



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS MODALIDAD DIRECTA

TESIS

**ECOLOGÍA Y EVOLUCIÓN DE LA SERPIENTE DE CASCABEL DE MANCHAS
GEMELAS (*Crotalus pricei*)**

PRESENTA

Juan José Ayala Rodríguez

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TUTORES

Dr. José Jesús Sigala Rodríguez

Dr. Gilberto Alejandro Ocampo Acosta

INTEGRANTE DEL COMITÉ TUTORAL

Dr. Jaime Antonio Escoto Moreno

Aguascalientes, Ags, a 22 de mayo de 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

MTRO. EN C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES
P R E S E N T E

Por medio del presente como **Miembros del Comité Tutorial** designado del estudiante **JUAN JOSÉ AYALA RODRÍGUEZ** con ID **164291** quien realizó la tesis titulada: **ECOLOGÍA Y EVOLUCIÓN DE LA SERPIENTE DE CASCABEL DE MANCHAS GEMELAS (*Crotalus pricei*)**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que pueda proceder a imprimirlo así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 16 de mayo de 2023.

Dr. Gilberto Alejandro Ocampo Acosta
Co-Tutor de tesis

Dr. José Jesús Sigala Rodríguez
Co-Tutor de tesis

Dr. Jaime Antonio Escoto Moreno
Asesor de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-16
Actualización: 00
Emisión: 17/05/19

**DICTAMEN DE LIBERACION ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRAMITES DEL EXAMEN
DE GRADO**

Fecha de dictaminación dd/mm/aa: 01-jun-23

NOMBRE: JUAN JOSÉ AYALA RODRÍGUEZ **ID** 164291

PROGRAMA: DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, MODALIDAD DIRECTA **LGAC (del posgrado):** ECOLOGÍA Y BIODIVERSIDAD

TIPO DE TRABAJO: (X) Tesis () Trabajo práctico

TÍTULO: ECOLOGÍA Y EVOLUCIÓN DE LA SERPIENTE DE CASCABEL DE MANCHAS GEMELAS (Crotalus pricei)

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado):

Impacta sobre la restauración de ecosistemas importantes en el país así como su preservación y de forma importante en seguridad humana

INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPONDA:

Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:

- SI El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
- SI La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
- SI Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
- SI Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
- SI Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
- SI El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
- SI Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
- NO Generó transferencia del conocimiento o tecnológica

El egresado cumple con lo siguiente:

- SI Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
- SI Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
- SI Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
- NO Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
- SI Coincide con el título y objetivo registrado
- SI Tiene congruencia con cuerpos académicos
- SI Tiene el CVU del Conacyt actualizado
- SI Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

En caso de Tesis por artículos científicos publicados:

- SI Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
- SI El estudiante es el primer autor
- SI El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
- SI En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
- SI Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
- SI La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado

Sí SI

No

FIRMAS

Elaboró:

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

DR. GILBERTO ALEJANDRO OCAMPO ACOSTA

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

DRA. ALMA LILIAN GONZÁLEZ BARRERA

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, asgrado por el decano.

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

DR. JUAN JÁUREGUI RINCÓN

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

NATURAL HISTORY OF THE TWIN-SPOTTED RATTLESNAKE (*CROTALUS PRICEI*) IN THE SOUTHERNMOST RANGE OF ITS DISTRIBUTION

JUAN JOSÉ AYALA-RODRÍGUEZ¹, JOSÉ JESÚS SIGALA-RODRÍGUEZ^{1,3},
GILBERTO ALEJANDRO OCAMPO-ACOSTA², JAIME ANTONIO ESCOTO-MORENO¹,
AND RUBÉN ALONSO CARBAJAL-MÁRQUEZ¹

¹Colección Zoológica, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Avenida Universidad 940, CP 20100,
Aguascalientes, Aguascalientes, México

²Herbario, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Avenida Universidad 940, CP 20100,
Aguascalientes, Aguascalientes, México

³Corresponding author; email: jesus.sigala@edu.uaa.mx

Abstract.—The Twin-Spotted Rattlesnake (*Crotalus pricei*) is a small-bodied rattlesnake that inhabits mountain systems from the southwestern tip of the USA to central México. Despite its wide distributional range, there is scarce information about its natural history in many localities where it is found, including the population occurring in Aguascalientes, México, where fewer than 10 individuals have been reported since 1953. The goal of this study was to describe ecological and morphological aspects of *C. pricei* in the southernmost portion of its distributional range and compare them with what we currently know for this species. We conducted field surveys in 2019 and 2020 searching for individuals of *C. pricei* and we found 19 individuals. General characteristics of this population did not vary from what we know for *C. pricei*, although we found some morphological differences at the subspecies level. *Crotalus pricei* was more easily found in July, August, and September, and it was commonly associated with Pine and Oak Forest leaf litter. Its main activity periods during the day were from 1100 to 1600. Two females gave birth while they were held captive; one gave birth to four neonates, and the other just six unfertilized ova. The information presented here increases the ecological knowledge of the population of this species occurring in Aguascalientes, México.

Key Words.—Aguascalientes; detection rate; ecology; México; morphology; reproduction; sexual dimorphism; Viperidae

INTRODUCTION

Despite México being the center of rattlesnake diversity (*Crotalus* and *Sistrurus*), there is a lack of biological information about many species, particularly those whose populations have been elusive (Armstrong and Murphy 1979; Campbell and Lamar 2004; Meik et al. 2007). Such is the case of the Twin-spotted Rattlesnake (*Crotalus pricei*); the species was described more than a century ago (Van Denburgh 1895; McCranie 1980), but there is almost no information for several populations in México, mostly because of habitat inaccessibility (Armstrong and Murphy 1979). *Crotalus pricei* is a small-bodied rattlesnake with sizes ranging from 130 to 650 mm in total length; the dorsal pattern is comprised of two rows of dark spots (sometimes fused), and the background varies from blue-gray to gray or pale brown (McCranie 1980). It inhabits places covered predominantly by Pine-oak Woodlands usually associated with rocky ridges and occasionally canyon bottoms, but it can also be found in grassy mountain valleys, basking in the open, moving across rocks,

or coiled under rocks or vegetation (Armstrong and Murphy 1979; Prival et al. 2002; Bryson et al. 2011b; Grabowsky and Mackessy 2019). It can be found at elevations between 1860–3350 m and maximum population densities have been recorded at the higher elevations (Contreras-Lozano et al. 2012; Prival and Schroff 2012).

Crotalus pricei is protected by Mexican law in the Official Mexican Norm NOM-059-Semarnat-2010, under the category of Special Protection (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT] 2010). The International Union for the Conservation of Nature (IUCN) has the species in the Least Concern category (Hammerson et al. 2007), and its estimated Environmental Vulnerability Score (EVS) is 14, placing it on the highest level of risk given by this scoring system (Wilson et al. 2013). Studies of *C. pricei* have dealt with its ecology (Prival et al. 2002; Prival and Schroff 2012), reproduction (Goldberg 2000), venom composition and effects (Minton and Weinstein 1984; Cruz et al. 1987; Grabowsky and Mackessy 2019), general biology (Axtell and Sabath 1963), and evolution (Bryson et al. 2011b),

AGRADECIMIENTOS

Le doy las gracias a la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el financiamiento y al CONACyT por la beca personal número 905317.

Al Dr. Gilberto Ocampo, Dr. Eugenio Pérez-Molphe y la Mtra. Lucia Chávez por haberme permitido usar sus laboratorios para la realización de la parte experimental de este proyecto. También a Lourdes Medrano e Isaac Reyes por su apoyo durante la realización de las técnicas experimentales.

Dr. Jesús Sigala, Dr. Gilberto Ocampo, y Dr. Jaime Escoto, les agradezco su paciencia, consejos y enseñanzas brindadas durante este proyecto, sé que sin su ayuda este proyecto no sería el mismo.

También me gustaría agradecer a los miembros de la comunidad indígena Monte Grande por haberme permitido el uso de su propiedad para llevar a cabo la búsqueda de serpientes de cascabel, especialmente a Ma. Elvia R. Esparza y Luis Manuel Suárez Rojas.

Gracias a Elena Quiroz, Ramsés Rosales, Rogelio Rosales, Cristian Servín, Eduardo Díaz, Jeny Aguilar, Israel Elizalde, Carlos Ayala, Fernanda Chávez Samayoa e Iván Villalobos por su invaluable apoyo durante los muestreos en campo. Así mismo, agradezco a Alondra Encarnación, Rubén Carbajal y Alexander Carrillo por sus consejos, comentarios y revisiones que ayudaron a mejorar este proyecto.

Gracias a la gran familia que tengo, y en especial a mis papás Juan y Aide, y mi hermano Carlos, porque siempre han hecho todo lo posible para permitirme cumplir mis sueños y me han apoyado en todo momento.

A mis compañeros del doctorado Fernanda, Stephanie, Amalinalli, Karina y Alejandro, por su apoyo durante esta meta compartida. A mis amigos Memo, Omar y Beto por brindarme ánimos en todo momento para cumplir mis objetivos, gracias muchachos.

DEDICATORIA

Quiero dedicar esta tesis a mi papá, mi mamá, mi hermano, mi abuelito Beto, mi abuelita Julia y a mis ángeles: Tere, José y Efrén, ya que sin sus enseñanzas y apoyo no podría estar en donde estoy ahora.

Igualmente quiero dedicar este proyecto a todos los que siempre creyeron en mí, a los que están, a los que estuvieron y a los que ya no están.



ÍNDICE

ÍNDICE 1

ÍNDICE DE TABLAS..... 4

ÍNDICE DE FIGURAS..... 5

ACRÓNIMOS..... 7

1. **RESUMEN**..... 9

2. **ABSTRACT**..... 10

3. **INTRODUCCIÓN** 11

3.1. **Ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el extremo sur de su área de distribución**..... 11

3.2. **Modelado de nicho ecológico de *Crotalus pricei* y sus subespecies**..... 15

3.3. **Historia evolutiva de *Crotalus pricei***..... 18

4. **JUSTIFICACIÓN** 21

5. **HIPÓTESIS**..... 22

6. **OBJETIVOS**..... 22

6.1. **Objetivo general**..... 22

6.2. **Objetivos específicos**..... 23

7. **METODOLOGÍA** 23

7.1. **Ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el extremo sur de su área de distribución**..... 23

7.1.1. **Sitio de estudio**..... 23

7.1.2. **Diseño de muestreo**..... 24

7.1.3. **Análisis estadísticos**..... 28

7.2.	Modelado de nicho ecológico de <i>Crotalus pricei</i> y sus subespecies.....	28
7.2.1.	Datos de presencia y ambientales.....	28
7.2.2.	Modelado de nicho ecológico.....	29
7.2.3.	Similitud de nicho.....	31
7.3.	Historia evolutiva de <i>Crotalus pricei</i>	32
8.	RESULTADOS	34
8.1.	Ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (<i>Crotalus pricei</i>) en el extremo sur de su área de distribución.....	34
8.1.1.	Esfuerzo de muestreo y tasa de detección.....	34
8.1.2.	Morfología y estructura poblacional.....	35
8.1.3.	Patrones de actividad y uso de hábitat.....	38
8.1.4.	Notas sobre comportamiento y reproducción.....	40
8.2.	Modelado de nicho ecológico de <i>Crotalus pricei</i> y sus subespecies.....	41
8.3.	Historia evolutiva de <i>Crotalus pricei</i>	46
9.	DISCUSIÓN.....	49
9.1.	Ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (<i>Crotalus pricei</i>) en el extremo sur de su área de distribución.....	49
9.1.1.	Esfuerzo de muestreo y tasa de detección.....	49
9.1.2.	Morfología y estructura poblacional.....	51
9.1.3.	Patrones de actividad y uso de hábitat.....	53
9.1.4.	Reproducción y comportamiento.....	56
9.1.5.	Conservación.....	57

9.2. Modelado de nicho ecológico de *Crotalus pricei* y sus subespecies..... 59

9.3. Historia evolutiva de *Crotalus pricei*..... 66

10. CONCLUSIONES 67

11. REFERENCIAS..... 70

12. ANEXOS..... 86



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Esfuerzo de muestreo, tasa de detección y número de horas requeridas para localizar un individuo de serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) por mes en Monte Grande, Aguascalientes, México, 2019 – 2020. Solo se incluyen los meses en los que se encontraron serpientes. 34

Tabla 2. Diferencias morfológicas entre hembras (n = 9) y machos (n = 7) de serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) de Aguascalientes, México. Abreviaturas: M = masa (g), Ac = Ancho de cabeza (mm), Lc = Largo de cabeza (mm), LHC = Longitud hocico – cloaca (mm), LC = Longitud de cola (mm), LT = Longitud total (mm), MD = Manchas dorsales, EV = Número de escamas ventrales, ES = Número de escamas subcaudales. * = Estadísticamente significativo, $P < 0.05$ 36

Tabla 3. Comparación de características morfológicas entre diferentes poblaciones de serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en su rango de distribución. Abreviaturas: EV = Número de escamas ventrales, EI = Número de escamas intercantales, LC:LT = Relación entre longitud de cola y longitud total, MD = Acomodo de manchas dorsales, NA = Información no disponible. 37

Tabla 4. Resultados de los análisis de similitud de nicho entre los diferentes grupos de *C. pricei*. 45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el sur de Estados Unidos y norte de México. (A) Mapa que muestra la distribución de las dos subespecies reconocidas de *Crotalus pricei*: *C. p. pricei* (gris), *C. p. miquihuanus* (rojo) (Modificado de Campbell y Lamar, 2004). (B) Localización del sitio de estudio (verde) en la esquina noroeste del estado de Aguascalientes, México. 14

Figura 2. Cladograma que muestra las relaciones evolutivas del complejo de especies *Crotalus intermedius* en el que se incluye *C. pricei*. Abreviaciones: (DF) Distrito Federal, (MOR) Morelia, (MICH) Michoacán, (VER) Veracruz, (PUE) Puebla, (OAX) Oaxaca, (GRO) Guerrero, (CHIH) Chihuahua, (AZ) Arizona, (DUR) Durango, (JAL) Jalisco, (COAH) Coahuila, (NL) Nuevo León, (I, II, III, IV) Subclados de cada uno de los grupos geográficos de *C. pricei*, (TVB) Cinturón transvolcánico de México, (SMOr) Sierra Madre Oriental, (SMOc) Sierra Madre Occidental (Tomado de Bryson et al., 2011a). 20

Figura 3. Hábitat de *Crotalus pricei* en uno de los sitios de muestreo dentro de Monte Grande. 24

Figura 4. Búsqueda de ejemplares dentro de los sitios de muestreo. 25

Figura 5. Proceso de entubación de serpiente de cascabel para un manejo seguro (A), fotografía ventral de un ejemplar de *Crotalus pricei* para realizar conteo de escamas ventrales y subcaudales (B), toma de muestra de escamas ventrales (C), toma de muestra sanguínea de un ejemplar de *C. pricei*. 26

Figura 6. Uno de los 19 individuos de *Crotalus pricei*, encontrados en Monte Grande, Aguascalientes, México (Fotografiado por Juan José Ayala Rodríguez). ...35

Figura 7. Individuos de *Crotalus pricei* encontrados por mes en Monte Grande, Aguascalientes, México, 2019 – 2020. 38

Figura 8. Individuos de *Crotalus pricei* encontrados por intervalo de tiempo en Monte Grande, Aguascalientes, México, 2019 – 2020. 39

Figura 9. Especies de plantas asociadas a diferentes individuos de *Crotalus pricei* en Monte Grande, Aguascalientes, México, 2019 – 2020. 40

Figura 10. Modelo logístico para *Crotalus pricei* (A), las áreas claras representan sitios con poca idoneidad de hábitat, las áreas oscuras representan sitios con alta idoneidad de hábitat; mapa binario para *C. pricei* (B), las áreas grises representan presencia de la especie, las áreas blancas representan ausencia. 42

Figura 11. Modelo logístico para *Crotalus pricei pricei* (A); mapa binario para *C. p. pricei* (B). 43

Figura 12. Modelo logístico para *Crotalus pricei pricei* SMOc norte (A); mapa binario para *C. p. pricei* SMOc norte (B). 43

Figura 13. Modelo logístico para *Crotalus pricei pricei* SMOc sur (A); mapa binario para *C. p. pricei* SMOc sur (B). 44

Figura 14. Modelo logístico para *Crotalus pricei miquihuanus* (A); mapa binario para *C. p. miquihuanus* (B). 44

Figura 15. Cladograma que muestra las relaciones evolutivas de las diferentes poblaciones conocidas de *C. pricei* a lo largo de su área de distribución. Se observan cuatro grupos delimitados por entidades geográficas: Arizona y Chihuahua (SMOc norte), Durango (SOMc central), Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí (SMOr), Aguascalientes, Jalisco y Zacatecas (SMOc sur). 48

ACRÓNIMOS

Ac – Ancho de cabeza

AICc – Criterio de Información de Akaike por sus siglas en inglés

ATP8 y ATP6/ ATP8 y 6 – Región mitocondrial ATPasa subunidades 8 y 6

AUC – Área bajo la curva

CONABIO – Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad

CZUAA – Colección Zoológica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes

D – Índice de Schoener

EI – Número de escamas intercantales

ES – Número de escamas subcaudales

EV – Número de escamas ventrales

EVS – Índice de Vulnerabilidad Ambiental por sus siglas en inglés

GBIF – Portal de Información sobre Biodiversidad Global por sus siglas en inglés

H – Clase de modelo hinge

I – Índice de Hellinger

IUCN – Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza por sus siglas en inglés

L – Clase de modelo lineal

Lc – Longitud de cabeza

LC – Longitud de la cola

LHC – Longitud hocico-cloaca

LQ – Clase de modelo cuadrático y lineal

LQH – Clase de modelo lineal, cuadrático y hinge

LQHP – Clase de modelo lineal, cuadrático, hinge y producto

LT – Longitud total

M – Masa

m s.n.m. – Metros sobre el nivel del mar

MD – Número de manchas dorsales

MNE – Modelado de nicho ecológico

ND4 – Región mitocondrial NADH deshidrogenasa subunidad 4

PCR – Reacción en cadena de polimerasa por sus siglas en inglés

RM – Valor de regularización

SD – Desviación estándar

SMOc – Sierra Madre Occidental

SMOr – Sierra Madre Oriental



1. RESUMEN

La serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) es una serpiente de talla pequeña que habita en sistemas montañosos desde el sur de Estados Unidos hasta la región central de México, de la que actualmente se reconocen dos subespecies: *C. p. pricei* y *C. p. miquihuanus*. A pesar de su amplio rango de distribución, es poca la información que se ha generado para esta especie en muchas localidades de su distribución, incluyendo la población de Aguascalientes, México, en donde se han reportado menos de 10 individuos desde 1953. El objetivo de este proyecto fue describir aspectos ecológicos, morfológicos y evolutivos de *C. pricei* y comparar lo encontrado con lo que se conocía previamente para la especie. Se realizaron muestreos en campo entre 2019 y 2020 buscando ejemplares de *C. pricei* en Aguascalientes, a partir de las cuales se lograron localizar 19 individuos. Las características morfológicas de estos individuos no tuvieron variación con lo que se conoce para *C. pricei*, pero se encontraron algunas diferencias a nivel de subespecie. En cuanto al modelado de nicho ecológico, se utilizaron 70 registros geográficos y siete capas ambientales para construir modelos de nicho para *C. pricei* y tres diferentes grupos geográficos: *C. p. pricei* del norte de la Sierra Madre Occidental, *C. p. pricei* del sur de la Sierra Madre Occidental y *C. p. miquihuanus* de la Sierra Madre Oriental. Los modelos obtenidos mostraron diferencias entre los nichos de los grupos de esta especie. Finalmente, se realizó una reconstrucción de la filogenia de la especie y el cladograma obtenido muestra cuatro clados diferentes correspondientes a los grupos geográficos de *C. pricei*. Además, se observa que las subespecies reconocidas no corresponden con lo que muestran los análisis moleculares. La información aquí presentada incrementa el conocimiento disponible sobre esta especie a lo largo de su área de distribución.

Palabras clave. Conservación, filogenia, historia natural, modelado de nicho ecológico, morfología, Viperidae.

2. ABSTRACT

The twin spotted rattlesnake (*Crotalus pricei*) is a small-bodied rattlesnake which rarely surpasses 60 cm in total length, it inhabits mountain systems from the southwestern tip of the United States of America to central México; two subspecies are recognized: *C. p. pricei* and *C. p. miquihuanus*. Despite its wide distributional range, there is scarce information about different aspects of the biology of this species, including the population occurring in Aguascalientes, México, where less than 10 individuals had been reported since 1953. The goal of this project was to describe morphological, ecological and evolutionary aspects of *C. pricei* and compare them with what was currently known for this species. Field surveys were conducted in 2019 and 2020 to search for *C. pricei* and 19 individuals were found. General characteristics of this population did not vary from what we know for *C. pricei*, although morphological differences at subspecies level were found. For ecological niche modelling we used 70 geographic occurrences of *C. pricei*, seven environmental variables and three geographic groups: *C. p. pricei* from northern Sierra Madre Occidental, *C. p. pricei* from southern Sierra Madre Occidental and *C. p. miquihuanus* from Sierra Madre Oriental. The resulting models showed differences among the niches of the groups of *C. pricei*. Finally, we reconstructed the phylogenetic history of the species, and our cladogram shows four different clades corresponding to the different geographic groups of the species. Additionally, recognized subspecies do not correspond to what was obtained from molecular analysis. The information presented here increases the available knowledge of the species across its distributional range.

Key words. Conservation, ecological niche model, morphology, natural history, phylogeny, Viperidae.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el extremo sur de su área de distribución

A pesar de que México es considerado el centro de diversidad de las serpientes de cascabel (géneros *Crotalus* y *Sistrurus*), aún existen muchos vacíos de información biológica sobre varias especies, particularmente aquellas que tienen poblaciones que históricamente han sido elusivas para la ciencia (Armstrong & Murphy, 1979; Campbell & Lamar, 2004; Meik et al., 2007). Este es el caso de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei* Van Denburgh, 1895); descrita hace más de un siglo (McCranie, 1980; Van Denburgh, 1895); de la cual casi no existe información sobre diferentes aspectos biológicos de la mayoría de las poblaciones donde se distribuye, sobre todo en México, y esto se debe principalmente a la inaccesibilidad de los lugares en donde se encuentra (Armstrong & Murphy, 1979).

Crotalus pricei es una serpiente de cascabel de talla pequeña, con tamaños que van desde 130 a 615 mm de longitud total; tiene un patrón de coloración que consiste en un par de manchas oscuras (en ocasiones fusionadas) que recorren todo su dorso y el color del cuerpo varía entre gris azulado, gris y café pálido (McCranie, 1980). Habita en lugares cubiertos principalmente de bosques de pino-encino, generalmente asociados a pendientes rocosas y ocasionalmente se le suele encontrar en fondos de cañones y valles de pastizales, suele observarse tomando sol en lugares despejados, desplazándose entre rocas o descansando debajo de rocas o vegetación (Armstrong and Murphy, 1979; Bryson, et al., 2011a; Grabowsky & Mackessy, 2019; Prival et al., 2002). Se le puede encontrar en elevaciones entre 1860 y 3350 metros sobre el nivel del mar (m s.n.m.) y alcanza mayores densidades poblacionales hacia el límite superior de este rango de altitud (Contreras-Lozano et al., 2012; Prival & Schroff, 2012).

Acerca de su estatus de conservación, *Crotalus pricei* se encuentra protegida por la ley mexicana bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-059-Semarnat-2010, bajo

la categoría de Protección Especial (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2010). Por su parte, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) tiene a esta especie enlistada en la categoría de Preocupación menor (Hammerson et al. 2007). En el Índice de Vulnerabilidad Ambiental (EVS, por sus siglas en inglés) se le otorga un valor de 14, lo cual coloca a la especie en la categoría de alto riesgo de vulnerabilidad considerado en este sistema (Wilson et al., 2013).

Se han hecho algunos estudios con respecto a la ecología (Prival et al., 2002; Prival & Schroff, 2012), reproducción (Goldberg, 2000), composición y efectos del veneno (Cruz et al., 1987; Grabowsky & Mackessy, 2019; Minton & Weinstein, 1984), biología general (Axtell & Sabath, 1963) y evolución de *C. pricei* (Bryson, et al., 2011a), la mayoría de los cuales han sido realizados en poblaciones distribuidas en Estados Unidos. Las hembras alcanzan la madurez sexual a los 330 mm de longitud hocico-cloaca (LHC) y los machos, a los 332 mm LHC (Goldberg, 2000; Prival et al., 2002), aunque Klauber (1972) reportó una hembra grávida que medía 301 mm de longitud total (LT). Presenta ciclos de reproducción bienales (se reproducen cada dos años) con camadas que varían entre los tres y los nueve individuos, las crías nacen entre los meses de julio y agosto (Goldberg, 2000; Armstrong & Murphy, 1979). La dieta de *C. pricei* se compone principalmente de lagartijas del género *Sceloporus* (usualmente *S. jarrovi*), pero también existen reportes de pequeños mamíferos y aves en su dieta e incluso se tiene registrado un caso de canibalismo (Cruz et al., 1987; Grabowsky & Mackessy, 2019; Prival & Schroff, 2012; Prival et al., 2002).

