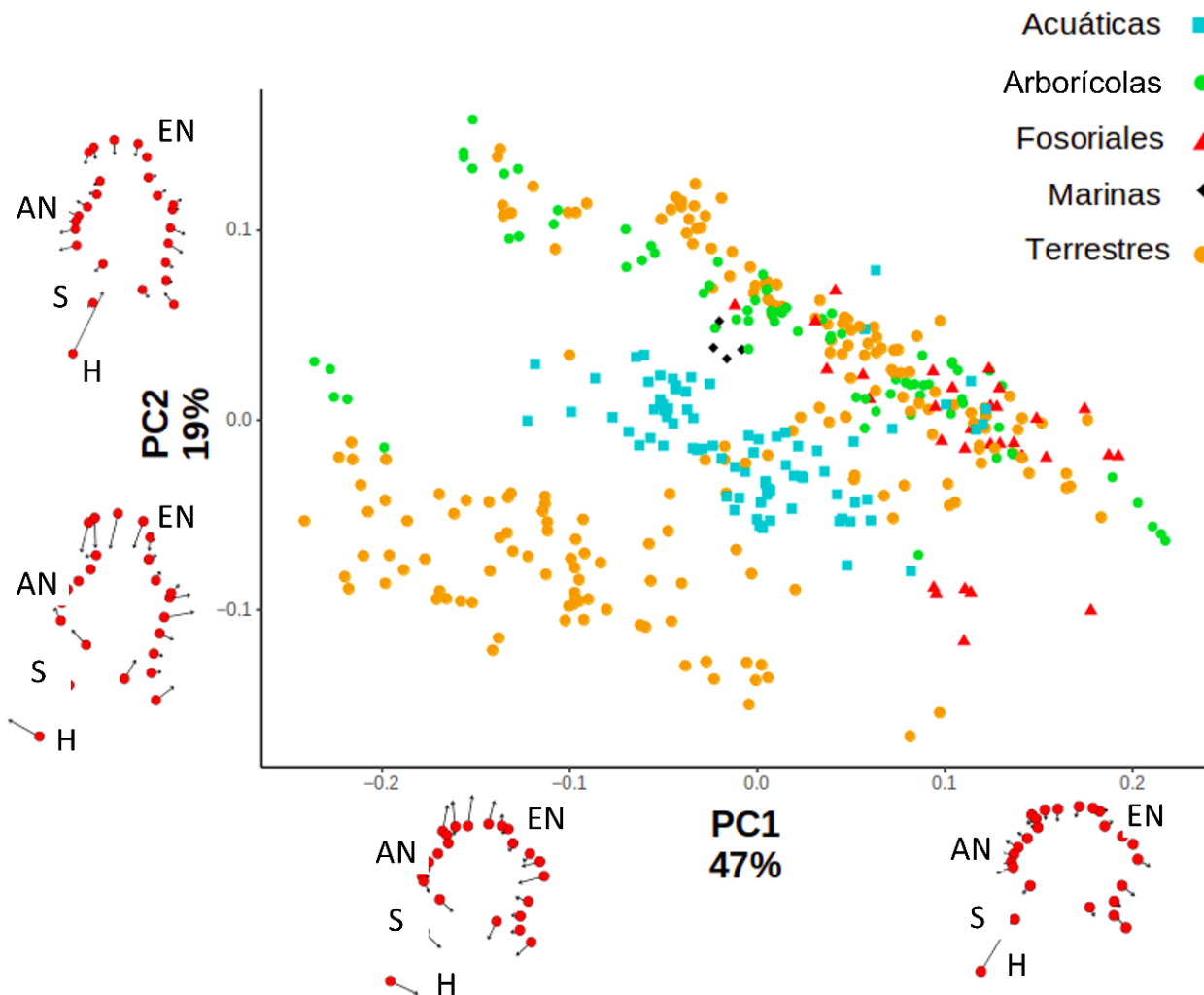
**Cuadro 5.** Valores de PC que explican la mayor variación en la forma de las vértebras. Se muestran los primeros 3 PC's de acuerdo con el modelo de broken stick que explican el 74% de la varianza total de la muestra.

	PC1	PC2	PC3
Desviación estándar	0.0991	0.0624	0.0398
Proporción de varianza	0.4788	0.1900	0.077
Proporción acumulativa	0.4788	0.6689	0.7462



**Figura 4.** Modelo de broken stick que indica que los tres primeros componentes principales (PC1, PC2, PC3) explican la mayor cantidad de variación estadísticamente y son los que se encuentran por encima del modelo.

En el PCA no se observa diferenciación morfológica evidente de acuerdo con el tipo de hábito locomotor que presentan o al grupo taxonómico al que pertenecen. Únicamente, las vértebras de especies acuáticas se diferencian en el espacio morfométrico del resto de la muestra. La variación de las vértebras de serpientes terrestres se solapa en el morfo espacio con todos los tipos de hábitos, siendo este grupo el que presenta mayor variación morfológica (Figura 5).

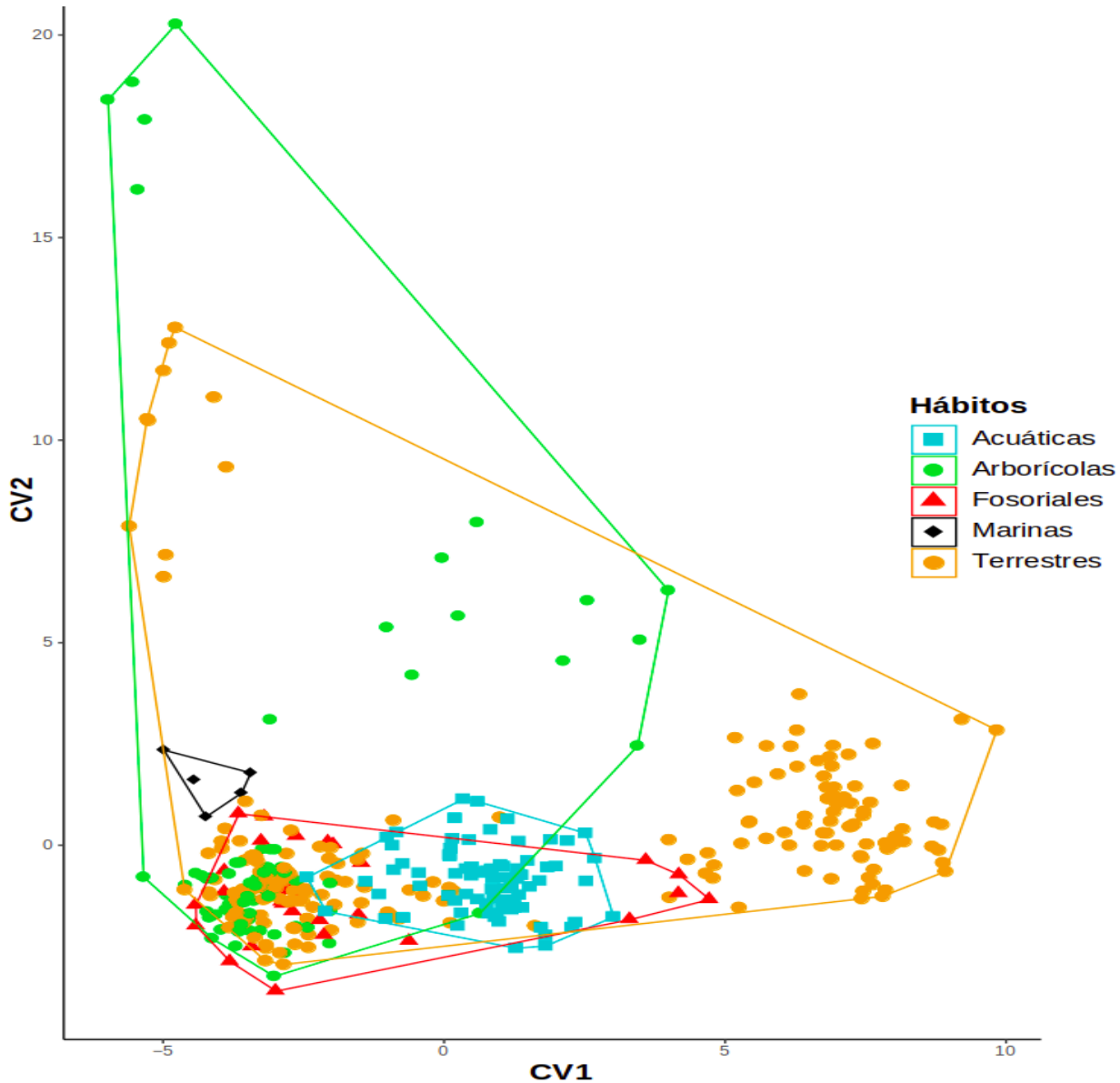


**Figura 5.** Análisis de PCA que refleja que el primer componente (PC1) explica el 47% de la variación en la forma de las vértebras, mientras que el PC2 el 19%. AN=Parte posterior del arco neural, EN=parte anterior de la espina neural, H= Punta dista de Hipapófisis, S=Parte posterior de sinapófisis.

El análisis de variables canónicas (CVA) muestra que el hábito locomotor terrestre y el hábito locomotor arborícola se solapan con el resto de los hábitos locomotores. Sin embargo, excluyendo el hábito terrestre y arborícola se observa que el hábito marino es independiente de los hábitos fosorial y acuático (Figura 6).

La clasificación obtenida por el análisis de validación cruzada por tipo de hábito, indica que el grupo de serpientes marinas es el único grupo que no se clasifica estadísticamente dentro de ninguno de los otros tipos de hábitos y presenta el

100% de su validación. El grupo de serpientes acuáticas presenta el 85% de validación en su clasificación. El resto de los hábitos locomotores comprenden a serpientes arborícolas con 76.62%, fosoriales 45.16% y terrestres 83.75%. El valor de precisión de clasificación general fue de 79.74359 % y el coeficiente Kappa de Cohen (Kappa statistic) = 0.69055 el cual indica que el nivel de certeza en la clasificación es substancial o fuerte (McHugh, 2012) (Cuadro 6).



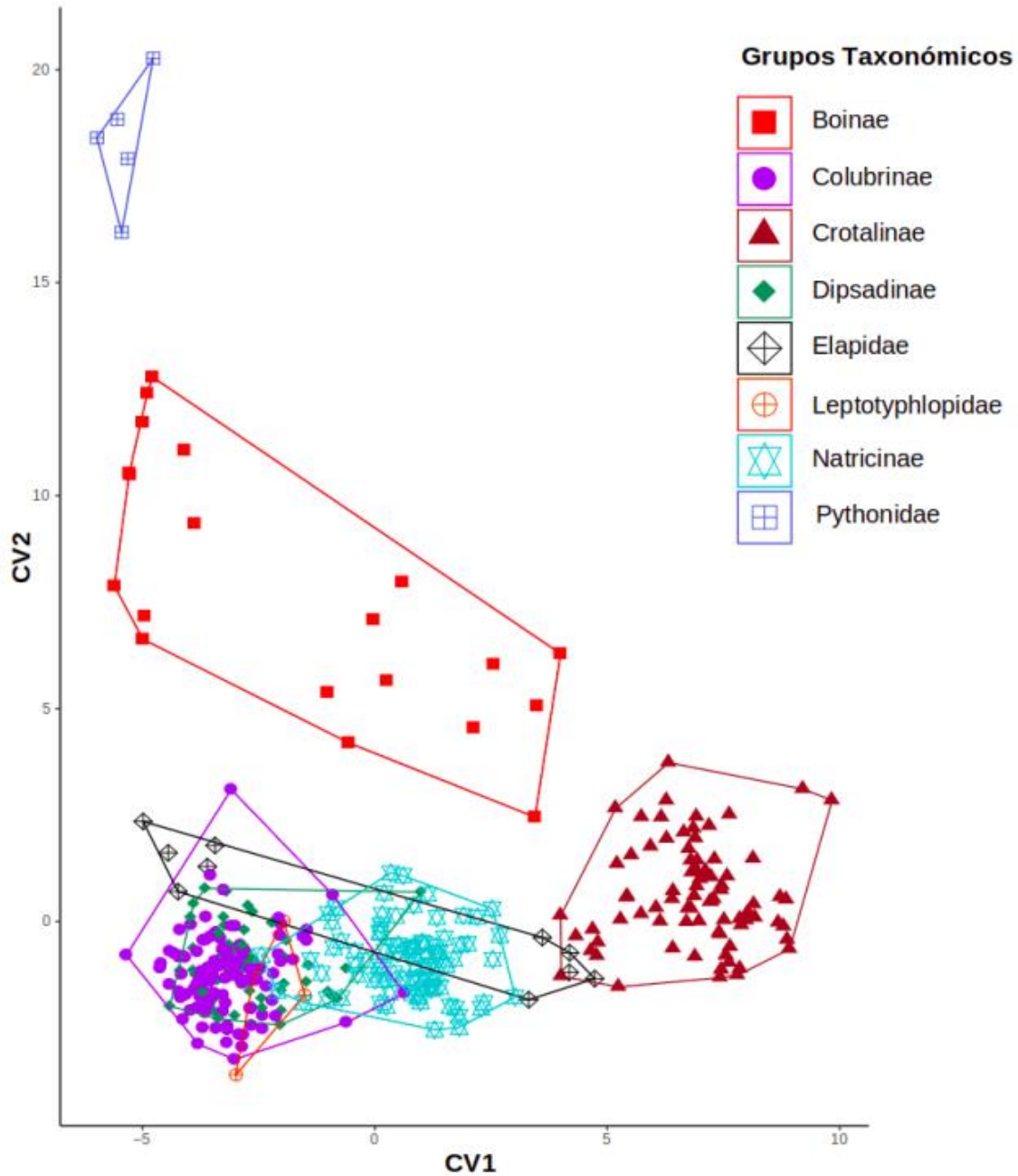
**Figura 6.** Análisis de Variables canónicas CVA en donde se tomaron como clasificadores los tipos de hábito ecológico para toda la muestra.

**Cuadro 6.** Resultados en porcentaje de validación cruzada donde se puede ver el porcentaje de validación para cada hábito locomotor (diagonal sombreada) y el porcentaje de confusión (encima y debajo de la diagonal) que puede tener con alguno de los otros hábitos ecológicos.

