



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

INESTABILIDAD EN EL DESARROLLO Y CANALIZACIÓN DE UNA COMUNIDAD DE REPTILES EN UN
HÁBITAT PERTURBADO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. ALDO GÓMEZ BENITEZ

TUTOR ACADÉMICO: DR. OSWALDO HERNÁNDEZ GALLEGOS

TUTOR ADJUNTO: DR. JOSÉ FERNANDO MÉNDEZ SÁNCHEZ

TUTOR ADJUNTO: DR. CARLOS ALBERTO MASTACHI LOZA

TOLUCA DE LERDO, ESTADO DE MÉXICO
MAYO 2023

ÍNDICE

Dedicatoria -----	1
Agradecimientos -----	2
Índice de Figuras -----	4
Índice de Cuadros -----	6
Resumen -----	7
Introducción y Antecedentes -----	8
Justificación -----	10
Hipótesis -----	11
Objetivos -----	11
Métodos -----	12
Resultados -----	20
Discusión -----	32
Literatura citada -----	41
Differential vulnerability of squamates metapopulations to anthropogenic stressors -----	54
Variation in a highly distributed lizard inhabiting an anthropized habitat: an evaluation of asymmetry, canalization, allometry and sexual dimorphism -----	90
<i>Aspidoscelis costatus costatus</i> en un ambiente urbanizado -----	107
Asimetría fluctuante en el estudio de la herpetofauna: una revisión sobre las aplicaciones y los métodos -----	130

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zona de estudio. Ubicación del área de estudio a nivel federativo en México (A). Ubicación del área de estudio a nivel estatal en el Estado de México, las líneas rojas representan la delimitación del Estado de México (B). Imagen satelital del área de estudio en El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México en el que se muestran que el uso principal del suelo es la agricultura, adicionalmente existen construcciones humanas propiedad de la Facultad de Ciencias de Universidad Autónoma del Estado de México. Fuentes: Esri, DigitalGlobe, GeoEye, i-cubed, USDA FSA, USGS, AEX, Getmapping, Aerogrid, IGN, IGP, swisstopo y GIS User Community (C). Fotografía de los caminos por los que se accede a las diferentes parcelas agrícolas (D).

Figura 2. Reptiles escamados en el sitio de estudio. En el Cerillo, Piedras blancas, habitan nueve especies de escamados: tres lagartijas y seis serpientes.

Figura 3. Ubicación de los landmarks. Puntos de referencia digitalizados en la forma de la cabeza de *Barisia imbricata*, *Sceloporus grammicus*, *Crotalus triseriatus* y dos especies de *Thamnophis*, los mismos puntos de referencia se digitalizaron en ambas especies de *Thamnophis*. Los landmarks 2-21 se emparejan bilateralmente, mientras que los puntos de referencia 1 y 22 se utilizan para la alineación durante la superposición de Procrustes. AI = internasales anteriores, CH = escamas en la coronilla, F = frontal, FN = frontonasales, FP = frontoparietal, IC = intercantal, IN = internasales, IP = interparietales, ISO = intrasupraoculares, P = parietal, PF = prefrontal, PI = Internasales posteriores, PR = Postrostrales, R = Rostral, SO = Supraoculares, T = Temporales.

Figura 4. Asimetría de medias. Asimetría media en la forma de la cabeza de *Barisia imbricata*, *Sceloporus grammicus*, *Crotalus triseriatus* y dos especies de *Thamnophis*.

Figura 5. Metapoblaciones obtenidas con el análisis de clusters. Se obtuvieron tres metapoblaciones sujetas a diferentes niveles de estrés con ayuda del análisis de clusters.

Figura 6. Comparación de la asimetría y variables ambientales, establecimiento de un modelo empírico. Los resultados de ANOVA multifactorial, con comparación por pares, de la distancia de Mahalanobis y las variables ambientales entre las metapoblaciones, además, se presenta un modelo empírico para predecir la asimetría en los escamosos basado en el análisis CART, los valores de R^2 parecen ser bajos, pero tienen una buena resolución en el modelo, X error se refiere al error de validación cruzada, los valores obtenidos respaldan el potencial de predicción del modelo. Los valores significativos se muestran en rojo arriba de las gráficas de interacciones.

Figura 7. Factores de expansión y regresión lineal. Análisis de la relación entre asimetría y ontogenia, así como cambios en ontogenia y simetría en columnas, las filas muestran análisis para cada especie de escamado. Los valores más bajos en los cambios representan contracciones y los valores más altos representan expansiones.

Figura 8. Componentes principales de la forma de la cabeza de *S. grammicus*. Los dos primeros componentes principales y los resultados de las pruebas de Levene para evaluar las diferencias en la varianza entre clases de edad y sexos en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*. Los valores de R y P en los ejes atienden a una comparación general y la columna de la derecha a las comparaciones por pares, los valores significativos se muestran en negrita. HA = hembras adultas, HJ = hembras juveniles, MA = machos adultos, MJ = machos juveniles.

Figura 9. Alometría. Regresión sobre la forma de la cabeza y el tamaño del centroide logarítmico (A) y los cambios de forma ontogenéticos para evaluar la alometría en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*, los colores rojizos representan expansiones y los azulados contracciones (B).

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Resultados del ANOVA de Procrustes para probar la presencia de asimetría fluctuante en la forma de la cabeza de *Barisia imbricata*, *Sceloporus grammicus*, *Crotalus triseriatus* y dos especies de *Thamnophis*. Los valores estadísticamente significativos se muestran en negritas.

Cuadro 2. Resultados del PERMANOVA de dos vías para probar las diferencias en las variables ambientales utilizadas entre metapoblaciones y para las tres especies consideradas en el análisis espacial: *B. imbricata*, *T. eques* y *T. scalaris*. Los valores estadísticamente significativos se muestran en negrita.

Cuadro 3. ANOVA para probar las diferencias en AF (distancia de Mahalanobis) entre clases de edad y sexos en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*. Los valores significativos se muestran en negritas.

Cuadro 4. ANOSIM por pares para probar las diferencias en la canalización entre clases de edad y sexos en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*, los valores de P corregidos con la corrección de Bonferroni se muestran debajo de la diagonal y los valores de R en la parte superior de la diagonal, los valores significativos se muestran en negrita.