Las regiones montañosas de México son generalmente conocidas por ser uno de los sitios con mayor diversidad en la Tierra, además son populares por la gran riqueza de serpientes de cascabel que se distribuyen en estas zonas e incluso se cree que estas regiones fueron el centro de origen de este grupo de serpientes (Alvarado-Díaz et al., 2007; Bryson, et al., 2011b; Place & Abramson, 2004). Estas regiones son el hogar de muchas especies de serpientes de cascabel de montaña, incluyendo el grupo de *C. intermedius* que contiene entre sus integrantes a *C. pricei*

(Alvarado-Díaz et al., 2007; Armstrong & Murphy, 1979). Actualmente se reconocen dos subespecies de *C. pricei*: *C. p. miquihuanus*, que se distribuye en la Sierra Madre Oriental (SMOr, Fig. 1A) en los estados de Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí (Armstrong & Murphy, 1979; Contreras-Lozano et al., 2012), y *C. p. pricei*, que habita en la Sierra Madre Occidental (SMOc, Fig. 1A) en cuatro pequeñas regiones montañosas de Arizona (Estados Unidos) y en los estados de Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Jalisco y Aguascalientes en México (Bryson, et al., 2011a; McCranie, 1980; Prival & Schroff, 2012). Estas regiones montañosas has tenido variaciones importantes históricamente, sin embargo, una de las más relevantes se llevó a cabo en el pleistoceno en donde las condiciones climáticas a través del centro del país permitían la conexión entre la SMOr y la SMOc (Metcalf et al., 2000). Durante el pleistoceno, la temperatura en el centro de México era más baja que en la actualidad, y permitió la colonización de diferentes tipos de organismos que posteriormente tuvieron que buscar refugio en los sistemas montañosos antes mencionados debido al incremento de la temperatura (McDonald, 1993). Esta serie de eventos explican entonces la presencia de *C. pricei* tanto en la SMOr como en la SMOc.

Históricamente, se ha tomado en cuenta el concepto geográfico de subespecies para delimitar a *C. p. pricei* y *C. p. miquihuanus* algo bastante común dentro del grupo de los reptiles (McCranie, 1980; Mulcahy, 2008). Además, se pueden reconocer gracias a algunas diferencias morfológicas entre las que destacan el número de escamas ventrales y número de escamas intercantales, *C. p. pricei* tiene rangos de 149 – 171 y 0 – 9, respectivamente, mientras que, *C. p. miquihuanus* tiene rangos de 135 – 154 y 0 – 3, respectivamente (McCranie, 1980). En México, *C. pricei* es probablemente una de las especies más comunes en elevaciones altas en su área de distribución, donde comparte hábitat con *C. willardi*, *C. lepidus*, y *C. molossus* (Armstrong & Murphy, 1979). Sin embargo, es poco lo que se sabe acerca del estatus de conservación, uso de hábitat, comportamiento, ecología, historia natural y validez taxonómica de las subespecies en México (Grabowsky & Mackessy, 2019; Prival & Schroff, 2012). La situación de *C. pricei* en

Aguascalientes, México, es aún más desconcertante, ya que esta población está en el extremo sur de su área de distribución, habita en las regiones más elevadas de la región montañosa comúnmente conocida como Sierra Fría (que representa una de las zonas más sureñas de la SMOc), en la esquina noroeste del estado de Aguascalientes (Carbajal-Márquez & Quintero-Díaz, 2016; McCranie, 1980). A pesar de que esfuerzos importantes de muestreo se han realizado para tratar de localizar individuos de *C. pricei* en esta región, son pocos los registros que se tienen, por lo que es considerada una de las especies más raras con distribución en el estado y como consecuencia, la información que se ha generado sobre esta población es casi inexistente (Carbajal-Márquez & Quintero-Díaz, 2016; Sigala-Rodríguez, 2008).

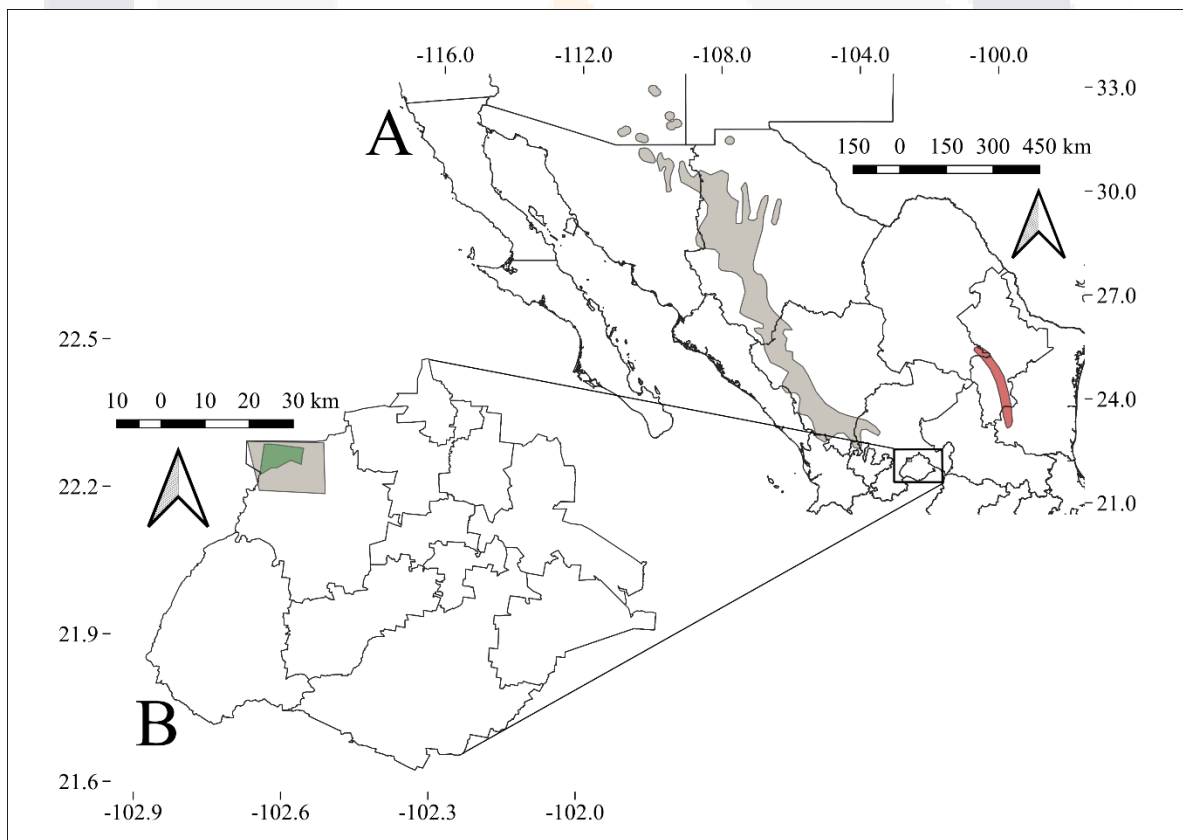


Figura 1. Distribución de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el sur de Estados Unidos y norte de México. (A) Mapa que muestra la distribución de las dos subespecies reconocidas de *Crotalus pricei*: *C. p. pricei* (gris), *C. p. miquihuanus* (rojo) (Modificado de Campbell y Lamar, 2004). (B) Localización del sitio de estudio (verde) en la esquina noroeste del estado de Aguascalientes, México.

El primer espécimen de *C. pricei* reportado para Aguascalientes fue en el año 1953 y fue identificado como *C. p. miquihuanus* (Klauber, 1972). Algunos años después, Wilson y McCranie (1979) durante una de sus expediciones reportaron una *C. pricei* con características de *C. intermedius* y fue propuesta como una posible especie nueva de *Crotalus*. Posteriormente, Campbell y Lamar (2004) con base en la revisión de un ejemplar colectado en 1989, determinaron que la población presente en Aguascalientes pertenecía a *C. pricei*, sin embargo, no pudieron determinar si se trataba de *C. p. pricei* o *C. p. miquihuanus*, debido a que las características de los pocos ejemplares disponibles presentaban rasgos de ambas subespecies. Desde entonces, unos pocos ejemplares de *C. pricei* han sido observados en Aguascalientes y dos de ellos se han depositado en la Colección Zoológica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (CZUAA).

Históricamente se ha aprendido mucho sobre la biología de las serpientes de cascabel a través de estudios básicos que se enfocan en describir historia natural, dieta, estructura poblacional, ecología o simplemente reportando registros nuevos de especies ya conocidas (Alvarado-Díaz & Campbell, 2004; Lillywhite, 2010; Mata-Silva et al., 2018). De aquí surge uno de los propósitos de este estudio, el cuál es proporcionar nueva información acerca de la historia natural y ecología de *C. pricei* en el estado de Aguascalientes a través de muestreos en campo. De esta manera, se espera que la información generada pueda servir de base para futuras líneas de investigación y que ayude a evaluar el estatus de conservación de esta población de serpientes.

3.2. Modelado de nicho ecológico de *Crotalus pricei* y sus subespecies

Una interesante característica acerca de los fenómenos ecológicos es que son sencillos de observar, pero en muchas ocasiones, difíciles de explicar; uno de estos fenómenos es la distribución de las especies a través de diferentes tipos de hábitat alrededor del planeta (Pie et al., 2017). Una herramienta popular en ecología para explorar y describir la distribución potencial de las especies es el Modelado de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Nicho Ecológico (MNE) (Lawing et al., 2012). El MNE combina una serie de métodos que usan datos de presencia y datos ambientales para construir un modelo correlativo de condiciones abióticas que cumplen los requerimientos de una determinada especie; con ello, se pueden predecir áreas geográficas en donde ésta pueda encontrar un hábitat adecuado (Peterson, 2001; Warren & Seifert, 2011; Wooten & Gibbs, 2012).

Esta técnica ha sido utilizada en diferentes campos de la ciencia, como la conservación y evolución (Muscarella et al., 2014; Phillips et al., 2006); sin embargo, debido a que este método aún se encuentra en una etapa muy temprana de desarrollo, muchos modelos construidos hasta ahora carecen de un poder predictivo robusto (Cobos et al., 2019; Peterson & Nakazawa, 2008). Adicionalmente, las afiliaciones de hábitat son complicadas de predecir en zonas en donde la ecología de alguna especie es poco conocida y esto frecuentemente puede llevar a estimar afiliaciones de hábitat incorrectas (Triska et al., 2017). Afortunadamente, de manera continua se comparte información nueva y se desarrollan herramientas que ayudan a mejorar la forma en la que los modelos de nicho ecológico son realizados, interpretados y reportados (Cobos et al., 2019; Kass et al., 2018; Muscarella et al., 2014; Valavi et al., 2019).

El nicho climático y otros factores también son útiles para ayudar a determinar dónde se han distribuido las especies a lo largo del tiempo, lo que tiene repercusiones importantes en los procesos de especiación de los organismos (Jezkova & Wiens, 2018). Las condiciones ambientales disponibles para las especies han estado históricamente en constante cambio; por lo tanto, los organismos tienen que adaptar su nicho ecológico a las condiciones disponibles a través de diferentes respuestas evolutivas (Encarnación-Luévano et al., 2021). Por esta razón, las ideas relacionadas con la evolución de los nichos ecológicos de las especies ha capturado la atención de diversos autores (Broennimann, et al., 2012; Encarnación-Luévano et al., 2021; Warren et al., 2008). El conservacionismo de nicho ecológico ha sido sugerido como un mecanismo potencial para la especiación alopatrica tomando en cuenta que dos poblaciones de una misma especie se

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

pueden ver separadas por una zona de hábitat climáticamente desfavorable (Jezkova & Wiens, 2018). Así mismo, la divergencia de nicho se ha sugerido como mecanismo para especiación parapátrica cuando las diferencias de nicho en diferentes partes del rango de distribución de las especies impiden el flujo génico y por lo tanto promueven la especiación (Nunes & Pearson, 2017).

Los estudios de comparaciones intraespecíficas regularmente revelan diferencias interesantes entre poblaciones e individuos de una misma especie, probablemente reflejando respuestas evolutivas propias de las condiciones ambientales locales (Encarnación-Luévano et al., 2021; Petersen et al., 2019). Consecuentemente, un completo entendimiento de los patrones de distribución de las especies debe ser tomado en cuenta en estudios de mecanismos que involucren la modificación de las poblaciones, ya sea especiación, extinción o dispersión, y todos estos mecanismos están influenciados por el nicho ecológico de las especies (Pie et al., 2017). Sin embargo, estudios que examinen la importancia de estos procesos en complejos de especies con amplia distribución en etapas tempranas de diferenciación o adaptación son muy poco comunes (Wooten & Gibbs, 2012); de esta manera, el uso de modelos de nicho ecológico es útil para estudiar interacciones entre los límites climáticos de dos o más especies o poblaciones de una misma especie (Lawing et al., 2012).

Son pocos los trabajos que se han enfocado en el estudio de *C. pricei* (Bryson et al., 2011a; Grabowsky & Mackessy, 2019; Prival & Schroff, 2012). Aunque se conoce relativamente bien la división de las subespecies de *C. pricei* a partir de la distribución que presentan, no se ha puesto atención en las diferencias ecológicas y de nicho que podrían tener las diferentes poblaciones a lo largo de su área de distribución. En la parte oeste de México y sur de Arizona, a lo largo de la SMOc, se encuentra *C. p. pricei*, que está representada a su vez por dos clados evolutivos formados por las poblaciones de SMOc norte y SMOc sur, mientras que en el este de México encontramos a *C. p. miquihuanus* (Armstrong & Murphy, 1979; Bryson et al., 2011a; Contreras-Lozano et al., 2012; Lemos-Espinal & Smith, 2016).

Debido a la distribución amplia que tiene *C. pricei*, la cantidad de hábitats disponibles, los requerimientos climáticos de las diferentes poblaciones y la historia geográfica de las áreas donde se distribuye esta especie, nos encontramos con una serie de retos para su estudio, que incluyen variación genética limitada y distribuciones altamente aisladas (Bryson et al., 2011a; 2011b; Grabowsky & Mackessy, 2019). Debido a esta situación, se cree que *C. pricei* puede ser un buen organismo modelo para explorar técnicas de estudio de distribución geográfica como lo es el MNE. Este tipo de estudios ya se han realizado anteriormente utilizando otras especies de serpientes de cascabel e incluso diferentes reptiles, con diferentes objetivos (Jezkova & Wiens, 2018). Los estudios realizados incluyen delimitación de zonas prioritarias para conservación, localización de corredores que sirvan de conexión entre las diferentes poblaciones de una especie, predecir zonas de presencia para especies con muy pocos registros o con distribuciones restringidas, entre otros (Lawing et al., 2012; Meik et al., 2015; Melville et al., 2016; Wooten & Gibbs, 2012).

De esta manera esperamos obtener y reportar una distribución potencial actualizada de *C. pricei* usando técnicas y herramientas recientes (Kass et al., 2018; Muscarella et al., 2014). De la misma manera, se espera construir y comparar modelos de nicho ecológico de los diferentes grupos de poblaciones reportadas por Bryson et al., (2011a) para determinar si existen diferencias entre estas poblaciones a nivel ambiental.

3.3. Historia evolutiva de *Crotalus pricei*

Los vipéridos forman un grupo monofilético de serpientes venenosas que se compone de alrededor de 329 especies, de las cuales 223 corresponden a la subfamilia Crotaline, conocidas como serpientes de foseta (Alencar et al., 2016). En este grupo se encuentran las serpientes de cascabel, un grupo de serpientes venenosas exclusivo de América. Su morfología distintiva, producción de veneno y su rango de distribución amplio las han convertido en organismos de gran importancia ecológica, médica y cultural (Reyes-Velasco et al., 2013). Las

serpientes de cascabel se clasifican en dos géneros: *Sistrurus* que comprende tres especies y *Crotalus*, en el que se agrupan más de 40 especies (Campbell y Lamar, 2004). A pesar de estar colocadas en dos géneros diferentes, no existe duda de que conforman un grupo monofilético; evidencia de ello, es la estructura exclusiva de este grupo, el cascabel, además de que varios estudios filogenéticos han confirmado la monofilia de este grupo (Campbell y Lamar, 2004; Castoe & Parkinson, 2006; Murphy et al., 2002; Wüster et al., 2008).

A pesar de que se han dedicado décadas al estudio de la evolución de las serpientes de cascabel, aún existen varios grupos clave dentro de este taxón que continúan sin resolver (Blair et al., 2019). Actualmente se reconocen varios grupos artificiales en donde se colocan a las serpientes de cascabel de acuerdo con sus similitudes morfológicas o ecológicas (Murphy et al., 2002). Uno de estos grupos corresponde al complejo de especies *Crotalus intermedius* (Fig. 2) en el que se incluye *C. pricei* y cuya filogenia ya se ha reportado anteriormente; sin embargo, aún no se encuentra totalmente resuelta (Bryson et al., 2011a; Garcia-de Leon, 2019). Dentro del complejo de *C. intermedius* se agrupan cuatro especies: *C. transversus*, *C. tancitarensis*, *C. intermedius* (tres subespecies) y *C. pricei* (dos subespecies); aunque son especies bien conocidas, la validez taxonómica de algunas (en especial a nivel de subespecie) aún es tema de discusión (Bryson et al., 2011a).

Actualmente, los diferentes grupos se presentan filogenéticamente de la siguiente manera de acuerdo con Bryson et al. (2011a), el clado más ancestral está representado por las poblaciones de *C. pricei* al norte de la SMOc, posteriormente, se encuentra el clado conformado por las poblaciones del sur de la SMOc el cual conecta directamente con las poblaciones de la SMOr. Sin embargo, en esta filogenia no se encuentran poblaciones como las de Aguascalientes y Zacatecas (pertenecientes a la SMOc), las cuales podrían ayudar a esclarecer la conexión entre las poblaciones del norte de la SMOc y de la SMOr. Afortunadamente la cantidad de información y herramientas que se han generado en los últimos años,

ayudan en gran medida a resolver la filogenia o historia evolutiva de grupos como el de *C. intermedius* (Alencar et al., 2016).

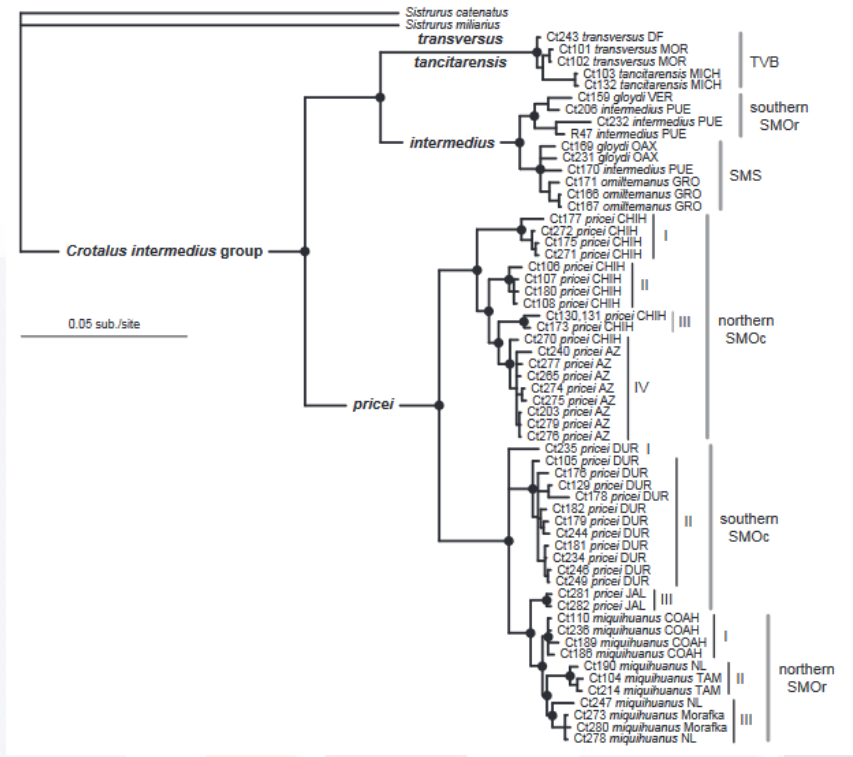


Figura 2. Cladograma que muestra las relaciones evolutivas del complejo de especies *Crotalus intermedius* en el que se incluye *C. pricei*. Abreviaciones: (DF) Distrito Federal, (MOR) Morelia, (MICH) Michoacán, (VER) Veracruz, (PUE) Puebla, (OAX) Oaxaca, (GRO) Guerrero, (CHIH) Chihuahua, (AZ) Arizona, (DUR) Durango, (JAL) Jalisco, (COAH) Coahuila, (NL) Nuevo León, (I, II, III, IV) Subclados de cada uno de los grupos geográficos de *C. pricei*, (TVB) Cinturón transvolcánico de México, (SMOr) Sierra Madre Oriental, (SMOc) Sierra Madre Occidental (Tomado de Bryson et al., 2011a).

Los sistemas montañosos de México y el sur de Estados Unidos han demostrado ser lugares con una gran riqueza de especies y, debido a su extensión y variedad de hábitats, no es raro encontrar en estos sitios especies crípticas reveladas gracias a evidencia molecular (Blair et al., 2019; Bryson et al., 2011b; Schield et al., 2018). Como se ha mencionado, la serpiente de cascabel de manchas gemelas, *Crotalus pricei*, es un habitante representativo de estas regiones (Bryson et al., 2011a; Prival & Schroff, 2012); sin embargo, su historia evolutiva ha recibido

poca atención y el analizarla podría ayudar a entender de mejor manera la biodiversidad de estos lugares.

En la actualidad, se sabe que *C. pricei* tiene dos subespecies reconocidas geográficamente, *C. p. pricei* en la SMOc y *C. p. miquihuanus* en la SMOr (Campbell y Lamar, 2004). A nivel molecular se ha confirmado que *C. pricei* representa un grupo monofilético en el que se incluyen tres clados principales (Fig. 2), *C. p. pricei* SMOc norte, *C. p. pricei* SMOc sur y *C. p. miquihuanus* SMOr (Bryson et al., 2011a). Sin embargo, en ese estudio no se incluyeron datos de poblaciones con distribución en Aguascalientes, Zacatecas y San Luis Potosí. Tales poblaciones son de gran interés, ya que Bryson et al. (2011a) proponen que estos sitios podrían representar corredores importantes a través de los cuales existió interacción entre ambas subespecies antes de que estas quedaran geográficamente aisladas. Estos corredores tuvieron su mayor relevancia durante el Pleistoceno en donde las bajas temperaturas a través del centro del país permitieron la conexión entre la SMOr y la SMOc (McDonald, 1993; Metcalfe et al., 2000). Por ello, uno de los objetivos de este trabajo es estimar el árbol filogenético de *C. pricei*, tomando en cuenta registros nuevos de la especie y determinar en qué lugar del cladograma se ubican los individuos de las poblaciones mencionadas. De esta manera, se espera tener una mejor comprensión de la historia evolutiva de la especie.

4. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo ayudará a incrementar el conocimiento sobre la historia evolutiva y ecológica de la serpiente de cascabel *C. pricei*, ya que la información existente hasta ahora no considera todo el rango de distribución de la especie.

En cuanto a su filogenia, existe información de diferentes localidades, pero hay todavía algunas otras que se incorporaron a este estudio para fortalecer y complementar lo que se conoce hasta ahora. Aunque se han realizado estudios previos sobre su ecología en el extremo norte de su distribución, existen muchas

poblaciones que no han sido estudiadas y, por lo tanto, no se conoce nada acerca de su historia natural en esas localidades a más de 1,000 kilómetros de distancia.

Asimismo, las poblaciones de las dos subespecies descritas presentan una distribución amplia, con *C. p. pricei* en la SMOc y *C. p. miquihuanus* en la SMOr. Por ello, en este estudio se enfocaron esfuerzos para describir la situación ecológica y evolutiva de esta especie en el estado de Aguascalientes y áreas circundantes; esto obedece a que los registros en la zona son muy escasos y, por lo tanto, se conoce muy poco acerca de su estado de conservación. Estas poblaciones representan los registros más sureños de la especie y posiblemente, representan la última conexión entre ambas subespecies.