	<b>Acuáticas</b>	<b>Arborícolas</b>	<b>Fosoriales</b>	<b>Marinas</b>	<b>Terrestres</b>
Acuáticas	85.000	0.000	3.750	2.500	8.750
Arborícolas	0.0000	76.623	2.597	0.000	20.779
Fosoriales	0.0000	19.354	45.161	0.000	35.483
Marinas	0.0000	0.000	0.000	100.00	0.000
Terrestres	5.076	8.629	2.538	0.000	83.756
Valor de precisión de clasificación general					79.7435 %
Coeficiente Kappa de Cohen					0.6905

Un segundo análisis de variables canónicas (CVA) agrupado por subfamilias (Figura 7) muestra que la variación morfológica de las vértebras está explicada en mayor grado por la ubicación taxonómica de las serpientes. Las familias Boidae y Pythonidae, se diferencian morfológicamente del resto de las subfamilias, ya que las vértebras de esta familia se caracterizan por poseer cuerpos vertebrales altos y cuadrangulares, espina neural bien desarrollada y una quilla hemal fuertemente marcada. La subfamilia Crotalinae, se separa del resto de los grupos taxonómicos, encontrándose en los valores positivos del CV1, estas vértebras se caracterizan por tener espinas neurales altas e hipapófisis bien desarrolladas. La Subfamilia Natricinae y la familia Elapidae se solapan ligeramente entre sí, ya que las vértebras de ambos grupos se caracterizan por tener una hipapófisis poco desarrollada. Las subfamilias Colubrinae y Dipsadinae se solapan ampliamente, estas vértebras no presentan hipapófisis o es reducida y son las que mayor variación vertebral presentan. La familia Leptothyphlopidae se encuentra separada del resto de los grupos taxonómicos en los valores negativos del CV1. Estas vértebras se caracterizan por tener espinas neurales muy bajas o ausentes, cuerpos vertebrales deprimidos y con vértebras alargadas (Figura 7).

Se obtuvo una clasificación de validación cruzada por grupo taxonómico, la cual indica la familia Pythonidae es la única familia que no se clasifica estadísticamente dentro de ninguno de los otros grupos taxonómicos y presenta el 100% de su validación. Los grupos taxonómicos con alta validación mayor al 85% son Boinae (95%), Crotalinae (96.29 %) y Natricinae (92.30%). Las subfamilias que presentan menos del 85% de validación en su clasificación son Colubrinae (83.62%), Dipsadinae (84.12%), familia Elapidae (80%) y Leptothyphlopidae (75%). El valor de precisión de clasificación general fue de 88.97 % y coeficiente Kappa de Cohen (Kappa statistic) = 0.86 el cual indica que el nivel de certeza en la clasificación es casi perfecto (Almost perfect agreement) (McHugh, 2012) (Cuadro 7).



**Figura 7.** Análisis de Variables canónicas CVA en donde se tomaron como clasificadores grupos taxonómicos para toda la muestra. Boas y pitones se encuentran separados del resto de los grupos en la parte superior de la gráfica, el resto de los grupos se encuentra en la parte inferior y presentan mayor solapamiento entre sí.

**Cuadro 7.** Resultados en porcentaje de validación cruzada con el porcentaje de validación entre cada clado (diagonal sombreada) y el porcentaje de confusión (encima y debajo de la diagonal) que pueden tener con algún otro clado.

	<b>Boinae</b>	<b>Colubrinae</b>	<b>Crotalinae</b>	<b>Dipsadinae</b>	<b>Elapidae</b>	<b>Leptothyphlopidae</b>	<b>Natricinae</b>	<b>Pythonidae</b>
Boinae	95.00	0.00	5.00	0.00	0.0	0.00	0.00	0.00
Colubrinae	0.00	83.62	0.00	15.51	0.00	0.00	0.86	0.00
Crotalinae	1.23	0.00	96.29	0.00	0.0	0.00	2.46	0.00
Dipsadinae	0.00	12.69	0.00	84.12	0.00	0.00	3.17	0.00
Elapidae	0.00	0.00	0.00	0.00	80.00	0.00	20.00	0.00
Leptothyphlopidae	0.00	25.00	0.00	0.00	0.00	75.00	0.00	0.00
Natricinae	0.00	2.19	0.00	2.19	3.29	0.00	92.30	0.00
Pythonidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
Valor de precisión de clasificación general								88.97436 %
Coefficiente Kappa de Cohen								0.85995

De acuerdo con los valores de clasificación por validación cruzada es posible inferir que la agrupación por ubicación taxonómica (Kappa statistic = 0.85995) explica mejor el posicionamiento de los organismos en el espacio morfométrico que la agrupación dada por los hábitos ecológicos (Kappa statistic = 0.69055), lo que nos permite inferir que la historia filogenética de las serpientes explica mejor la diferencia en la forma de las vértebras que la adaptación a los hábitos ecológicos.

### *Diversidad morfológica*

El análisis de disparidad arrojó un valor de variación Procrustes de=0.0238 para la muestra total. Lo que indica que la morfología de las vértebras es muy conservadora. El análisis de disparidad, considerando la morfología de las vértebras de acuerdo con el tipo de hábito de las serpientes, mostró diferencias significativas entre la variación en la forma de serpientes de hábito acuático y arborícola (tasa de diferenciación=0.0189,  $P=0.028$ ). La tasa de diferenciación dada por la disparidad entre los otros tipos de hábitos no muestra diferencias significativas (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Matriz del análisis de disparidad que muestra la tasa de diferenciación (arriba de la diagonal) y los valores de *p value* (debajo de la diagonal) donde se muestra que la disparidad entre los hábitos locomotores es estadísticamente significativa sólo entre los hábitos arborícola y acuático (valores en negritas).

	<b>Acuático</b>	<b>Arborícola</b>	<b>Fosorial</b>	<b>Marino</b>	<b>Terrestre</b>
Acuático	0	<b>0.01896</b>	0.01853	0.0093	0.0147
Arborícola	<b>0.028</b>	0	0.0004	0.0095	0.0042
Fosorial	0.087	0.968	0	0.0091	0.0038
Marino	0.615	0.622	0.606	0	0.0053
Terrestre	0.069	0.547	0.689	0.759	0
Variación Procrustes	0.0099	0.02891	0.0028	0.0193	0.0246
Variación total Procrustes					0.0237

El análisis de disparidad entre grupos taxonómicos muestra que el factor filogenético explica mejor la disparidad de la morfología vertebral entre los clados de serpientes (Cuadro 9). El clado Boidea presenta diferencias significativas con respecto a las subfamilias Colubrinae (tasa de diferenciación=0.0356,  $P=0.006$ ), Dipsadinae (tasa de diferenciación= 0.0427,  $P=0.003$ ) y Natricinae (tasa de diferenciación= 0.0455,  $P= 0.001$ ) (todas pertenecientes a la familia Colubridae). Por su parte, la subfamilia Colubrinae se diferencia de la subfamilia Crotalinae (tasa de diferenciación= 0.0207,  $P= 0.011$ ), la cual a su vez presenta diferencias significativas con Dipsadinae (tasa de diferenciación= 0.0279,  $P= 0.003$ ) y Natricinae (tasa de diferenciación= 0.0307,  $P= 0.001$ ). La familia Leptotyphlopidae se diferencia con las subfamilias Dipsadinae (tasa de diferenciación= 0.0320,  $P= 0.025$ ) y Natricinae (tasa de diferenciación= 0.03490,  $P= 0.017$ ). La familia Elapidae es la única que no presenta diferencias con ninguno del resto de los grupos taxonómicos (Cuadro 9).

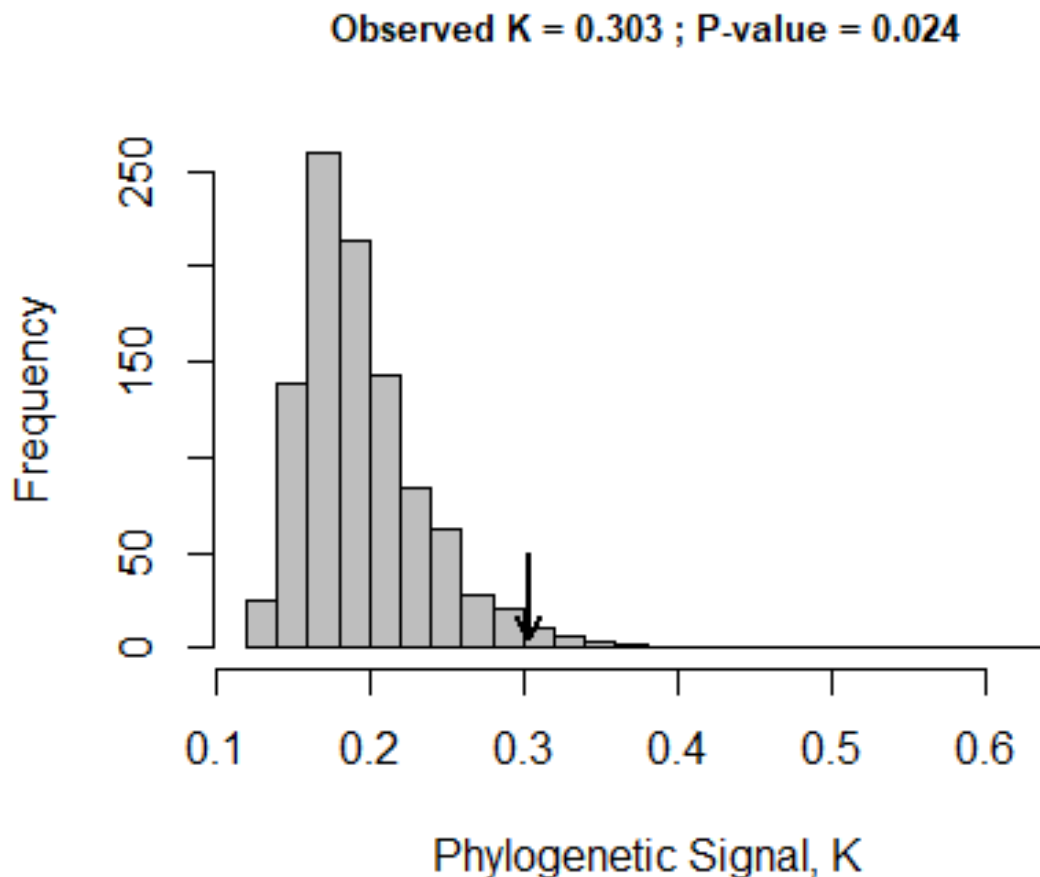
Los resultados de Disparidad basados en grupos taxonómicos, así como los valores de clasificación por validación cruzada muestran que la diversidad morfológica de las vértebras es mejor evidenciada y representada con base en los grupos taxonomicos de la muestra que la disparidad basada en ecologías locomotoras.

**Cuadro 9.** Matriz del análisis de disparidad que muestra la tasa de diferenciación (arriba de la diagonal) y los valores de p value (debajo de la diagonal) donde se muestra que la disparidad entre diferentes grupos taxonómicos.

	<b>Booidea</b>	<b>Colubrinae</b>	<b>Crotalinae</b>	<b>Dipsadinae</b>	<b>Elapidae</b>	<b>Leptothyphlopidae</b>	<b>Natricinae</b>
Booidea	0	<b>0.0356</b>	0.0148	<b>0.0427</b>	0.032	0.010	<b>0.045</b>
Colubrinae	<b>0.006</b>	0	<b>0.020</b>	0.007	0.003	0.024	0.009
Crotalinae	0.23	<b>0.011</b>	0	<b>0.027</b>	0.017	0.004	<b>0.030</b>
Dipsadinae	<b>0.003</b>	0.359	<b>0.003</b>	0	0.010	<b>0.032</b>	0.002
Elapidae	0.063	0.866	0.239	0.511	0	0.021	0.013
Leptothyphlopidae	0.522	0.054	0.82	<b>0.025</b>	0.287	0	<b>0.034</b>
Natricinae	<b>0.001</b>	0.227	<b>0.001</b>	0.729	0.424	<b>0.017</b>	0
Variacion procrustes	0.056	0.020	0.041	0.011	0.023	0.045	0.010
Variacion total procrustes							0.023

### Señal filogenética y el cambio de la forma vertebral a través de la filogenia

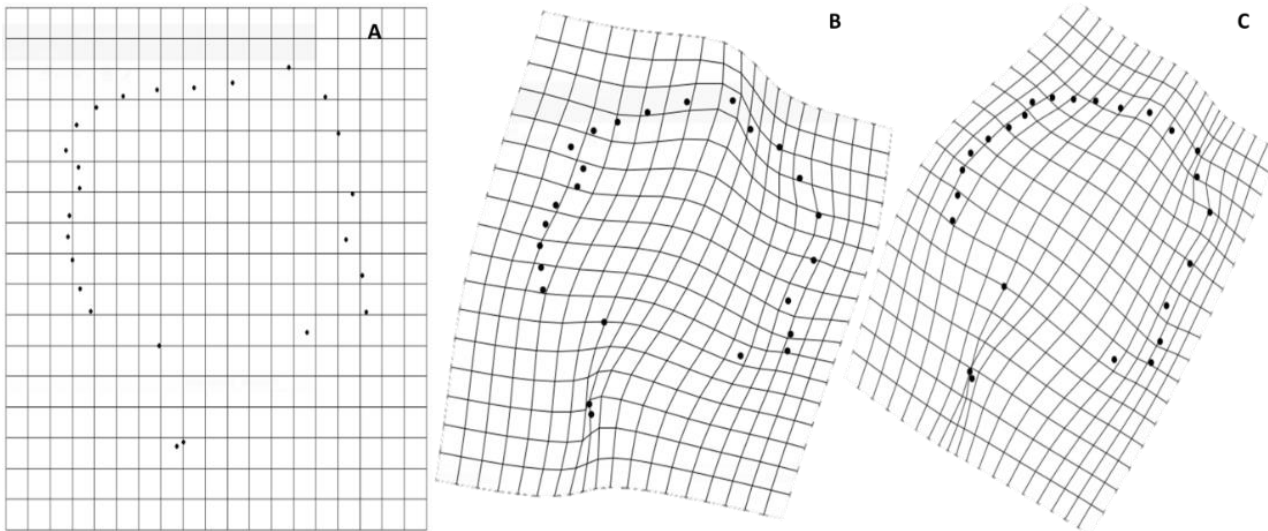
Los análisis de señal filogenética indican que para la forma de las vértebras en serpientes hay congruencia filogenética significativa entre la variación morfológica y la historia evolutiva del clado ( $K=0.303$ ,  $P = 0.024$ ), indicando que especies o taxones más cercanamente relacionados son más similares entre sí en cuanto a la forma de las vértebras que lo esperado bajo un modelo evolutivo de movimiento browniano (Figura 8).



**Figura 8.** Histograma de los valores de K de bloomberg obtenidas de 999 permutaciones de los datos de la forma de las vértebras, sobre las puntas de la filogenia (grupos más recientes) de las serpientes con la posición del valor observado de la K de bloomberg (Flecha).