RESUMEN

La fragmentación y el cambio de uso de suelo, como consecuencias de la antropización, son causas bien documentadas de extinciones locales en todo el mundo. Por lo tanto, nace la necesidad de estudiar biomarcadores para detectar el estrés ambiental que sufren las especies en etapas tempranas antes de que sufran efectos a largo plazo. La asimetría fluctuante es un indicador confiable de la inestabilidad del desarrollo, que es la capacidad de un genotipo para producir el mismo fenotipo en las mismas condiciones ambientales. Otro indicador bien estudiado es la canalización, la capacidad de un organismo para seguir una vía de desarrollo embrionaria predeterminada, independientemente de perturbaciones genéticas y del hábitat. Si ambos indicadores se evalúan mediante morfometría geométrica se vuelven herramientas muy precisas para evaluar el estrés ambiental en las poblaciones. Los Sauropsida no aves, al ser organismos ectotermos, son especialmente susceptibles a los cambios en el ambiente, por esto es necesario estudiar bioindicadores que nos permitan evaluar el estado de estos organismos frente a la antropización. Se estudió la asimetría fluctuante y canalización en cinco especies de escamados simpátricos (*Barisia imbricata*, *Sceloporus grammicus*, *Crotalus triseriatus*, *Thamnophis eques* y *Thamnophis scalaris*) que habitan un ambiente antropizado. El trabajo de campo se llevó a cabo en El Cerrillo, Piedras Blancas, Estado de México, México y se tomaron fotografías de la parte dorsal de la cabeza de cada uno de los individuos capturados. Digitalizamos 22 landmarks en todas las especies estudiadas y las diferentes configuraciones se superpusieron utilizando una superposición de Procrustes. Se realizó un ANOVA de Procrustes para determinar si existía asimetría fluctuante. Con los datos de las especies que presentaron asimetría fluctuante, se realizó un análisis de clusters para identificar metapoblaciones sujetas a diferentes estresores y se compararon las condiciones ambientales en que habitaba cada cluster para determinar que variables influían más en la asimetría fluctuante. Se calculó la distancia de Mahalanobis como índice de asimetría, se probó si había una relación significativa de este índice y el tamaño en todas las poblaciones estudiadas y se comparó la asimetría entre sexos y clases de edad en la especie *S. grammicus*. Empleando el factor de expansión Jacobiano, se estudió si la asimetría fluctuante es una propiedad de cuerpo completo. Utilizando como modelo a la lagartija del mezquite, *S. grammicus*, se probó la variación intraespecífica entre sexos y clases de edad en asimetría, canalización, alometría y dimorfismo sexual. Tres de las cinco especies estudiadas muestran asimetría fluctuante debido a que viven en un hábitat antropizado, solo *S. grammicus* y *C. triseriatus* no se vieron afectadas por el estrés ambiental. No se observó relación entre la distancia de Mahalanobis y el tamaño del centroide. El factor de expansión revela que la asimetría fluctuante no es una propiedad de cuerpo completo. Respecto a la variación intraespecífica en *S. grammicus* en la forma de la cabeza, se documentó una influencia importante de la edad, pero no del sexo en las características estudiadas. Las características de historia natural, la amplitud nicho, el hábitat o la perturbación humana, podrían estar relacionadas con la vulnerabilidad diferencial observada en las especies estudiadas y las diferencias en la variación entre sexos y clases de edad. En la sección de productos se presentan dos manuscritos publicados sobre el efecto de la antropización en *Aspidoscelis costatus costatus* mismos que fijaron un precedente y la dirección a seguir para el presente proyecto. Finalmente, se presenta una exhaustiva revisión de la literatura sobre el uso de la AF como bioindicador, los métodos más utilizados para evaluarla y la contribución de Latino

América al campo, con el fin de entender cuál es la mejor manera de llevar a cabo este tipo de estudios y que nos hace falta entender sobre la AF.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La antropización se define como el proceso de transformación de áreas naturales a áreas menos naturales. El proceso de antropización involucra la conversión total a superficies artificiales (urbanización), establecimiento de agroecosistemas, modificación de agroecosistemas y cambios en la estructura de la vegetación (Martínez-Fernández et al., 2014). Los hábitats antropizados se caracterizan por una severa fragmentación del hábitat (Montefalcone et al., 2010) que es una de las principales causas de la pérdida de biodiversidad (Krauss et al., 2010). Esta pérdida de biodiversidad ya ha sido documentada en México (Pineda y Halffter, 2004). Naturalmente, la variación fenotípica de los escamados está relacionada con la temperatura y la humedad (Flatt et al., 2008), la distribución geográfica (Yousefkhani et al., 2014), si la reproducción es partenogenética o sexual (Parker, 1979), el aislamiento genético (Bell et al., 2010), la insularidad (Sagonas et al., 2014), etc. Aun cuando la variación fenotípica de las lagartijas está relacionada con factores naturales como los descritos anteriormente, también podrían sufrir cambios en su fenotipo debido al estrés ambiental (Lazić et al., 2015), sin embargo, algunas especies pueden amortiguar el ruido del desarrollo y no sufrir cambios en la variación fenotípica, aún en hábitats contrastantes (Gómez-Benítez et al., 2021). Entonces, la variación fenotípica no solo es relevante por el significado evolutivo que tiene, sino que también nos permite utilizarla como un bioindicador confiable del estrés ambiental.

La estabilidad del desarrollo, la capacidad del genotipo para amortiguar los efectos ambiental y genético durante el desarrollo y que tiene como resultado un fenotipo específico (Zelditch et al., 2012), esta puede reducirse debido al estrés ambiental. La canalización y la asimetría fluctuante

(AF) son dos bioindicadores ampliamente utilizados para evaluar la estabilidad en el desarrollo, y por lo tanto, el estrés ambiental. El primero se refiere a la capacidad de un organismo para amortiguar las perturbaciones ambientales y genéticas y continuar una vía de desarrollo predeterminada promoviendo fenotipos similares dentro de las poblaciones (Zakharov 1992; Willmore et al. 2007), mientras que la asimetría fluctuante (FA) es definida como una desviación aleatoria de la simetría bilateral perfecta (Palmer y Strobeck, 1986), y es un indicador confiable, barato y rápido de estrés ambiental (Coda et al., 2017). Dado que ambos lados de un organismo con simetría bilateral tienen el mismo genotipo y crecen en el mismo ambiente, deben ser idénticos a menos que ocurran anomalías en el desarrollo (Palmer y Strobeck, 1986). El uso de morfometría geométrica para analizar estos indicadores los vuelve una herramienta de conservación precisa que puede detectar el estrés ambiental en etapas muy tempranas (Zelditch et al., 2012).

Asimetría fluctuante y canalización en reptiles escamados

La asimetría fluctuante en escamados se ha estudiado ampliamente, pero no se ha investigado la existencia de diferentes respuestas a las condiciones de hábitats antropizados en diferentes especies. Comúnmente, la urbanización induce AF en escamados (Lazić et al., 2013), pero también se han obtenido diferentes respuestas, como que no existan diferencias entre las poblaciones urbanas y silvestres (Alagić et al., 2021) o que las poblaciones silvestres presenten una mayor asimetría (Winchell et al., 2019). La ontogenia es otra fuente de variación para la AF, la “hipótesis del crecimiento compensatorio” (Kellner et al., 2003) explica cómo se puede corregir la AF durante el desarrollo postembrionario; sin embargo, dicha corrección depende de mecanismos amortiguadores intrínsecos (Lazić et al., 2017), debido a esto, se han observado dos respuestas diferentes: que los adultos sean más asimétricos que los juveniles (Lazić et al., 2017),

o que los juveniles presenten mayor AF, pero esta se corrija con la edad (Lazić et al., 2016; Shamiminoori y Bull, 2016). El nivel de AF a lo largo del cuerpo de un organismo es otra fuente de variación. Lens y Van Dongen (1999) demostraron que la AF era una propiedad de cuerpo completo en aves, pero los resultados encontrados por Lazić et al. (2013) en un escamado contradicen dicha hipótesis.

En cuanto a la canalización, son pocos los estudios en los que se ha evaluado este indicador. Buckley et al. (2019) describieron que las características relacionadas con el rendimiento están altamente canalizadas en *Sceloporus occidentalis*. Lazić et al. (2016) registraron una mayor canalización en adultos de la lagartija *Podarcis muralis* cuando estas habitaban en un ambiente urbanizado, diferencia que no se presentaba en ambientes silvestres. En la lagartija *Aspidoscelis costatus costatus*, se registró que la canalización era igual de restrictiva en los ambientes urbanizados que en los silvestres (Gómez-Benitez et al., 2020).