Finalmente, con la información generada se espera que se puedan diseñar programas de conservación adecuados para las diferentes poblaciones de esta especie.

5. HIPÓTESIS

Los individuos de *C. pricei* presentes en el estado de Aguascalientes representarán el último nexo entre las poblaciones de la Sierra Madre Oriental y Sierra Madre Occidental. Los aspectos ecológicos de *C. pricei* presentes en Aguascalientes serán similares a los reportados en literatura, pero con diferencias puntuales debido a las características propias del hábitat en donde se encuentran. Asimismo, el nicho ecológico de las subespecies de *C. pricei* será diferente para cada una de ellas. Las poblaciones de *C. pricei* de Aguascalientes se encontrarán más cercanamente emparentadas a la subespecie *C. p. miquihuanus*.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Analizar la historia evolutiva y describir aspectos generales sobre la ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*), enfatizando el extremo sur de su área de distribución.

6.2. Objetivos específicos

- Describir la ecología de *C. pricei* con énfasis en las poblaciones más sureñas.
- Obtener la distribución potencial de *C. pricei* mediante modelado de nicho ecológico.
- Analizar la historia evolutiva de las diferentes poblaciones conocidas de *C. pricei*.

7. METODOLOGÍA

7.1. Ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el extremo sur de su área de distribución

7.1.1. Sitio de estudio

El sitio de estudio para este proyecto fue la localidad conocida como Monte Grande, predio perteneciente a la Comunidad Indígena Monte Grande (Fig. 1B); este cuenta con una extensión de 3,600 ha y se ubica en la Sierra Fría, en el municipio de San José de Gracia, Aguascalientes, México (22.26092°N, 102.6016°W; WGS84; 2,200–3,050 m s.n.m.). La precipitación media anual del lugar oscila entre los 200 y 1800 mm, mientras que la temperatura media anual se registra entre los 12 y 18°C (Arriaga et al., 2000). El tipo de vegetación presente en Monte Grande se compone de bosque de encino, bosque de pino-encino, bosque de encino-juníperos y matorral templado (Fig. 3), mientras que las especies más comunes en el área son *Arctotaphylos pungens*, *Juniperus martinezii*, *J. deppeana*, *Pinus duranguensis*, *P. leiophylla*, *Quercus sideroxyla*, *Q. rugosa* y *Q. potosina* (Siqueiros-Delgado et al., 2016, 2017).



Figura 3. Hábitat de *Crotalus pricei* en uno de los sitios de muestreo dentro de Monte Grande.

7.1.2. Diseño de muestreo

Los muestreos se concentraron en las zonas cubiertas de bosque de pino-encino localizadas en el sitio de estudio, tomando en cuenta las descripciones de hábitat reportadas en estudios previos de ecología y distribución de la especie (Bryson et al., 2011a; Prival et al., 2002); asimismo, se usó información obtenida a partir de dos décadas de muestreos previos para *C. pricei* en Aguascalientes (Sigala-Rodríguez, com. pers., 2019) y fotografías aéreas para identificar sitios potenciales para muestreo. Las características que se tomaron en cuenta fueron: áreas con elevaciones mayores a 2,700 m s.n.m. con presencia de bosque de pino-encino y pendientes rocosas. Después de localizar sitios potenciales se realizaron búsquedas directas de ejemplares semanalmente entre junio 2019 y diciembre 2020 durante dos o cuatro días por semana, usualmente con un equipo de tres personas por semana (Fig. 4). La mayoría de los recorridos fueron llevados a cabo durante

las mañanas y las tardes (0700 – 1900 h). Los muestreos se llevaron a cabo buscando serpientes debajo de troncos caídos y rocas, entre los pastizales y matorrales, sobre la hojarasca y encuentros oportunistas a lo largo de los recorridos. De la misma manera se llevaron a cabo muestreos nocturnos (2000 – 2300 h); sin embargo, estos fueron menos frecuentes, debido a que solo se realizaron con la intención de descartar actividad nocturna ya que no ha sido reportada para esta especie. Los intervalos de tiempo de búsqueda variaron diariamente dependiendo de las condiciones climáticas. Con esta información se realizaron cálculos de esfuerzo de muestreo tomando en cuenta el total de horas de búsqueda por persona. Para determinar la abundancia relativa, se dividió en número de individuos encontrados entre el total de horas de búsqueda para obtener el número de horas requeridas para encontrar un individuo de *C. pricei* en el sitio de estudio. También, se tomó registro de otras especies de serpientes de cascabel encontradas durante las búsquedas (*C. lepidus* y *C. molossus*), para tener una idea de la abundancia de *C. pricei* con respecto a otras especies relacionadas en el área de estudio.



Figura 4. Búsqueda de ejemplares dentro de los sitios de muestreo.

Cada vez que se localizaba una serpiente, ésta era capturada y colocada en un tubo de acrílico para poder manipularla (Fig. 5A) y registrar los siguientes datos: masa (M; ± 1 g), longitud hocico cloaca (LHC; ± 1 mm), longitud de la cola (LC; ± 1 mm), longitud total (LT; ± 1 mm), ancho de cabeza (Ac; ± 1 mm), longitud de cabeza (Lc; ± 1 mm), número de manchas dorsales (MD), número de escamas ventrales (EV), escamas subcaudales (ES) (Fig. 5B) y escamas intercantales (EI). También, se determinó el sexo de cada individuo con estiletes cloacales o mediante palpación cloacal provocando la erección de los hemipenes. Asimismo, se tomaron muestras biológicas (cortes de escamas y sangre; Figs. 5C y 5D), fecales y de veneno. Para tomar medidas de los ejemplares, se utilizó una cinta métrica o un vernier para longitudes menores 50 mm; para la medida de la masa, se introdujeron los ejemplares en bolsas de plástico y se colocaron en balanzas de resorte.

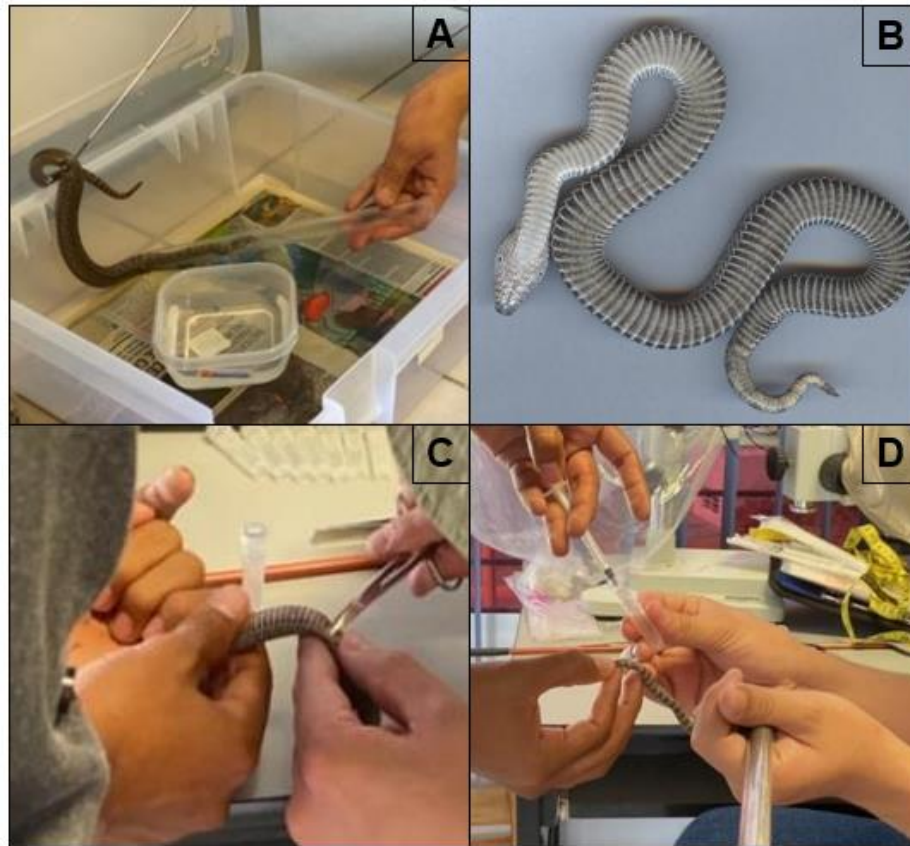


Figura 5. (A) Proceso de entubación de serpiente de cascabel para un manejo seguro. (B) Fotografía ventral de un ejemplar de *Crotalus pricei* para realizar conteo de escamas ventrales y subcaudales.

(C) Toma de muestra de escamas ventrales. (D) Toma de muestra sanguínea de un ejemplar de *C. pricei*.

Se usaron caracteres diagnósticos reportados en literatura como el número de EV, número de EI, relación de la longitud LC:LT y el patrón de escamas dorsales con el fin de comparar los individuos de Aguascalientes con las características reportadas para las dos subespecies de *C. pricei*. Para este procedimiento se dividieron las poblaciones de *C. pricei* en cuatro grupos: *C. pricei* de Aguascalientes, *C. p. pricei* SMOc norte, *C. p. pricei* SMOc sur y *C. p. miquihuanus*. Esta división se realizó acorde con lo establecido en Bryson et al. (2011a), en donde reportan que los individuos del norte de la SMOc se encuentran aislados y formando un clado aparte de los individuos del sur de la SMOc. Para los datos de *C. p. pricei* SMOc sur, se usaron notas personales sin publicar de L. M. Klauber con información de los años 1935 a 1954, estas se encuentran disponibles en la CZUAA. Para los datos de *C. p. pricei* SMOc norte y *C. p. miquihuanus* se utilizó información previamente publicada (Axtell & Sabath, 1963; Campbell & Lamar, 2004; McCranie, 1980; Prival & Schroff, 2012). Para los datos de los ejemplares pertenecientes a Aguascalientes, además de los obtenidos durante los muestreos de campo resultantes de este estudio, se obtuvo información de los dos individuos depositados en la CZUAA (UAAREP-290, UAAREP-377), uno depositado en la Colección Herpetológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL-4277), uno depositado en el Museo de Zoología de la Universidad de Michigan (UMMZ-110878) y datos de un ejemplar encontrado en campo en 2009, para un total de 24 registros. Para determinar los patrones de actividad y uso de hábitat se registraron datos ambientales (con un termohigrómetro digital) y geográficos (con un dispositivo GPS de la marca Garmin), tales como: especies vegetales, coordenadas, elevación, fecha y hora del registro, temperatura, humedad, cobertura vegetal (usando la aplicación móvil “Canopeo” desarrollada por la Universidad del Estado de Oklahoma, Estados Unidos) y comportamiento para cada individuo encontrado. Todas las serpientes fueron marcadas con un código único de pintura, el cual consiste en pintar el botón proximal del cascabel con dos colores únicos para cada individuo. Las serpientes fueron colectadas por un intervalo corto de días (entre 3 y 5 días) para obtener muestras

biológicas y realizar todas las mediciones. Después de ser procesadas, todas las serpientes fueron liberadas en el mismo sitio en donde fueron encontradas.

7.1.3. Análisis estadísticos

Con el fin de determinar si existe dimorfismo sexual en los individuos de *C. pricei*, se realizaron comparaciones de M, Ac, Lc, MD, LHC, LC, LT, EV y ES entre machos y hembras de los individuos encontrados. Así mismo, se calculó el grado de dimorfismo sexual (SSD) en LHC siguiendo el procedimiento de Gibbons y Lovich (1990) y Shine (1994). Primero, se utilizó la prueba Shapiro-Wilk para evaluar si los datos presentaban una distribución normal. Después, se compararon los caracteres que cumplieron el supuesto de normalidad utilizando una prueba t-Student. Para los caracteres que no cumplieron el supuesto de normalidad, se utilizó la prueba U Mann-Whitney. Para los análisis estadísticos solo se tomaron en cuenta individuos adultos; los machos fueron considerados adultos a partir de los 322 mm LHC y las hembras a partir de los 330 mm LHC (Goldberg, 2000; Prival et al., 2002). Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa R, versión 3.6.3 (R Core Team, 2020) con un alfa de 0.05.

7.2. Modelado de nicho ecológico de *Crotalus pricei* y sus subespecies

7.2.1. Datos de presencia y ambientales

Los datos de presencia geográfica de *C. pricei* fueron obtenidos a través de bases de datos disponibles en línea como el Portal de Información sobre Biodiversidad Global (GBIF, por sus siglas en inglés) (GBIF, 2020), VertNet, además de los puntos obtenidos a partir del muestreo en campo de este estudio. De todos los registros obtenidos, solo se tomaron en cuenta registros con coordenadas de GPS con menos de un kilómetro de incertidumbre, todos los puntos fueron verificados en el espacio geográfico utilizando QGIS para confirmar que coincidían con el rango de distribución reportado para *C. pricei* (Armstrong & Murphy, 1979; Bryson et al., 2011a; Prival & Schroff, 2012). Para evitar correlación autoespacial de

los registros, estos fueron filtrados a una distancia mínima de un kilómetro entre cada punto utilizando el paquete SpThin en R (Aiello-Lammens et al., 2015), para asegurar que ninguna localidad se empalmara con otra cercana.

La base de datos final de registros de presencia de *C. pricei* fue dividida en cuatro diferentes grupos: dos correspondientes a las subespecies (*C. p. pricei* y *C. p. miquihuanus*) y dos que contenían los puntos de las diferentes poblaciones de *C. p. pricei* propuestas por Bryson et al. (2011a), los individuos de SMOc norte y SMOc sur. De esta manera, se trabajó con cinco diferentes bases de datos a partir de las cuales se construyó un modelo para cada una. Las bases de datos utilizadas para los modelos fueron las siguientes: *C. pricei*, *C. p. pricei*, *C. p. miquihuanus*, *C. p. pricei* SMOc norte y *C. p. pricei* SMOc sur.

Los datos ambientales fueron obtenidos del portal en línea WorldClim versión 2.1 (Fick & Hijmans, 2017) a una resolución espacial de 30" (~ 1 km); para evitar autocorrelación ambiental se seleccionaron seis de las 19 capas climáticas disponibles, basados en un análisis de autocorrelación realizado en R mediante el comando "corr" (R Core Team, 2022) Este análisis consiste en comparar el efecto de dos factores (capas ambientales) en una variable respuesta; dos capas fueron consideradas altamente correlacionadas entre sí cuando el coeficiente de correlación resultó mayor a 0.75 (Bryson et al., 2011a). De esta manera es posible identificar variables que brindan la misma información al modelo y por lo tanto provocaría un sesgo si estas son añadidas (Cobos et al., 2019). Las variables seleccionadas fueron: temperatura media anual, rango diurno medio, temperatura media del cuatrimestre más húmedo, precipitación del cuatrimestre más húmedo y precipitación del cuatrimestre más seco. Para asegurar una comparación correcta de los modelos, el mismo grupo de variables ambientales fue usado en cada caso.

7.2.2. Modelado de nicho ecológico

Los modelos de nicho fueron construidos utilizando el algoritmo de máxima entropía implementado en el programa Maxent versión 3.4.4 (Phillips et al., 2006). Este algoritmo establece una distribución de probabilidades a lo largo del área de estudio a partir de la relación entre características ambientales y registros geográficos conocidos. Para calibrar los modelos se siguió el proceso descrito por Guevara et al., (2019), con modificaciones menores descritas a continuación. Para asegurar una representación completa de los hábitats disponibles para *C. pricei*, se incluyeron todos los píxeles disponibles en el área de estudio delimitada para cada uno de los modelos (780,178 píxeles). El área de estudio se delimitó incluyendo la extensión de la SMOc y la SMO_r, usando capas geográficas disponibles en el portal de geoinformación de la Comisión Nacional de Biodiversidad. Cada una de las bases de datos se dividieron en subgrupos utilizando el método de división por bloques ($k=4$; k = número de bloques) para poder obtener los valores estadísticos de evaluación para cada modelo (Guevara et al., 2019; Valavi et al., 2019).

Para seleccionar la configuración específica para la construcción de cada modelo, se realizaron combinaciones de diferentes clases de modelos (FC, por sus siglas en inglés). Las clases utilizadas fueron: lineal (L); cuadrática y lineal (LQ); hinge (H); lineal, cuadrática y hinge (LQH); y lineal, cuadrática, hinge y producto (LQHP). También, se utilizó un rango de valores de regularización (RM) de 1.0 – 5.0 con intervalos de 0.5; estas combinaciones se realizaron utilizando el paquete Wallace (Kass et al., 2018) en R versión 4.1.1 (R Core Team, 2020). La designación de estos parámetros produjo un total de 36 combinaciones únicas de modelos (Guevara et al., 2019). Este mismo método fue utilizado para seleccionar la mejor configuración para construir cada uno de los cinco modelos.

Las configuraciones óptimas para cada modelo se eligieron basadas en el menor valor obtenido del Criterio de Información de Akaike (AICc, por sus siglas en inglés) y en el valor obtenido del Área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés). Este último es una métrica de cohorte independiente que varía entre 0 y 1; valores cercanos a 0 indican que el modelo no discrimina correctamente las presencias y ausencias, mientras que valores cercanos a 1 indican que el modelo discrimina

perfectamente las presencias y ausencias (Guevara et al., 2019; Michailidou et al., 2021).

Los modelos obtenidos fueron construidos usando el método logístico de Maxent con la combinación de variables previamente seleccionadas. Las predicciones finales fueron convertidas a mapas binarios usando el método de entrenamiento de 10 percentiles. Este procedimiento asigna probabilidades a cada localidad de presencia, después selecciona el valor a partir del cual el 10% de los puntos de presencia son discriminados y con base en ese valor se determinan áreas de presencia y ausencia. Esta metodología permite obtener resultados precisos acerca de las predicciones de hábitat idóneo para las especies (Jarnevich et al., 2014; Liu et al., 2005).

7.2.3. Similitud de nicho

Se realizaron cuatro comparaciones pareadas para determinar el nivel de similitud de nicho entre las diferentes subespecies y poblaciones de *C. pricei*. Los grupos comparados fueron los siguientes: *C. p. pricei* – *C. p. miquihuanus*; *C. p. pricei* SMOc norte – *C. p. miquihuanus*; *C. p. pricei* SMOc sur – *C. p. miquihuanus*; y *C. p. pricei* SMOc norte – *C. p. pricei* SMOc sur. Las evaluaciones fueron realizadas con base en qué tan similares son los nichos de diferentes grupos de acuerdo con mismo grupo de variables ambientales accesibles para cada grupo a lo largo de un área de distribución en común (Encarnación-Luévano et al., 2021; Warren et al., 2008). Para medir la similitud de nicho se utilizaron los índices de Schoener (D) y de Hellinger (I) usando el paquete ENMTools (Warren et al., 2021) en R, versión 4.1.1 (R Core Team, 2020); ambos índices arrojan su resultado en un intervalo que va desde cero (los nichos ecológicos de los grupos comparados son totalmente diferentes) hasta uno (los nichos ecológicos de los grupos comparados son totalmente idénticos) (Broennimann, et al., 2012; Warren et al., 2008).

Los resultados de la comparación de nichos fueron interpretados tal como se describe en Guevara et al. (2019) usando las siguientes clases: similitud muy

limitada o nula (0 – 0.2), baja similitud (0.21 – 0.4), similitud moderada (0.41 – 0.6), fuerte similitud (0.61 – 0.8) y nichos idénticos (0.81 – 1). Además, los valores de los índices D e I fueron comparados contra un modelo nulo de distribución con valores de similitud permutados de subespecies generadas a lo largo del área de distribución de la especie de interés como se describe en Sain et al. (2021) y Encarnación-Luévano et al. (2021). Con este análisis, se considera que dos especies presentan diferencias significativas en su nicho ecológico si los valores de D e I caen por debajo del 5% de la distribución nula (Encarnación-Luévano et al., 2021; Sain et al., 2021).

7.3. Historia evolutiva de *Crotalus pricei*

A partir de los individuos localizados en los muestreos en campo, se obtuvieron escamas ventrales y mudas de piel que se utilizaron para realizar extracción de ADN genómico. Para realizar dicho procedimiento, se utilizó el kit comercial DNeasy Blood and Tissue de la empresa QIAGEN y se siguió el protocolo sugerido por el fabricante. Este producto ha sido utilizado en diversos estudios filogenéticos brindando buenos resultados (Ashton & Queiroz, 2001; Castoe et al., 2003; Jadin et al., 2011).

Posteriormente, se utilizó la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) para aislar dos regiones mitocondriales del ADN obtenido de *C. pricei*. Las regiones elegidas fueron NADH deshidrogenasa subunidad 4 (ND4) y ATPasa subunidades 8 y 6 (ATP8 y ATP6), las cuales han sido utilizados en estudios previos en diferentes grupos de serpientes y han resultado útiles para resolver filogenias inter e intraespecíficas (Bryson et al., 2011a; 2014; Burbrink & Castoe, 2009). Para el proceso de PCR se utilizó el protocolo propuesto por Bryson et al. (2011b), el cual fue utilizado también para amplificar las regiones mencionadas anteriormente en *C. pricei*. Los productos obtenidos de la PCR fueron observados en gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio para confirmar la amplificación de las regiones de interés. Una vez confirmada la amplificación, las muestras se mandaron a secuenciar a la

empresa Macrogen para obtener los cromatogramas y secuencias correspondientes a cada individuo de *C. pricei*.

A las secuencias obtenidas a partir de los organismos reportados en este proyecto, se le sumaron las secuencias de las diferentes poblaciones conocidas de *C. pricei* disponibles en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), con el fin de contar con una muestra lo más completa posible de la distribución de *C. pricei*. Además de la especie de interés, se obtuvieron también secuencias de cuatro especies más de serpientes de cascabel, dos del género *Crotalus* (*C. intermedius* y *C. lepidus*) y dos del género *Sistrurus* (*S. catenatus* y *S. miliarius*) para que funcionaran como grupo externo a *C. pricei*; en total, se usaron 51 secuencias (47 de *C. pricei* y 4 de las especies del grupo externo).

Para el alineamiento y procesamiento de las secuencias se utilizó el software MEGA 11 (www.megasoftware.net/). Primero se alinearon las secuencias de cada región mitocondrial por separado utilizando el algoritmo MUSCLE en MEGA y posteriormente se concatenaron. Para la construcción del árbol filogenético se realizó un análisis de máxima verosimilitud (Huelsenbeck & Crandall, 1997; Guindon & Gascuel, 2003), con tres particiones, usando los siguientes modelos evolutivos: HKY + G (ATP 6), GTR + G (ATP 8) y GTR + G + I (ND4) (Nei & Kumar, 2000; Tamura et al., 2021), utilizando el programa RAxML (Stamatakis, 2014) y un apoyo Rapid Bootstrap de 1,000 réplicas (Stamatakis et al., 2008; Pattengale et al., 2009). A partir del árbol obtenido se infirió la historia evolutiva de *C. pricei*, la cual contiene las poblaciones de Aguascalientes, Zacatecas y San Luis Potosí que no se contemplaron en estudios previos (ver Bryson et al., 2011a).

8. RESULTADOS

8.1. Ecología de la serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el extremo sur de su área de distribución

8.1.1. Esfuerzo de muestreo y tasa de detección

Desde junio de 2019 hasta diciembre de 2020, se acumularon 1111.5 horas de búsqueda, tiempo durante el cual se lograron localizar 19 individuos de *C. pricei* (Fig. 6), resultando en una tasa de detección de 0.017 serpientes por hora de muestreo, o un individuo por cada 58.8 horas de búsqueda. Si solo se consideran en el cálculo los meses en donde se localizaron especies, el esfuerzo necesario decrece a 0.018 serpientes por hora de búsqueda o 55.5 horas de búsqueda para localizar una serpiente. También se realizó este mismo cálculo para cada mes por separado (Tabla 1), demostrando así que el mes con la mayor tasa de detección resultó ser agosto, donde se requirieron 38.8 horas de búsqueda para encontrar un individuo de *C. pricei*. También es interesante señalar que los meses de julio, septiembre y noviembre tienen valores altos de tasa de detección (Tabla 1).

Tabla 1. Esfuerzo de muestreo, tasa de detección y número de horas requeridas para localizar un individuo de Serpiente de Cascabel de Manchas Gemelas (*Crotalus pricei*) por mes en Monte Grande, Aguascalientes, México, 2019 – 2020. Solo se incluyen los meses en los que se encontraron serpientes.