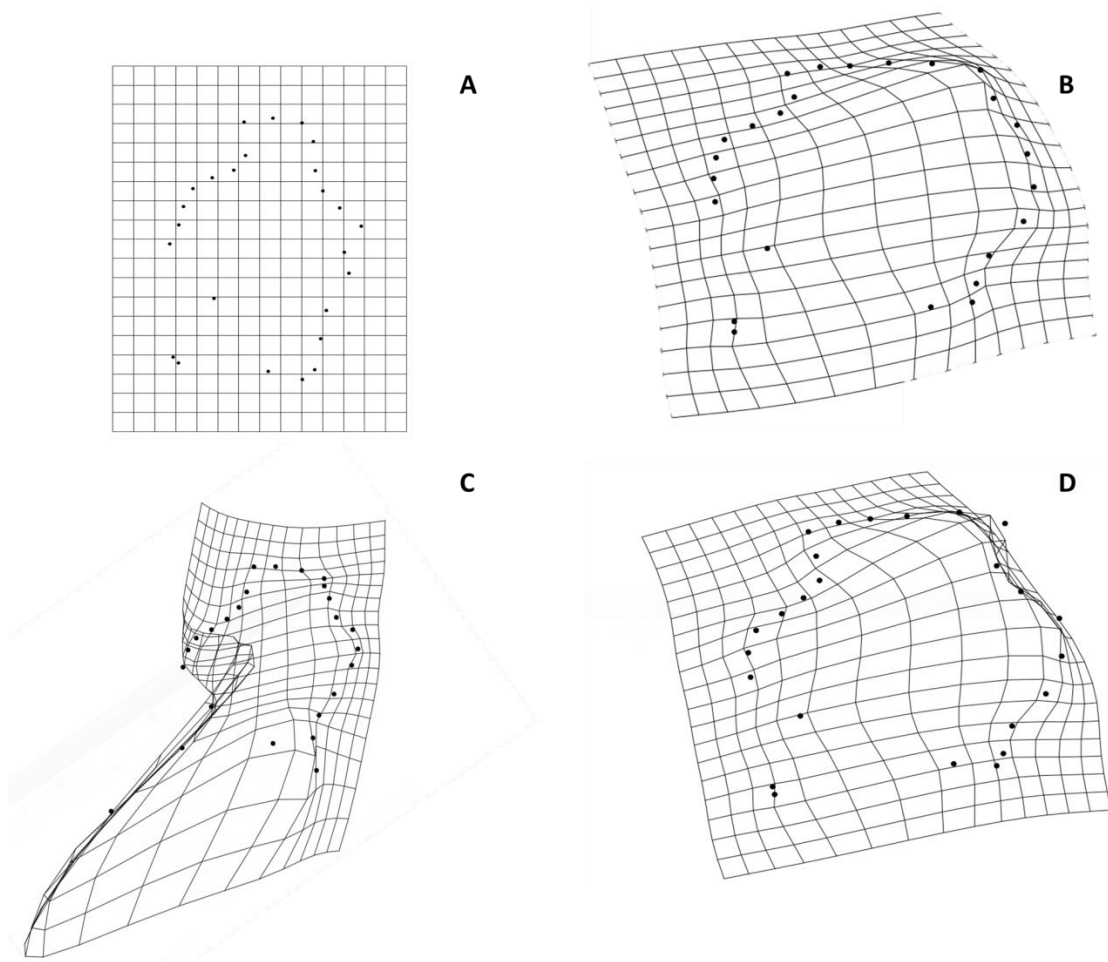
Al comparar las gradillas de deformación, del mismo tipo de hábito locomotor, entre diferentes clados, se observó que únicamente el hábito fosorial mantiene características morfológicas semejantes entre los tres grupos monofiléticos evaluados: clado Leptotyphlopidae, el género *Geophis* (Dipsadinae) y el clado

conformado por los géneros *Conopsis* y *Ficimia* (Colubrinae). Sin embargo, existen diferencias en la posición de la quilla hemal (Figura 9).



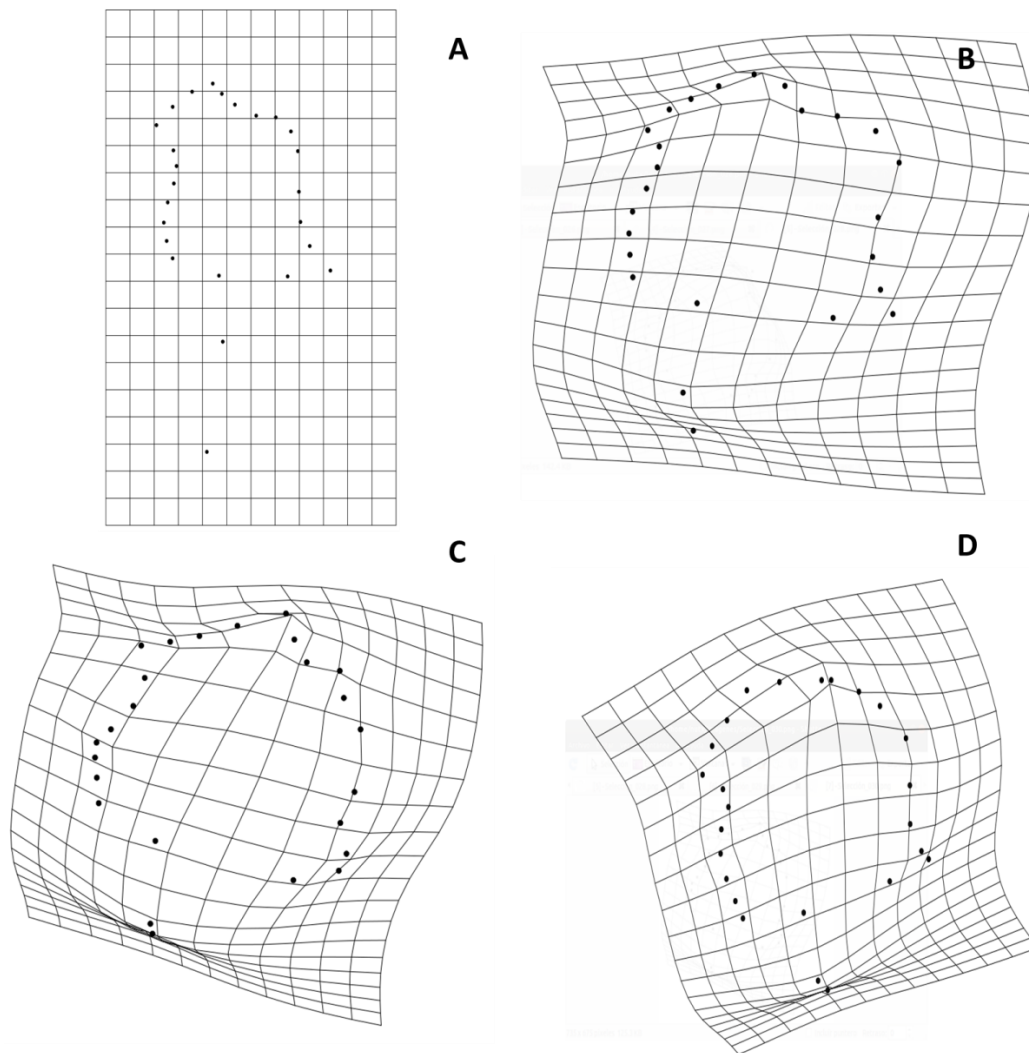
**Figura 9. Gradillas de deformación entre especies fosoriales.** A) configuración morfométrica del clado Leptotyphlopidae. B) Gradilla de deformación del género *Geophis* con respecto a Leptotyphlopidae. C) Gradilla de deformación de clado conformado por *Conopsis* y *Ficimia* con respecto a Leptotyphlopidae.

Para el grupo de serpientes arborícolas, las diferencias son muy drásticas entre los distintos clados analizados. El grupo de las boas (Boidae; Figura 10A) presenta diferencias evidentes con respecto a los géneros *Leptophis* (Colubrinae) e *Imantodes* en la región anterior de la espina neural y la región sinapofisial (Figura 10B y D). Así mismo, se observan diferencias drásticas en la posición de la hipapófisis entre la familia Boidae y el género *Bothrops* (Figura 10C).



**Figura 10. Gradillas de deformación de especies arbóricolas en diferentes clados.** A) Configuración morfométrica de especies del género *Boa*. B) Gradillas de deformación del género *Leptophis* (Colubridae) con respecto al género *Boa* (Booidae). C) Gradilla de deformación del género *Bothrops* (Crotalinae) con respecto al género *Boa*. D) Gradilla de deformación del género *Imantodes* (Dipsadinae) con respecto al género *Boa*.

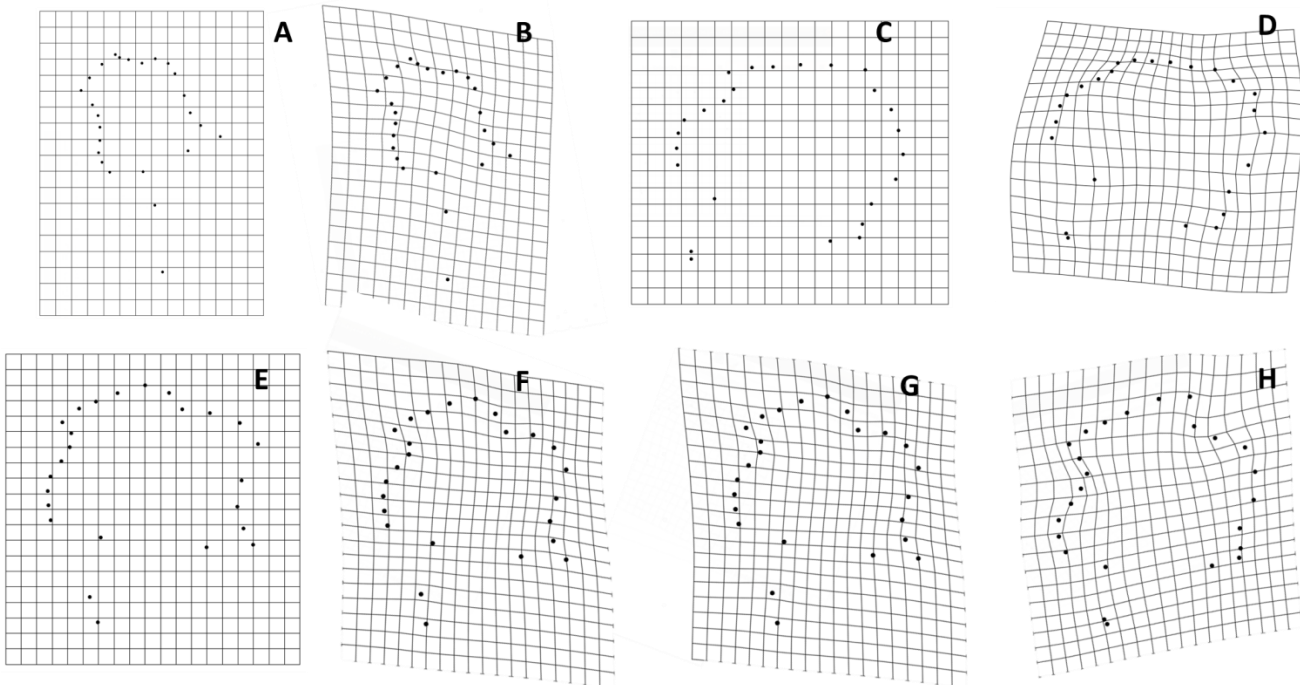
Las serpientes terrestres tuvieron la mayor variación en morfología de las vértebras, por lo que las deformaciones entre diferentes clados fueron mayores. El género *Crotalus* (Crotalinae; Figura 11A) se diferencia en gran medida de los géneros *Storeria* (Natricinae; Figura 11B), *Pituophis* (Colubrinae) (Figura 11C) e *Hypsiglena* (Dipsadinae; Figura 11D). Las diferencias de *Crotalus* con respecto a los otros géneros radican en la posición de las estructuras que se alejan del centro vertebral, donde la hipapófisis que se reduce (Figura 11).



**Figura 11. Gradillas de deformación de especies terrestres.** A) Configuración morfométrica de especies del género *Crotalus*. B) Gradilla de deformación del género *Storeria* (Natricinae) con respecto al género *Crotalus* (Crotalinae). C) Gradilla de deformación del género *Pituophis* (Colubridae) con respecto al género *Crotalus*. D) Gradilla de deformación del género *Hypsiglena* (Dipsadinae) con respecto al género *Crotalus*.

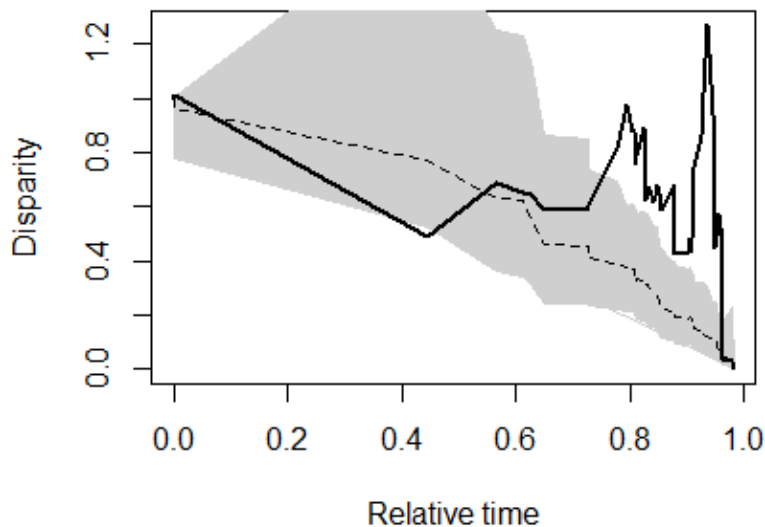
Para la comparación realizada entre serpientes del mismo grupo monofilético se obtuvieron gradillas de deformación que muestran morfologías similares (Figura 12). Las similitudes se observan incluso entre hábitos locomotores distintos. Para la comparación entre los grupos del clado Crotalinae, el género *Bothrops* (arborícola; (Figura 12A) y el género *Crotalus* (de especies terrestre) no presentan diferencias evidentes (Figura 12B). Del clado Colubrinae las comparaciones entre el género *Leptophis* (de especies arborícola; Figura 12C ) y el clado *Ficimia* + *Conopsis* (de especies fosoriales) únicamente muestran cambios en la región

dorsal de la vértebra, mostrando la espina neural poco definida (Figura 12D). No se observaron diferencias en las gradillas de deformación entre el género *Storeria* (terrestre; Figura 12E) y el género *Thamnophis* (acuático) del clado Natricinae (Figura 12F). Dentro del clado Dipsadinae, las diferencias entre el género *Geophis* (fosorial; Figura 12G) e *Imantodes* (arborícola) se presentan en la espina neural, y las sinapoficis (Figura 12H).



**Figura 12. Gradillas de deformación entre grupos distintos tipos de hábito del mismo grupo taxonómico.** A) Configuración morfométrica del género *Bothrops* (arborícola). B) Gradilla de deformación del género *Crotalus* (terrestre) con respecto al género *Bothrops*, ambos géneros pertenecen al clado Crotalinae. C) Configuración morfométrica del género *Leptophis* (arborícola). D) Gradilla de deformación del clado conformado por los géneros *Focimia* y *Conopsis* (Fosoriales) con respecto al género *Leptophis* (arborícola), ambos clados pertenecen a la subfamimlia Colubrinae. E) Configuración morfométrica del género *Storeria* (terrestre). F) Gradilla de deformación de especies del género *Thamnophis* (acuático) con respecto al género *Storeria*, los cuales pertenecen a la subfamilia Natricinae. G) Configuración morfométrica de especies del género *Geophis* (fosorial). H) Gradilla de deformación del género *Imantodes* (arborícola) con respecto al género *Geophis* (fosorial), ambos pertenecientes a la subfamilia Dipsadinae.