JUSTIFICACIÓN

México es uno de los 17 países megadiversos del mundo, estos albergan el 70% de las especies de flora y fauna existentes (Mittermeier et al., 1997), además, se encuentra entre los tres primeros lugares en cantidad de especies endémicas (Quiroga et al., 2016). En cuanto a reptiles, México es el segundo país más rico del mundo y aproximadamente el 50% de sus especies son endémicas en este grupo (Flores-Villela y Gerez, 1994). De acuerdo con el estado de conservación de la UICN, solo el 10.8 % de las especies de reptiles en México se encuentran altamente amenazadas, este porcentaje subestima el problema y contrasta con el puntaje de vulnerabilidad ambiental que registra que el 55.9 % de las especies son altamente vulnerables (Wilson et al., 2013). En lo que respecta al Estado de México, 101 especies de reptiles habitan en la entidad federativa, de los cuales una lagartija es endémica a esta y 8.8% están incluidas en la

lista roja de IUCN, mientras que el 17.2% está protegido por SEMARNAT y más del 30% presentan un índice de vulnerabilidad ambiental alto (Lemos-Espinal y Smith, 2020). Estos altos niveles de amenaza aunados a los múltiples factores de riesgo que afectan a los reptiles (pérdida de hábitat, introducción de especies invasoras, contaminación, enfermedades, uso insostenible y cambio climático; Whitfield-Gibbons et al., 2000), evidencian la importancia del uso de bioindicadores para evaluar la vulnerabilidad diferencial en este grupo. Medirlas mediante morfometría geométrica las vuelve herramientas de conservación muy precisas. Los métodos utilizados en el presente proyecto revelarán una susceptibilidad diferencial entre las especies estudiadas, característica de las comunidades que podría ser utilizada para establecer estrategias de conservación.

HIPÓTESIS

Las condiciones del ambiente antropizado estudiado ocasionarán un aumento en la asimetría fluctuante en las especies que sean más susceptibles a la antropización, mientras que no se presentarán cambios en las especies con el más amplio repertorio de estrategias fisiológicas y conductuales. La antropización generará estrés ambiental que actuará en conjunto con el estrés al cual están sujetos los escamados, generando así diferencias intraespecíficas en la canalización y asimetría entre las clases de edad y el sexo. La asimetría y la canalización se pueden regular durante el crecimiento post embrionario, atendiendo a la hipótesis del crecimiento dirigido o compensatorio. Los análisis revelarán que la asimetría no es una propiedad de cuerpo completo. Finalmente, el gradiente de antropización generará metapoblaciones con diferentes grados de afectación, lo que se verá reflejado en su AF.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la susceptibilidad al estrés ambiental de una comunidad de escamados localizada en un ambiente antropizado.

Objetivos particulares

Evaluar si las especies de escamados estudiadas presentan asimetría fluctuante y/o disminución de la canalización al habitar un ambiente antropizado.

Determinar si las especies de escamados estudiadas recuperan la simetría y la canalización con la ontogenia.

Determinar si existe una diferencia en la asimetría fluctuante y canalización entre sexos.

Determinar si la asimetría fluctuante es una propiedad de cuerpo completo en las especies estudiadas.

Evaluar el patrón espacial de la asimetría fluctuante en una comunidad de escamados en un ambiente antropizado.

MÉTODOS

Área de estudio y muestreo

Colectamos especies de lagartijas y serpientes en El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México entre abril y octubre de 2021. El área se ubica entre las coordenadas $19^{\circ}25'0'' - 19^{\circ}24'14''$ N y $99^{\circ} 42'22'' - 99^{\circ}40'58''$ W a 2 600 msnm aproximadamente (Fig. 1a,b).

El clima es templado subhúmedo, y el sitio presenta una estacionalidad bien diferenciada entre sequía (noviembre a abril) y lluvias (mayo a septiembre; Álvarez-Lopezello et al., 2016). La vegetación se compone principalmente de pastizales con hasta 118 especies de angiospermas

(Álvarez-Lopezello et al., 2016). En el estrato arbóreo se encuentran *Casuarina equisetifolia*, *Cupressus spp*, *Pinus spp* y *Salix babylonica*. La perturbación en el área es causada por las prácticas agrícolas, la ganadería y la constante presencia humana, lo que ha llevado a la degradación y fragmentación del hábitat (Fig. 1c, d). Las especies de escamados habitan en islas ecológicas formadas por modificaciones humanas. La agricultura de la zona implica la quema del terreno, la presencia de un canal de riego de cemento que provoca la muerte de especies animales cuando estos quedan atrapados, y el tratamiento del suelo con 1.5 L ha⁻¹ de malatión (insecticida), y herbicidas (atrazina y (S)-metolacloro mezclados en cultivo temprano en 200 L de agua postemergencia; Franco-Martínez et al., 2015).