Mes	Horas de búsqueda	Serpientes encontradas	Tasa de detección (serpientes / hora de búsqueda)	Horas de búsqueda por serpiente
Junio	150	1	0.007	150
Julio	240.5	5	0.021	48.1
Agosto	194	5	0.026	38.8
Septiembre	207	5	0.024	41.4
Octubre	129	1	0.008	129
Noviembre	109	2	0.018	54.5



Figura 6. Uno de los 19 individuos de *Crotalus pricei* encontrados en Monte Grande, Aguascalientes, México (Fotografiado por Juan José Ayala Rodríguez).

Se encontró un total de 45 serpientes de cascabel a lo largo del periodo de muestreo, de las cuales, *C. pricei* representó el 42.2% (19 registros) de los encuentros, siendo la segunda especie con mayor frecuencia de detección en el área de estudio. *Crotalus lepidus* representó el 53.3% (24 registros) del total, resultando en la especie con mayor frecuencia de detección en el área. Por último, solamente se registraron dos individuos de *C. molossus*, representando el 4.5% del total de los encuentros con serpientes de cascabel. Estos registros nos ayudan a comparar la abundancia de las diferentes especies de serpientes de cascabel en el área para determinar su rareza.

8.1.2. Morfología y estructura poblacional

De los 19 ejemplares encontrados, 12 resultaron ser individuos adultos (seis machos y seis hembras) y siete juveniles (dos machos y cinco hembras). De los

cinco individuos depositados en colecciones, cuatro fueron adultos (un macho y tres hembras) y uno fue un macho juvenil. Las comparaciones morfológicas revelaron dos caracteres como evidencia de dimorfismo sexual (Tabla 2). Se encontró diferencia estadística significativa en LC ($t = -2.646$, $df = 11.224$, $P = 0.022$), los individuos machos teniendo colas de mayor longitud, con una medida promedio de $44.14 \pm (SD) 5.81$ mm para machos y de 36.56 ± 3.68 mm para hembras. También se encontró diferencia significativa en ES ($t = -4.519$, $df = 10.839$, $P = 0.001$), los individuos machos teniendo mayor número de escamas subcaudales (29.71 ± 2.98) que las hembras (24.78 ± 1.64). Por otro lado, el índice SSD resultó en -0.005 , lo que indica de los machos son ligeramente más largos que las hembras.

Tabla 2. Diferencias morfológicas entre hembras ($n = 9$) y machos ($n = 7$) de Serpiente de Cascabel de Manchas Gemelas (*Crotalus pricei*) de Aguascalientes, México. Abreviaturas: M = masa (g), Ac = Ancho de cabeza (mm), Lc = Largo de cabeza (mm), LHC = Longitud hocico – cloaca (mm), LC = Longitud de cola (mm), LT = Longitud total (mm), MD = Manchas dorsales, EV = Número de escamas ventrales, ES = Número de escamas subcaudales. * = Estadísticamente significativo, $P < 0.05$.

Carácter	Sexo	Media \pm SD	Rango	Estadístico	P
M	Macho	37.58 \pm 18.97	19 – 73	U = 18	1
	Hembra	34.33 \pm 9.42	26 – 48		
Ac	Macho	12.14 \pm 1.54	10 – 13.59	t = -0.5392	0.6003
	Hembra	11.54 \pm 0.92	10.6 – 13.50		
Lc	Macho	19.76 \pm 3.61	16.4 – 27.20	t = -0.1886	0.8550
	Hembra	19.21 \pm 1.01	17.8 – 20.60		
LHC	Macho	368.43 \pm 37.03	336 – 446	U = 42	0.5962
	Hembra	366.33 \pm 24.92	335 – 400		
LC	Macho	44.14 \pm 5.81	34 – 52	t = -2.6466	0.0223*
	Hembra	36.56 \pm 3.68	31 – 43		
LT	Macho	412.57 \pm 40.73	382 – 498	U = 37.5	0.9232
	Hembra	402.89 \pm 27.48	366 – 439		
MD	Macho	49.29 \pm 5.22	41 – 56	t = 1.8625	0.0839
	Hembra	54.56 \pm 6.09	47 – 67		
EV	Macho	149.14 \pm 4.78	140 – 154	U = 45	0.4088
	Hembra	152.00 \pm 3.74	143 – 157		
ES	Macho	29.71 \pm 2.98	24 – 33	t = -4.5196	0.0009*
	Hembra	24.78 \pm 1.64	22 – 27		

Históricamente, las subespecies de *C. pricei* se han definido de acuerdo a su distribución geográfica (McCranie, 1980; Mulcahy, 2008); asimismo, se han utilizado caracteres morfológicos para determinar diferencias entre ambas subespecies. La Tabla 3 muestra una comparación entre diferentes características de los cuatro grupos geográficos de las subespecies de *C. pricei*. No se encontraron diferencias remarcables entre los individuos de *C. p. pricei* SMOc norte (n = 304) y *C. p. pricei* SMOc sur (n = 16). El número de EV de las hembras de Aguascalientes (n = 24) entra en el rango de las características conocidas para *C. p. miquihuanus* (n = 3), mientras que, el número de EV de los machos entra en el rango reportado para *C. p. pricei*. El número de EI no resultó en diferencias significativas para ninguno de los cuatro grupos, y en cuanto a arreglo de las manchas dorsales, los ejemplares de Aguascalientes son más similares a los de *C. p. miquihuanus*. Finalmente, la relación LC:LT resultó diferente para los cuatro grupos, para *C. p. pricei* SMOc norte se obtuvo el valor más bajo (0.08) y *C. p. miquihuanus* con el valor más alto (0.114); *C. p. pricei* SMOc sur y *C. pricei* Aguascalientes registraron valores intermedios (0.084 y 0.098, respectivamente).

Tabla 3. Comparación de características morfológicas entre diferentes poblaciones de Serpiente de Cascabel de Manchas Gemelas (*Crotalus pricei*) en su rango de distribución. Abreviaturas: EV = Número de escamas ventrales, EI = Número de escamas intercantales, LC:LT = Relación entre longitud de cola y longitud total, MD = Acomodo de manchas dorsales, NA = Información no disponible.

Carácter	* <i>C. p. pricei</i> SMOc norte	** <i>C. p. pricei</i> SMOc sur	*** <i>C. pricei</i> Aguascalientes	**** <i>C. p.</i> <i>miquihuanus</i>
	n = 304	n = 16	n = 24	n = 3
EV (hembras)	157–171	157–163	143–153	143–145
EV (machos)	149–162	153–163	148–156	135–141
EI	0–9 (usualmente 4–6)	4	2–4	0–3
LC:LT	0.08	0.084	0.098	0.114
MD	Generalmente separadas	NA	Generalmente fusionadas	Generalmente fusionadas

Notas: * = Datos de McCranie, 1980; Campbell y Lamar, 2004; Prival y Schroff, 2012. ** = Notas personales de L. M. Klauber (1935 – 1954). *** = Comunidad Indígena Monte Grande, Aguascalientes, México. **** = Datos de Axtell y Sabath 1963; McCranie 1980; Campbell y Lamar 2004.

8.1.3. Patrones de actividad y uso de hábitat

Se encontraron individuos de *C. pricei* desde el mes de junio hasta el mes de noviembre (Fig. 7) y los meses con mayor cantidad de registros fueron julio, agosto, y septiembre, con cinco registros cada uno. Se ubicaron ejemplares en el intervalo de 1000 – 1800 h con dos picos de actividad entre 1201 – 1600 h (Fig. 8), en el cual se localizaron 16 de las 19 serpientes. El promedio de temperatura en la que se registraron los individuos fue 23.02 ± 4.16 °C (rango, 17 – 30.1 °C), la humedad relativa promedio fue de $48.1\% \pm 17.64$ (rango, 19 – 68%) y el promedio de cobertura vegetal fue de $5.54\% \pm 3.81$ (rango, 0.03% – 11.8%).

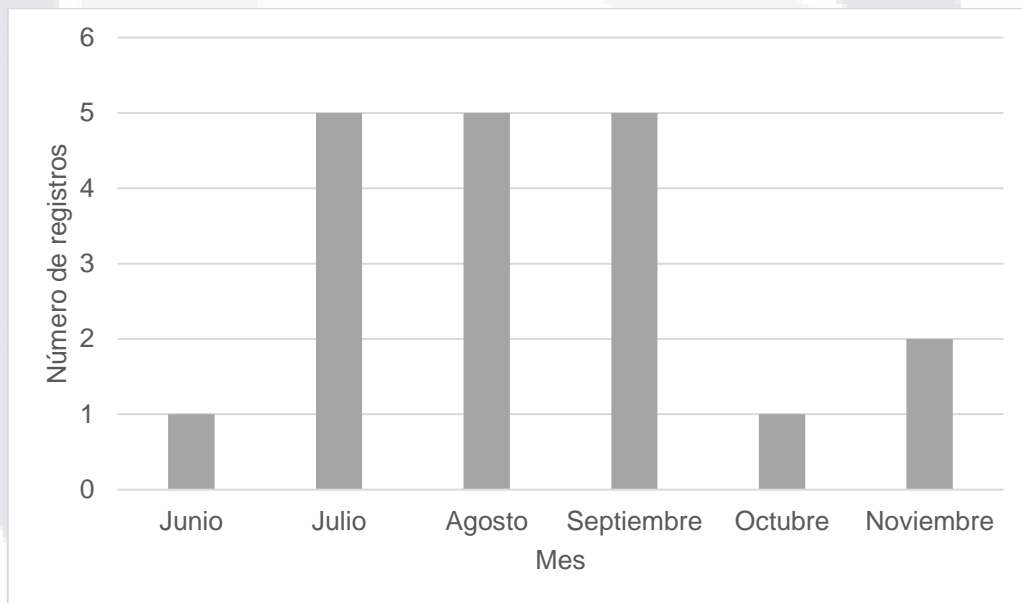


Figura 7. Sumatoria de individuos de *Crotalus pricei* encontrados por mes durante dos años de muestreo en Monte Grande, Aguascalientes, México, enero 2019 – diciembre 2020.

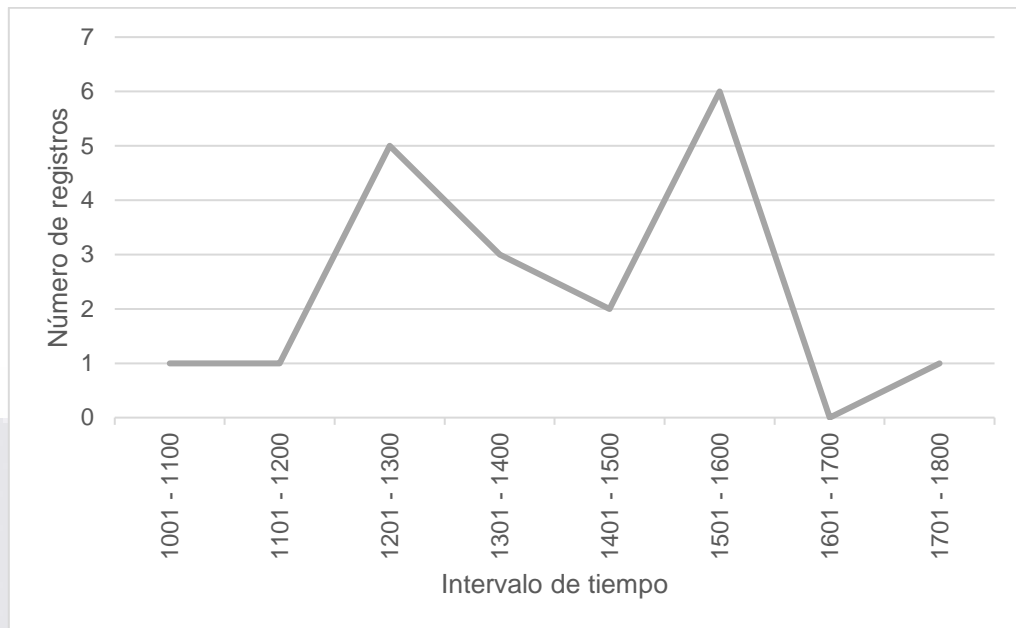


Figura 8. Individuos de *Crotalus pricei* encontrados por intervalo de tiempo en Monte Grande, Aguascalientes, México, 2019 – 2020.

Todos los individuos fueron localizados a no más de 10 m de distancia de algún paso de agua temporal: cinco de las serpientes se encontraron activas moviéndose sobre la hojarasca; 12 se encontraron reposando sobre montones de hojarasca de pino y encino o entre arbustos y dos se encontraron tomando el sol en áreas rocosas. Se encontraron 11 especies de plantas presentes en los sitios de reposo y/o actividad de *C. pricei* (Fig. 9): *Quercus jonessi*, *Pinus duranguensis* y *Muhlenbergia* sp. fueron las especies más comunes.

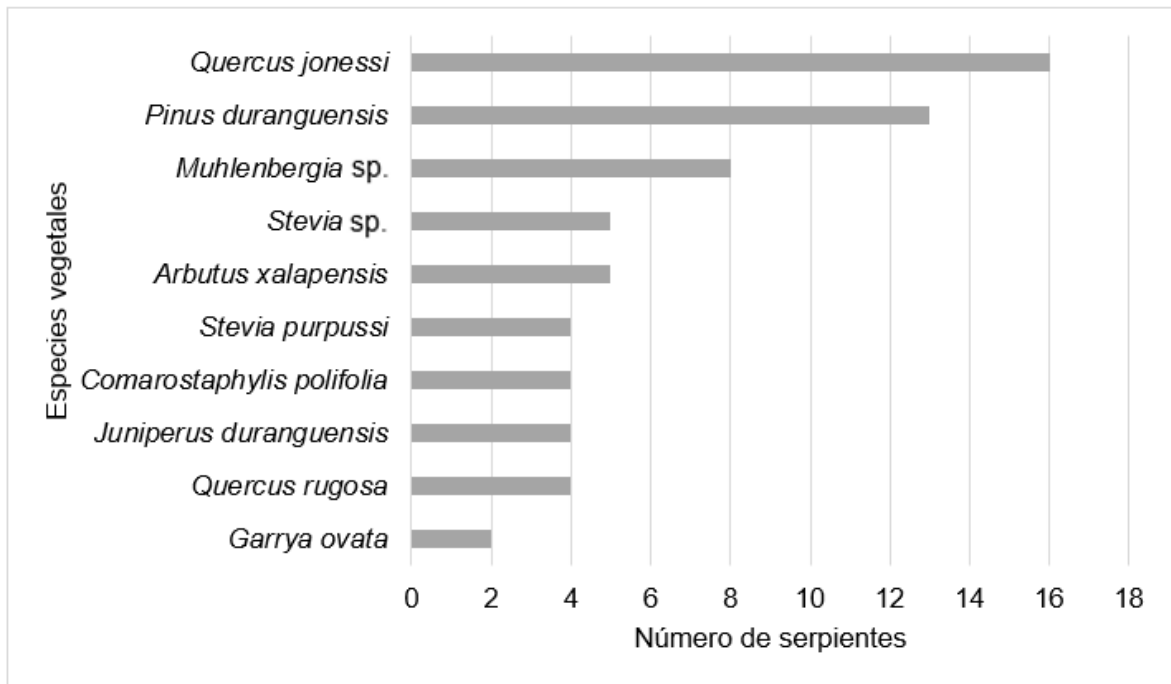


Figura 9. Especies de plantas asociadas a diferentes individuos de *Crotalus pricei* en Monte Grande, Aguascalientes, México, 2019 – 2020.

8.1.4. Notas sobre comportamiento y reproducción

Una de las hembras que se encontraron durante los muestreos en campo dio a luz a cuatro neonatos el 12 de agosto de 2020, durante el tiempo que se tuvo contenida para obtener medidas y muestras biológicas; otra de las hembras depositó seis huevos infértiles el 28 de agosto de 2020. La mayoría de los individuos de *C. pricei* que se encontraron, mostraron un comportamiento pacífico en comparación con los individuos de las otras especies que se encuentran en el sitio de estudio (*C. lepidus* y *C. molossus*). Solo dos de los individuos trataron de morder el gancho herpetológico al momento de ser manipulados. Cuando las serpientes eran encontradas, por lo general se quedaban quietas sobre el sustrato o trataban de escapar entre la hojarasca o los arbustos, en algunas ocasiones sonaban el cascabel durante algunos segundos, pero no se mostraban agresivas. Este mismo comportamiento se observaba al momento de procesar y al momento de liberarlas.

8.2. Modelado de Nicho Ecológico de *Crotalus pricei* y sus subespecies

Después de hacer una limpieza y filtrado de localidades a partir de las bases de datos, se obtuvo un total de 70 registros geográficos de *C. pricei*, los cuales fueron divididos de la siguiente manera: *C. p. pricei*, 48 registros, incluidos *C. p. pricei* SMOc norte con 33 registros y *C. p. pricei* SMOc sur con 15 registros y *C. p. miquihuanus* con 22 registros. Todos los modelos obtenidos resultaron con un valor de AUC mayor a 0.9 lo que indica que los modelos discriminan ausencias y presencias de manera confiable. Los valores de AICc y los parámetros elegidos para cada modelo se reportan más adelante.

El mapa final para *C. pricei* (Fig. 10) se construyó con un FC de LQH, y con un valor de RM de 2.5, cuya combinación arrojó un valor de AICc de 1694.02 (AUC = 0.91). En éste, se observan tres distribuciones núcleo: la primera cubre el este de Chihuahua, México, que representa la región norte de la SMOc; la segunda se observa desde el sur de Chihuahua y parte del este de Durango, representando la región sur de la SMOc; la tercera aparece desde el suroeste de Coahuila, a través de la región central de Nuevo León y el sureste de Tamaulipas, representando la región norte de la SMOr. También, se observan áreas aisladas de distribución potencial en Arizona, USA, así como en Sonora, Jalisco, Zacatecas, Aguascalientes y San Luis Potosí, México.

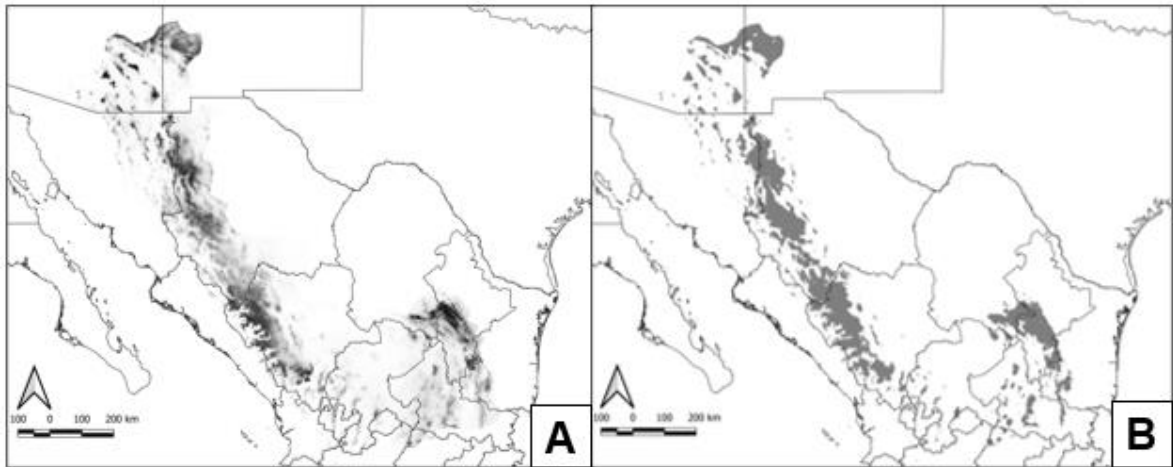


Figura 10. Modelo logístico para *Crotalus pricei* (A), las áreas claras representan sitios con poca idoneidad de hábitat, las áreas oscuras representan sitios con alta idoneidad de hábitat; mapa binario para *C. pricei* (B), las áreas grises representan presencia de la especie, las áreas blancas representan ausencia.

El mapa final para modelado de nicho de *C. p. pricei* (Fig. 11) se construyó con un FC de LQH y con un valor de RM de 1.5, arrojó un valor de AICc de 1153.11 (AUC = 0.93) y mostró dos distribuciones núcleo a lo largo de la SMOc en los estados de Chihuahua y Durango, con algunas áreas aisladas en Arizona, Sonora, Zacatecas, Jalisco, Aguascalientes, Coahuila y Nuevo León. El mapa final para *C. p. pricei* SMOc norte (Fig. 12), fue construido con un FC de LQ y con un valor de RM de 1, arrojó un valor de AICc de 768.27 (AUC = 0.93), mostrando resultados muy similares a los obtenidos con el modelo de *C. p. pricei*; no obstante, tiene algunas reducciones en las áreas núcleo, aunque también se observan menos áreas aisladas, especialmente al sur de la distribución y se observa un incremento en la región entre Coahuila y Nuevo León. El mapa final para *C. p. pricei* SMOc sur (Fig. 13) fue construido con un FC de LQ y con un valor de RM de 1, el cual arrojó un valor de AICc de 352.10 (AUC = 0.96) y mostró dos distribuciones núcleo, una al oeste de Chihuahua y otra de mayor tamaño desde el sur de Chihuahua hasta el oeste de Durango y con algunas áreas aisladas en Zacatecas, Jalisco, Nayarit y Aguascalientes; este mapa, no predijo áreas de distribución potencial en la región de la SMOr.

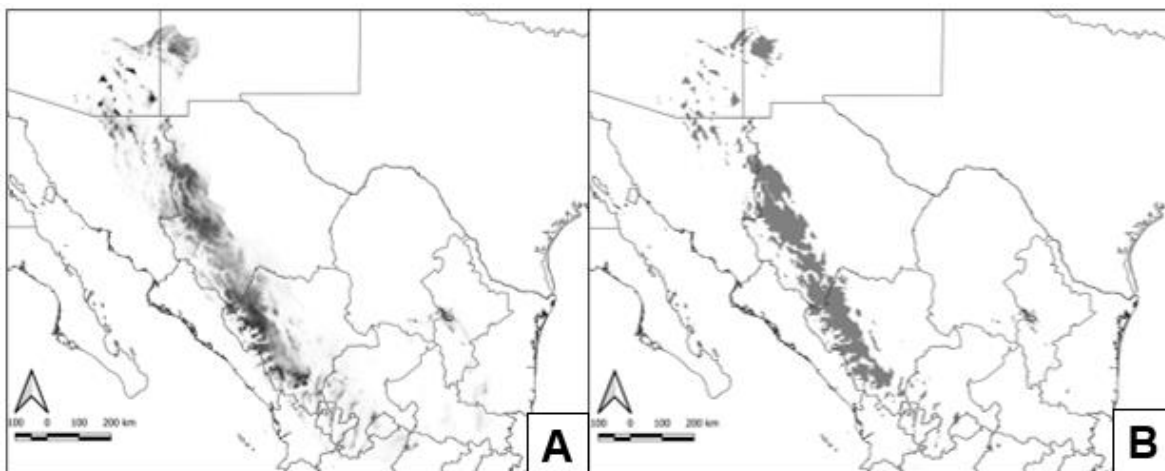


Figura 11. Modelo logístico para *Crotalus pricei pricei* (A); mapa binario para *C. p. pricei* (B).

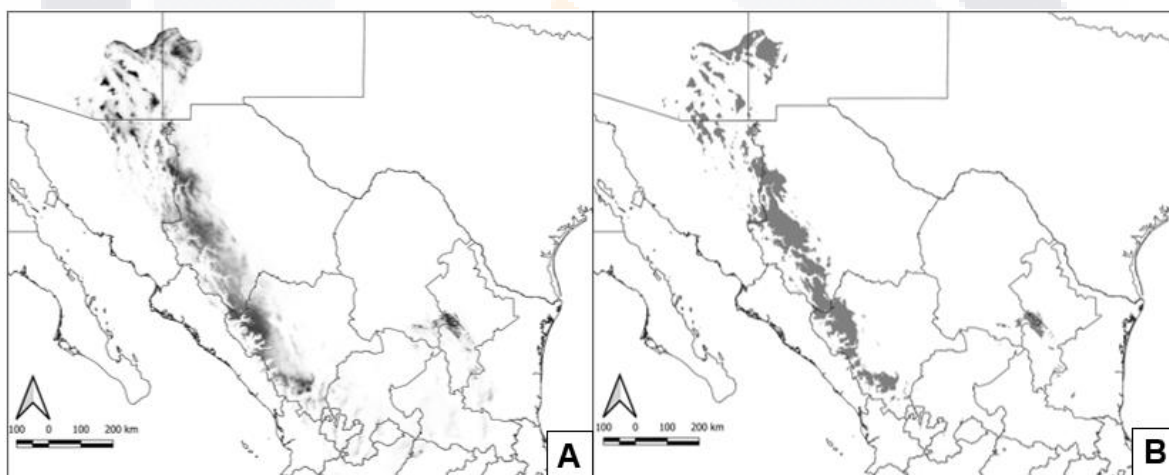


Figura 12. Modelo logístico para *Crotalus pricei pricei* SMOc norte (A); mapa binario para *C. p. pricei* SMOc norte (B).