El análisis de disparidad a través del tiempo (DTT), obtuvo un índice de disparidad morfológica MDI =0.05341 (Intervalo de confianza CI=0.095), que indica que el modelo evolutivo al que se ajusta la variación de la forma de las vértebras de serpientes estudiadas es un modelo Orstein-Uhlenbeck (OU) (Harmon et al. 2003). Esto indica que la disparidad relativa dentro de los clados de la filogenia de serpientes es mayor que la esperada bajo un modelo de movimiento browniano (Harmon et al. 2003). Esto implica que la disparidad no se acumula o crece a través del tiempo, sino que tiene un simple pico adaptativo donde la disparidad total del grupo en la base de la filogenia es similar a la disparidad relativa que se encuentra a lo largo de la filogenia (Figura 13). Es decir que la diversidad morfológica de las vértebras de serpientes se origina en su mayoría en los clados más antiguos y se conserva a través del tiempo sin presentar cambios morfológicos extremos



**Figura 13.** Gráfica que muestra la disparidad relativa que se esperaría bajo un modelo evolutivo de movimiento browniano (zona sombreada). La línea punteada es la media de la disparidad bajo un modelo evolutivo de movimiento browniano y la línea sólida es la disparidad de la muestra en relación con la filogenia de serpientes. En esta línea sólida se observa que la mayor variación morfológica para las vértebras de serpientes se originó en la base de la filogenia, y finalmente la variación morfológica de las especies actuales se conserva a lo largo de la misma.

### *Reconstrucción de los hábitos locomotores mediante la filogenia*

La estimación del hábito locomotor ancestral es de 94% de probabilidad para el hábito fosorial en la base de la filogenia. El resto de los hábitos locomotores presenta una probabilidad de 3.17 % para el hábito terrestre, acuático 0.96 %, para el hábito acuático, 0.86 % para el hábito arborícola y 0.80 % para el hábito marino (Cuadro 10). Las probabilidades son el resultado de convertir las probabilidades posteriores bayesianas en porcentaje.

**Cuadro 10.** Probabilidades posteriores bayesianas (Ppb) para cada tipo de hábito locomotor en la raíz de la filogenia construida a partir de 262 especies de serpientes.

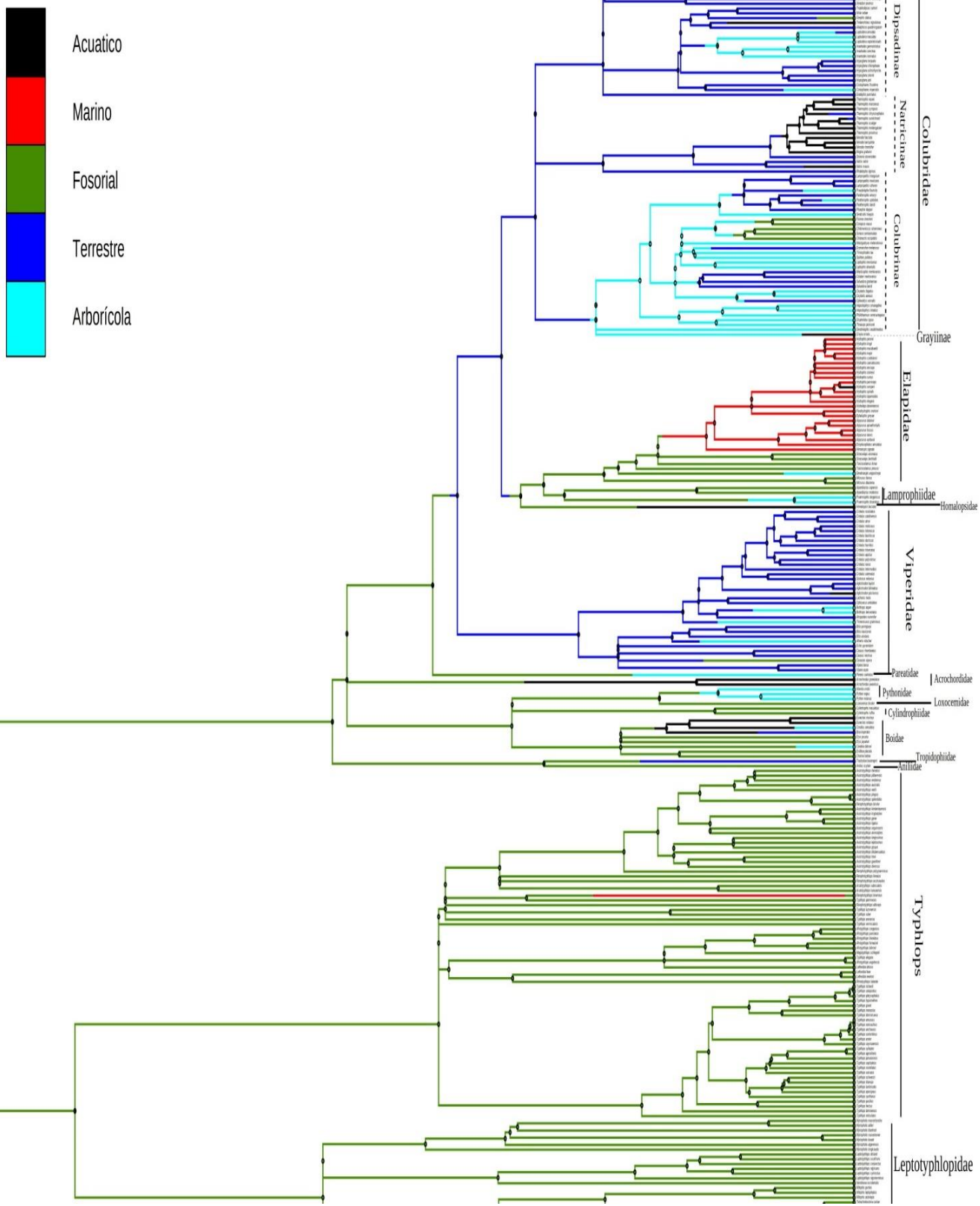
<b>Hábito</b>	<b>Acuático</b>	<b>Arborícola</b>	<b>Fosorial</b>	<b>Marino</b>	<b>Terrestre</b>
Ppb	0.00966	0.00863	<b>0.94185</b>	0.00805	0.03178

La reconstrucción filogenética con las 262 especies de serpientes y los hábitos locomotores indica, que en los nodos más basales de la filogenia predominan las serpientes fosoriales: por otra parte, el hábito marino es exclusivo de la familia Elapidae, el hábito terrestre es un paralelismo en las familias Boidae, Viperidae y Colubridae, siendo no exclusivo de un solo clado. Lo mismo sucede con el hábito arborícola que se presenta en las familias Boidae, Pythonidae, Viperidae, Lamprophiidae, Elapidae y Colubridae. El hábito acuático se presenta pocas veces en las subfamilias Dipsadinae, Natricinae, en una sola especie de la familia Elapidae, subfamilia Grayiinae, Homalopsidae y con dos especies en Acrochordidae y Boidae (Figura 14).

A partir de los resultados obtenidos (Figura 15), la reconstrucción de hábito locomotor ancestral en la filogenia (Figura 14) muestra que del hábito fosorial pudo cambiar hacia el hábito terrestre en las boas y sus parientes, apareciendo en las familias Tropicophiidae y Boidae.

El hábito fosorial también pudo evolucionar hacia el hábito arborícola en Boidae y Pythonidae; y hacia el hábito acuático en las anacondas de la familia Boidae (Figura 15b). Existen familias con pocas especies que se distribuyen en Asia con representantes de hábitos acuáticos en la familia Acrochordidae y de hábitos

arborícolas en la familia Pareasidae que también se infiere evolucionaron a partir de ancestros con hábitos fosoriales (Figura 15b).



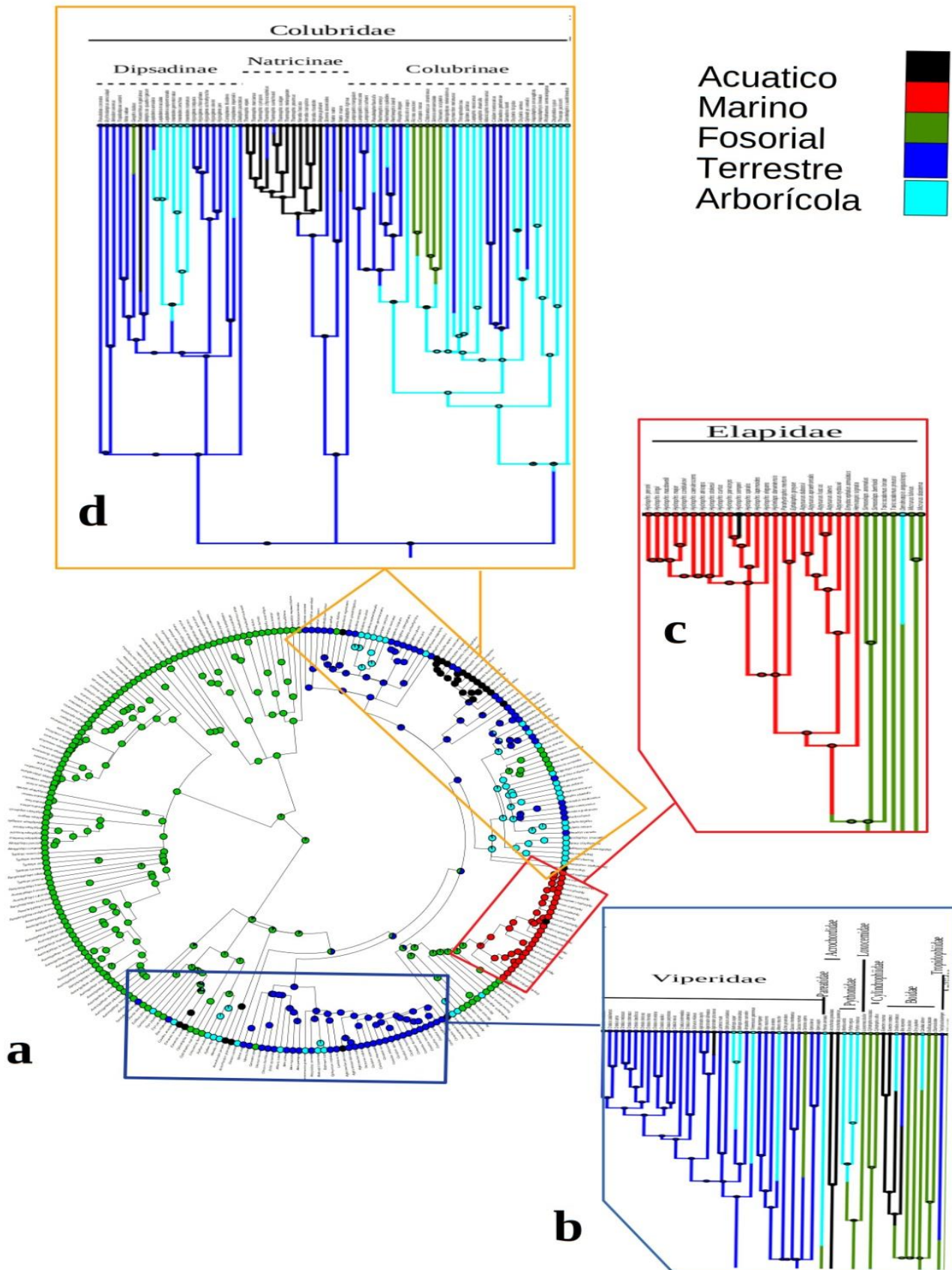
**Figura 14.** Mapeado estocástico de caracteres donde se muestran los diferentes hábitos ecológicos de 263 especies de serpientes en la filogenia de Pyron et al. (2013). Se observa que el hábito ancestral de las serpientes modernas se infiere como fosorial y que el hábito marino es el único que es monofilético, mientras el resto aparece varias veces dentro de la filogenia.

Posteriormente, el hábito fosorial cambia hacia el hábito terrestre en la mayoría de las especies de la familia Viperidae. El hábito terrestre sufre una reversión hacia el hábito fosorial en serpientes que viven la mayor parte de su vida enterradas en la arena como *Cerastes vipera*. El hábito terrestre también evoluciona hacia el hábito arborícola en varios vipéridos y hacia el hábito acuático en la nauyaca *Agkistrodon piscivorus* (Figura 15b).

El hábito fosorial se conserva en algunas especies de la familia Lamprophiidae pero en otras especies de la misma familia cambia al hábito arborícola como el género *Psammophis*. El hábito fosorial también evoluciona hacia el hábito acuático en la familia Homalopsidae (Figura 15b).

Dentro de la familia Elapidae el hábito fosorial evoluciona de manera exclusiva dentro de las serpientes al hábito marino. Además, cambia al hábito arborícola en la especie *Dendroaspis anguiceps* y en el resto de los elápidos se conserva la condición fosorial (Figura 15c).

Finalmente, el hábito fosorial evoluciona nuevamente al hábito terrestre en los colúbridos, y este hábito terrestre cambia a un hábito acuático para la subfamilia Grayiinae, a un hábito arborícola en las subfamilias Colubrinae y Dipsadinae (Figura 15d), a un hábito acuático en la subfamilia Natricinae y en *Tretanorhinus nigroluteus* de la subfamilia Dipsadinae (Figura 15d). Por último, el hábito fosorial es una reversión del hábito arborícola en representantes de la subfamilia Colubrinae, y del hábito terrestre en la subfamilia Dipsadinae (Figura 15d).



**Figura 15.** Mapeado estocástico de caracteres con las transiciones de los hábitos ecológicos en la filogenia de 262 especies de serpientes (a) con acercamientos a la transición de fosorial a terrestre en Boidea y Viperidae (b), transición del hábito fosorial a marino en Elapidos (c), transición de fosorial a terrestre, arborícola y acuático en la familia Colubridae (d).

## DISCUSIÓN

La variación de la morfología vertebral de las serpientes estudiadas es amplia (Figura 3, 5); sin embargo, la forma característica de sus vértebras se conserva. Esta conservación morfológica ha sido observada de manera general con morfometría tradicional (Johnson 1955; Houssaye et al., 2013), a partir de las cuales se han encontrado especializaciones vertebrales microanatómicas en taxa altamente especializados a algún tipo de un hábito locomotor (Johnson 1955; Houssaye et al., 2013).

### *Variación morfológica de los grupos monofiléticos y hábitos locomotores*

Los resultados del CVA (Figura 6) indican que las serpientes terrestres se solapan morfológicamente con especies de hábitos arborícolas, fosoriales y en menor medida con especies acuáticas, siendo estos últimos cuatro grupos locomotores difíciles de diferenciar tanto morfológicamente como estadísticamente, lo cual, indica que la anatomía vertebral de estos grupos podría ser considerada como generalista. Es posible, que la proximidad morfológica en estos grupos se deba a que ciertas especies no ocupan estrictamente un único hábitat, y logran compaginar el hábito locomotor terrestre con otro tipo de locomoción (Houssaye et al., 2013). Es así como se conocen especies semi arborícolas (que pueden encontrarse en ambientes terrestres como en las ramas de árboles en donde pasan la mayor parte del tiempo), semi acuáticas (especies acuáticas que pueden ser encontradas en tierra), semi fosoriales (que habitan tanto ambientes terrestres como fosoriales) e incluso se ha probado que ciertas especies marinas pueden movilizarse en ambientes terrestres (Bonnet et al., 2005; Bonnet et al., 2009), lo cual puede ser resultado de la plasticidad genética y morfológica del linaje (Aubret et al., 2004) y su gran capacidad de movilidad en distintos ambientes (Tingle, 2020).