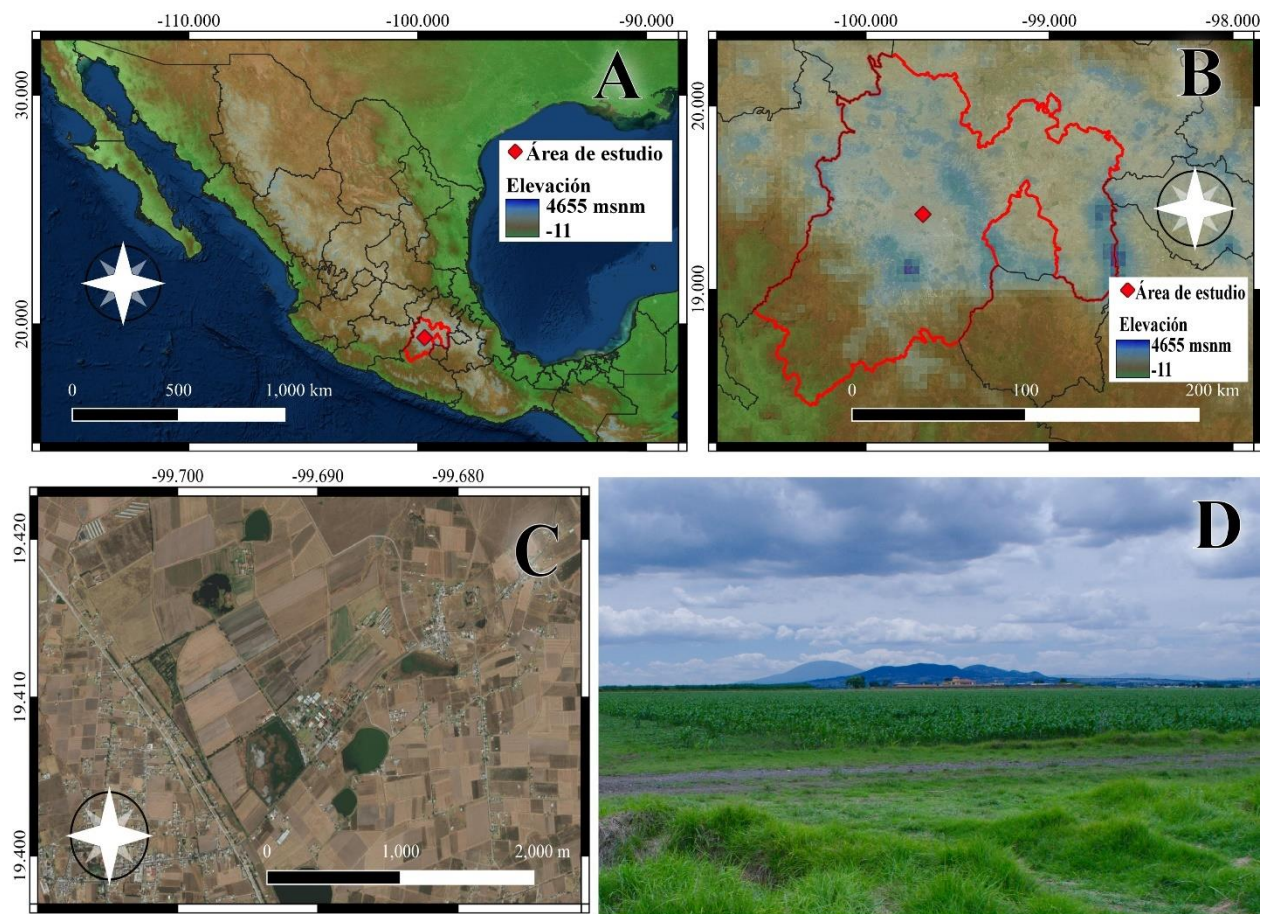


Figura 1. Zona de estudio. Ubicación del área de estudio a nivel federativo en México (A). Ubicación del área de estudio a nivel estatal en el Estado de México, las líneas rojas representan la delimitación del Estado de México (B). Imagen satelital del área de estudio en El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México en el que se muestran que el uso principal del suelo es la agricultura, adicionalmente existen construcciones humanas propiedad de la Facultad de Ciencias de Universidad Autónoma del Estado de México. Fuentes: Esri, DigitalGlobe, GeoEye, i-cubed, USDA FSA, USGS, AEX, Getmapping, Aerogrid, IGN, IGP, swisstopo y GIS User Community (C). Fotografía de los caminos por los que se accede a las diferentes parcelas agrícolas (D).

Los organismos fueron capturados a mano, debajo de rocas, usando una caña de pescar o moviendo sustratos artificiales bajo los cuales los individuos se refugiaban. En El Cerrillo, Piedras Blancas habitan ocho especies de reptiles escamados, por su alta abundancia priorizamos cinco de ellas: dos lagartijas, *Barisia imbricata*, y *Sceloporus grammicus*, y tres serpientes, *Crotalus triseriatus*, *Thamnophis eques*, y *Thamnophis scalaris*; las otras especies menos comunes son *Conopsis lineata*, *Sceloporus torquatus* y *Thamnophis melanogaster* (Fig. 2). Los animales fueron sexados, medidos y fotografiados antes de ser liberados donde fueron recolectados.



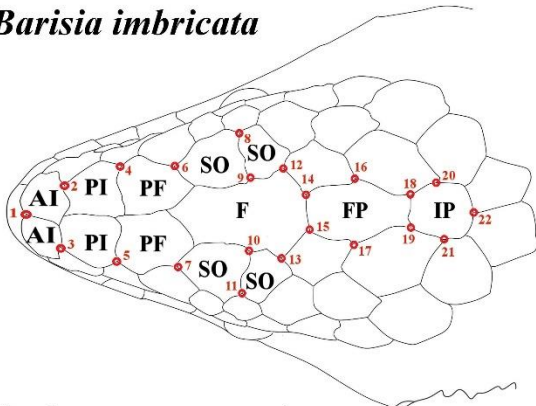
Figura 2. Reptiles escamados en el sitios de estudio. En el Cerillo, Piedras blancas, habitan nueve especies de escamados: tres lagartijas y seis serpientes.

Fotografías, digitalización de landmarks y superposición

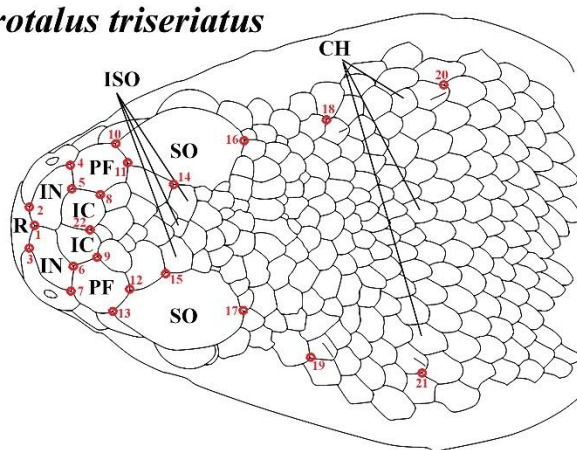
Se tomaron fotografías del plano dorsal de la cabeza en las cinco especies utilizando una cámara Nikon D3500 (parámetros: 1/200, f/22, ISO 100-400) equipada con un lente Nikkor 70-300 (distancia focal = 300), suspendida a 60 cm del suelo con un trípode. Se usaron tubos de extensión para evitar la limitación del enfoque del lente y las imágenes se iluminaron con el flash integrado de la cámara. Es importante señalar que las escamas de la cabeza no se ven afectadas por las contracciones de los músculos, y su uso ha sido ampliamente documentado en escamados que habitan sitios antropizados (ver Lazić et al., 2013; Urošević et al., 2015; Simbula et al., 2021b).

Con el software TpsUtil 1.81, se crearon archivos TPS vacíos para digitalizar landmarks en cada especie por separado. La digitalización se realizó en el software TpsDig 2.31, se digitalizaron 22 landmarks (Fig. 3) dos veces en todos los individuos. Con TpsRelw 1.74 realizamos un análisis de componentes principales (ACP) para cada especie por separado con el fin de detectar errores en la digitalización y remuestreos. Realizamos una superposición de Procrustes en el software MorphoJ 1.07 para eliminar toda la variación que no dependa de la forma. A partir de la superposición obtuvimos tres variables importantes: tamaño del centroide (utilizado posteriormente como indicador de tamaño), componente simétrico y componente asimétrico de la variación (componentes a comparar ya que la forma de la cabeza se evalúa con métodos de simetría de objetos; Zelditch et al., 2012).

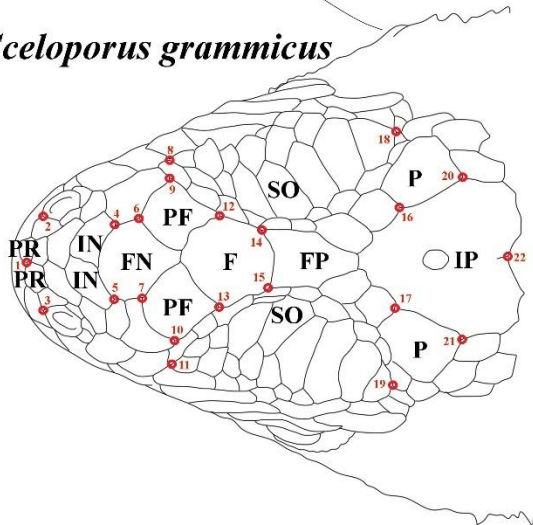
Barisia imbricata



Crotalus triseriatus



Sceloporus grammicus



Thamnophis spp.

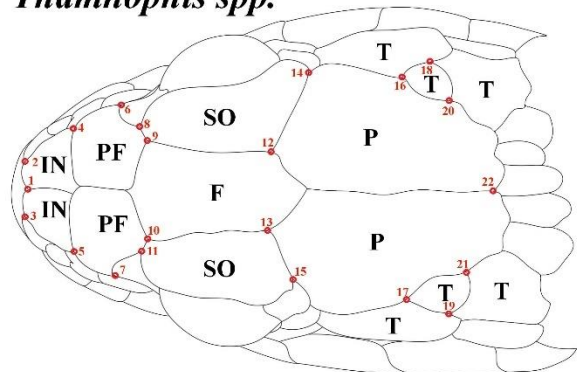


Figura 3. Ubicación de los landmarks. Puntos de referencia digitalizados en la forma de la cabeza de las cuatro especies, los mismos puntos de referencia se digitalizaron en ambas especies de *Thamnophis*. Los landmarks 2-21 se emparejan bilateralmente, mientras que los puntos de referencia 1 y 22 se utilizan para la alineación durante la superposición de Procrustes. AI = internasales anteriores, CH = escamas en la coronilla, F = frontal, FN = frontonasales, FP = frontoparietal, IC = intercantal, IN = internasales, IP = interparietales, ISO = intrasupraoculares, P = parietal, PF = prefrontal, PI = Internasales posteriores, PR = Postrostrales, R = Rostral, SO = Supraoculares, T = Temporales.