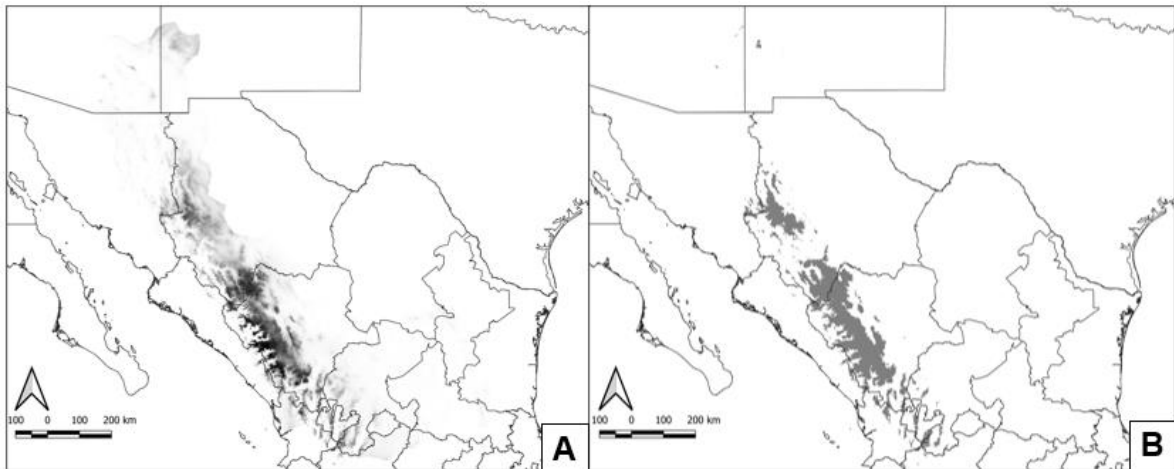


Figura 13. Modelo logístico para *Crotalus pricei pricei* SMOc sur (A); mapa binario para *C. p. pricei* SMOc sur (B).

El mapa final para *C. p. miquihuanus* (Fig. 14) fue construido con un FC de LQH y con un valor de RM de 2, arrojó un valor de AICc de 464.70 (AUC = 0.98) y mostró una distribución núcleo desde el sureste de Coahuila a través de la región central de Nuevo León y una pequeña zona al Oeste de Tamaulipas; también mostró algunas áreas aisladas en Arizona, Sonora, Chihuahua y San Luis Potosí. Este modelo no predijo áreas de distribución potencial en la región de la SMOc (excepto por las pocas áreas aisladas mencionadas anteriormente).

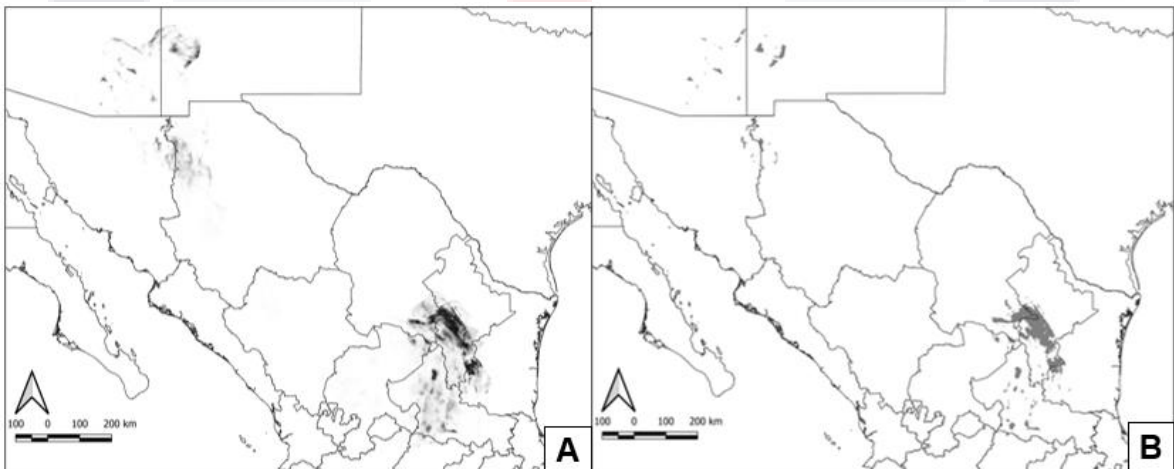


Figura 14. Modelo logístico para *Crotalus pricei miquihuanus* (A); mapa binario para *C. p. miquihuanus* (B).

Por otro lado, las pruebas de similitud de nicho arrojaron los siguientes resultados (Tabla 4): la comparación entre *C. p. pricei* – *C. p. miquihuanus*, resultó en valores bajos de similitud en ambas pruebas. La comparación entre *C. p. pricei* SMOc norte – *C. p. miquihuanus* también resultó en niveles bajos de similitud de nicho. Los resultados del análisis entre *C. p. pricei* SMOc sur – *C. p. miquihuanus* mostraron valores más bajos de similitud de nicho en ambos índices, lo que indica nichos con casi nula similitud entre ellos. Por último, los análisis para *C. p. pricei* SMOc norte – *C. p. pricei* SMOc sur mostraron los valores más elevados de similitud de nicho, aun así, estos valores resultaron más bajos que el 5% de los valores críticos del modelo nulo, lo que indica diferencia significativa entre los nichos. Entonces, para tres de las cuatro comparaciones se reporta evidencia de baja similitud de nicho entre las poblaciones, y en las cuatro comparaciones se encontraron diferencias significativas con respecto a los modelos nulos de distribución de especie.

Tabla 4. Resultados de los análisis de similitud de nicho entre los diferentes grupos de *C. pricei*

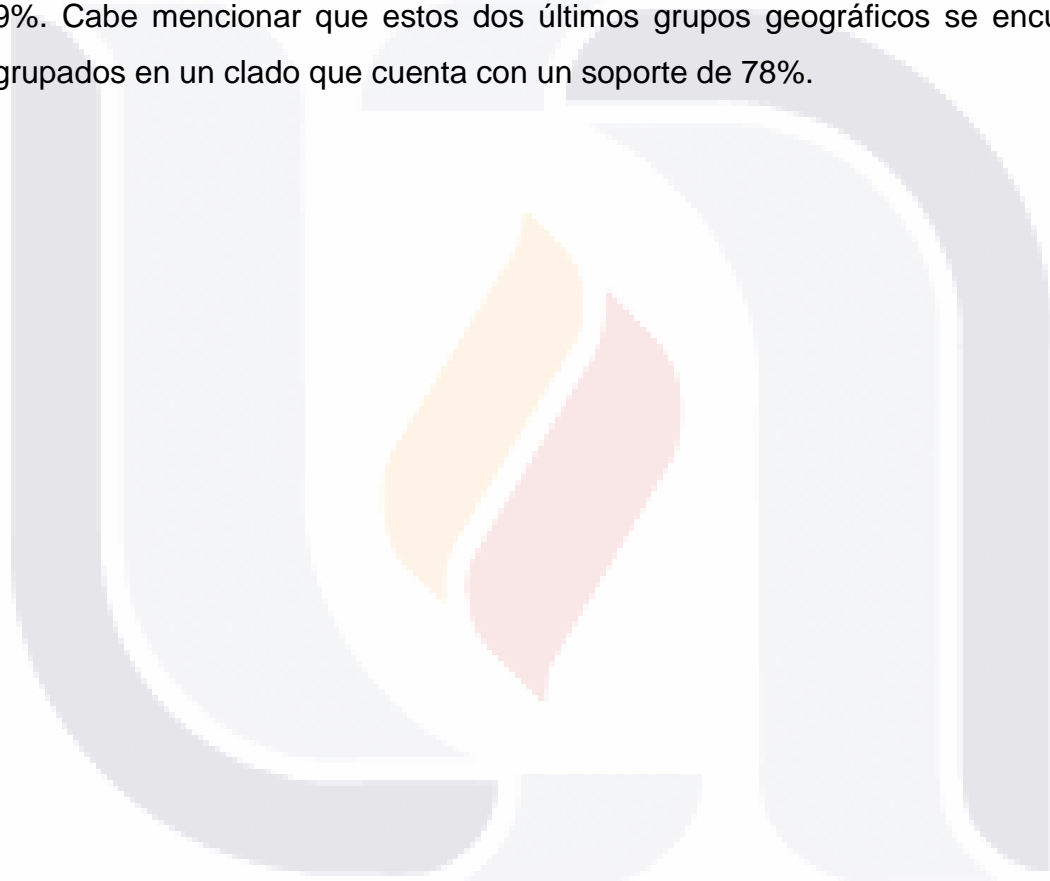
Comparación	D	5% D	I	5% I	Interpretación
<i>C. p. pricei</i> – <i>C. p. miquihuanus</i>	0.1080	0.6447	0.2716	0.8891	Baja similitud de nicho con diferencia significativa contra el modelo de distribución nulo
<i>C. p. pricei</i> SMOc norte – <i>C. p. miquihuanus</i>	0.1253	0.5106	0.3096	0.8407	Baja similitud de nicho con diferencia significativa contra el modelo de distribución nulo
<i>C. p. pricei</i> SMOc sur – <i>C. p. miquihuanus</i>	0.0427	0.5271	0.1487	0.7977	Casi nula similitud de nicho con diferencia significativa contra el modelo de distribución nulo
<i>C. p. pricei</i> SMOc norte – <i>C. p. pricei</i> SMOc sur	0.4547	0.5902	0.7323	0.8289	Alta similitud de nicho con diferencia significativa contra el modelo de distribución nulo

8.3. Historia evolutiva de *Crotalus pricei*

De los 19 individuos de *C. pricei* encontrados en los muestreos en campo se pudo realizar satisfactoriamente extracción de ADN genómico, sin embargo, los resultados de la PCR mostraron amplificación de las regiones de interés (ND4 y ATP8 y 6) solamente en 15 muestras, las cuales se seleccionaron para ser mandadas a secuenciar. A partir de las secuencias obtenidas se realizó una revisión de los cromatogramas, 10 de estos presentaban secuencias limpias y con buena señal para ambas regiones mitocondriales (ocho individuos de Aguascalientes, uno de Zacatecas y uno de San Luis Potosí). Por lo tanto, esas fueron las secuencias elegidas para realizar la construcción del árbol filogenético de *C. pricei* junto con las secuencias obtenidas a través de GenBank correspondientes a los siguientes números de catálogo: ROM 42628, ROM 42629, ROM 42630, ROM 45252, ROM 45253, ROM 45254, ROM 45255, ROM 45256, ROM 45258, ROM 46743, ROM 46751, ROM 46755, ROM 46757, ROM 47074, ROM 47076, ROM 47078, ROM 47082, ROM 47084, ROM 47085, ROM 47086, ROM 47088, ROM 47089, ROM 47091, ROM 47093, ROM 47095, ROM 47099, ROM 47102, ROM 47105, ROM 47108, ROM 47109, ROM 47110, ROM 47111, ROM 47113, ROM 47114, ROM 47115, ROM 47117, ROM 47133, ROM 47135, ROM 76751, ROM 76753. De esta manera, se obtuvo una matriz de datos que consistía en 1,350 caracteres (700 correspondientes a la región ATP 8 y ATP 6, mientras que 650 correspondieron a la región ND4).

El análisis de máxima verosimilitud resultó en un árbol con una topología con buen soporte Bootstrap en la mayoría de las ramas (Fig. 15). En este se pueden observar cuatro grupos principales de acuerdo con diferentes poblaciones de *C. pricei*, todo el clado en donde se coloca *C. pricei* tiene un soporte de 100%. Dentro de este clado se observan dos grandes grupos, en la parte superior de la figura 15, se encuentran los individuos correspondientes a las poblaciones de *C. p. pricei* distribuidas en Arizona y Chihuahua, que representan la parte norte de la SMOc y cuenta con un soporte de 99%. En la parte inferior de la figura 15, distinguimos otra bifurcación; dentro de ésta, primero encontramos a los individuos de *C. p. pricei*

correspondientes a las poblaciones con distribución en Durango en la región central de la SMOc, con un soporte de 82%. Por otro lado, se encuentran los dos últimos grupos geográficos de *C. pricei*, el primero es el correspondiente a los individuos de *C. p. miquihuanus* correspondientes a las poblaciones con distribución en Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí en la SMOOr, con un soporte de 69%. Por último, se observan las poblaciones aisladas de *C. pricei* en Aguascalientes, Jalisco y Zacatecas, representando la región sur de la SMOc, con un soporte de 59%. Cabe mencionar que estos dos últimos grupos geográficos se encuentran agrupados en un clado que cuenta con un soporte de 78%.



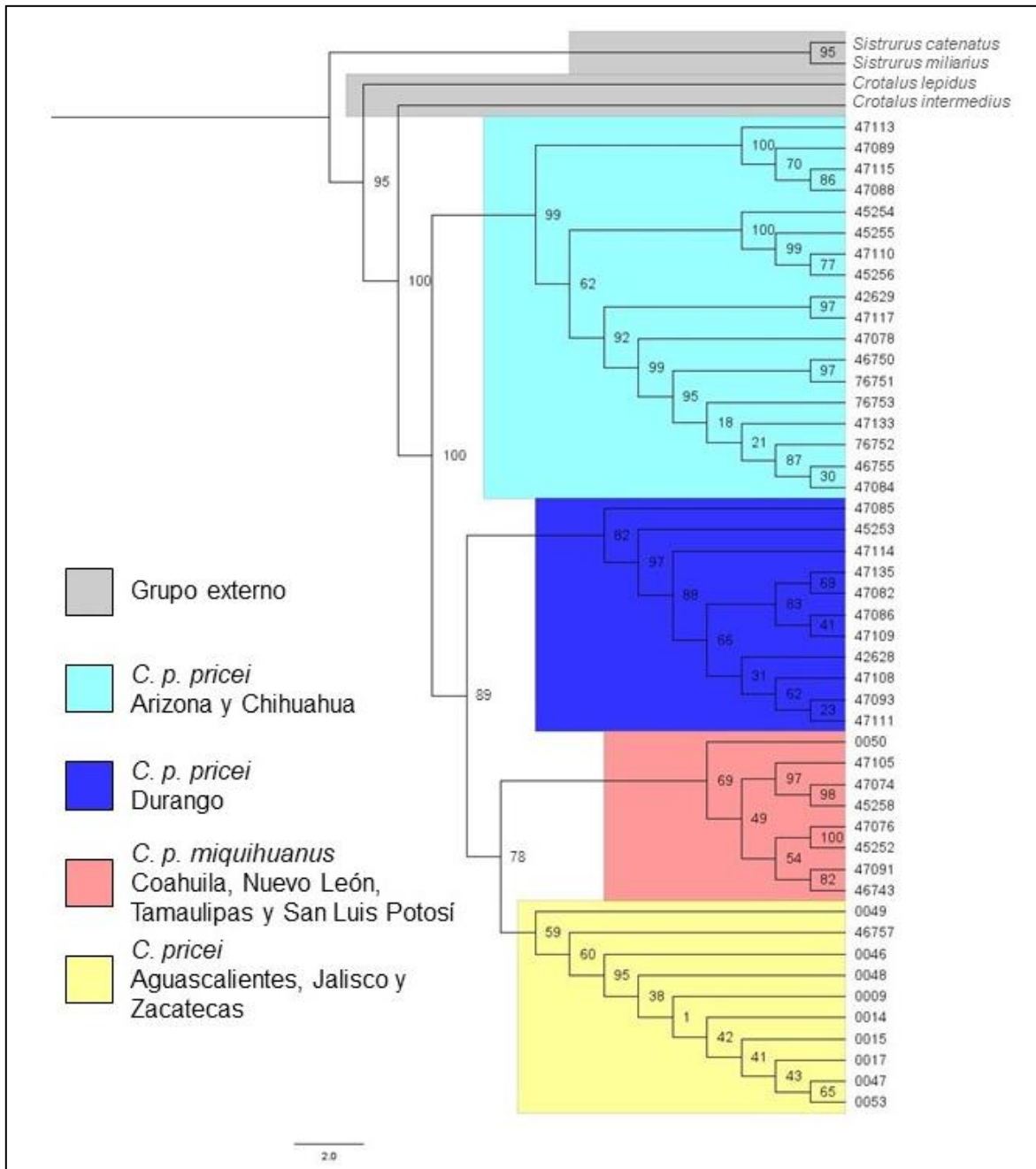


Figura 15. Cladograma que muestra las relaciones evolutivas de las diferentes poblaciones conocidas de *C. pricei* a lo largo de su área de distribución. Se observan cuatro grupos delimitados por entidades geográficas: Arizona y Chihuahua (SMOc norte), Durango (SMOc central), Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí (SMOr), y Aguascalientes, Jalisco y Zacatecas (SMOc sur).

9. DISCUSIÓN

9.1. Ecología de la Serpiente de cascabel de manchas gemelas (*Crotalus pricei*) en el extremo sur de su área de distribución

9.1.1. Esfuerzo de muestreo y tasa de detección

Este proyecto representa el primer trabajo que conjunta diferentes aspectos sobre la biología de *C. pricei* en el estado de Aguascalientes. El primer espécimen de Aguascalientes fue colectado en 1953 por E. T. Hooper (UMMZ – 110878) y el segundo fue colectado por I. E. Pinedo-Rodríguez en 1983 (UANL – 4277); Campbell y Lamar (1989) fueron los que describieron las características de estos ejemplares. Pasaron casi 10 años para que el tercer espécimen fuera colectado en el estado (V. Villalobos-Sánchez, 1998, UAA – REP – 290). Se tienen los registros de dos individuos más, uno obtenido en 2004 por H. Bárcenas y otro en 2009 por R. Valencia-Villegas; no obstante, no se colectaron ejemplares. El último espécimen registrado antes de este estudio fue encontrado por R. Reyes-Ardit en 2011 (UAA – REP – 377). Lo anterior, pone en evidencia la dificultad en encontrar individuos de esta especie, a pesar de realizar esfuerzos intensivos para tratar de encontrar más ejemplares en los últimos años (Sigala-Rodríguez, 2008).

Considerando la poca cantidad de registros históricos, resultó sorprendente el hecho de haber registrado 19 individuos, dado que la especie es considerada como una de las más raras en Aguascalientes (Carbajal-Márquez & Quintero-Díaz, 2016) (Vázquez-Díaz y Quintero-Díaz, 2005; Sigala-Rodríguez, 2008). Contrastando con estos datos, Armstrong y Murphy (1979) comentaron que *C. pricei* es probablemente una de las especies más comunes a mayores elevaciones en su área de distribución, algo que es consistente con nuestro esfuerzo de muestreo concentrado en áreas elevadas (mayor a 2,500 m s.n.m.) con presencia de pinos y encinos. Otra idea importante para tomar en cuenta es que probablemente el cambio climático y la presión antropogénica podrían estar restringiendo a las poblaciones de *C. pricei* a áreas cada vez más elevadas, tal como ha sido el caso para otras especies de serpientes (Davis et al., 2015); de aquí surge la razón del por qué otras especies de serpientes de cascabel (probablemente más tolerantes a disturbios) tienden a ser

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

más comunes a menores elevaciones, mientras que *C. pricei* lo es a mayores elevaciones. Durante nuestro periodo de muestreo, se encontraron casi el mismo número de individuos de *C. lepidus* (24) que de *C. pricei* (19) y sólo dos ejemplares de *C. molossus*. Sin embargo, se esperaba encontrar una mayor cantidad de las otras dos especies y muy pocas de *C. pricei*, ya que las primeras suelen ser más comunes en zonas más bajas dentro del mismo sitio de estudio (Vázquez-Díaz y Quintero-Díaz, 2005). Se asume entonces que los bajos números de registros de *C. pricei* se deben a que Aguascalientes representa el límite sur de su rango de distribución, por eso es normal que no sea tan común como se reporta en otras áreas en donde se distribuye (Gaston, 2000; Prival & Schroff, 2012). Adicionalmente, la población de *C. pricei* de Aguascalientes aún sigue siendo poco conocida en contraste con las poblaciones que se encuentran al límite norte de su área de distribución donde esta especie es más abundante y se le puede encontrar en cuatro diferentes sistemas montañosos (Prival & Schroff, 2012).

Dentro de Monte Grande se muestrearon ocho diferentes sitios potenciales para localizar nuestra especie de interés y en seis de ellos se pudo encontrar al menos un individuo de *C. lepidus*; sin embargo, todos los individuos de *C. pricei* reportados fueron encontrados en uno de los ocho sitios muestreados dentro de un área de 10 ha. Entonces, este tipo de distribución hace muy difícil estimar el tamaño de población de *C. pricei* en un área de estudio, ya que tienden a concentrarse en poblaciones semidiscretas en lugar de estar uniformemente distribuidas a través del hábitat (Prival & Schroff, 2012). Estos resultados también son consistentes con el pequeño ámbito hogareño reportado para esta especie, que es de 0.16 ha para hembras y de 2.29 ha para machos (Prival et al., 2002). El esfuerzo necesario para encontrar *C. pricei* en Monte Grande (55.5 horas de búsqueda por serpiente) es también evidencia de los bajos niveles de abundancia de la especie en el área de estudio, particularmente si lo comparamos con el estudio de Prival y Schroff (2012) en las Montañas Chiricahua de Arizona, en donde ellos reportan una tasa de encuentro de una serpiente por cada ocho horas de búsqueda en uno de sus sitios de estudio y 4.7 horas de búsqueda por serpiente en el segundo.

Este tipo de información es importante para especies con baja tasa de detección, ya que puede ayudar a diferenciar entre rareza verdadera o un mal diseño de muestreo (Shelton et al., 2017), e incrementa la importancia de realizar estudios locales en lugar de generalizar y extrapolar la información que tenemos de las especies en otros sitios de su distribución. En el caso de *C. pricei* de Aguascalientes, se puede confirmar que en realidad es una especie rara en la entidad, debido a la diferencia entre las tasas de detección de este estudio y lo reportado por Prival y Schroff (2012). Sin embargo, esta población sigue siendo monitoreada con el fin de confirmar incrementos o decrementos en la tasa de detección considerando las condiciones específicas que se presentan año con año.

9.1.2. **Morfología y estructura poblacional**

Las características morfológicas de los individuos reportados en este estudio son similares a lo que ya se ha reportado en anteriores ocasiones para la especie de interés; sin embargo, se pueden resaltar algunos rasgos interesantes. La media de LHC obtenida es levemente menor a lo reportado por Prival y Schroff (2012), aunque esto podría deberse a un sesgo provocado por la diferencia entre los tamaños de muestra ($n = 304$ vs $n = 24$), probablemente, con un número de muestra semejante se podría confirmar esta diferencia de medidas. El dimorfismo sexual en *C. pricei* era esperado, con machos teniendo colas de mayor longitud y más cantidad de ES. Prival et al. (2002) reportaron que, en la mayoría de las especies de serpientes de cascabel, los machos tienden a ser de mayor tamaño que las hembras. Este no fue el caso para los individuos de *C. pricei* de Aguascalientes, aunque los machos resultaron ser de mayor tamaño que las hembras en LT, esta diferencia no es muy pronunciada y no mostró una diferencia estadística significativa. Lo anterior también fue confirmado con el índice SSD de -0.005 demostrando que la diferencia de tamaño entre sexos no es muy amplia, y esto es consistente con los resultados de Shine (1994) para nuestra especie de interés, aunque es importante señalar que estos resultados deben ser interpretados con precaución debido al bajo número de individuos reportados en el presente estudio.

En los conteos de escamas de los especímenes de *C. pricei* de Aguascalientes, no se encontraron diferencias importantes comparadas con otras poblaciones de ambas subespecies de *C. pricei*. Es importante señalar esto, ya que las diferencias morfológicas entre individuos de diferentes poblaciones pueden ser indicadores de una adaptación a diferentes tipos de presiones, lo cual podría indicar que se están llevando a cabo procesos de especiación (Jezkova & Wiens, 2018). Adicionalmente, los organismos que presentan bajos niveles de movilidad o ámbitos hogareños reducidos son particularmente útiles para estudios de especiación, ya que sus poblaciones tienden a estar más expuestas a aislamiento geográfico, y esto como consecuencia niveles bajos de flujo génico y divergencia poblacional (Davis et al., 2015; Schield et al., 2018). Esto coincide con lo observado en las poblaciones *C. pricei*, las cuales se encuentran discontinuamente distribuidas, restringidas a hábitats montañosos a través de México. Entonces, bajo este escenario de aislamiento geográfico, diferentes poblaciones de la misma especie se hacen alopátricas y la interrupción en el flujo génico puede llevar a la especiación (Jezkova & Wiens, 2018). Las razones antes descritas pueden ser la respuesta a la ausencia de características en común entre los diferentes grupos geográficos de *C. pricei* y a que las diferencias que existen no sean tan marcadas, lo cual puede deberse a su vez a la historia biogeográfica que ha experimentado esta especie. Aunque estas poblaciones no representen especies diferentes, se observan algunas diferencias entre los individuos de poblaciones aisladas entre sí (Bryson et al., 2011a).