En este trabajo se consideró que, si una especie era encontrada en la literatura como semi arborícola era considerada arborícola, las especies semi acuáticas se consideraron como acuáticas y semifosoriales como fosoriales. De ser considerados grupos con especies semi arborícolas, semi fosoriales y semi acuáticas, posiblemente se agruparían morfológicamente y estadísticamente en conjunto

con el hábito terrestre y aquellas especies estrictamente acuáticas, fosoriales y arborícolas como grupos afines independientes.

Una consideración importante es el hábito ecológico como “el ambiente en el que se observa que una especie pasa la mayor parte del tiempo”(Tinius et al., 2018). Esto puede reflejar un factor etológico más que funcional. Otro hecho, es que varias especies consideradas fosoriales, se alimentan, aparean y cazan sobre el suelo generalmente de noche (Palci et al., 2017, 2018). Las especies de los géneros *Anilioides*, *Cylindrophis* y *Xenopeltis* son fosoriales durante el día y emergen durante la noche para alimentarse atacando a grandes presas, generalmente en la superficie del suelo. De forma inversa, serpientes desde *Cylindrophis* (fosorial) hasta pitones (arborícolas) cavan agujeros con sus cabezas (Caldwell, 2019) y esto no hace fosoriales, semifosoriales o semiexcavadoras a estas especies, más bien la fosorialidad sólo debería atribuirse a un grupo de organismos cuando esencialmente completan su ciclo de vida debajo de la superficie del suelo (Caldwell, 2019), por lo que considerar solamente a especies estrictamente fosoriales (que pasan su ciclo de vida completamente enterradas) podría mejorar los análisis que se realizaron en el presente estudio con las vértebras.

Houssaye et al. (2013) mencionan que la ausencia de especializaciones vertebrales se debe a que las serpientes pueden cambiar de un modo locomotor a otro por cambios en el sustrato, o si es que las condiciones ambientales lo requieren. Así mismo consideran que la morfología vertebral es generalista, lo cual permite justificar que sean versátiles en una variedad de entornos y ayuda a explicar su gran éxito evolutivo. En este trabajo, las serpientes marinas (que pertenecen únicamente al clado Elapidae) se diferencian morfológicamente del resto de los hábitos locomotores y únicamente presentan similitudes morfológicas con serpientes de hábitos acuáticos. La clara diferenciación de serpientes marinas con respecto al resto de las especies se ha reportado con anterioridad no solo para la morfología vertebral (Johnson, 1955; Houssaye et al., 2013) sino para la

morfología general como el caso de tamaño corporal, presencia o ausencia de cola aplanada, patrón dorsal o escamas dorsales (Murphy, 2012).

El trabajo de Jhonson (1955) menciona que las vértebras de las serpientes marinas muestran características distintivas, tales como espinas neurales excesivamente largas, más largas en la cresta que en la base y que posiblemente esta característica refleje la profundización del cuerpo en estas serpientes y en el desarrollo de su característica forma de “remo” de las vértebras que las distingue especialmente del resto de los hábitos locomotores. Se ha considerado que las especializaciones de serpientes marinas pueden deberse a que, a diferencia de especies con hábitos locomotores asociados a sustratos principalmente terrestres (terrestres, arborícolas, y fosoriales) que tienen un uso de hábitat más amplio (tierra, rocas, ramas de árboles, etc.), las serpientes marinas y algunas especies acuáticas tienen rangos hogareños más pequeños, en donde el flujo génico es bajo y limitado (Brischoux et al., 2009), por lo que las características morfológicas de estas serpientes se conservan exclusivamente en especies marinas. Sin embargo, debido a la dificultad que representa la recolecta de especies marinas (Bonnet et al., 2016; Udyawer, 2018), conocer a fondo los factores que intervienen en las especializaciones morfológicas y evolutivas de estos organismos es complejo de resolver.

A pesar de la afinidad morfológica entre las vértebras de las serpientes, la variación que presentan puede ser atribuida principalmente a la presencia o ausencia de la hipapófisis y la posición del borde posterior de la espina neural (Sarris, 2012). La espina neural puede ser prominente como sucede en vértebras de especies arborícolas y terrestres (Ikeda, 2007) o muy poco desarrollada en algunas especies fosoriales, las cuales también pueden carecer de hipapófisis (Ikeda, 2007; Holman, 2000).

En la familia Colubridae, se pueden encontrar espinas neurales desarrolladas. Sin embargo, la hipapófisis está poco desarrollada y solo se encuentra presente en vértebras cervicales y en vértebras troncales en la subfamilia Natricinae y en pocas especies de la subfamilia Xenodontinae (Holman, 2000). En este trabajo,

las modificaciones vertebrales de la familia Colubridae y especialmente de la subfamilia Colubrinae, se entienden mejor bajo la perspectiva filogenética que bajo la perspectiva ecológica, además de ser un grupo complejo de explicar en términos osteológicos (Holman, 2000).

Los resultados de los análisis de variables canónicas (CVA) indican que la agrupación morfológica de las vértebras en grupos monofiléticos (Figura 6, 7) resulta más informativa que lo observado bajo el contexto ecológico. La disparidad significativa (Cuadro 9) se presenta entre casi todas las familias analizadas, lo que indica que las diferencias morfológicas vertebrales están influenciadas principalmente por su historia evolutiva (Jhonson 1955; Houssaye et al., 2013), similar a lo hallado en trabajos realizados con cráneos de serpientes (Vincent et al., 2006; França et al., 2008; Hampton, 2011; Klaczko et al., 2016; Silva et al., 2018). Sin embargo, el hábito locomotor de las serpientes influye secundariamente, pero de manera sustancial, en la forma de las vértebras, dando lugar a microespecializaciones anatómicas en serpientes marinas y acuáticas (Murphy, 2012; Segall et al., 2016; Allemand et al., 2017; Silva et al., 2018; Udyawer, 2018).

#### *Señal filogenética y señal ambiental de la forma vertebral de las serpientes*

La presencia de señal filogenética en el conjunto de datos indica que la variación en la forma de las vértebras de serpientes está parcialmente influenciada por la historia evolutiva compartida. Lo cual explica que las comparaciones de las gradillas de deformación entre especies del mismo hábito muestren diferencias drásticas (Figura 9, 10, 11), como se observa en el grupo de serpientes arborícolas, donde las boas se diferencian drásticamente de los géneros *Leptophis* e *Imantodes* en la región anterior de la espina neural y la región sinapofisial y Boidae con respecto al género *Bothrops* se diferencia únicamente en la posición de la hipapófisis (Figura 10). También, es notorio que, en especies terrestres, las gradillas de deformación mostraron gran diversidad de cambios morfológicos a pesar de pertenecer al mismo hábito locomotor (Figura 11). Los géneros *Storeria*, *Pituophis* e *Hypsiglena* se diferenciaron del género *Crotalus* en cuanto a

estructuras vertebrales que se alejan del cuerpo vertebral y la hipapófisis excepto en los crotálinos, es una quilla hemal que se proyecta hacia la región anterior de la vértebra. Finalmente, la forma de las vértebras de especies fosoriales es más conservadora y las únicas deformaciones que se observaron fueron aquellas dadas en la proyección de la quilla hemal (Figura 9).

La detección de señal filogenética significativa (figura 8) corresponde con las comparaciones entre vértebras de serpientes de distintos géneros pertenecientes a la misma familia, en donde la conservación vertebral está presente a pesar de poseer hábitos locomotores muy distintos (Figura 12). Especies de los géneros *Crotalus* y *Bothrops* (terrestres y arborícolas respectivamente, ambas del clado Crotalinae), *Storeria* y *Thamnophis* (terrestres y acuáticas respectivamente, y del clado Natricinae) no presentan diferencias marcadas en la morfología vertebral. Las diferencias morfológicas vertebrales entre los géneros *Leptophis*, *Ficimia* y *Conopsis* (arborícolas, y fosoriales del clado Colubrinae) se presentan en la zona dorsal de las vértebras y se observan espinas neurales poco definidas en *Ficimia* y *Conopsis*. Entre los géneros *Geophis* e *Imantodes* (especies fosoriales y arborícolas respectivamente que pertenecen a la subfamilia Dipsadinae), los cambios se presentan en la espina neural que se proyecta anteriormente y las sinapófisis se ven reducidas en *Imantodes*.

La prueba de disparidad a través del tiempo indica en primer lugar que la disparidad relativa de las vértebras en los clados de serpientes pudo haber ocurrido en un único pico adaptativo y se ha mantenido a través de la historia evolutiva de las serpientes en donde no han ocurrido grandes cambios morfológicos a través de su filogenia, lo cual es congruente con la señal filogenética identificada. De acuerdo con estos resultados, este comportamiento corresponde al modelo evolutivo Orstein Uhembeck (Beaulieu et al., 2012) que implica estasis adaptativa (Figura 13). Es decir, que la forma general de las vértebras de serpientes no ha sufrido grandes modificaciones a lo largo de su historia evolutiva y que la variación en las formas se dio en un salto adaptativo.

Esto resulta contrastante para el caso de estudios con cráneos en serpientes, debido a que la morfología de cráneos se ajusta mejor a un modelo evolutivo de movimiento browniano, en donde los cambios morfológicos suceden continuamente en el tiempo (Allemand et al., 2017; Palci et al., 2017; Da Silva et al., 2018). Mientras que en este estudio los cambios morfológicos en las vértebras de las serpientes tuvieron lugar en un mismo evento evolutivo donde surgen las diferentes morfologías vertebrales. La diferencia entre la evolución del cráneo y las vértebras en las serpientes, puede deberse a que el cráneo se ve altamente afectado por las exigencias ambientales a las que se ven sometidas las serpientes y especialmente en cuanto al tipo de presas que consumen en dichos ambientes (Segall, et al., 2016), por lo que el cráneo de las serpientes es objeto de mayores presiones selectivas y la morfología debe ser dinámica ante los ambientes, mientras que las vértebras mantienen una morfología que les permita moverse en diferentes sustratos sin tener demasiada presión ambiental (Houssaye et al., 2013), como se observó en el presente estudio.

A pesar de que la morfología vertebral es generalista, fuertemente influida por la historia evolutiva compartida entre las especies de serpientes, las vértebras no poseen una morfología altamente especializada para poder moverse en distintos ambientes. Aunque no existen trabajos evolutivos sobre la forma de las vértebras de las serpientes, se han observado limitaciones en la estructura mandibular (Graham, 2018) y la morfología craneana en serpientes (Allemand et al., 2017; Silva et al., 2018), que definen el tipo de presas que consumen y por lo tanto la preferencia a algún hábito ecológico. El ambiente marino en serpientes involucra un ambiente altamente selectivo, ya que sólo unas cuantas especies han logrado adaptarse a él y poseer especializaciones microanatómicas que les permiten moverse bajo el agua (Silva et al., 2018). Un hecho es que la gran capacidad de consumir una alta diversidad de presas, combinada con la habilidad de moverse suavemente sobre el sustrato y a través de espacios difíciles, es lo que las hace tan exitosas (Graham, 2018). Por otro lado, se ha mencionado que las serpientes "altamente especializadas" tienen muchas características "degeneradas"; sin embargo, también conservan una serie de caracteres

plesiomórficos que se han conservado a través de la historia evolutiva del clado (Haas, 1973; Kley, 2001). Por lo que sería interesante enfocarse en estudios posteriores si existe una tendencia morfológica en las vértebras de serpientes hacia el hábito marino.

### *Reconstrucción de hábitos locomotores mediante la filogenia*

El mapeado de hábitos ecológicos en la filogenia indicó que la fosorialidad es probabilísticamente la condición ancestral en la base de la filogenia.

Posteriormente aparecen el hábito terrestre, arborícola, acuático y marino, es decir, que para las serpientes actuales la fosorialidad corresponde con la condición ancestral en cuanto a los hábitos ecológicos en las serpientes mapeadas y analizadas morfométricamente en este trabajo (Figura 14, 15). Esto concuerda con los trabajos que exploran más a fondo el origen de las serpientes quienes mencionan que la fosorialidad es la condición locomotora más probable (Vidal y Hedges, 2004; Caprette, et al., 2004; Hsiang et al., 2015; Palci et al., 2017; Da Silva et al., 2018; Caldwell 2019).

Las vértebras de serpientes fosoriales antiguas como el caso de *Epictia resetari* se solapan en el espacio morfométrico con casi todos los hábitos ecológicos (Figura 5, Cuadro 6), indicando que la morfología característica o “generalista” de las vértebras de serpientes estaba presente en los grupos más antiguos. Algunos trabajos con vértebras fósiles indican que la fosorialidad es una condición frecuente en serpientes cretácicas como *Lapparentophis rage* (Vullo, 2019) y *Noriospphis begga* considerada principalmente terrestre (Klein et al., 2017). Contrariamente, especímenes más antiguos datados para el Jurásico tardío-Cretácico temprano (167-145 Ma) han sido encontradas en depósitos acuáticos como rocas provenientes de pantanos de coral y depósitos de ríos (Caldwell et al., 2015) indicando un origen marino de las serpientes.

El hecho de que las serpientes fosoriales se sobrelapen en el morfoespacio con otros hábitos indica que la fosorialidad ocupa un espacio morfométrico único que posee características que favorecen la locomoción de las serpientes en otros

sustratos. Por ejemplo, en serpientes antiguas como *Dynilisa patagónica*, se ha mostrado mediante el análisis vertebral y del oído interno, características de especies semi-acuáticas y semi-fosoriales (Albino y Caldwell, 2003; Palci et al., 2017), considerándose diferente de los organismos exclusivamente terrestres y fosoriales (Palci et al., 2017). Esto indica que, incluso en las serpientes más antiguas la movilidad no era exclusiva de un ambiente y que la locomoción se fue modificando ligeramente en los clados que fueron originando nuevos grupos (Albino y Caldwell, 2003; Palci et al., 2017).

El mapeado estocástico de caracteres indica que la fosorialidad surge múltiples veces en la historia evolutiva del grupo y que el hábito principal que se diferencia de las especies fosoriales es el terrestre. Especies terrestres dan origen al resto de los hábitos ecológicos como el acuático que surge en la familia Colubridae y el arborícola que también tiene lugar en múltiples ocasiones (Figura 14, 15).

El hábito marino es el único que surge una vez en la filogenia como una transición del ambiente terrestre-fosorial, lo cual ya había sido reportado por Sanders et al. (2008), Sanders y Lee (2010), Sanders et al. (2013), quienes mencionan que las serpientes marinas compartieron un ancestro común con los elápidos terrestres australianos (taipanes, víboras de la muerte y serpientes tigre) hace 20 M.a.