Análisis estadísticos: Asimetría fluctuante en la comunidad y su patrón espacial *

Se realizó un ANOVA mixto de dos vías con replicación, que funciona como un diseño de bloques observacional, utilizando el lado como factor fijo y el individuo como factor de bloqueo, la interacción de ambos factores es un efecto mixto y representa la incapacidad del factor individual para tener el mismo efecto en los niveles del factor lado, revelando la presencia de asimetría fluctuante. Para evaluar de manera confiable la asimetría fluctuante, el error de medición debe estimarse y restarse del cuadrado medio de la asimetría. Para lograrlo, se incluyó un término de error en el análisis representado por la réplica de la digitalización de landmarks en cada individuo (Leamy, 1984; Palmer y Strobeck, 1986; Klingenberg y McIntyre 1998; Klingenberg et al., 2002; Graham et al., 2010).

Se calculó la distancia de Mahalanobis para medir la magnitud total de la asimetría fluctuante que considera la variación de simetría en la muestra (Klingenberg y Monteiro, 2005 en Zelditch et al., 2012). La estadística antes mencionada se calculó en MorphoJ 1.07.

Después de determinar que especies presentan asimetría fluctuante, la distancia de Mahalanobis y las coordenadas geográficas (latitud y longitud decimales) de las especies afectadas se emplearon en un análisis de clusters para establecer diferentes metapoblaciones de acuerdo con

sus niveles de asimetría fluctuante. El método de Ward para la disimilitud en la distancia euclidiana fue seleccionado para el análisis de clusters ya que produce grupos con la mínima dispersión intragrupo (Murthag y Legendre, 2014). La diferencia en AF entre metapoblaciones se probó utilizando un ANOVA multifactorial, con metapoblación y especie como factores, para respaldar la existencia de diferentes metapoblaciones sujetas a diferentes factores ambientales estresantes. A partir de esta comparación se catalogaron las metapoblaciones según el nivel de afección en menos afectada, moderadamente afectada y muy afectada. Para evaluar el efecto de las condiciones del hábitat antropogénico en la AF, se evaluaron cinco características relacionadas con la antropización. Primero, la distancia a edificios y cultivos con uso intensivo de pesticidas se calculó en QGIS 3.24.1. Las pendientes de tendencia se calcularon para tres índices: índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI), temperatura de la superficie terrestre (LST) e índice de humedad del suelo (SMI). Para ello, se obtuvo la pendiente de Sen para todas las tendencias observadas, esta se define como la mediana de la pendiente de todos los pares posibles en una serie temporal (Google Earth Engine, 2022), en este caso, para el periodo 2016-2021, que son los años en los que podría presentarse inestabilidad en el desarrollo de los individuos muestreados. Las pendientes de tendencia se obtuvieron en la aplicación Climate Engine y Google Earth Engine utilizando imágenes satelitales Landsat 8 con una resolución espacial de 30 m, dicha resolución se empleó en todas las variables explicativas. Empleando la herramienta de muestreo puntual de QGIS 3.24.1, se obtuvieron valores de todas las variables espaciales para cada individuo, estos valores se compararon entre metapoblaciones y especies, de forma multivariada utilizando un PERMANOVA de dos vías, y de forma univariada empleando un ANOVA multifactorial, acompañado de una comparación por pares en el software Statgraphics 19.1.1 con $\alpha = 0.05$. Se realizó un análisis de árbol de clasificación y regresión

(CART por sus siglas en inglés) para desarrollar un modelo que pudiera explicar la asimetría en función de las variables ambientales y obtener valores de importancia para cada una de ellas, este análisis se realizó con el paquete R rpart.

La relación entre la distancia de Mahalanobis y el tamaño del centroide se probó con una regresión lineal para comprender la relación de la AF con el tamaño. La regresión lineal entre tamaño y el índice de asimetría se realizó en el software PAST 4.06 con $\alpha = 0.05$. El factor de expansión jacobiano en un spline de placa delgada se calculó para comprender las diferencias en la forma de la cabeza entre individuos simétricos y asimétricos, así como los cambios ontogenéticos en el software PAST 4.06.

Análisis estadísticos: variación intraespecífica en asimetría, canalización, alometría y dimorfismo sexual

Para entender los patrones de variación intraespecífica en escamados, se utilizó a *Sceloporus grammicus*. La determinación de las clases de edad se realizó de acuerdo con Jiménez-Cruz et al. (2005) clasificando como adultos a los machos con una longitud hocico-cloaca mayor a 44.5 mm y a las hembras mayores a 44.1 mm, talla en la cual los sexos alcanzan la madurez sexual en *Sceloporus grammicus*. Para sexar los organismos, usamos la presencia de escamas postanales agrandadas en los machos que están ausentes en las hembras.

Dado que no se registró la presencia de asimetría fluctuante ni de asimetría direccional en la forma de la cabeza de *S. grammicus*, la asimetría no se considera en esta especie un bioindicador, sino una característica evolutiva. Se comparó la distancia de Mahalanobis con un ANOVA multifactorial utilizando clases de edad y sexo como factores. Para comprender la dispersión en

la asimetría, se utilizó una prueba de Levene para comparar las varianzas en la distancia de Mahalanobis entre clases de edad y sexos.

Para evaluar las diferencias en la canalización, se calculó la matriz de varianza-covarianza (VCV) dentro del grupo según Zelditch et al. (2004) y se compararon las matrices entre cuatro grupos: hembras adultas, hembras juveniles, machos adultos y adultos juveniles; utilizando un ANOSIM con 10,000 permutaciones, seguido de comparaciones por pares con corrección de Bonferroni. Para interpretar los resultados de la canalización, se realizó un análisis de componentes principales con todas las configuraciones de landmarks de la especie y luego se compararon los componentes principales que describieron la mayor variación entre los cuatro grupos mencionados con una prueba de Levene.

La evaluación de la alometría implicó una regresión multivariada entre el componente simétrico de la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus* y el logaritmo del tamaño del centroide utilizado como indicador de tamaño en morfometría geométrica. Se calculó el factor de expansión jacobiano para interpretar mejor los cambios ontogenéticos en la forma. Se realizaron comparaciones de líneas de regresión utilizando los puntajes de regresión como variable dependiente y el tamaño del centroide logarítmico como independiente, para evaluar si *S. grammicus* presenta un dimorfismo sexual alométrico. Finalmente, se realizó un PERMANOVA con 10,000 permutaciones en el componente simétrico para evaluar si existe dimorfismo sexual en la forma de la cabeza de *S. grammicus*. Todos los procedimientos estadísticos se realizaron en tres software: MorphoJ, PAST4 y Statgraphics Centurion 19 con un nivel de confianza del 95%.

Estudios previos sobre antropización en *Aspidoscelis costatus costatus*

Se colectaron individuos de *Aspidoscelis costatus costatus*, la Lagartija Cola de Látigo de la Cuenca del Balsas, en tres poblaciones diferentes: una población urbanizada en Ixtapan de la Sal y dos poblaciones silvestres, una en Ixtapan de la Sal y otra en Tonicato, Estado de México, México. Se realizaron comparaciones de nueve variables morfométricas y tres merísticas mediante análisis univariados y multivariados, tanto de medidas de tendencia central como de medidas de dispersión. También, se registró la variación ontogenética en la coloración dorsal de 24 lagartijas en la población urbana. Los métodos a detalle se encuentran en los manuscritos titulados “The influence of urbanization on morphological traits in the Balsas Basin Whiptail lizard (*Aspidoscelis costatus costatus*)” y “Color Pattern and Body Size Variation in Live *Aspidoscelis costatus costatus* (Squamata: Teiidae) From a Protected Enclave in Southern Mexico” que se encuentran en las páginas 107 – 129.