Actualmente se conocen bien algunas características que nos ayudan a diferenciar entre *C. p. pricei* y *C. p. miquihuanus* (Axtell & Sabath, 1963; McCranie, 1980). Algunas de estas características son que *C. p. pricei* tiende a tener un mayor número de EV que *C. p. miquihuanus*, y hembras de *C. pricei* de Aguascalientes se acercan más a los valores reportados para *C. p. miquihuanus*; mientras que, los machos tienen valores similares a *C. p. pricei*. El número de EI no resultó ser de valor diagnóstico, ya que había conteos en común para todos los grupos. La relación entre LC:LT de los individuos de Aguascalientes (0.098), resultó intermedia entre los valores conocidos para *C. p. pricei* (0.080; 0.084) y *C. p. miquihuanus* (0.114).

Axtell y Sabath (1963) mencionaron que la relación LC:LT puede ser el mejor carácter diagnóstico para poder diferenciar entre las subespecies de *C. pricei*; pero los individuos de *C. pricei* de Aguascalientes presentan un valor justamente intermedio entre los valores conocidos para ambas subespecies, por lo que este carácter tampoco resultó útil para saber a cuál de las dos subespecies pertenece la población de Aguascalientes. Finalmente, las manchas dorsales de los especímenes colectados en este proyecto se encuentran generalmente fusionadas y, aunque este carácter es común en individuos de *C. p. miquihuanus*, esta característica es muy subjetiva para diferenciar entre subespecies de *C. pricei* (Axtell y Sabath, 1963). Aunque la comparación de los caracteres antes mencionados no resultó del todo útil para definir la subespecie a la que pertenecen los individuos de Aguascalientes, se pudo observar que estos son morfológicamente más similares a *C. p. miquihuanus*, que a *C. p. pricei*. Sin embargo, al no ser datos concluyentes, la población de *C. pricei* en Aguascalientes quedaría de manera tentativa taxonómicamente dentro de la subespecie *C. p. pricei*, siguiendo la clasificación geográfica impuesta históricamente para la especie ya que se distribuye en la SMOc (Bryson et al., 2011a; McCranie, 1980).

9.1.3. Patrones de actividad y uso de hábitat

Las *C. pricei* fueron generalmente encontradas en pendientes con arbustos y hojarasca, todas ellas en sitios cercanos a arroyos de agua temporales. Una de las razones del por qué se encontraron en este tipo de sitios puede ser que los arroyos temporales arrastran y acumulan la hojarasca que las serpientes utilizan como refugio. Aunque la importancia de los cuerpos de agua para animales es bien conocida, es raro que se consideren importantes cuando se trata de serpientes de cascabel; aunque su relevancia se ha reportado para otros grupos de serpientes, ya que afecta directa e indirectamente a la disponibilidad de alimento y refugio (Johnson et al., 2016; Roth, 2005).

En otras áreas de la SMOc, la presencia de *C. pricei* está usualmente asociada a sitios rocosos o a fondos de cañadas, pero también se les suele

encontrar en valles de montaña y tomando el sol en zonas abiertas o desplazándose entre rocas o vegetación (Armstrong & Murphy, 1979; Bryson et al., 2011a; Grabowsky & Mackessy, 2019; Prival et al., 2002), lo cual no corresponde totalmente con lo reportado durante las búsquedas correspondientes a este estudio. Durante los muestreos realizados a lo largo de este proyecto solo se encontraron dos individuos de *C. pricei* en áreas rocosas, a pesar de que se realizaron importantes esfuerzos de muestro en este tipo de hábitat; *C. lepidus* fue la especie más común en este tipo de lugares rocosos. Por el contrario, la mayoría de los individuos de *C. pricei* se encontraron reposando sobre hojarasca, algo que no había sido reportado o especificado en estudios previos de la especie. Lo anterior resalta la importancia de conocer las características específicas de la historia de vida de las diferentes poblaciones de una misma especie (Beaupre, 1995; Mata-Silva et al., 2018), ya que en otras partes de su distribución *C. pricei* se encuentra en pendientes rocosas (Armstrong & Murphy, 1979; Prival et al., 2002). Asumir que las preferencias de las especies van a ser siempre las mismas en todas las regiones en donde éstas se distribuyen, puede resultar en reportes de ausencias falsas (Burns et al., 2019; Shelton et al., 2017); de esta manera, se incrementa la dificultad de detectar las especies en diferentes tipos de hábitats a lo largo de su rango de distribución (Baxley et al., 2011; Triska et al., 2017).

Asimismo, la descripción de la vegetación asociada a *C. pricei* reportada en este proyecto incrementa nuestro conocimiento en cuanto a los diferentes tipos de hábitat en donde esta especie puede ser encontrada, especialmente en la región sur de su área de distribución. Esto puede ser esencial para proponer estrategias de manejo efectivas para apoyar en la conservación de esta especie (Burns et al., 2019; DeGregorio et al., 2011), ya que al tener esta información será más asequible identificar zonas que cumplan las características de hábitat necesarias para la presencia de *C. pricei* y de esta manera se podrían focalizar esfuerzos en áreas que cubran con dichas características. Aunque el tipo de hábitat coincide con lo reportado en estudios previos (bosque de pino-encino), las preferencias de microhábitat varían con lo reportado por Prival y Schroff (2012), ya que mencionan

que los individuos se encontraban siempre sobre sitios rocosos y usaban como refugio las grietas presentes en los mismos. Mientras que, en este estudio se encontró que las serpientes suelen usar como refugio la hojarasca de la vegetación presente en el sitio. Adicionalmente, la mayoría de las serpientes encontradas estaban en sitios donde la cobertura vegetal era baja, el valor más alto registrado fue de 11.8%. Esto es consistente con los resultados obtenidos por Johnson et al. (2016), quienes indicaron que las serpientes de cascabel tienden a ser más frecuentes en sitios donde los niveles de cobertura vegetal son bajos.

Durante los muestreos en campo en 2019 y 2020, se encontraron 12 y siete especímenes respectivamente. Aunque las condiciones ambientales en el sitio de estudio fueron generalmente favorables debido a la presencia constante de arroyos temporales, estos años fueron los más secos de los cinco años previos (CONAGUA, 2020). De acuerdo con los resultados publicados por Prival y Schroff (2012), el mejor predictor para la detectabilidad de *C. pricei* es el nivel de humedad, ya que observaron que en años con niveles altos de humedad era más probable encontrar individuos. Esto también podría explicar el hecho de que todas las serpientes se encontraron cerca de arroyos de agua temporales, ya que este tipo de lugares conservan niveles más altos de humedad. Tomando esto en cuenta, se puede asumir que en años más húmedos en Aguascalientes podríamos localizar un mayor número de individuos de *C. pricei*.

De esta manera, el número de individuos que encontramos en algunos de los años más secos en Aguascalientes, comparado con esfuerzos de muestreo previos en los que no se reportaron encuentros después de 2,500 horas de búsqueda entre 1998 y 2008, podrían ser una buena señal del estado de conservación de esta especie en la localidad; este tipo de datos cobran mayor relevancia cuando se trata de especies raras (Holycross & Goldberg, 2001; Sigala-Rodríguez, 2008), como *C. pricei*. Sin embargo, estas especulaciones deben ser puestas a prueba mediante comparaciones de la abundancia de la especie en años subsecuentes, tomando en cuenta otras variables además de la humedad. Por ejemplo, se pueden considerar la disponibilidad de presas, así como competencia y hábitat disponible, ya que estos

factores suelen ser importantes para determinar la abundancia de individuos en una población (Prival & Schroff, 2012; Tucker et al., 2021). Relacionado a esto, Smith et al. (2019) documentaron que en años con bajos niveles de humedad, los niveles poblacionales de *Agkistrodon contortrix* (representante del grupo hermano de las serpientes de cascabel) disminuyen considerablemente, ya que este fenómeno afecta a la cantidad de crías que producen las hembras de esta especie, sin embargo, estudios como este no se han realizado en serpientes de cascabel. Casos como el anterior hacen evidente la importancia de continuar el monitoreo de la población de *C. pricei* para evaluar sus tipos de respuestas y adaptaciones ante años con bajos y con altos niveles de humedad.

Sobre los patrones de actividad, se encontraron 15 de los 19 individuos entre los meses de julio y septiembre. El encuentro más temprano se registró después de las 1,000 h y el intervalo de tiempo en el que más individuos se registraron fue entre 1,501 – 1,600 h (n = 6), seguido de 1,201 – 1,300 h (n = 5). Prival y Schroff (2012) reportaron que esta especie de serpiente es más activa durante el verano, principalmente a finales del mes de julio, esto coincide con lo observado en nuestro estudio. Ellos también señalaron que las serpientes inician sus actividades entre 0800 – 0900 h, pero en este estudio no se observaron individuos durante ese intervalo de tiempo. Axtell y Sabath (1963) reportaron un individuo de *C. p. miquihuanus* a las 1,100 h en un día soleado en julio de 1961; este reporte único coincide con el intervalo de tiempo en el que se reportan los avistamientos en este trabajo, pero no coincide con ninguno de los picos de actividad observados. Hasta la fecha no existen reportes de actividad nocturna para esta especie en la literatura y durante los muestreos no se reportaron encuentros nocturnos de *C. pricei*, a pesar de que sí se realizaron esfuerzos de muestreo durante la noche.

9.1.4. Reproducción y comportamiento

Durante este estudio se registró una hembra dando a luz a cuatro neonatos el 12 de agosto de 2020, y otra hembra depositó seis huevos infértiles el 28 de agosto de 2020, el segundo evento representa la primera vez que se registra este

fenómeno para *C. pricei*. Aunque existe información sobre la reproducción de *C. pricei*, esta es la primera vez que se documenta para individuos de Aguascalientes. Los eventos anteriormente mencionados, son consistentes con observaciones y reportes previos; el apareamiento ocurre generalmente entre agosto y septiembre y el alumbramiento ocurre en verano del año subsecuente con tamaños de camada que varían entre tres y ocho neonatos (Armstrong & Murphy, 1979; Goldberg, 2000; Liner y Chaney, 1986; Prival & Schroff, 2012). Sobre los huevos infértiles, Pérez-Mendoza et al. (2018) reportaron un caso similar para *C. triseriatus*; sin embargo, de momento no existe una explicación posible de la razón por la cual sucede esto. Como se mencionó previamente, las serpientes encontradas no demostraron comportamientos agresivos, al contrario, solo trataban de escapar o esconderse entre la hojarasca; este comportamiento coincide con la caracterización reportada para *C. pricei* en donde se describe como una serpiente tranquila y tímida (Armstrong & Murphy, 1979). Este comportamiento puede estar relacionado con la naturaleza de caza en emboscada de las serpientes de cascabel, ya que algunos estudios han reportado que el comportamiento pasivo de estos animales les permite capturar presas de manera más eficiente (Reinert & Rupert, 1999; Kardong & Smith, 2002).

9.1.5. Conservación

Ante la acelerada crisis de biodiversidad actual, es necesario entender la forma en que las especies sobreviven en poblaciones fragmentadas, marginales o en la periferia de su distribución a través de largos periodos de tiempo, a pesar de los impactos negativos en el tamaño de población y estructura genética producida a partir de estas presiones (Gaston, 2000; Burbrink, 2010). De esta manera, la información acerca de la ecología de cualquier especie es crucial para elaborar planes adecuados que promuevan su conservación (Seigel, 1986; Prival et al., 2002). La información presentada en este trabajo entonces es importante para comenzar a entender las estrategias de historia de vida y los requerimientos de conservación para *C. pricei* en el extremo sur de su área de distribución. Identificar poblaciones que podrían estar en proceso de desaparecer o que tienen altos niveles

de riesgo de extinción nos permite realizar esfuerzos de conservación más efectivos antes de que comience el declive de la población de cualquier especie. Este tipo de información está bien documentada en la gran mayoría de los grupos de vertebrados, con la notable excepción de los reptiles, incluyendo la mayoría de las especies de serpientes de cascabel (Campbell & Flores-Villela, 2008; Shelton et al., 2017); esto es probablemente debido a la poca simpatía que tiene la población en general por este tipo de individuos.

En el área de estudio seleccionada para este proyecto, se observaron directamente en las salidas a campo amenazas potenciales (presencia de ganado y motociclistas de montaña) que ponen en peligro la estabilidad de esta población de *C. pricei*. Anteriormente ya se ha reportado que esta especie responde negativamente a presiones antropogénicas (Privall & Schroff, 2012). No debemos dejar de lado también, el peligro que representa la actual situación de cambio climático en la que nos encontramos, la cual ya se ha documentado que afecta severamente a serpientes de cascabel que habitan en altitudes elevadas (Davis et al., 2015). Entonces, estudios adicionales son necesarios para entender de mejor manera el estatus de conservación y las amenazas a las que se enfrentan los individuos de esta población de *C. pricei* para ser capaces de proponer estrategias de conservación efectivas.

Crotalus pricei es una especie que se encuentra protegida en México por la NOM-059-Semarnat-2010 (Semarnat, 2010). La IUCN la enlista en la categoría de Preocupación menor (Hammerson et al. 2007), pero Wilson et al. (2013) consideran que es una especie con alto riesgo de vulnerabilidad de acuerdo con índice EVS con un valor de 14 sobre 19, lo cual la convierte en una especie altamente vulnerable para este indicador. Aunado a esto, la información actual sobre la población de *C. pricei* en Aguascalientes añade soporte al argumento de que esta especie debería ser considerada como vulnerable. Además, las serpientes de cascabel se encuentran frecuentemente amenazadas por los seres humanos, debido al miedo que ellas representan por el hecho de poseer veneno. Sin embargo, para el caso de

C. pricei hace falta aún más información y estudios de las diferentes poblaciones para poder tener un criterio más acertado en la propuesta sobre su estado de conservación general.

9.2. Modelado de nicho ecológico de *Crotalus pricei* y sus subespecies

Para obtener modelos confiables es necesario disponer de información de buena calidad, especialmente hablando de los registros geográficos, por lo que se dedicó especial atención al procesamiento de los puntos de presencia obtenidos. Prueba de esto es el hecho de que se encontraron cerca de 1500 registros de *C. pricei* en todas las bases de datos revisadas, pero al final solo quedaron 70 de ellos debido a la gran cantidad de registros duplicados y sin información confiable, como coordenadas, localidades, fechas de registro, etc. A pesar de que *C. pricei* es una serpiente relativamente bien conocida en varias partes de su distribución, aún existen vacíos de información acerca de su ecología y hacen falta registro en zonas donde la especie aún no ha sido reportada; esto ayudaría a evitar el sesgo que causan las localidades en donde ya se tiene bien documentada la presencia de la especie (Prival et al., 2002). Es evidente que la cantidad de registros finales se redujo bastante con respecto a la base de datos inicial, sin embargo, esto fue necesario debido a que la limpieza y la obtención de datos precisos es muy importante en este tipo de estudios, e incluir datos de mala calidad, aumenta la probabilidad de identificar o predecir afiliaciones de hábitat incorrectas (Triska et al., 2017). Para minimizar estos errores, es importante diseñar muestreos que se enfoquen en áreas nuevas idóneas para localizar a la especie y evitar los sitios que no brindan nueva información o registros (Burns et al., 2019). Todas estas consideraciones se tomaron en cuenta al obtener los registros geográficos de *C. pricei*, esperando que los resultados obtenidos en este estudio sean precisos y confiables (Encarnación-Luévano et al., 2021; Aiello-Lammens et al., 2015; Guevara et al., 2018).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

A partir de la matriz de correlación utilizada para seleccionar las capas ambientales para construir los modelos, se priorizaron aquellas variables relacionadas con factores de humedad, ya que esa es la variable que presenta más correlación con la abundancia de *C. pricei* (Prival & Schroff, 2012). Se realizó esta selección buscando incluir aquellas variables que hacían mejor sentido biológico para la especie y de esta manera poder obtener predicciones más realistas y acertadas (Guevara et al., 2018; Phillips et al., 2006). La mayoría de las variables seleccionadas en este proyecto también fueron elegidas por Bryson et al. (2011a) para hacer una reconstrucción del nicho de *C. pricei*; sin embargo, menos variables fueron seleccionadas para este estudio debido a que algunas de ellas presentaban correlación, muy probablemente por la diferencia de registros utilizados entre un estudio y otro.

En cuanto a la selección del área de calibración, la cual fue delimitada por la extensión de la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre Oriental y la región central de México, se realizó tomando en cuenta lo establecido por Peterson (2011), en donde menciona que el área de calibración debe contener el sitio que históricamente ha sido accesible para la especie o grupo de especies, ya que de lo contrario, si está área es de mayor o menor tamaño, se pueden hacer interpretaciones incorrectas. Asimismo, el área delimitada para este estudio coincide con lo reportado por Bryson et al. (2011a), en donde se observa que el área de distribución histórica de *C. pricei* incluye los dos sistemas montañosos antes mencionados y que además en un pasado se encontraban conectados mediante un corredor biológico de características ambientales similares presente en el centro de México. Esta área de calibración permite entonces discernir entre el nicho fundamental de alguna especie y su nicho realizado (Encarnación-Luévano et al., 2021).

Una evidencia clara de que el proceso de calibración de modelo y selección de parámetros y variables fue realizado de manera correcta, es el hecho de que todos los modelos obtenidos arrojaron valores de AUC mayores a 0.90; esto indica que los modelos son confiables en las predicciones mostradas, tanto en presencia como en ausencia de la especie (Cobos et al., 2019). Es importante señalar lo

anterior, ya que la evaluación de los modelos es una de las partes más importantes al reportar los resultados, aunque muchas veces se omite este proceso (Valavi et al., 2019).

Acerca de los modelos, el resultado obtenido para *C. pricei* nos muestra una distribución conocida y similar a lo que ya se conocía previamente (Bryson et al., 2011a; McCranie, 1980), con grandes zonas de distribución a lo largo de la SMOc y la SMOr. También se pueden destacar las pequeñas áreas aisladas en donde se predice la distribución de *C. pricei*, ya que estas zonas podrían albergar poblaciones aún no registradas; por lo tanto, este modelo podría ser útil para planificar muestreos y estimar la detectabilidad de la especie en diferentes zonas de su distribución (Burns et al., 2019). La delimitación de la zona de distribución potencial para *C. pricei* resulta más confiable que en modelos anteriores, en donde solamente se tomaban en cuenta el 10% de los pixeles ambientales presentes en la zona de calibración (Bryson et al., 2011a). Por el contrario, para este modelo se tomaron en cuenta todos los pixeles ambientales disponibles en el área de calibración, y esto permite una mejor representación de las condiciones ambientales ideales para la presencia de *C. pricei* (Guevara et al., 2018; Guevara & León-Paniagua, 2019). Otro aspecto que vale la pena resaltar es el hecho de que el modelo estima una posible conexión entre las poblaciones de *C. pricei* de Aguascalientes con las de la SMOr a través de la parte central de San Luis Potosí (Fig. 9), mientras que, en el modelo propuesto por (Bryson et al., 2011a) esta conexión entre poblaciones del Este y del Oeste se visualiza a través del norte de Zacatecas. Esto muy seguramente se debe a los diferentes parámetros utilizados para construir modelos. La mayoría de los modelos se construyen utilizando los parámetros por defecto en cada una de las fases del modelado, pero en los modelos actuales se ha comprobado que ajustar los parámetros de acuerdo con los requerimientos de cada proyecto ayuda a mejorar el resultado final (Muscarella et al., 2014).

Además, los modelos obtenidos para los diferentes grupos de subespecies o subpoblaciones de *C. pricei* muestran muchos aspectos interesantes a tomar en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

cuenta: los modelos resultantes para las subespecies (*C. p. pricei* y *C. p. miquihuanus*) mostraron diferencias muy similares a las reportadas anteriormente por Bryson et al. (2011a). El modelo de *C. p. pricei* funciona bien al delimitar la zona de distribución de la especie a lo largo de la SMOc, incluyendo la zona de Aguascalientes y una pequeña parte de la distribución esperada para la otra subespecie; por otro lado, el modelo de *C. p. miquihuanus* hace un buen trabajo en delimitar la zona de distribución potencial de la subespecie en la SMOr, mientras que no muestra predicción de distribución en prácticamente ninguna zona en la que se ha registrado *C. p. pricei*, con excepción de algunas zonas en Arizona. Esta diferencia se puede entender, ya que los sistemas montañosos en los que se distribuye la especie se encuentran separados por una barrera de varios kilómetros de hábitat desértico, en donde la vegetación más abundante son los matorrales xerófilos (Bryson et al., 2011b). Lo anterior promueve que los hábitats específicos en donde se distribuyen las subespecies presenten modificaciones importantes en cuanto a su estructura o condiciones ambientales particulares, las cuales pueden tener efecto tanto a gran escala como a escalas más reducidas (Encarnación-Luévano et al., 2021). Particularmente, en el caso de la SMOc y la SMOr, estas se encontraban conectadas mediante un corredor en el centro de México, que presentaba las mismas condiciones ambientales que estos sistemas montañosos presentan hoy en día (McDonald, 1993; Metcalfe et al., 2000). Este escenario apoya la idea de la conexión entre las diferentes subespecies de *C. pricei* a través del centro del país.

Con respecto a las subpoblaciones elegidas para modelar, se obtuvieron los resultados esperados con respecto a las distribuciones propias de cada subespecie; sin embargo, en algunos grupos se observan también situaciones que contradicen un poco lo esperado al momento de predecir distribuciones entre subespecies. El modelo de *C. p. pricei* SMOc norte es el que predice de mejor manera la distribución general de toda la especie, ya que abarca de manera completa la SMOc, gran parte de la SMOr (incluso más que en el modelo de *C. p. pricei* completo) e incluso pequeñas poblaciones aisladas de la SMOc sur (incluyendo Aguascalientes). Esto

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

puede ser debido a que esta población posee una mayor área de distribución que incluye una gran variedad de hábitats y, por lo tanto, el modelo acepta distribuciones más amplias con respecto a los demás modelos (Guevara et al., 2018). Por el contrario, el modelo de *C. p. pricei* SMOc sur solamente arroja predicciones de hábitat idóneos en su zona de distribución y una pequeña porción de la SMOc norte. Esto puede ser debido a que el área donde se distribuyen estas poblaciones no es heterogénea y presenta una variedad constante de condiciones ambientales dando lugar a un nicho más específico (Guevara et al., 2018).

Con el fin de evaluar la veracidad de los modelos en condiciones reales, se visitaron dos sitios (Valparaíso, Zacatecas y Real de Catorce, San Luis Potosí) en los que todos los modelos coincidieron prediciendo la distribución de *C. p. pricei* y *C. p. miquihuanus*, respectivamente, y en donde la presencia de la especie era incierta. Como resultado de estos muestreos, se localizó un individuo de *C. pricei* en cada una de las localidades elegidas con base en los resultados del modelo. En la mayoría de los casos, la creación de modelos de nicho ecológico únicamente se queda hasta la etapa predictiva y son pocos los estudios que tratan de confirmar en condiciones reales lo obtenido por sus modelos; lo cual puede ser crucial al momento de realizar planes de conservación o de muestreo de especies, sobre todo aquellas que presentan distribuciones restringidas o poco conocidas (Burns et al., 2019). Aunque no todas las localidades mostradas por los modelos fueron muestreadas, lo anterior confirma la confiabilidad de los modelos obtenidos, porque, además de predecir de manera correcta la distribución conocida para la especie (McCranie, 1980), también predicen zonas en donde la especie es poco conocida o tiene distribución restringida, como es el caso para Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes (Carbajal-Márquez & Quintero-Díaz, 2016; Lemos-Espinal et al., 2018).