La controversia acerca de las condiciones bajo las cuales las serpientes se originaron es uno de los temas más discutidos (Vidal y Hedges, 2004; Caprette et al., 2004; Lee, 2005; Hsiang et al., 2015; Palci et al., 2017; Da Silva et al., 2018; Caldwell 2019). Por un lado, fósiles de lagartos marinos antiguos (mosasaurios) son considerados basales a las serpientes, lo que indica que la evolución y origen de las serpientes es marino. Esto es apoyado por fósiles de serpientes antiguas encontrados en depósitos marinos (Caldwell et al., 2015). Por otro lado, fósiles de serpientes antiguas provenientes de depósitos terrestres (Apesteguía y Zaher, 2006), y evidencia de la similitud entre las serpientes ciegas y las serpientes más antiguas brinda soporte a la hipótesis del origen terrestre (Apesteguía y Zaher, 2006).

El poco consenso del origen de las serpientes radica en que los varanoideos (principalmente mosasaurios) y el clado iguania son grupos hermanos de las serpientes (Pyron et al., 2013). Sin embargo, el hecho de que los mosasaurios sea el grupo más cercano evolutivamente a las serpientes no ha logrado brindar la evidencia necesaria para probar que el origen de las serpientes sea marino (Graham, 2018; Caldwell 2019) y posiblemente se han ignorado por completo los escenarios alternativos para el origen de las serpientes. Esto porque el dogma de los orígenes fosoriales ha avanzado teóricamente para reafirmar su posición histórica como la hipótesis más fuerte del origen de las serpientes (Caldwell, 2019)

Aunque el presente trabajo presenta una reconstrucción de hábitos ancestrales construida a partir de un mapeado estocástico de caracteres y se presentan probabilidades de los hábitos locomotores para la raíz de la filogenia (Cuadro 10), estos resultados no pueden ser aplicados para reconstruir el origen del hábito locomotor de todas las serpientes, sino sólo para los grupos derivados y utilizados en esta filogenia (Caldwell, 2019).

### *Vértebras como modelos ecológicos y evolutivos*

La morfología vertebral ha sido poco estudiada en aspectos funcionales y ecológicos de las serpientes, ya que la mayoría de los trabajos se centran en el análisis de los cráneos y mandíbulas debido a su complejidad osteológica y función alimenticia.

Sin embargo, debido a la alta influencia de la historia evolutiva en la morfología, las vértebras pueden ofrecer información de proximidad taxonómica, y proximidad ecológica en grupos donde las estrategias locomotoras estén altamente especializadas como es el caso de serpientes marinas y acuáticas (Graham, 2001; Silva et al., 2018). Las vértebras también ofrecen información sobre la historia del cambio morfológico a través del tiempo, lo cual puede ser útil en la reconstrucción de hipótesis de la historia evolutiva de las serpientes y se puede aplicar a estudios paleontológicos (Albino y Caldwell, 2003; Palci et al., 2017).

La morfometría geométrica, permite conocer la disparidad que existe dentro de un grupo taxonómico y ecológico, lo cual nos habla de la diversidad de formas que poseen las vértebras de las serpientes, y bajo este contexto es posible ubicar dentro del espacio morfométrico especies fósiles de las cuales sólo se conocen vértebras aisladas del tronco medio y con ello, contar con datos estadísticos de forma de las especies y no sólo con las descripciones.

## CONCLUSIONES

- ✦ La morfología vertebral de las serpientes analizadas es generalista y se conserva en los clados a través de la filogenia.
- ✦ Las microespecializaciones anatómicas en la morfología vertebral se presentan en especies de hábitos marinos y en menor medida en especies acuáticas.
- ✦ La morfología vertebral esta influenciada en alto grado por el factor filogenético y en menor grado por el factor ambiental.
- ✦ La morfología característica de la vértebras de serpientes se presenta desde los clados más tempranamente diferenciados en la historia evolutiva de las serpientes modernas infiriendo un hábito fosorial en la base de la filogenia.
- ✦ Los análisis osteológicos de vértebras brindan información sobre la historia evolutiva del clado, su locomoción y cómo estos dos factores se interrelacionan.
- ✦ El uso de la morfometría geométrica en estudios filogenéticos comparativos nos permite conocer la diversidad morfológica de los organismos y el cambio de la forma a nivel interespecífico y a través del tiempo, complementando la información obtenida por morfometría tradicional.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, D. C., Collyer, M. L., Kaliontzopoulou, A., y Sherratt, E. (2018). geomorph: software for geometric morphometric analyses. Version 3.0. 7.

Adams, D. C., y Collyer, M. L. (2019). Comparing the strength of modular signal, and evaluating alternative modular hypotheses, using covariance ratio effect sizes with morphometric data. *Evolution*, 73(12), 2352-2367.

Albino, A. M., y Caldwell, M. W. (2003). Hábitos de vida de la serpiente cretácica *Dinilysia patagonica* Woodward. *Ameghiniana*, 40(3), 407-414.

Allemand, R., Boistel, R., Daghfous, G., Blanchet, Z., Cornette, R., Bardet, N, y Houssaye, A. (2017). Comparative morphology of snake (Squamata) endocasts: evidence of phylogenetic and ecological signals. *Journal of anatomy*, 231(6), 849-868.

Allouch, G. (2014). Scientific technique for skeletons preservation and preparation of anatomical models to promote veterinary anatomy. *Journal of Veterinary Anatomy*, 7(2), 133-139.

Apesteguía, S., y Zaher, H. (2006). A Cretaceous terrestrial snake with robust hindlimbs and a sacrum. *Nature*, 440(7087), 1037-1040.

Aubret, F., Shine, R., y Bonnet, X. (2004). Adaptive developmental plasticity in snakes. *Nature*, 431(7006), 261-262.

Barr, W. A. (2014). Functional morphology of the bovid astragalus in relation to habitat: controlling phylogenetic signal in ecomorphology. *Journal of morphology*, 275(11), 1201-1216.

Barr, W. A. (2015). Paleoenvironments of the Shungura Formation (Plio-Pleistocene: Ethiopia) based on ecomorphology of the bovid astragalus. *Journal of human evolution*, 88, 97-107.

Barr, W. A. (2018). Ecomorphology. In *Methods in paleoecology* (pp. 339-349). Springer, Cham.

Barr, W. A., y Scott, R. S. (2014). Phylogenetic comparative methods complement discriminant function analysis in ecomorphology. *American Journal of Physical Anthropology*, 153(4), 663-674.

Baszio, S., y Weber, S. (2002). Potentials and limits of Morphometry in the understanding of Squamate Osteological Structures. *Senckenbergiana lethaea*, 82(1), 12-21.

Beaulieu, J.M., Jhwueng, D.C., Boettiger, C., y O'Meara, B.C. (2012). Modeling stabilizing selection: Expanding the Ornstein-Uhlenbeck model of adaptive evolution. *Evolution*, 66, 2369–2383.

Betz, O. (2006). Ecomorphology: Integration of form, function, and ecology in the analysis of morphological structures. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie*, 15, 409-416.

Blomberg, S. P., Garland Jr, T., y Ives, A. R. (2003). Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution*, 57(4), 717-745.

Bonnet, X., Brischoux, F., Pearson, D., y Rivalan, P. (2009). Beach rock as a keystone habitat for amphibious sea snakes. *Environmental Conservation*, 36(1), 62-70.

Bonnet, X., Ineich, I., y Shine, R. (2005). Terrestrial locomotion in sea snakes: the effects of sex and species on cliff-climbing ability in sea kraits (Serpentes, Elapidae, Laticauda). *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(4), 433-441.

Bonnet, X., Rasmussen, A. R., y Brischoux, F. (2016). Sea snakes. In *Reptile Ecology and Conservation: a handbook of Techniques* (pp. 154-167). Oxford University Press.

Bookstein, F. L. (1997). *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press.

Brischoux, F., Bonnet, X., y Pinaud, D. (2009). Fine scale site fidelity in sea kraits: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, 18(9), 2473-2481.

Caldwell, M. W. (2019). *The Origin of Snakes: Morphology and the Fossil Record*. CRC Press.

Caldwell, M. W., Nydam, R. L., Palci, A., y Apesteguía, S. (2015). The oldest known snakes from the Middle Jurassic-Lower Cretaceous provide insights on snake evolution. *Nature communications*, 6(1), 1-11.

Canseco Márquez, L., Mayen, G., y Guadalupecoaut, M. (2010). *Anfibios y reptiles del Valle de Tehuacán-Cuicatlán* (No. C/597.9097248 C3).

Caprette, C. L., Lee, M. S., Shine, R., Mokany, A., y Downhower, J. F. (2004). The origin of snakes (Serpentes) as seen through eye anatomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 81(4), 469-482.

Claude, J. (2008). *Morphometrics with R*. Springer Science y Business Media.

Cooke, S. B., y Terhune, C. E. (2014). Form, Function, and Geometric Morphometrics. *The Anatomical Record*, 298(1), 5–28. doi:10.1002/ar.23065

Cornwell, W., y Nakagawa, S. (2017). Phylogenetic comparative methods. *Current Biology*, 27(9), R333-R336.

Cundall, D. A. V. I. D., y Greene, H. W. (2000). Feeding in snakes. *Feeding: form, function, and evolution in tetrapod vertebrates*, 293-333.

Cundall, D., Deufel, A., y Irish, F. (2007). Feeding in boas and pythons: motor recruitment patterns during striking. *Biology of the Boas and Pythons*. Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain, UT, 169-197.

Curran, S. C. (2018). Three-dimensional geometric morphometrics in paleoecology. In *Methods in Paleoecology* (pp. 319-337). Springer, Cham.

Da Silva, F. O., Fabre, A. C., Savriama, Y., Ollonen, J., Mahlow, K., Herrel, A., ... y Di-Poï, N. (2018). The ecological origins of snakes as revealed by skull evolution. *Nature communications*, 9(1), 1-11.

Dryden, I. L., y Mardia, K. V. (1998). *Statistical analysis of shape*. Wiley.

EncicloVida-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2019. Lagartijas y serpientes. Orden Squamata. En: <https://enciclovida.mx/especies/22694-squamata> Enciclovida de CONABIO (<http://enciclovida.mx/>)

Fernández-Badillo, L., Morales-Capellán, N., Olvera, C. R. O., Canales, G. M., y Mayer-Goyenechea, I. G. (2017). Guía de las serpientes del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

França, F. G., Mesquita, D. O., Nogueira, C. C., y Araújo, A. F. (2008). Phylogeny and ecology determine morphological structure in a snake assemblage in the Central Brazilian Cerrado. *Copeia*, 2008(1), 23-38.

Garamszegi, L. Z. (Ed.). (2014). Modern phylogenetic comparative methods and their application in evolutionary biology: concepts and practice. Springer.

Gofur, M. R., y Khan, M. S. I. (2010). Development of a quick, economic and efficient method for preparation of skeleton of small animals and birds. *International Journal of BioResearch*, 2(7), 13-17.

Graham, S. P. (2018). *American Snakes*. Baltimore, USA; John Hopkins University Press. P. 292.

Greene, H. W. (1997). *Snakes: the evolution of mystery in nature*. Univ of California Press. P 365.

Hampton, P. M. (2011). Comparison of cranial form and function in association with diet in natricine snakes. *Journal of Morphology*, 272(12), 1435-1443.

Harmon, L. J., Schulte, J. A., Larson, A., y Losos, J. B. (2003). Tempo and mode of evolutionary radiation in iguanian lizards. *Science*, 301(5635), 961-964.

Harmon, L. J., Weir, J. T., Brock, C. D., Glor, R. E., y Challenger, W. (2008). GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, 24(1), 129-131.

Haas, G. (1973). Muscles of the jaws and associated structures in the Rhynchocephalia and Squamata. *Biology of the Reptilia*, 4(5), 285-490.

- Heimes, P. (2016). *Herpetofauna Mexicana: Snakes of Mexico*. Edition Chimaira.
- Hill, F. C. (1975). Techniques for skeletonizing vertebrates. *American Antiquity*, 40(2Part1), 215-219.
- Holman, J. A. (1964). Fossil snakes from the Valentine Formation of Nebraska. *Copeia*, 631-637.
- Holman, J. A. (2000). Fossil snakes of North America: origin, evolution, distribution, paleoecology.
- Houssaye, A., Boistel, R., Böhme, W., y Herrel, A. (2013). Jack-of-all-trades master of all? Snake vertebrae have a generalist inner organization. *Naturwissenschaften*, 100(11), 997-1006.
- Hsiang, A. Y., Field, D. J., Webster, T. H., Behlke, A. D., Davis, M. B., Racicot, R. A., y Gauthier, J. A. (2015). The origin of snakes: revealing the ecology, behavior, and evolutionary history of early snakes using genomics, phenomics, and the fossil record. *BMC evolutionary biology*, 15(1), 87.
- Hunt, G., y Slater, G. (2016). Integrating paleontological and phylogenetic approaches to macroevolution. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 47, 189-213.
- Ibáñez, C. M., y Méndez, M. A. (2014) Filogenia y método comparado: El estudio de la evolución de los rasgos. *evolutionary process, and rate. Systematic biology*, 57(4), 591-601.
- Ikeda, T. (2007). A comparative morphological study of the vertebrae of snakes occurring in Japan and adjacent regions. *Current Herpetology*, 26(1), 13-34.
- Jhonson, R. 1955. The Adaptive and Phylogenetic Significance of Vertebral Form in Snakes. *Evolution*, Vol. 9:367-388.
- Kendall, D. G. (1977). The diffusion of shape. *Advances in applied probability*, 9(3), 428-430.

- Klaczko, J., Sherratt, E., y Setz, E. Z. (2016). Are diet preferences associated to skulls shape diversification in xenodontine snakes?. *PLoS One*, 11(2), e0148375.
- Klein, C. G., Longrich, N. R., Ibrahim, N., Zouhri, S., y Martill, D. M. (2017). A new basal snake from the mid-Cretaceous of Morocco. *Cretaceous Research*, 72, 134-141.
- Kley, N. J. (2001). Prey transport mechanisms in blindsnakes and the evolution of unilateral feeding systems in snakes. *American Zoologist*, 41(6), 1321-1337.
- Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 11(2), 353-357.
- Köhler, G. (2003). *Reptiles of Central America*. English edition. Offenbach, Germany: Herpeton.
- LaDuke, T. C. (1991). The fossil snakes of Pit 91, Rancho La Brea, California. *Contributions in science*.
- Lauder, G. V. (1981). Form and function: structural analysis in evolutionary morphology. *Paleobiology*, 7(4), 430-442.
- Lee, M. S. (2005). Molecular evidence and marine snake origins. *Biology Letters*, 1(2), 227-230.
- Longrich, N. R., Bhullar, B. A. S., y Gauthier, J. A. (2012). A transitional snake from the Late Cretaceous period of North America. *Nature*, 488(7410), 205-208.
- Losos, J. B. (1990). Ecomorphology, performance capability, and scaling of West Indian *Anolis* lizards: an evolutionary analysis. *Ecological Monographs*, 60(3), 369-388.
- MacLeod, N., y Forey, P. L. (Eds.). (2002). *Morphology, shape and phylogeny*. CRC Press.
- Mahler, D. L., Ingram, T., Revell, L. J., y Losos, J. B. (2013). Exceptional convergence on the macroevolutionary landscape in island lizard radiations. *Science*, 341(6143), 292-295.