RESULTADOS

Asimetría fluctuante y su patrón espacial

Los tamaños de muestra para las especies priorizadas fueron: *B. imbricata* n = 37, *S. grammicus* n = 47, *C. triseriatus* = 22, *T. eques* n = 36 y *T. scalaris* n = 40; todos muestreados en 1.43 km².

En las especies menos abundantes, y no incluidas en los análisis estadísticos, el tamaño de muestra fue: *Conopsis lineata* n = 7, *Thamnophis melanogaster* n = 6 y *Sceloporus torquatus* n = 1. La asimetría media, con un factor de exageración de 10, revela una desviación de la simetría que ocurre principalmente en la parte posterior de la cabeza en *B. imbricata*, *T. eques* y *T. scalaris*, pero no en *S. grammicus* ni en *C. triseriatus* que tenían mayor asimetría en la parte central y anterior respectivamente (Fig. 4). El ANOVA de Procrustes reveló la presencia de

asimetría fluctuante en *B. imbricata* y las dos especies de *Thamnophis* pero no en *S. grammicus* ni *C. triseriatus* (Cuadro 1).

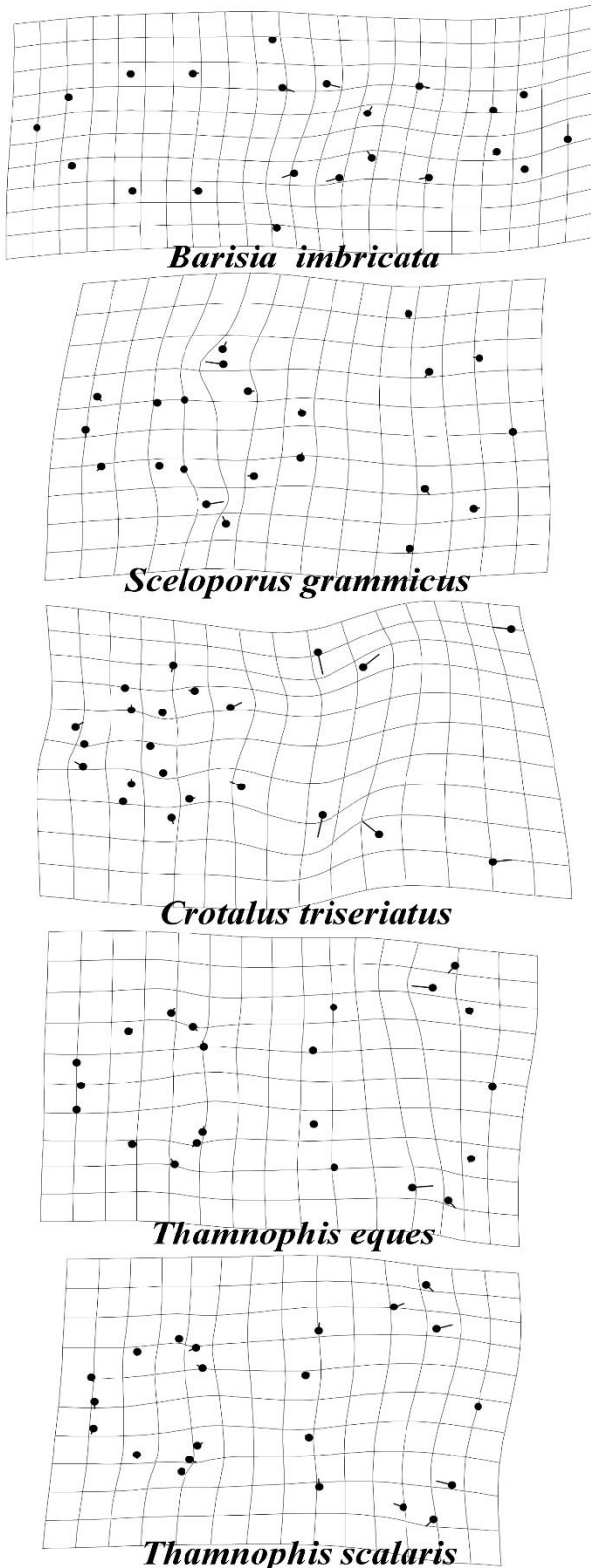


Figura 4. Asimetría de medias. Asimetría media en la forma de la cabeza de las cinco especies estudiadas.

Dado que *S. grammicus* y *C. triseriatus* no presentaron AF, dichas especies fueron excluidas del análisis del patrón espacial de la AF, es decir, solo se utilizaron individuos de *B. imbricata*, *T. eques* y *T. scalaris* para el análisis de clusters y las posteriores comparaciones de los mismos. Los centroides de la distancia de Mahalanobis fueron 2.90 para el cluster menos afectado, 3.07 para el moderadamente afectado y 3.28 para el muy afectado (Fig. 5). El ANOVA multifactorial revela diferencias estadísticas significativas en la distancia de Mahalanobis entre metapoblaciones pero no entre especies ni una interacción significativa de estos factores (Fig. 5). En cuanto a las variables ambientales, de forma multivariada solo resultó significativo el factor metapoblaciones, revelando una nula