En cuanto al análisis de similitud de nichos (Tabla 4), todos los grupos comparados, excepto uno, presentaron bajos niveles de similitud de hábitat, y todos los grupos presentaron diferencias significativas de nicho en comparación al modelo de nicho nulo. La teoría de conservación de nichos establece que las especies que

se encuentran cercanamente relacionadas en términos evolutivos van a presentar nichos conservados y similares entre las diferentes poblaciones de esta especie y que el nicho ecológico varía muy poco entre ellas (Encarnación-Luévano et al., 2021; Warren et al., 2008). Sin embargo, las poblaciones de las subespecies de *C. pricei* se encuentran separadas desde hace aproximadamente 2.5 millones de años en sistemas montañosos que les ofrecen diferentes condiciones a las cuales adaptarse (Bryson et al., 2011b). Este tipo de variaciones a escalas de gran tamaño pueden parecer imperceptibles, pero a escalas más finas, el cambio en condiciones ambientales puede ser causa de una plasticidad fenotípica dando respuesta a una adaptación local por las presiones ambientales específicas de cada lugar (Beaupre, 1995).

El análisis de conservación de nicho también muestra diferencias para poblaciones y especies que presentan requerimientos ambientales muy específicos o que tienen distribuciones restringidas (Warren et al., 2008). Lo anterior se puede confirmar con lo observado en los modelos de nicho y en los análisis de similitud de nicho, ya que cada una de las subpoblaciones de *C. pricei* muestra distribuciones bien definidas para su propio grupo, pero fallan al tratar de predecir la distribución de los grupos restantes. En estos casos la conservación de nicho se puede considerar como uno de los factores que causan alopatría entre las especies que subsecuentemente (debido a la suma de más factores) puede derivar en especiación (Jezkova & Wiens, 2018). Este fenómeno ya ha sido observado en otros grupos de serpientes; por ejemplo, Beaupre (1995) reportó diferencias ecológicas importantes en dos poblaciones de *C. lepidus* sometidas a diferentes condiciones climáticas y Wooten & Gibbs (2012) demostraron que la divergencia de nicho pudo ser la causa principal de especiación en serpientes del género *Sistrurus*. Por otro lado, Petersen et al. (2019) encontraron que las condiciones climáticas afectan la tasa de actividad de diferentes poblaciones de *Crotalus horridus*, pero no encontraron una evidencia de variación morfológica en las diferentes poblaciones. Entonces, aunque es evidente que los factores climáticos juegan un papel importante para el proceso de especiación, estos no deben ser los limitantes para

definir grupos de especies, ya que en muchas ocasiones se ha demostrado que las adaptaciones ambientales tienen muy poco valor a nivel taxonómico para la delimitación de especies (Meik et al., 2007). En el caso de *C. pricei*, es evidente que las dos subespecies geográficas tienen cierta correspondencia con la delimitación de especies tomando en cuenta delimitaciones ambientales.

Por otra parte, los resultados de este trabajo ayudan a localizar sitios prioritarios para proponer planes de conservación para la especie. En el modelo de nicho general para *C. pricei* (Fig. 9), se observan tres áreas importantes donde la distribución de la especie es amplia, pero también es posible observar sitios aislados en donde tenemos presencia de la especie. Sin embargo, debido a diferentes tipos de amenazas, estas poblaciones corren el peligro de desaparecer (como en el caso de Aguascalientes). Una de las amenazas más importantes para la conservación de víperidos es la constante pérdida, degradación, perturbación y/o fragmentación de su hábitat, cuyos efectos son más evidentes en poblaciones aisladas (Bradke et al., 2018; Maritz et al., 2016). Durante los muestreos en la localidad de Monte Grande que se hicieron para este estudio, se pudo observar cerca de los sitios en donde se encontraron las serpientes la presencia de ganado y visitas constantes por parte de motociclistas, lo que representa un riesgo potencial para la conservación de esta población. Una forma de remediar o evitar estas amenazas, es generar información confiable y oportuna que permita identificar zonas críticas para la conservación de diferentes especies de serpientes (Bauder et al., 2017; Guevara et al., 2019; Saha et al., 2018). Un ejemplo de esto lo podemos observar en lo reportado por Bauder et al. (2017), en donde logró identificar áreas de protección para dos especies de serpientes (una culebra y una serpiente de cascabel) a partir de la información ecológica obtenida en otros estudios. Un caso similar se presenta en Johnson et al. (2016), en donde hacen uso de las preferencias de hábitat conocidas para la serpiente *Sistrurus catenatus* para modificar áreas perturbadas y generar espacios idóneos para la conservación de esta especie. Se espera que los resultados de este trabajo sirvan como punto de partida para generar planes de manejo que apoyen en la conservación de *C. pricei*, ya sea a nivel de especie, subespecie o población.

9.3. Historia evolutiva de *Crotalus pricei*

El presente trabajo aporta una filogenia actualizada para *C. pricei*. Bryson et al. (2011a) ya habían reportado que esta especie se originó en el plioceno hace aproximadamente 5 millones de años, sin embargo, aún quedaban incógnitas intraespecíficas para poder resolver de mejor manera la filogenia de esta especie.

En la primera dicotomía del cladograma obtenido (Fig. 15), se observa un grupo grande correspondiente a los individuos de *C. pricei* de la SMOc norte, mientras que en el lado opuesto del árbol se agrupan individuos de SMOc sur y SMOr, lo anterior es contrario a lo que se conoce tradicionalmente, ya que los individuos de la SMOc sur se han considerado históricamente como *C. p. pricei* y nuestros resultados demuestran que estas poblaciones se encuentran más emparentadas con *C. p. miquihuanus*. Este hallazgo coincide con lo reportado por Bryson et al. (2011a) y resulta interesante debido a la separación y a la diferencia de hábitats que existen entre la SMOc y la SMOr (Bryson et al., 2011b).

Al observar la dicotomía opuesta a la que se encuentran los individuos de *C. pricei* SMOc norte, se pueden diferenciar tres grupos de *C. pricei*, un grupo correspondiente a la región central de la SMOc, otro correspondiente a la región sur de la SMOc y uno que incluye a las poblaciones de la SMOr, en este caso sucede algo similar a la situación anterior, ya que se observa mayor relación filogenética entre los individuos de la SMOc sur y los de la SMOr. Lo cual no se había reportado anteriormente, ya que en el estudio publicado por Bryson et al. (2011a) no se incluyeron individuos del extremo sur del área de distribución, solamente se incluyeron dos secuencias de individuos de Jalisco, pero esto no fue suficiente para resolver la filogenia del grupo en esta región de la distribución de la especie.

Tal como se muestra en la región más derivada del cladograma (Fig. 15), los individuos del sur de la SMOc se encuentran más cercanamente relacionados con *C. p. miquihuanus*; confirmando lo mencionado por Klauber (1972) cuando reportó por primera vez a esta especie para el estado de Aguascalientes, esclareciendo también el hecho de que otros estudios pusieron en duda la categoría taxonómica a nivel de subespecie de *C. pricei* de las poblaciones meridionales (Campbell y

Lamar, 2004; Wilson y McCranie, 1979). No obstante, de acuerdo con la clasificación histórica de esta especie, las poblaciones mencionadas se encuentran asignadas a *C. p. pricei* debido a su distribución geográfica a lo largo de la SMOc (McCranie, 1980; Mulcahy, 2008).

Además de mostrar las relaciones filogenéticas entre diferentes poblaciones de *C. pricei*, los resultados de este proyecto también ayudan a complementar lo reportado por Bryson et al. (2011a) en cuanto a la historia evolutiva de esta especie. Para empezar, el origen del taxón pudo haber tenido lugar en la región norte de la SMOc, posteriormente se colonizó la parte central de la SMOc y a partir de aquí la especie encontró un corredor en el pleistoceno, probablemente a través de la región central de San Luis Potosí, que conectó a las poblaciones de la SMOc sur y la SMOr. Patrones de divergencia similares a lo descrito anteriormente ya han sido reportados para otros grupos de serpientes de cascabel (Anderson & Greenbaum, 2012; Bryson et al., 2014; Schield et al., 2018; Sunny et al., 2018), por lo que no es raro pensar que *C. pricei* siguió este mismo escenario evolutivo. Finalmente, los resultados de la comparación morfológica, del estudio filogenético y los de modelado de nicho ecológico tienen concordancia entre sí, ya que se observan diferencias entre los mismos grupos de *C. pricei*, y esto se explica gracias al trabajo de Bryson et al., (2011a) en el que estiman una separación entre las diferentes poblaciones y sus hábitats respectivos que comenzó hace aproximadamente 2.5 millones de años en el Pleistoceno.

10. CONCLUSIONES

Las poblaciones de Aguascalientes presentan diferencias de hábitat y morfológicas con respecto a otras poblaciones de *C. pricei*. A nivel de subespecie, los individuos de Aguascalientes presentan similitudes con *C. p. pricei* y con *C. p. miquihuanus*, pero tienen una diferencia en la relación entre la longitud total y la longitud de cola de los especímenes; este carácter es el más útil al momento de diferenciar entre las subespecies de *C. pricei*. Sin embargo, debido a su localización

geográfica la población de Aguascalientes se mantendría dentro de la subespecie *C. p. pricei* debido a que pertenece a la SMOc.

Se confirmó que esta especie es de hábitos diurnos, con picos de actividad entre las 12:00 y las 16:00 h y es más abundante en los meses de julio, agosto y septiembre, lo anterior relacionado con elevados niveles de humedad. También se determinó que *C. pricei* es una especie rara en el estado de Aguascalientes, con base en la baja tasa de detección obtenida, la cual es de 58.8 horas de búsqueda por serpiente localizada. Así mismo, se reportó por primera vez un evento de reproducción para *C. pricei* en Aguascalientes, con el nacimiento de cuatro crías en el mes de agosto de 2021, además, otra de las hembras encontrada depositó seis huevos infértiles en el mismo mes, evento que no había sido reportado para *C. pricei* en la literatura.

Se obtuvo una actualización del modelado de nicho ecológico de *C. pricei* y sus subespecies en donde es posible observar la distribución potencial de cada grupo de poblaciones de esta especie; los mapas muestran sitios en donde la especie aún no se ha registrado pero que cuentan con las condiciones ideales para que se encuentre, dos de estos sitios fueron confirmados con muestreo directo en campo confirmando la presencia de *C. pricei*. Además, se confirmó que existen diferencias significativas entre los nichos ecológicos de al menos tres grupos de *C. pricei*, los cuales corresponden a *C. p. pricei* SMOc norte, *C. p. pricei* SMOc sur y *C. p. miquihuanus*.

Se encontró evidencia molecular, apoyada por estudios anteriores, para plantear una posible reclasificación de las subespecies (o especies) de *C. pricei*, ya que en el cladograma obtenido se observan cuatro diferentes clados en los que se puede clasificar esta especie: *C. p. pricei* SMOc norte, *C. p. pricei* SMOc Centro, *C. p. miquihuanus* (SMOr) y *C. pricei* SMOc sur. Se confirmó que las poblaciones de Durango (SMOc Centro) se encuentran más emparentadas a *C. p. miquihuanus* que a las de la SMOc norte y que las poblaciones de la SMOc sur son las más filogenéticamente relacionadas a *C. pricei miquihuanus*. Sin embargo, se

recomienda incrementar el esfuerzo de muestreo en diferentes partes de la distribución de *C. pricei* para corroborar estos resultados, sobre todo en las zonas de conexión en la zona sur.

Finalmente, se espera que la información presentada en este proyecto sea un punto de referencia para futuros estudios que involucren a esta especie, y que que sirva para implementar planes de monitoreo, manejo y conservación ideales y efectivos para *C. pricei*.



11.REFERENCIAS

- Aiello-Lammens, M. E., Boria, R. A., Radosavljevic, A., Vilela, B., & Anderson, R. P. (2015). spThin: An R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models. *Ecography*, 38(5), 541–545. <https://doi.org/10.1111/ecog.01132>
- Alencar, L. R., Quental, T. B., Grazziotin, F. G., Alfaro, M. L., Martins, M., Venzon, M., & Zaher, H. (2016). Diversification in vipers: Phylogenetic relationships, time of divergence and shifts in speciation rates. *Molecular phylogenetics and evolution*, 105, 50-62. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.07.029>
- Alvarado-Díaz, J., & Campbell, J. A. (2004). A new montane rattlesnake (Viperidae) from Michoacán, México. *Herpetologica*, 60, 281–286. <https://doi.org/10.1655/03-40>
- Alvarado-Díaz, J., Estrada-Virgen, A., & Suazo-Ortuño, I. (2007). Natural History Notes on *Crotalus tancitarensis* (Serpentes: Viperidae). *Herpetological Review*, 38(2), 155–157.
- Anderson, C. G., & Greenbaum, E. (2012). Phylogeography of northern populations of the Black-Tailed Rattlesnake (*Crotalus molossus* Baird & Girard, 1853), with the revalidation of *C. ornatus* Hallowell, 1854. *Herpetological Monographs*, 26(1), 19–57. <https://doi.org/10.1655/HERPMONOGRAPHS-D-11-00012.1>
- Armstrong, B. L., & Murphy, J. B. (1979). The natural history of Mexican rattlesnakes. University of Kansas Museum of Natural History Publications, 5, 1–88.
- Arriaga, L., Espinoza, J. M., Aguilar, C., Martínez, E., Gómez, L., & Loa, E. (2000). Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, Distrito Federal, México.

- Ashton, K. G., & Queiroz, A. de. (2001). Molecular Systematics of the Western Rattlesnake, *Crotalus viridis* (Viperidae), with Comments on the Utility of the D-Loop in Phylogenetic Studies of Snakes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 21(2), 176–189. <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.1013>
- Axtell, R. W., & Sabath, M. D. (1963). *Crotalus pricei miquihuanus* from the Sierra Madre of Coahuila, Mexico. *Copeia*, 1963(1), 161. <https://doi.org/10.2307/1441293>
- Bauder, J. M., Stevenson, D. J., Sutherland, C. S., & Jenkins, C. L. (2017). Occupancy of potential overwintering habitat on protected lands by two imperiled snake species in the coastal plain of the southeastern United States. *Journal of Herpetology*, 51(1), 73–88. <https://doi.org/10.1670/15-064>
- Baxley, D., Lipps, G. J., & Qualls, C. P. (2011). Multiscale habitat selection by Black Pine Snakes (*Pituophis melanoleucus lodingi*) in Southern Mississippi. *Herpetologica*, 67(2), 154–166. <https://doi.org/10.1655/HERPETOLOGICA-D-10-00029.1>
- Beaupre, S. J. (1995). Effects of geographically variable thermal environment on bioenergetics of mottled rock rattlesnakes. *Ecology*, 76(5), 1655-1665.
- Blair, C., Bryson, R. W., Linkem, C. W., Lazcano, D., Klicka, J., & McCormack, J. E. (2019). Cryptic diversity in the Mexican highlands: Thousands of UCE loci help illuminate phylogenetic relationships, species limits and divergence times of montane rattlesnakes (Viperidae: *Crotalus*). *Molecular Ecology Resources*, 19(2), 349–365. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12970>
- Bradke, D. R., Hileman, E. T., Bartman, J. F., Faust, L. J., King, R. B., Kudla, N., & Moore, J. A. (2018). Implications of small population size in a threatened pitviper species. *Journal of Herpetology*, 52(4), 387–397. <https://doi.org/10.1670/18-026>
- Broennimann, O., Fitzpatrick, M. C., Pearman, P. B., Petitpierre, B., Pellissier, L., Yoccoz, N. G., Thuiller, W., Fortin, M. J., Randin, C., Zimmermann, N. E., Graham, C. H., & Guisan, A. (2012). Measuring ecological niche overlap from

occurrence and spatial environmental data. *Global ecology and biogeography*, 21(4), 481-497.

Bryson, R. Jr. W., Linkem, C. W., Dorcas, M. E., Lathrop, A., Jones, J. M., Alvarado-Díaz, J., Grünwald, C. I., & Murphy, R. W. (2014). Multilocus species delimitation in the *Crotalus triseriatus* species group (Serpentes: Viperidae: Crotalinae), with the description of two new species. *Zootaxa*, 3826(3), 475. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3826.3.3>

Bryson, R. W., Murphy, R. W., Graham, M. R., Lathrop, A., & Lazcano, D. (2011a). Ephemeral Pleistocene woodlands connect the dots for highland rattlesnakes of the *Crotalus intermedius* group: Diversification of montane rattlesnakes. *Journal of Biogeography*, 38(12), 2299–2310. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02565.x>

Bryson, R. W., Murphy, R. W., Lathrop, A., & Lazcano-Villareal, D. (2011b). Evolutionary drivers of phylogeographical diversity in the highlands of Mexico: A case study of the *Crotalus triseriatus* species group of montane rattlesnakes: Phylogeography of the *Crotalus triseriatus* group. *Journal of Biogeography*, 38(4), 697–710. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02431.x>

Burbrink, F. T. (2010). Historical versus contemporary migration in fragmented populations. *Molecular Ecology*, 19, 5321–5323. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04861.x>

Burbrink, F. T., & Castoe, T. A. (2009). Molecular Phylogeography of Snakes. *Snakes: ecology and conservation*, 41, 38–77.

Burns, P. A., McCall, C., Rowe, K. C., Parrott, M. L., & Phillips, B. L. (2019). Accounting for detectability and abundance in survey design for a declining species. *Diversity and Distributions*, 25(10), 1655–1665. <https://doi.org/10.1111/ddi.12966>

- Campbell, J. A., & Flores-Villela, O. (2008). A new Long-Tailed Rattlesnake (Viperidae) from Guerrero, Mexico. *Herpetologica*, 64(2), 246–257. <https://doi.org/10.1655/07-054.1>
- Campbell, J. A., & Lamar, W. W. (1989). *The venomous reptiles of Latin America*. Cornell University Press, Ithaca, New York, USA.
- Campbell, J. A., & Lamar, W. W. (2004). *The venomous reptiles of the Western Hemisphere*. Cornell University Press, Ithaca, New York, USA.
- Carbajal-Márquez, R. A., & Quintero-Díaz, G. E. (2016). The herpetofauna of Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Herpetología*, 2, 1–30.
- Castoe, T. A., & Parkinson, C. L. (2006). Bayesian mixed models and the phylogeny of pitvipers (Viperidae: Serpentes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(1), 91–110. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.12.014>
- Castoe, T. A., Chippindale, P. T., Campbell, J. A., Ammerman, L. K., & Parkinson, C. L. (2003). Molecular systematics of the middle american jumping pitvipers (genus *Atropoides*) and phylogeography of the *Atropoides nummifer* complex. *Herpetologica*, 59(3), 420–431. <https://doi.org/10.1655/01-105.2>
- Cobos, M. E., Peterson, A. T., Barve, N., & Osorio-Olvera, L. (2019). kuenm: An R package for detailed development of ecological niche models using Maxent. *PeerJ*, 7, e6281. <https://doi.org/10.7717/peerj.6281>
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2020). Precipitación (mm) por Entidad Federativa y Nacional. Disponible desde <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>, Visitado el 28 de abril de 2021
- Contreras-Lozano, J. A., Lazcano, D., & Contreras-Balderas, A. J. (2012). Herpetofauna of the Cerro El Potosi Natural Protected Area of Nuevo Leon, Mexico: Status of the ecological and altitudinal distribution. *Natural Areas Journal*, 32(4), 377–385. <https://doi.org/10.3375/043.032.0405>

- Cruz, E., Gibson, S., Kandler, K., Sanchez, G., & Chiszar, D. (1987). Strike-induced chemosensory searching in rattlesnakes: A rodent specialist (*Crotalus viridis*) differs from a lizard specialist (*Crotalus pricei*). *Bulletin of the Psychonomic Society*, 25(2), 136–138. <https://doi.org/10.3758/BF03330307>
- Davis, M. A., Douglas, M. R., Webb, C. T., Collyer, M. L., Holycross, A. T., Painter, C. W., Kamees, L. K., & Douglas, M. E. (2015). Nowhere to go but up: impacts of climate change on demographics of a short-range endemic (*Crotalus willardi obscurus*) in the Sky-Islands of southwestern North America. *PLoS ONE* 10(6), e0131067.
- DeGregorio, B. A., Manning, J. V., Bieser, N., & Kingsbury, B. A. (2011). The spatial ecology of the Eastern Massasauga (*Sistrurus catenatus*) in Northern Michigan. *Herpetologica*, 67(1), 71–79. <https://doi.org/10.1655/09-049R1.1>
- Encarnación-Luévano, A., Peterson, A. T., & Rojas-Soto, O. R. (2021). Burrowing habit in *Smilisca* frogs as an adaptive response to ecological niche constraints in seasonally dry environments. *Frontiers of Biogeography*, 13(4). <https://doi.org/10.21425/F5FBG50517>
- Fick, S. E., & Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 37(12), 4302-4315.
- Garcia-de León, F. J. (2019). Phylogenetic relationships and origin of the rattlesnakes of the Gulf of California islands (Viperidae: Crotalinae: *Crotalus*). *Herpetological Journal*, 29(3), 162–172. <https://doi.org/10.33256/hj29.3.162172>
- Gaston, K. J. (2000). Global patterns in biodiversity. *Nature*, 405, 220–227. <https://doi.org/10.1038/35012228>
- GBIF. (2020). GBIF Home Page. Available online: <https://www.gbif.org> (accessed on 24 October 2020).

- Goldberg, S. R. (2000). Reproduction in the twin-spotted rattlesnake, *Crotalus pricei* (Serpentes: Viperidae). *Western North American Naturalist*, 60, 98–100.
- Grabowsky, E. R., & Mackessy, S. P. (2019). Predator-prey interactions and venom composition in a high elevation lizard specialist, *Crotalus pricei* (Twin-spotted Rattlesnake). *Toxicon*, 170, 29–40. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.09.011>
- Guevara, L., & León-Paniagua, L. (2019). How to survive a glaciation: The challenge of estimating biologically realistic potential distributions under freezing conditions. *Ecography*, 42(6), 1237–1245. <https://doi.org/10.1111/ecog.04202>
- Guevara, L., Gerstner, B. E., Kass, J. M., & Anderson, R. P. (2018). Toward ecologically realistic predictions of species distributions: A cross-time example from tropical montane cloud forests. *Global Change Biology*, 24(4), 1511–1522. <https://doi.org/10.1111/gcb.13992>
- Guevara, L., Morrone, J. J., & León-Paniagua, L. (2019). Spatial variability in species' potential distributions during the Last Glacial Maximum under different Global Circulation Models: Relevance in evolutionary biology. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 57(1), 113–126. <https://doi.org/10.1111/jzs.12238>
- Guindon, S., & Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic biology*, 52(5), 696-704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
- Hammerson, G. A., Vázquez-Díaz, J., & Quintero-Díaz, G. E. (2007). *Crotalus pricei*. The IUCN Red List of Threatened Species 2007. International Union for Conservation of Nature. <http://www.IUCN.org>.
- Holycross, A. T., & Goldberg, S. R. (2001). Reproduction in Northern Populations of the Ridgenose Rattlesnake, *Crotalus willardi* (Serpentes: Viperidae). *Copeia*,

2001(2), 473–481. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2001\)001\[0473:RINPOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2001)001[0473:RINPOT]2.0.CO;2)

Huelsenbeck, J. P., & Crandall, K. A. (1997). Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28(1), 437-466.

Jadin, R. C., Smith, E. N., & Campbell, J. A. (2011). Unravelling a tangle of Mexican serpents: A systematic revision of highland pitvipers: systematic revision of highland pitvipers. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 163(3), 943–958. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2011.00748.x>

Jarnevich, C. S., Holcombe, T. R., Bella, E. M., Carlson, M. L., Graziano, G., Lamb, M., Seefeldt, S. S., & Morisette, J. (2014). Cross-Scale Assessment of Potential Habitat Shifts in a Rapidly Changing Climate. *Invasive Plant Science and Management*, 7(3), 491–502. <https://doi.org/10.1614/IPSM-D-13-00071.1>

Jezkova, T., & Wiens, J. J. (2018). Testing the role of climate in speciation: New methods and applications to squamate reptiles (lizards and snakes). *Molecular Ecology*, 27(12), 2754–2769. <https://doi.org/10.1111/mec.14717>

Johnson, B.D., Gibbs, J.P., Bell, T.A., & Shoemaker, K.T. (2016). Manipulation of basking sites for endangered Eastern Massasauga rattlesnakes. *Journal of Wildlife Management*, 80:803–811. <https://doi.org/10.1002/jwmg.21079>

Kardong, K. V., & Smith, T. L. (2002). Proximate factors involved in rattlesnake predatory behavior: a review. *Biology of the Vipers*, 67(2), 253.