- McCartney, J. (2015). Morphology and function of the ophidian vertebral column: Implications for the paleobiology of fossil snakes (Doctoral dissertation, The Graduate School, Stony Brook University: Stony Brook, NY.).
- McHugh, M. L. (2012). Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochemia medica*: *Biochemia medica*, 22(3), 276-282.
- Murphy, J. C. (2012). Marine invasions by non-sea snakes, with thoughts on terrestrial–aquatic–marine transitions.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'hara, R. B., y Oksanen, M. J. (2013). Package 'vegan'. *Community ecology package*, version, 2(9), 1-295.
- O'Meara, B. C., Ané, C., Sanderson, M. J., y Wainwright, P. C. (2006). Testing for different rates of continuous trait evolution using likelihood. *Evolution*, 60(5), 922-933.
- O'Shea, M. (2018). *The Book of Snakes: A life-size guide to six hundred species from around the world*. University of Chicago Press.
- Pagel, M., Meade, A., y Barker, D. (2004). Bayesian estimation of ancestral character states on phylogenies. *Systematic biology*, 53(5), 673-684.
- Palci, A., Hutchinson, M. N., Caldwell, M. W., Scanlon, J. D., y Lee, M. S. (2018). Palaeoecological inferences for the fossil Australian snakes Yurlunggur and Wonambi (Serpentes, Madtsoiidae). *Royal Society open science*, 5(3), 172012.
- Palci, A., Hutchinson, M. N., Caldwell, M. W., y Lee, M. S. (2017). The morphology of the inner ear of squamate reptiles and its bearing on the origin of snakes. *Royal Society open science*, 4(8), 170685.
- Paradis, E., Claude, J., y Strimmer, K. (2004). APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20(2), 289-290.
- Pennell, M. W., Eastman, J. M., Slater, G. J., Brown, J. W., Uyeda, J. C., FitzJohn, R. G., y Harmon, L. J. (2014). geiger v2. 0: an expanded suite of methods for

fitting macroevolutionary models to phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 30(15), 2216-2218.

Pennell, M. W., y Harmon, L. J. (2013). An integrative view of phylogenetic comparative methods: connections to population genetics, community ecology, and paleobiology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1289(1), 90-105.

Pizzatto, L., Almeida-Santos, S. M., y Shine, R. (2007). Life-history adaptations to arboreality in snakes. *Ecology*, 88(2), 359-366.

Polly, P. D., Head, J. J., y Cohn, M. J. (2001). Testing modularity and dissociation: the evolution of regional proportions in snakes. *Beyond heterochrony: the evolution of development*, 307-335.

Pyron, R. A., Burbrink, F. T., y Wiens, J. J. (2013). A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC evolutionary biology*, 13(1), 93.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Revell, L. J. (2010). Phylogenetic signal and linear regression on species data. *Methods in Ecology and Evolution*, 1(4), 319-329.

Revell, L. J. (2012). phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in ecology and evolution*, 3(2), 217-223

Revell, L. J. (2014). Ancestral character estimation under the threshold model from quantitative genetics. *Evolution*, 68(3), 743-759.

Revell, L. J., Harmon, L. J., y Collar, D. C. (2008). Phylogenetic signal, evolutionary process, and rate. *Systematic biology*, 57(4), 591-601.

Richter, S., y Wirkner, C. S. (2014). A research program for evolutionary morphology. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 52(4), 338-350.

Richtsmeier, J. T., Burke Deleon, V., y Lele, S. R. (2002). The promise of geometric morphometrics. *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 119(S35), 63-91.

Rohlf, F. J. (1990). Morphometrics. *Annual Review of Ecology and systematics*, 299-316.

Rohlf, F. J. (1999). Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of classification*, 16(2), 197-223.

Rohlf, F. J. (2010). TpsDig2, digitize landmarks and outlines, version 2.16. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 20106 (program).

Rohlf, F. J. (2013). tpsUTIL Version 1.56. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York.

Rohlf, F. J., y Slice, D. (1990). Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Biology*, 39(1), 40-59.

Sánchez, M. V. (2014). Morfometría geométrica aplicada al estudio evolutivo de los espermatozoides y su relación con determinantes de la fertilidad en roedores (Doctoral dissertation, Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).

Sanders, K. L., Lee, M. S., Bertozzi, T., y Rasmussen, A. R. (2013). Multilocus phylogeny and recent rapid radiation of the viviparous sea snakes (Elapidae: Hydrophiinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 66(3), 575-591.

Sanders, K. L., Lee, M. S., Leys, R., Foster, R., y Scott Keogh, J. (2008). Molecular phylogeny and divergence dates for Australasian elapids and sea snakes (Hydrophiinae): evidence from seven genes for rapid evolutionary radiations. *Journal of evolutionary biology*, 21(3), 682-695.

Sanders, K. L., y Lee, M. S. Y. (2010). Uncoupling ecological innovation and speciation in sea snakes (Elapidae, Hydrophiinae, Hydrophiini). *Journal of evolutionary biology*, 23(12), 2685-2693.

- Sarris, I., Chamero, B., D Buscalioni, Á., y Marugán-Lobón, J. (2012). Shape variation and allometry in the precloacal vertebral series of the snake *Daboia russelli* (Viperidae). *International Journal of Morphology*.
- Schliep, K. P. (2011). phangorn: phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics*, 27(4), 592-593.
- Segall, M., Cornette, R., Fabre, A. C., Godoy-Diana, R., y Herrel, A. (2016). Does aquatic foraging impact head shape evolution in snakes?. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1837), 20161645.
- Sheets, H. D. (2001). IMP, integrated morphometric package. <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>.
- Silva, F. M., Prudente, A. L. D. C., Machado, F. A., Santos, M. M., Zaher, H., y Hingst-Zaher, E. (2018). Aquatic adaptations in a Neotropical coral snake: A study of morphological convergence. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 56(3), 382-394.
- Tingle, J. L. (2020). Facultatively sidewinding snakes and the origins of locomotor specialization. *Integrative and Comparative Biology*
- Tinius, A., Russell, A. P., Jamniczky, H. A., y Anderson, J. S. (2018). What is bred in the bone: ecomorphological associations of pelvic girdle form in greater Antillean *Anolis* lizards. *Journal of morphology*, 279(8), 1016-1030.
- Toro-Ibacache, M. V., Manriquez Soto, G., y Suazo Galdames, 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.
- Udyawer, V., Barnes, P., Bonnet, X., Brischoux, F., Crowe-Riddell, J. M., D'anastasi, B., y Heatwole, H. (2018). Future directions in the research and management of marine snakes. *Frontiers in Marine science*, 5, 399.
- Uetz, P., Freed, P., y Hošek, J. (2019). The Reptile Database. [(accessed on 1 May 2019)].

- Vidal, N., y Hedges, S. B. (2004). Molecular evidence for a terrestrial origin of snakes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(suppl\_4), S226-S229.
- Villarreal, D. L., Leal, J. B., y Galván, R. D. J. (2010). *Serpientes de Nuevo León*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Vincent, S. E., Dang, P. D., Herrel, A., y Kley, N. J. (2006). Morphological integration and adaptation in the snake feeding system: a comparative phylogenetic study. *Journal of Evolutionary Biology*, 19(5), 1545-1554.
- Vullo, R. (2019). A new species of *Lapparentophis* from the mid-Cretaceous Kem Kem beds, Morocco, with remarks on the distribution of lapparentophiid snakes. *Comptes Rendus Palevol*, 18(7), 765-770.
- Wainwright, P. C. (1991). Ecomorphology: experimental functional anatomy for ecological problems. *American Zoologist*, 31(4), 680-693.
- Wainwright, P. C. (1996). Ecological explanation through functional morphology: the feeding biology of sunfishes. *Ecology*, 77(5), 1336-1343.
- Webster, M. A. R. K., y Sheets, H. D. (2010). A practical introduction to landmark-based geometric morphometrics. *The paleontological society papers*, 16, 163-188.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L. y Sheets, H. D. (2012). *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. Academic Press.

**ANEXO 1.** Base de datos de especies de serpientes y su respectivo hábito locomotor. Nombres en formato APE y binomial para su lectura en el paquete Phytools (Revell, 2012).

<b>Especies formato APE</b>	<b>Hábito</b>	<b>Binomial</b>
Tricheilostoma_bicolor	fosorial	<i>Tricheilostoma bicolor</i> <i>Siagonodon</i>
Siagonodon_septemstriatus	fosorial	<i>septemstriatus</i>
Epictia_albifrons	fosorial	<i>Epictia albifrons</i>
Epictia_columbi	fosorial	<i>Epictia columbi</i>
Epictia_resetari	fosorial	<i>Epictia resetari</i>
Trilepida_macrolepis	fosorial	<i>Trilepida macrolepis</i>
Rena_humilis	fosorial	<i>Rena humilis</i>
Rena_dulcis	fosorial	<i>Rena dulcis</i>
Tetracheilostoma_breuii	fosorial	<i>Tetracheilostoma breuii</i>
Tetracheilostoma_carlae	fosorial	<i>Tetracheilostoma carlae</i>
Mitophis_asbolepis	fosorial	<i>Mitophis asbolepis</i>
Mitophis_leptipileptus	fosorial	<i>Mitophis leptipileptus</i>
Mitophis_pyrites	fosorial	<i>Mitophis pyrites</i>
Namibiana_occidentalis	fosorial	<i>Namibiana occidentalis</i> <i>Leptotyphlops</i>
Leptotyphlops_nigroterminus	fosorial	<i>nigroterminus</i>
Leptotyphlops_sylvicolus	fosorial	<i>Leptotyphlops sylvicolus</i>
Leptotyphlops_nigricans	fosorial	<i>Leptotyphlops nigricans</i>
Leptotyphlops_conjunctus	fosorial	<i>Leptotyphlops conjunctus</i>
Leptotyphlops_scutifrons	fosorial	<i>Leptotyphlops scutifrons</i>
Leptotyphlops_distanti	fosorial	<i>Leptotyphlops distanti</i>
Myriopholis_longicauda	fosorial	<i>Myriopholis longicauda</i>
Myriopholis_algeriensis	fosorial	<i>Myriopholis algeriensis</i>
Myriopholis_boueti	fosorial	<i>Myriopholis boueti</i>
Myriopholis_rouxestevae	fosorial	<i>Myriopholis rouxestevae</i>
Myriopholis_blanfordi	fosorial	<i>Myriopholis blanfordi</i>

Myriopholis_adleri	fosorial	<i>Myriopholis adleri</i>
		<i>Myriopholis</i>
Myriopholis_macrorhyncha	fosorial	<i>macrorhyncha</i>
Typhlops_reticulatus	fosorial	<i>Typhlops reticulatus</i>
Typhlops_biminiensis	fosorial	<i>Typhlops biminiensis</i>
Typhlops_hectus	fosorial	<i>Typhlops hectus</i>
Typhlops_pusillus	fosorial	<i>Typhlops pusillus</i>
Typhlops_syntherus	fosorial	<i>Typhlops syntherus</i>
Typhlops_eperopeus	fosorial	<i>Typhlops eperopeus</i>
Typhlops_lumbricalis	fosorial	<i>Typhlops lumbricalis</i>
Typhlops_titanops	fosorial	<i>Typhlops titanops</i>
Typhlops_schwartzi	fosorial	<i>Typhlops schwartzi</i>
Typhlops_sulcatus	fosorial	<i>Typhlops sulcatus</i>
Typhlops_rostellatus	fosorial	<i>Typhlops rostellatus</i>
Typhlops_capitulatus	fosorial	<i>Typhlops capitulatus</i>
Typhlops_jamaicensis	fosorial	<i>Typhlops jamaicensis</i>
Typhlops_agoralionis	fosorial	<i>Typhlops agoralionis</i>
Typhlops_sylleptor	fosorial	<i>Typhlops sylleptor</i>
Typhlops_caymanensis	fosorial	<i>Typhlops caymanensis</i>
Typhlops_arator	fosorial	<i>Typhlops arator</i>
Typhlops_contorhinus	fosorial	<i>Typhlops contorhinus</i>
Typhlops_anchaurus	fosorial	<i>Typhlops anchaurus</i>
Typhlops_notorachius	fosorial	<i>Typhlops notorachius</i>
Typhlops_anousius	fosorial	<i>Typhlops anousius</i>
Typhlops_dominicanus	fosorial	<i>Typhlops dominicanus</i>
Typhlops_monastus	fosorial	<i>Typhlops monastus</i>
Typhlops_granti	fosorial	<i>Typhlops granti</i>
Typhlops_hypomethes	fosorial	<i>Typhlops hypomethes</i>
Typhlops_platycephalus	fosorial	<i>Typhlops platycephalus</i>
Typhlops_catapontus	fosorial	<i>Typhlops catapontus</i>
Typhlops_richardi	fosorial	<i>Typhlops richardi</i>

Rhinotyphlops_lalandei	fosorial	<i>Rhinotyphlops lalandei</i>
Letheobia_newtoni	fosorial	<i>Letheobia newtoni</i>
Letheobia_feae	fosorial	<i>Letheobia feae</i>
Letheobia_obtusa	fosorial	<i>Letheobia obtusa</i>
Afrotyphlops_angolensis	fosorial	<i>Afrotyphlops angolensis</i>
Typhlops_elegans	fosorial	<i>Typhlops elegans</i>
Megatyphlops_schlegelii	fosorial	<i>Megatyphlops schlegelii</i>
Afrotyphlops_bibronii	fosorial	<i>Afrotyphlops bibronii</i>
Afrotyphlops_fornasinii	fosorial	<i>Afrotyphlops fornasinii</i>
Afrotyphlops_lineolatus	fosorial	<i>Afrotyphlops lineolatus</i>
Afrotyphlops_punctatus	fosorial	<i>Afrotyphlops punctatus</i>
Afrotyphlops_congestus	fosorial	<i>Afrotyphlops congestus</i>
Typhlops_vermicularis	fosorial	<i>Typhlops vermicularis</i>
Typhlops_arenarius	fosorial	<i>Typhlops arenarius</i>
Typhlops_ruber	fosorial	<i>Typhlops ruber</i>
Typhlops_luzonensis	fosorial	<i>Typhlops luzonensis</i>
		<i>Ramphotyphlops</i>
Ramphotyphlops_albiceps	fosorial	<i>albiceps</i>
Typhlops_pammeces	fosorial	<i>Typhlops pammeces</i>
		<i>Ramphotyphlops</i>
Ramphotyphlops_braminus	fosorial	<i>braminus</i>
		<i>Acutotyphlops</i>
Acutotyphlops_kunuaensis	fosorial	<i>kunuaensis</i>
		<i>Acutotyphlops</i>
Acutotyphlops_subocularis	fosorial	<i>subocularis</i>
		<i>Ramphotyphlops</i>
Ramphotyphlops_acuticaudus	fosorial	<i>acuticaudus</i>
Ramphotyphlops_lineatus	fosorial	<i>Ramphotyphlops lineatus</i>
		<i>Ramphotyphlops</i>
Ramphotyphlops_polygrammicus	fosorial	<i>polygrammicus</i>
Austrotyphlops_diversus	fosorial	<i>Austrotyphlops diversus</i>