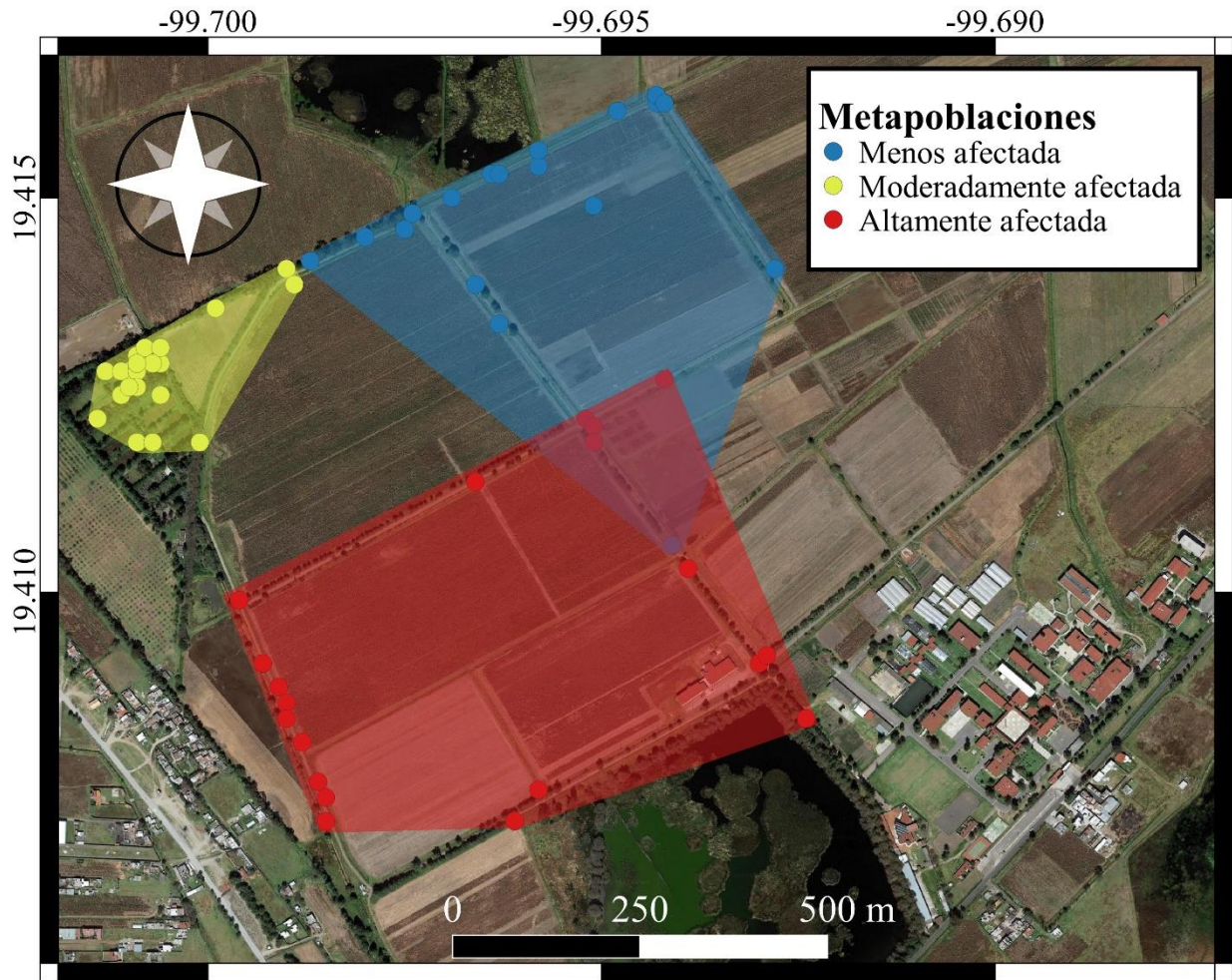


Figura 5. Metapoblaciones obtenidas con el análisis de clusters. Se obtuvieron tres metapoblaciones sujetas a diferentes niveles de estrés con ayuda del análisis de clusters. contribución de las especies a la diferencia observada en este factor (Cuadro 2).

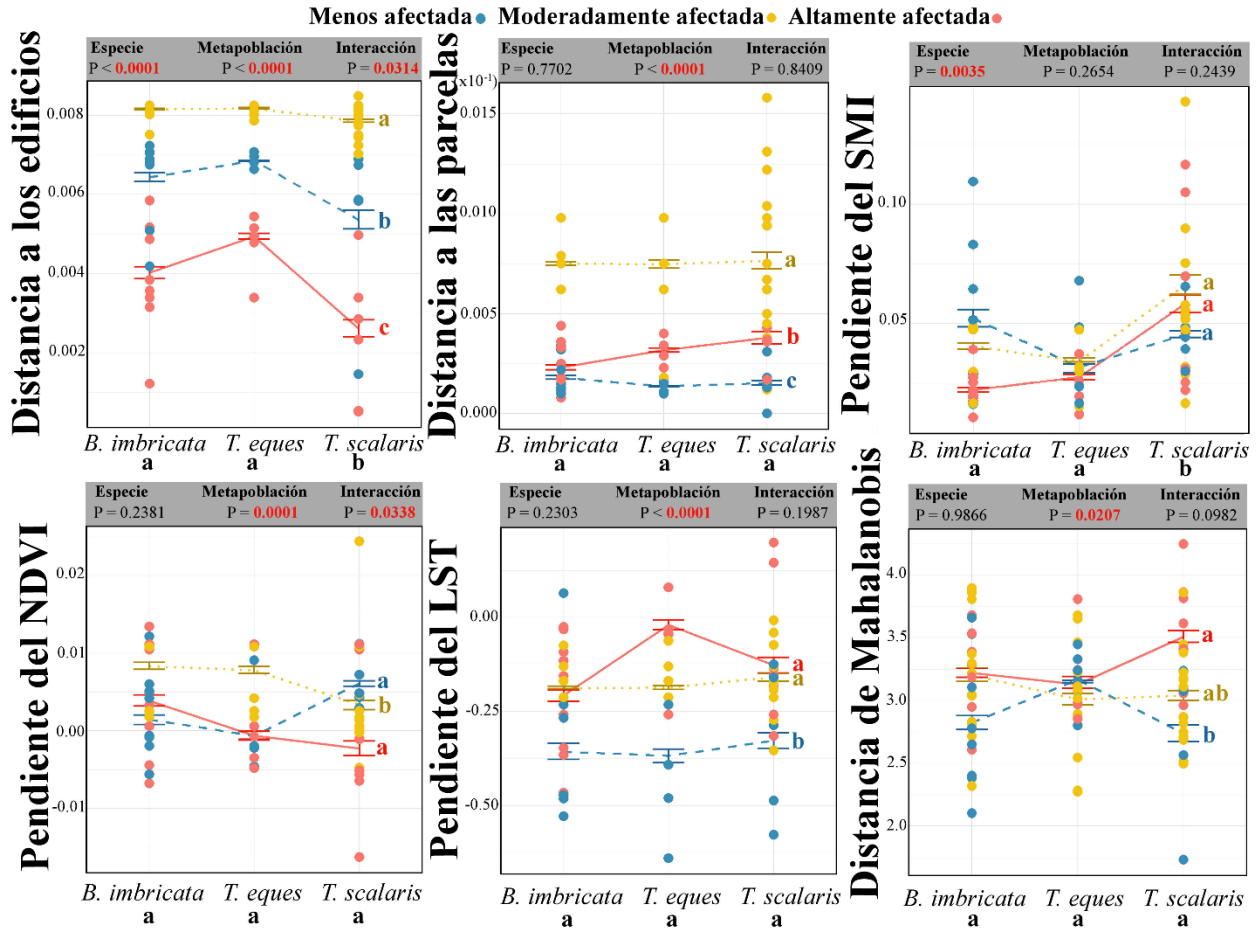
Univariadamente, se observaron diferencias entre metapoblaciones en todas las variables excepto en la pendiente de SMI, el factor especie solo fue significativo en la distancia a los edificios y la pendiente de SMI, y la interacción fue estadísticamente significativa en la distancia a los edificios y la pendiente de NDVI (Fig. 6). El análisis CART muestra seis divisiones para

organizar 91 individuos según su asimetría, en primer lugar, los individuos se dividieron por su distancia de los cultivos, lo que reveló que la mayoría de los individuos muestreados están a más de 0,0003 grados decimales (DD) de los cultivos, la segunda partición dividió el nodo izquierdo según la pendiente del NDVI (0,0055) mientras que el nodo derecho se divide por la distancia a los edificios (0,0064 DD). En los siguientes subnodos, NDVI (0.0038) aparece nuevamente en la rama izquierda, lo que sugiere que no hay suficiente poder de partición en el nodo anterior, el nodo derecho se divide con la pendiente de LST condicional < -0.15 °C. La última división ocurre solo en la rama derecha con distancia a los edificios (0.0082 DD), las divisiones anteriores dieron lugar a siete nodos finales (Fig. 6). Los valores de importancia obtenidos del análisis CART fueron: Pendiente de NDVI = 33, Distancia desde edificios = 30, Distancia desde cultivos = 20, Pendiente de LST = 12 y Pendiente de SMI = 5.

Cuadro 1. Resultados del ANOVA de Procrustes para probar la presencia de asimetría fluctuante en la forma de la cabeza de cinco especies de escamados. Los valores estadísticamente significativos se muestran en negritas.