Kass, J. M., Vilela, B., Aiello-Lammens, M. E., Muscarella, R., Merow, C., & Anderson, R. P. (2018). Wallace: A flexible platform for reproducible modeling of species niches and distributions built for community expansion. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(4), 1151–1156. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12945>

- Klauber, L. M. 1972. Rattlesnakes: Their Habits, Life Histories, and Influence on Mankind. 2nd Edition. University of California Press, Berkeley, California, USA.
- Lawing, A. M., Meik, J. M., & Polly, P. D. (2012). Climate and Competition Shape Species' Borders: A Study of the Panamint (*Crotalus stephensi*) and Speckled (*Crotalus mitchelli*) Rattlesnakes. *ISRN Zoology*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2012/528745>
- Lemos-Espinal, J. A., & Smith, G. R. (2016). Amphibians and reptiles of the state of Coahuila, Mexico, with comparison with adjoining states. *ZooKeys*, 593, 117–137. <https://doi.org/10.3897/zookeys.593.8484>
- Lemos-Espinal, J. A., Smith, G. R., & Woolrich-Piña, G. A. (2018). Amphibians and reptiles of the state of San Luis Potosí, Mexico, with comparisons with adjoining states. *ZooKeys*, 753, 83–106. <https://doi.org/10.3897/zookeys.753.21094>
- Lillywhite, H. B. (2010). Focus on Snake Conservation. *BioScience*, 60(4), 315–317. <https://doi.org/10.1525/bio.2010.60.4.11>
- Liner, E. A., & Chaney, A. H. (1986). *Crotalus pricei miquihuanus* reproduction. *Herpetological Review* 17:89.
- Liu, C., Berry, P. M., Dawson, T. P., & Pearson, R. G. (2005). Selecting thresholds of occurrence in the prediction of species distributions. *Ecography*, 28(3), 385–393. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2005.03957.x>
- Maritz, B., Penner, J., Martins, M., Crnobrnja-Isailović, J., Spear, S., Alencar, L. R. V., Sigala-Rodriguez, J., Messenger, K., Clark, R. W., Soorae, P., Luiselli, L., Jenkins, C., & Greene, H. W. (2016). Identifying global priorities for the conservation of vipers. *Biological Conservation*, 204, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.05.004>
- Mata-Silva, V., DeSantis, D. L., Wagler, A. E., & Johnson, J. D. (2018). Spatial Ecology of Rock Rattlesnakes (*Crotalus lepidus*) in Far West Texas.

Herpetologica, 74(3), 245–254. <https://doi.org/10.1655/Herpetologica-D-16-00030.1>

McCranie, J. R. (1980). *Crotalus pricei*. Catalogue of American Amphibians and Reptiles 266:1–2.

McDonald, J. A. (1993). Phytogeography and history of the alpine-subalpine flora of northeastern Mexico. Biological diversity of Mexico: origins and distribution, 681-703.

Meik, J. M., Deloya, E. M., & Setser, K. (2007). New distribution records for the Querétaro dusky rattlesnake *Crotalus aquilus* (Viperidae), with comments on morphology and habitat use. Western North American Naturalist, 67(4), 601–604. [https://doi.org/10.3398/1527-0904\(2007\)67\[601:NDRFTQ\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3398/1527-0904(2007)67[601:NDRFTQ]2.0.CO;2)

Meik, J. M., Streicher, J. W., Lawing, A. M., Flores-Villela, O., & Fujita, M. K. (2015). Limitations of Climatic Data for Inferring Species Boundaries: Insights from Speckled Rattlesnakes. PLOS ONE, 10(6), e0131435. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131435>

Metcalf, S., O'Hara, S., Caballero, M., & Davies, S. (2000). Records of Late Pleistocene-Holocene climatic change in Mexico—A review. Quaternary Science Reviews, 19, 699–721. [https://doi.org/10.1016/S0277-3791\(99\)00022-0](https://doi.org/10.1016/S0277-3791(99)00022-0)

Michailidou, D.-E., Lazarina, M., & Sgardelis, S. P. (2021). Temperature and Prey Species Richness Drive the Broad-Scale Distribution of a Generalist Predator. Diversity, 13(4), 169. <https://doi.org/10.3390/d13040169>

Minton, S. A., & Weinstein, S. A. (1984). Protease activity and lethal toxicity of venoms from some little known rattlesnakes. Toxicon, 22(5), 828–830. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(84\)90169-7](https://doi.org/10.1016/0041-0101(84)90169-7)

Mulcahy, D. G. (2008). Phylogeography and species boundaries of the western North American Nightsnake (*Hypsiglena torquata*): revisiting the subspecies

concept. *Molecular phylogenetics and evolution*, 46(3), 1095-1115.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.12.012>

Murphy, R. W., Fu, J., Lathrop, A., Feltham, J. V., & Kovac, V. (2002). Phylogeny of the rattlesnakes (*Crotalus* and *Sistrurus*) inferred from sequences of five mitochondrial DNA genes. *Biology of the Vipers*, 69–92.

Muscarella, R., Galante, P. J., Soley-Guardia, M., Boria, R. A., Kass, J. M., Uriarte, M., & Anderson, R. P. (2014). ENMeval: An R package for conducting spatially independent evaluations and estimating optimal model complexity for Maxent ecological niche models. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(11), 1198–1205. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12261>

Nei M. & Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York. USA. 352 Pp.

Nunes, L. A., & Pearson, R. G. (2017). A null biogeographical test for assessing ecological niche evolution. *Journal of Biogeography*, 44(6), 1331–1343.
<https://doi.org/10.1111/jbi.12910>

Pattengale, N. D., Alipour, M., Bininda-Emonds, O. R., Moret, B. M., & Stamatakis, A. (2009). How many bootstrap replicates are necessary?. In *Research in Computational Molecular Biology: 13th Annual International Conference, RECOMB 2009, Tucson, AZ, USA, May 18-21, 2009. Proceedings* 13 pp. 184-200.

Pérez-Mendoza, H.A., Sanabria-Tobón, S. R., Jaramillo-Alba, J. L., Solano-Zavaleta, I., Vázquez-Vega, L. F., & de la Vega-Pérez, A. H. D. (2018). Reproductive traits of Dusky Rattlesnakes (*Crotalus triseriatus*) in Central México. *Journal of Herpetology*, 52, 6–11. <https://doi.org/10.1670/16-003>

Petersen, C. E., Goetz, S. M., Dreslik, M. J., Kleopfer, J. D., & Savitzky, A. H. (2019). Sex, Mass, and Monitoring Effort: Keys to Understanding Spatial Ecology of Timber Rattlesnakes (*Crotalus horridus*). *Herpetologica*, 75(2), 162.
<https://doi.org/10.1655/D-18-00035>

- Peterson, A. T. (2001). Predicting species geographic distributions based on ecological niche modeling. *The Condor*, 103(3), 599–605. <https://doi.org/10.1093/condor/103.3.599>
- Peterson, A. T., & Nakazawa, Y. (2008). Environmental data sets matter in ecological niche modelling: An example with *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri*. *Global Ecology and Biogeography*, 17, 135–144. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2007.00347.x>
- Peterson, A. T. (2011). Ecological niche conservatism: A time-structured review of evidence. *Journal of Biogeography*, 38(5), 817–827. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02456.x>
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., & Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190(3–4), 231–259. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Pie, M. R., Campos, L. L. F., Meyer, A. L. S., & Duran, A. (2017). The evolution of climatic niches in squamate reptiles. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284 (1858), 20170268. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0268>
- Place, A. J., & Abramson, C. I. (2004). A quantitative analysis of the ancestral area of rattlesnakes. *Journal of Herpetology*, 38(1), 152–156. <https://doi.org/10.1670/103-03N>
- Prival, D. B., & Schroff, M. J. (2012). A 13-year Study of a northern population of Twin-Spotted Rattlesnakes (*Crotalus pricei*): Growth, reproduction, survival, and conservation. *Herpetological Monographs*, 26(1), 1–18. <https://doi.org/10.1655/HERPMONOGRAPHS-D-00002.1>
- Prival, D. B., Goode, M. J., Swann, D. E., Schwalbe, C. R., & Schroff, M. J. (2002). Natural history of a northern population of Twin-Spotted Rattlesnakes, *Crotalus pricei*. *Journal of Herpetology*, 36(4), 598–607. [https://doi.org/10.1670/0022-1511\(2002\)036\[0598:NHOANP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1670/0022-1511(2002)036[0598:NHOANP]2.0.CO;2)

- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>.
- Reyes-Velasco, J., Meik, J. M., Smith, E. N., & Castoe, T. A. (2013). Phylogenetic relationships of the enigmatic longtailed rattlesnakes (*Crotalus ericsmithi*, *C. lannomi*, and *C. stejnegeri*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(3), 524–534. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.07.025>
- Roth, E. D. (2005). Buffer Zone Applications in Snake Ecology: A Case Study Using Cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus*). *Copeia*, 2005(2), 399–402. <https://doi.org/10.1643/CH-04-243R1>
- Reinert, H. K., & Rupert Jr, R. R. (1999). Impacts of translocation on behavior and survival of timber rattlesnakes, *Crotalus horridus*. *Journal of Herpetology*, 45-61. <https://doi.org/10.2307/1565542>
- Saha, A., McRae, L., Dodd, C. K., Gadsden, H., Hare, K. M., Lukoschek, V., & Böhm, M. (2018). Tracking Global Population Trends: Population Time-Series Data and a Living Planet Index for Reptiles. *Journal of Herpetology*, 52(3), 259. <https://doi.org/10.1670/17-076>
- Sain, M. P., Norrell-Tober, J., Barthel, K., Seawright, M., Blanton, A., Hertweck, K. L., Placyk, Jr., J. S., Small, R., Williams, L. R., Williams, M. G., & Banta, J. A. (2021). Multiple complementary studies clarify which co-occurring congener presents the greatest hybridization threat to a rare Texas endemic wildflower (*Hibiscus dasycalyx*: Malvaceae). *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 15(1), 283–308. <https://doi.org/10.17348/jbrit.v15.i1.1064>
- Schild, D. R., Adams, R. H., Card, D. C., Corbin, A. B., Jezkova, T., Hales, N. R., Meik, J. M., Perry, B. W., Spencer, C. L., Smith, L. L., García, G. C., Bouzid, N. M., Strickland, J. L., Parkinson, C. L., Borja, M., Castañeda-Gaytán, G., Bryson, R. W., Flores-Villela, O. A., Mackessy, S. P., & Castoe, T. A. (2018). Cryptic genetic diversity, population structure, and gene flow in the Mojave

rattlesnake (*Crotalus scutulatus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 127, 669–681. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.06.013>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México (SEMARNAT). (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059SEMARNAT-2010, Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres - Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. 30 de diciembre de 2010, Segunda Sección, México.

Seigel, R. A. (1986). Ecology and conservation of an endangered rattlesnake, *Sistrurus catenatus*, in Missouri, USA. *Biological Conservation*, 35:333–346.

Shelton, M. B., Goldingay, R. L., & Phillips, S. S. (2017). Population ecology of a cryptic arboreal snake (*Hoplocephalus bitorquatus*). *Australian Journal of Zoology*, 65(6), 383. <https://doi.org/10.1071/ZO18009>

Shine, R. (1994). Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia*, 1994:326–346.

Sigala-Rodríguez, J. J. (2008). La serpiente de cascabel *Crotalus pricei* (Serpentes: Viperidae) en Aguascalientes: ¿Especie rara o en peligro de extinción? Pp. 147 en *La Biodiversidad en Aguascalientes: Estudio de Estado*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Instituto del Medio Ambiente del Estado de Aguascalientes (IMAE), Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA), Aguascalientes, México.

Siqueiros-Delgado, M. E., Rodríguez-Avalos, J. A., Martínez-Ramírez, J., y Sierra-Muñoz, J. C. (2016). Situación actual de la vegetación del estado de Aguascalientes, México. *Botanical Sciences*, 94(3), 455. <https://doi.org/10.17129/botsci.466>

Siqueiros-Delgado M. E., Rodríguez-Ávalos, J. A., Martínez-Ramírez, J., Sierra-Muñoz, J. C., y García-Regalado, G. (2017). Vegetación del Estado de Aguascalientes. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Universidad Autónoma de Aguascalientes, México.

- Smith, C. F., Schuett G. W., Reiserer, R. S., Dana, C. E., Collyer, M. L., & Davis, M. A. (2019). Drought-induced suppression of female fecundity in a capital breeder. *Scientific Reports* 9:15499. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51810-9>
- Stamatakis, A., Hoover, P., & Rougemont, J. (2008). A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systematic biology*, 57(5), 758-771. <https://doi.org/10.1080/10635150802429642>
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Sunny, A., Monroy-Vilchis, O., & Zarco-González, M. M. (2018). Genetic diversity and structure of *Crotalus triseriatus*, a rattlesnake of central Mexico. *Journal of Genetics*, 97(5), 1119–1130. <https://doi.org/10.1007/s12041-018-1004-y>
- Tamura K., Stecher G., & Kumar S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Triska, M. D., Craig, M. D., Stokes, V. L., Pech, R. P., & Hobbs, R. J. (2017). Conserving reptiles within a multiple-use landscape: Determining habitat affiliations of reptile communities in the northern jarrah forest of south-western Australia. *Australian Journal of Zoology*, 65(1), 21 – 32. <https://doi.org/10.1071/ZO16074>
- Tucker, A. M., McGowan, C. P., Mulero Oliveras, E. S., Angeli, N. F., & Zegarra, J. P. (2021). A demographic projection model to support conservation decision making for an endangered snake with limited monitoring data. *Animal Conservation*, 24(2), 291-301. <https://doi.org/10.1111/acv.12641>
- Valavi, R., Elith, J., Lahoz-Monfort, J. J., & Guillera-Aroita, G. (2019). block CV: An R package for generating spatially or environmentally separated folds for k -

fold cross-validation of species distribution models. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(2), 225–232. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13107>

Van Denburgh, J. (1895). Description of a new rattlesnake (*Crotalus pricei*) from Arizona. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 5:856–857.

Vázquez-Díaz, J., y Quintero-Díaz, G. E. (2005). *Anfibios y reptiles de Aguascalientes*. 2nd Edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Centro de Investigaciones y Estudios Multidisciplinarios de Aguascalientes, México.

Warren, D. L., & Seifert, S. N. (2011). Ecological niche modeling in Maxent: The importance of model complexity and the performance of model selection criteria. *Ecological Applications*, 21(2), 335–342. <https://doi.org/10.1890/10-1171.1>

Warren, D. L., Glor, R. E., & Turelli, M. (2008). Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 62(11), 2868–2883. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00482.x>

Warren, D. L., Matzke, N. J., Cardillo, M., Baumgartner, J. B., Beaumont, L. J., Turelli, M., Glor, R. E., Huron, N. A., Simões, M., Iglesias, T. L., Piquet, J. C., & Dinnage, R. (2021). ENMTools 1.0: An R package for comparative ecological biogeography. *Ecography*, 44(4), 504–511. <https://doi.org/10.1111/ecog.05485>

Wilson, L. D., Johnson, J. D., & Mata-Silva, V. (2013). A conservation reassessment of the amphibians of Mexico based on the EVS measure. *Amphibian and Reptile Conservation*, 7(1), 97–127.

Wilson, L. D., & McCranie, J. R. (1979). Notes on the herpetofauna of two mountain ranges in México (Sierra Fría, Aguascalientes, and Sierra Morones, Zacatecas). *Journal of Herpetology*, 271-278.

Wooten, J. A., & Gibbs, H. L. (2012). Niche divergence and lineage diversification among closely related *Sistrurus* rattlesnakes: Niche divergence in

rattlesnakes. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(2), 317–328.
<https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02426.x>

Wüster, W., Peppin, L., Pook, C. E., & Walker, D. E. (2008). A nesting of vipers: Phylogeny and historical biogeography of the Viperidae (Squamata: Serpentes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(2), 445–459.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.08.019>



12. ANEXOS

Anexo A. Registro de medidas de los organismos encontrados en Monte Grande, San José de Gracia, Aguascalientes, México. Abreviaturas: M = masa (g), Ac = Ancho de cabeza (mm), Lc = Largo de cabeza (mm), LHC = Longitud hocico – cloaca (mm), LC = Longitud de cola (mm), LT = Longitud total (mm), MD = Manchas dorsales, EV = Número de escamas ventrales, ES = Número de escamas subcaudales.

Número de colecta	Sexo	M	Ac	Lc	MD	EV	ES	LHC	LC	LT
JJAR0008	F	16	9.15	13.94	49	151	27	250	26	276
JJAR0009	F	48	10.8	19.52	53	153	26	397	36	433
JJAR0014	M	15	10	15.58	50	149	33	274	35	309
JJAR0015	M	73	13.48	21	54	149	30	446	52	498
JJAR0017	M	38	12.75	19	56	154	33	360	47	407
JJAR0019	F	30	10.6	18	56	152	25	344	37	381
JJAR0021	F	14	9.4	15	52	153	27	276	24	300
JJAR0025	F	26	10.9	18.8	49	153	26	349	37	386
JJAR0026	F	21	10	16.6	61	153	24	314	33	347
JJAR0027	M	19	10.57	17	52	150	32	348	34	382
JJAR0033	M	28	11.1	16.4	48	150	31	349	41	390
JJAR0034	M	14	9.8	15.2	44	148	30	242	34	276
CZUAA377	F		11.4	17.8	57	152	22	335	31	366
JJAR0035	F	44	11.67	19.66	59	157	27	400	39	439
JJAR0046	F	20	10.29	18.13	49	153	26	310	30	340
JJAR0047	F	26	11.49	19.01	67	152	24	351	35	386
JJAR0048	F	21	9.46	14.9	58	155	24	312	30	342
JJAR0051	F	32	11.92	20.31	53	154	26	382	39	421
JJAR0053	M	40	13.59	19.22	41	140	24	358	42	400
JJAR0054	M	27.5	10	18.5	49	154	30	336	48	384
UUAREP-290								382	45	427
UAAREP-377								287	36	323
UANL-4277								387	43	430
UMMZ-110878								352	32	384

Anexo B. Registros geográficos utilizados para la construcción de los modelados de nicho ecológico

Registro	Localidad	Latitud	Longitud
JJAR-Ags	Aguascalientes	22.26557	-102.62881
JJAR-Zac	Zacatecas	22.57289	-104.30121
JJAR-SLP	San Luis Potosí	23.59868	-100.85649
728	México	22.239699	-102.620478
767	Chihuahua, MX	27.9386894	-107.549446
758	Chihuahua, MX	28.0956909	-107.60132
712	Durango, MX	23.3327703	-104.940818
721	Tamaulipas, MX	23.6060366	-99.9838756
722	Tamaulipas, MX	23.6063086	-99.6988462
719	Tamaulipas, MX	23.6311798	-99.8524042
720	Tamaulipas, MX	23.6835598	-99.8173794
730	Coahuila, MX	25.2683893	-100.224114
733	Chihuahua, MX	28.2041842	-108.22124
731	Chihuahua, MX	28.3088543	-108.210081
754	Tamaulipas, MX	23.6925672	-99.8273755
760	Tamaulipas, MX	23.7560231	-99.8391793
739	Durango, MX	24.5655842	-105.642523
705	Coahuila, MX	25.2777264	-100.489539
703	Chihuahua, MX	27.1315056	-106.878074
38		31.972689	-109.302892
26		31.982735	-109.376768
752	Durango, MX	23.749849	-105.697007
764	Coahuila, MX	25.2686288	-100.974076
761	Bocoyna, Chihuahua, MX	27.8606801	-107.630316
711	Madera, MX-CH, MX	29.632214	-108.188411
713	Madera, MX-CH, MX	29.6595871	-108.05928
320		31.904635	-109.283367
737	Coahuila, MX	25.3349784	-100.824143
757	Coahuila, MX	25.3446451	-100.859052
759	Chihuahua, MX	28.1816444	-107.752907
714	Madera, MX-CH, MX	29.7084475	-108.065257
725	Coahuila, MX	25.2653277	-100.878126
724	Guadalupe y Calvo, MX-CH, MX	26.2308547	-107.313214
709	Chihuahua, MX	28.0441654	-108.391426
324	Madera Canyon	31.725088	-110.880043
337		31.820765	-109.327697
766	Coahuila, MX	25.2664042	-100.828072

371	Chiricahua Mountains	31.916667	-109.366667
397	Onion Saddle, Chiricahua Mountains	31.933384	-109.26321
698	Guachochi, MX-CH, MX	26.947221	-107.187455
748	Durango, MX	23.6956216	-105.406363
751	Durango, MX-DU, MX	23.8826131	-105.004577
750	Durango, MX-DU, MX	23.9434008	-105.094144
31	Huachuca Mountains, Ramsey Canyon, Hamburg Mine	31.424257	-110.327131
700	Chihuahua, MX	27.0710612	-107.58531
707	Coahuila, MX	25.2142534	-100.952468
729	San Dimas, MX-DU, MX	23.9885251	-105.81593
321		31.909717	-109.297272
228	Cerro Potosí, Coahuila	25.1977827	-100.261353
773	Durango, MX	24.4717532	-105.851913
339		31.831703	-109.254469
710	Nuevo León, MX	24.572499	-99.9012578
768	Chihuahua, MX	28.1790225	-108.345714
223		26.8005521	-107.148936
266	BASIGOCHI BETWEEN CREEL AND LA BUFA	27.2238642	-107.530617
734	Nuevo León, MX	24.6611834	-100.167244
54	Long Park	31.8908652	-109.28252
229	LAGUNA DEL PROGRESO	24.0959477	-105.549444
775	Coahuila, MX	25.2035114	-100.907769
736	Balleza, MX-CH, MX	26.4543931	-106.596272
515	SANTA RITA MOUNTAINS, MT. BALDY	31.7	-110.85
512	CHIRICAHUA MOUNTAINS, BARFOOT PARK, CORONADO NATIONAL FOREST	31.91	-109.27
334		31.43677	-110.338167
216	CERRO HUEHUENTO	24.0758477	-105.740598
373	Barfoot Peak	31.9208842	-109.28041
234	RIDGE ABOVE PUEBLO NUEVO	23.3840285	-105.371096
209	HACIENDA COYOTES	23.8620684	-105.315547
201	SAN ANTONIO PEÑA NEVADA, 12.2 MI NE	23.81513	-99.891032
217	12.2 Mi NE de San Antonio de Peña Nevada	23.8366779	-99.8623555
419	3.3 mi S Pablillo, via Mexico Hwy. 68	24.5737479	-100.007168

Anexo C. Artículo científico derivado del proyecto de tesis para la revista *Herpetological Conservation and Biology*, el artículo lleva por título *Natural History of the Twin-spotted Rattlesnake (Crotalus pricei) in the Southernmost Range of its Distribution.*

Herpetological Conservation and Biology 17(3):623–634.

Submitted: 18 June 2021; Accepted: 31 August 2022; Published: 16 December 2022.

**NATURAL HISTORY OF THE TWIN-SPOTTED RATTLESNAKE
(*CROTALUS PRICEI*) IN THE SOUTHERNMOST RANGE
OF ITS DISTRIBUTION**

**JUAN JOSÉ AYALA-RODRÍGUEZ¹, JOSÉ JESÚS SIGALA-RODRÍGUEZ^{1,3},
GILBERTO ALEJANDRO OCAMPO-ACOSTA², JAIME ANTONIO ESCOTO-MORENO¹,
AND RUBÉN ALONSO CARBAJAL-MÁRQUEZ¹**

¹*Colección Zoológica, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Avenida Universidad 940, CP 20100,
Aguascalientes, Aguascalientes, México*

²*Herbario, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Avenida Universidad 940, CP 20100,
Aguascalientes, Aguascalientes, México*

³*Corresponding author, email: jesus.sigala@edu.uaa.mx*

Abstract.—The Twin-Spotted Rattlesnake (*Crotalus pricei*) is a small-bodied rattlesnake that inhabits mountain systems from the southwestern tip of the USA to central México. Despite its wide distributional range, there is scarce information about its natural history in many localities where it is found, including the population occurring in Aguascalientes, México, where fewer than 10 individuals have been reported since 1953. The goal of this study was to describe ecological and morphological aspects of *C. pricei* in the southernmost portion of its distributional range and compare them with what we currently know for this species. We conducted field surveys in 2019 and 2020 searching for individuals of *C. pricei* and we found 19 individuals. General characteristics of this population did not vary from what we know for *C. pricei*, although we found some morphological differences at the subspecies level. *Crotalus pricei* was more easily found in July, August, and September, and it was commonly associated with Pine and Oak Forest leaf litter. Its main activity periods during the day were from 1100 to 1600. Two females gave birth while they were held captive; one gave birth to four neonates, and the other just six unfertilized ova. The information presented here increases the ecological knowledge of the population of this species occurring in Aguascalientes, México.

Key Words.—Aguascalientes; detection rate; ecology; México; morphology; reproduction; sexual dimorphism; Viperidae