Austrotyphlops_guentheri	fosorial	<i>Austrotyphlops guentheri</i>
Austrotyphlops_howi	fosorial	<i>Austrotyphlops howi</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_bituberculatus	fosorial	<i>bituberculatus</i>
Austrotyphlops_grypus	fosorial	<i>Austrotyphlops grypus</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_leptosomus	fosorial	<i>leptosomus</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_longissimus	fosorial	<i>longissimus</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_ammodytes	fosorial	<i>ammodytes</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_unguirostris	fosorial	<i>unguirostris</i>
Austrotyphlops_ligatus	fosorial	<i>Austrotyphlops ligatus</i>
Austrotyphlops_ganei	fosorial	<i>Austrotyphlops ganei</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_troglodytes	fosorial	<i>troglodytes</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_kimberleyensis	fosorial	<i>kimberleyensis</i>
Ramphotyphlops_bicolor	fosorial	<i>Ramphotyphlops bicolor</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_splendidus	fosorial	<i>splendidus</i>
Austrotyphlops_pinguis	fosorial	<i>Austrotyphlops pinguis</i>
Austrotyphlops_waitii	fosorial	<i>Austrotyphlops waitii</i>
Austrotyphlops_australis	fosorial	<i>Austrotyphlops australis</i>
Austrotyphlops_endoterus	fosorial	<i>Austrotyphlops endoterus</i> <i>Austrotyphlops</i>
Austrotyphlops_pilbarensis	fosorial	<i>pilbarensis</i>
Austrotyphlops_hamatus	fosorial	<i>Austrotyphlops hamatus</i>
Anilius_scytale	fosorial	<i>Anilius scytale</i>
Trachyboa_boulengeri	terrestre	<i>Trachyboa boulengeri</i>

Charina_bottae	fosorial	<i>Charina bottae</i>
Exiliboa_placata	fosorial	<i>Exiliboa placata</i>
Candoia_bibroni	arboricola	<i>Candoia bibroni</i>
Eryx_jayakari	fosorial	<i>Eryx jayakari</i>
Eryx_jaculus	fosorial	<i>Eryx jaculus</i>
Boa_imperator	terrestre	<i>Boa imperator</i>
Corallus_annulatus	arboricola	<i>Corallus annulatus</i>
Eunectes_notaeus	acuatico	<i>Eunectes notaeus</i>
Eunectes_murinus	acuatico	<i>Eunectes murinus</i>
Cylindrophis_ruffus	fosorial	<i>Cylindrophis ruffus</i>
Cylindrophis_maculatus	fosorial	<i>Cylindrophis maculatus</i>
Loxocemus_bicolor	fosorial	<i>Loxocemus bicolor</i>
Python_molurus	arboricola	<i>Python molurus</i>
Python_regius	arboricola	<i>Python regius</i>
Morelia_viridis	arboricola	<i>Morelia viridis</i>
Acrochordus_javanicus	acuatico	<i>Acrochordus javanicus</i>
Acrochordus_granulatus	acuatico	<i>Acrochordus granulatus</i>
Pareas_carinatus	arboricola	<i>Pareas carinatus</i>
Vipera_aspis	terrestre	<i>Vipera aspis</i>
Vipera_berus	terrestre	<i>Vipera berus</i>
Cerastes_vipera	fosorial	<i>Cerastes vipera</i>
Causus_resimus	terrestre	<i>Causus resimus</i>
Causus_rhombeatus	terrestre	<i>Causus rhombeatus</i>
Echis_pyramidum	terrestre	<i>Echis pyramidum</i>
Atheris_nitschei	arboricola	<i>Atheris nitschei</i>
Bitis_arietans	terrestre	<i>Bitis arietans</i>
Bitis_nasicornis	terrestre	<i>Bitis nasicornis</i>
Bitis_peringueyi	terrestre	<i>Bitis peringueyi</i>
Trimeresurus_gramineus	arboricola	<i>Trimeresurus gramineus</i>
Atropoides_nummifer	terrestre	<i>Atropoides nummifer</i>
Bothrops_lanceolatus	arboricola	<i>Bothrops lanceolatus</i>

Bothrops_asper	arboricola	<i>Bothrops asper</i>
Ophryacus_undulatus	terrestre	<i>Ophryacus undulatus</i>
Lachesis_muta	terrestre	<i>Lachesis muta</i>
Agkistrodon_piscivorus	acuatico	<i>Agkistrodon piscivorus</i>
Agkistrodon_bilineatus	terrestre	<i>Agkistrodon bilineatus</i>
Agkistrodon_taylori	terrestre	<i>Agkistrodon taylori</i>
Sistrurus_miliarius	terrestre	<i>Sistrurus miliarius</i>
Crotalus_catenatus	terrestre	<i>Crotalus catenatus</i>
Crotalus_intermedius	terrestre	<i>Crotalus intermedius</i>
Crotalus_ravus	terrestre	<i>Crotalus ravus</i>
Crotalus_polystictus	terrestre	<i>Crotalus polystictus</i>
Crotalus_aquilus	terrestre	<i>Crotalus aquilus</i>
Crotalus_triseriatus	terrestre	<i>Crotalus triseriatus</i>
Crotalus_horridus	terrestre	<i>Crotalus horridus</i>
Crotalus_durissus	terrestre	<i>Crotalus durissus</i>
Crotalus_basiliscus	terrestre	<i>Crotalus basiliscus</i>
Crotalus_totonacus	terrestre	<i>Crotalus totonacus</i>
Crotalus_molossus	terrestre	<i>Crotalus molossus</i>
Crotalus_atrox	terrestre	<i>Crotalus atrox</i>
Crotalus_catalinensis	terrestre	<i>Crotalus catalinensis</i>
Crotalus_scutulatus	terrestre	<i>Crotalus scutulatus</i>
Homalopsis_buccata	acuatico	<i>Homalopsis buccata</i>
Psammophis_biseriatus	arboricola	<i>Psammophis biseriatus</i>
Psammophis_tanganicus	arboricola	<i>Psammophis tanganicus</i>
Aparallactus_modestus	fosorial	<i>Aparallactus modestus</i>
Aparallactus_capensis	fosorial	<i>Aparallactus capensis</i>
Micrurus_diastema	fosorial	<i>Micrurus diastema</i>
Micrurus_fulvius	fosorial	<i>Micrurus fulvius</i>
Dendroaspis_angusticeps	arboricola	<i>Dendroaspis angusticeps</i>
Toxicocalamus_preussi	fosorial	<i>Toxicocalamus preussi</i>
Toxicocalamus_loriae	fosorial	<i>Toxicocalamus loriae</i>

Simoselaps_bertholdi	fosorial	<i>Simoselaps bertholdi</i>
Simoselaps_anomalus	fosorial	<i>Simoselaps anomalus</i>
Hemiaspis_signata	marino	<i>Hemiaspis signata</i>
		<i>Emydocephalus</i>
Emydocephalus_annulatus	marino	<i>annulatus</i>
Aipysurus_eydouxii	marino	<i>Aipysurus eydouxii</i>
Aipysurus_laevis	marino	<i>Aipysurus laevis</i>
Aipysurus_fuscus	marino	<i>Aipysurus fuscus</i>
Aipysurus_apraefrontalis	marino	<i>Aipysurus apraefrontalis</i>
Aipysurus_duboisii	marino	<i>Aipysurus duboisii</i>
Ephalophis_greyae	marino	<i>Ephalophis greyae</i>
Parahydrophis_mertoni	marino	<i>Parahydrophis mertoni</i>
Hydrelaps_darwiniensis	marino	<i>Hydrelaps darwiniensis</i>
Hydrophis_elegans	marino	<i>Hydrophis elegans</i>
Hydrophis_lapemoides	marino	<i>Hydrophis lapemoides</i>
Hydrophis_spiralis	marino	<i>Hydrophis spiralis</i>
Hydrophis_semperi	acuatico	<i>Hydrophis semperi</i>
Hydrophis_parviceps	marino	<i>Hydrophis parviceps</i>
Hydrophis_curtus	marino	<i>Hydrophis curtus</i>
Hydrophis_stokesii	marino	<i>Hydrophis stokesii</i>
Hydrophis_atriceps	marino	<i>Hydrophis atriceps</i>
Hydrophis_caerulescens	marino	<i>Hydrophis caerulescens</i>
Hydrophis_czeblukovi	marino	<i>Hydrophis czeblukovi</i>
Hydrophis_major	marino	<i>Hydrophis major</i>
Hydrophis_macdowellii	marino	<i>Hydrophis macdowellii</i>
Hydrophis_kingii	marino	<i>Hydrophis kingii</i>
Hydrophis_peronii	marino	<i>Hydrophis peronii</i>
Grayia_ornata	acuatico	<i>Grayia ornata</i>
		<i>Dendrelaphis</i>
Dendrelaphis_caudolineatus	arboricola	<i>caudolineatus</i>
Thrasops_jacksonii	arboricola	<i>Thrasops jacksonii</i>

Dispholidus_typus	arboricola	<i>Dispholidus typus</i> <i>Philothamnus</i>
Philothamnus_semivariiegatus	arboricola	<i>semivariiegatus</i>
Hapsidophrys_lineatus	arboricola	<i>Hapsidophrys lineatus</i> <i>Hapsidophrys</i>
Hapsidophrys_smaragdina	arboricola	<i>smaragdina</i>
Opheodrys_venalis	terrestre	<i>Opheodrys venalis</i>
Oxybelis_aeneus	arboricola	<i>Oxybelis aeneus</i>
Oxybelis_fulgidus	arboricola	<i>Oxybelis fulgidus</i>
Salvadora_bairdi	terrestre	<i>Salvadora bairdi</i>
Salvadora_grahamiae	terrestre	<i>Salvadora grahamiae</i>
Coluber_mentovarius	terrestre	<i>Coluber mentovarius</i>
Masticophis_mentovarius	terrestre	<i>Masticophis mentovarius</i>
Leptophis_ahaetulla	arboricola	<i>Leptophis ahaetulla</i>
Leptophis_mexicanus	arboricola	<i>Leptophis mexicanus</i>
Spilotes_pullatus	arboricola	<i>Spilotes pullatus</i>
Trimorphodon_tau	arboricola	<i>Trimorphodon tau</i>
Drymarchon_melanurus	terrestre	<i>Drymarchon melanurus</i> <i>Mastigodryas</i>
Mastigodryas_melanolomus	arboricola	<i>melanolomus</i>
Chionactis_occipitalis	fosorial	<i>Chionactis occipitalis</i>
Sonora_semiannulata	fosorial	<i>Sonora semiannulata</i> <i>Chilomeniscus</i>
Chilomeniscus_stramineus	fosorial	<i>stramineus</i>
Conopsis_nasus	fosorial	<i>Conopsis nasus</i>
Ficimia_streckeri	fosorial	<i>Ficimia streckeri</i>
Senticolis_triaspis	arboricola	<i>Senticolis triaspis</i>
Pituophis_deppei	terrestre	<i>Pituophis deppei</i>
Pantherophis_bairdi	terrestre	<i>Pantherophis bairdi</i>
Pantherophis_spiloides	arboricola	<i>Pantherophis spiloides</i>
Pantherophis_emoryi	terrestre	<i>Pantherophis emoryi</i>

Pseudelaphe_flavirufa	arboricola	<i>Pseudelaphe flavirufa</i>
Lampropeltis_ruthveni	terrestre	<i>Lampropeltis ruthveni</i>
Lampropeltis_mexicana	terrestre	<i>Lampropeltis mexicana</i>
Lampropeltis_triangulum	terrestre	<i>Lampropeltis triangulum</i>
Rhabdophis_tigrinus	terrestre	<i>Rhabdophis tigrinus</i>
Natrix_maura	acuatico	<i>Natrix maura</i>
Natrix_natrix	terrestre	<i>Natrix natrix</i>
Storeria_storerioides	terrestre	<i>Storeria storerioides</i>
Regina_grahami	acuatico	<i>Regina grahami</i>
Nerodia_rhombifer	acuatico	<i>Nerodia rhombifer</i>
Nerodia_taxispilota	acuatico	<i>Nerodia taxispilota</i>
Nerodia_fasciata	acuatico	<i>Nerodia fasciata</i>
Thamnophis_proximus	acuatico	<i>Thamnophis proximus</i> <i>Thamnophis</i>
Thamnophis_melanogaster	acuatico	<i>melanogaster</i>
Thamnophis_scaliger	acuatico	<i>Thamnophis scaliger</i>
Thamnophis_sumichrasti	terrestre	<i>Thamnophis sumichrasti</i> <i>Thamnophis</i>
Thamnophis_chrysocephalus	terrestre	<i>chrysocephalus</i>
Thamnophis_cyrtopsis	acuatico	<i>Thamnophis cyrtopsis</i>
Thamnophis_marcianus	acuatico	<i>Thamnophis marcianus</i>
Thamnophis_eques	acuatico	<i>Thamnophis eques</i>
Diadophis_punctatus	terrestre	<i>Diadophis punctatus</i>
Coniophanes_imperialis	arboricola	<i>Coniophanes imperialis</i>
Coniophanes_fissidens	terrestre	<i>Coniophanes fissidens</i>
Hypsiglena_jani	terrestre	<i>Hypsiglena jani</i>
Hypsiglena_slevini	terrestre	<i>Hypsiglena slevini</i>
Hypsiglena_ochrorhyncha	terrestre	<i>Hypsiglena ochrorhyncha</i>
Hypsiglena_chlorophaea	terrestre	<i>Hypsiglena chlorophaea</i>
Hypsiglena_torquata	terrestre	<i>Hypsiglena torquata</i>
Imantodes_inornatus	arboricola	<i>Imantodes inornatus</i>

Imantodes_cenchoa	arboricola	<i>Imantodes cenchoa</i>
Imantodes_gemmistratus	arboricola	<i>Imantodes gemmistratus</i>
		<i>Leptodeira</i>
Leptodeira_septentrionalis	arboricola	<i>septentrionalis</i>
Leptodeira_maculata	arboricola	<i>Leptodeira maculata</i>
Leptodeira_annulata	terrestre	<i>Leptodeira annulata</i>
		<i>Adelphicos</i>
Adelphicos_quadrivirgatum	terrestre	<i>quadrivirgatum</i>
Tretanorhinus_nigroluteus	acuatico	<i>Tretanorhinus nigroluteus</i>
Geophis_dubius	fosorial	<i>Geophis dubius</i>
Ninia_sebae	terrestre	<i>Ninia sebae</i>
Tropidodipsas_sartorii	terrestre	<i>Tropidodipsas sartorii</i>
Xenodon_severus	terrestre	<i>Xenodon severus</i>
		<i>Erythrolamprus</i>
Erythrolamprus_aesculapii	terrestre	<i>aesculapii</i>
Pseudoboa_coronata	terrestre	<i>Pseudoboa coronata</i>