Efecto	SC	CM	gl	F	P
<i>Barisia imbricata</i> (n = 37)					
Individuo	0.2310	0.0003	720	7.15	<0.0001
Lado	0.0019	0.0001	20	2.13	0.0029
Ind * Lado	0.0323	< 0.0001	720	3.39	<0.0001
Error	0.0195	< 0.0001	1480		
<i>Sceloporus grammicus</i> (n = 47)					
Individuo	0.5381	0.0005	920	5.33	<0.0001
Lado	0.0024	0.0001	20	1.10	0.3447
Ind * Lado	0.1009	0.0001	920	1.08	0.0938
Error	0.1915	0.0001	1880		
<i>Crotalus triseriatus</i> (n = 22)					
Individuo	0.1769	0.0004	420	3.68	<0.0001

Lado	0.0033	0.0001	20	1.48	0.0827
Ind * Lado	0.0480	0.0001	420	0.96	0.6688
Error	0.1044	0.0001	800		
<i>Thamnophis eques</i> (n = 36)					
Individuo	0.1339	0.0001	700	3.88	<0.0001
Lado	0.0017	< 0.0001	20	1.75	0.0228
Ind * Lado	0.0344	< 0.0001	700	7.60	<0.0001
Error	0.0093	< 0.0001	1440		
<i>Thamnophis scalaris</i> (n = 40)					
Individuo	0.2476	0.0003	780	4.15	<0.0001
Lado	0.0024	0.0001	20	1.58	0.0511
Ind * Lado	0.0596	< 0.0001	780	25.97	<0.0001
Error	0.0047	< 0.0001	1600		



Árbol de clasificación y regresión para distancia de Mahalanobis

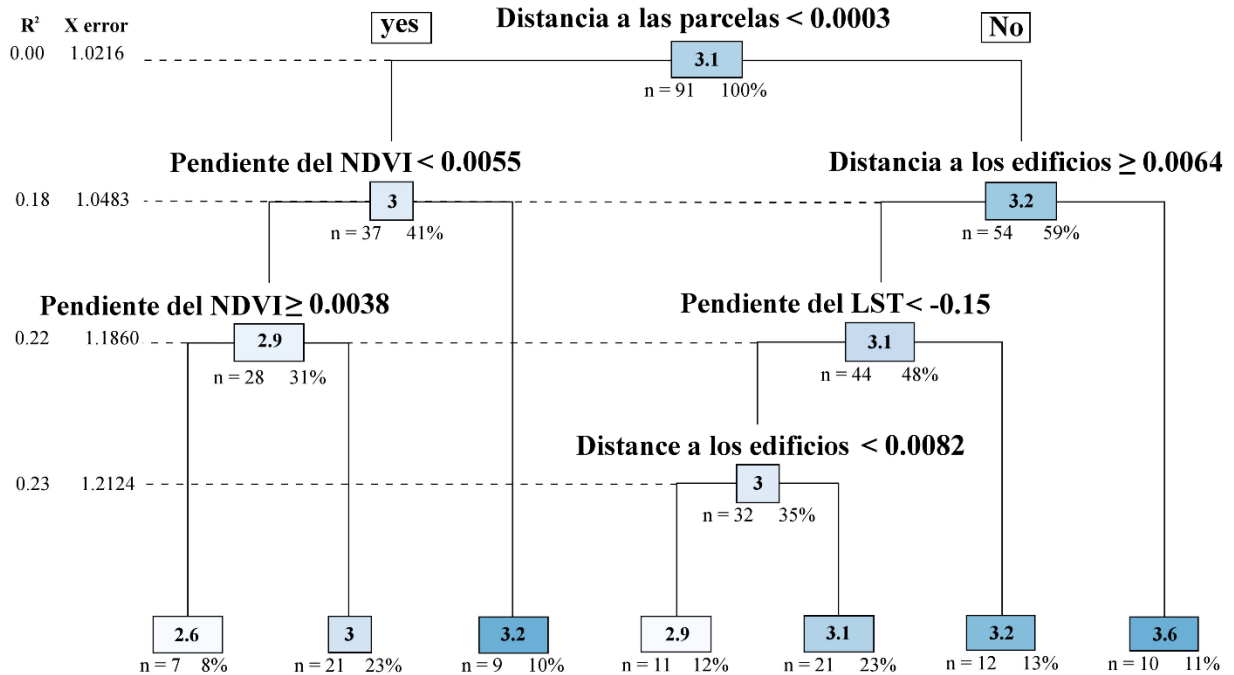


Figura 6. Comparación de la asimetría y variables ambientales, establecimiento de un modelo empírico. Los resultados de ANOVA multifactorial, con comparación por pares, de la distancia de Mahalanobis y las variables ambientales entre las metapoblaciones, además, se presenta un modelo empírico para predecir la asimetría en los escamosos basado en el análisis CART, los valores de R^2 parecen ser bajos, pero tienen una buena resolución en el modelo, X error se refiere al error de validación cruzada, los valores obtenidos respaldan el potencial de predicción del modelo. Los valores significativos se muestran en rojo arriba de las gráficas de interacciones.

Cuadro 2. Resultados del PERMANOVA de dos vías para probar las diferencias en las variables ambientales utilizadas entre metapoblaciones y para las tres especies consideradas en el análisis espacial: *B. imbricata*, *T. eques* y *T. scalaris*. Los valores estadísticamente significativos se muestran en negritas.

Efecto	SC	MC	gl	F	P
Metapobaaaciones	0.6310	0.3155	2	17.21	0.0001
Especies	0.0898	0.0449	2	2.45	0.0893
Interacción	0.0790	0.0197	4	1.07	0.3840
Residual	1.5032	0.0183	82		
Total	2.3032		90		

La asimetría fluctuante como una propiedad de cuerpo completo y su relación con el tamaño

La correlación entre la distancia de Mahalanobis y el tamaño del centroide revela un pobre ajuste al modelo lineal en las cinco especies, además, se obtuvieron valores de P significativos solo en *B. imbricata*, especie en la cual los individuos más grandes son los más asimétricos (Fig. 7).

El factor de expansión en los cambios ontogenéticos muestra una importante expansión en las escamas internasales, prefrontales y posteriores de *B. imbricata* seguida de una contracción en

las escamas frontal y frontoparietal. En *S. grammicus* se produce una expansión en las escamas postrostrales, una contracción reduce el espacio ocupado por la escama frontonasal y por la parte anterior de la supraocular. Curiosamente, una expansión importante está presente en las escamas parietales en el lado izquierdo, pero ésta es menos prominente en el lado derecho, por lo cual parece haber variaciones ontogenéticas que han llevado a un crecimiento asimétrico en *S. grammicus* diferentes de la AF. En *C. triseriatus*, se produce una expansión menor a ambos lados de las escamas internasales, se producen expansiones asimétricas en corona cefálica y una contracción asimétrica en las escamas intercantales y prefrontales. En ambas especies de *Thamnophis*, se produce una importante contracción en la línea media de la cabeza. Para *T. scalaris* dicha contracción no incluye la parte anterior de la cabeza. En *T. eques* los landmarks en las escamas temporales se manifiestan en una expansión más drástica en el lado derecho de la cabeza que en el izquierdo, mientras que *T. scalaris* presenta una expansión similar, pero en ambos lados. En los cambios de simetría, *B. imbricata* presenta una contracción más marcada en las escamas supraoculares del lado izquierdo de la cabeza, además, hay expansiones prominentes del lado izquierdo de la escama interparietal. Se presenta una importante expansión en la cabeza de *S. grammicus* en las escamas supraoculares más marcada en el lado izquierdo. Adicionalmente, se presentan algunas contracciones simétricas en las prefrontales. En *C. triseriatus* se produce una ligera expansión en el lado izquierdo en las escamas intercantales y otra en el lado derecho en las supraoculares. En *T. eques* solo una contracción en las escamas temporales, más pronunciada en el lado izquierdo que en el derecho, revelan asimetría. *Thamnophis scalaris* solo presenta una expansión asimétrica en las escamas temporales más prominente en el lado derecho (Fig. 7).

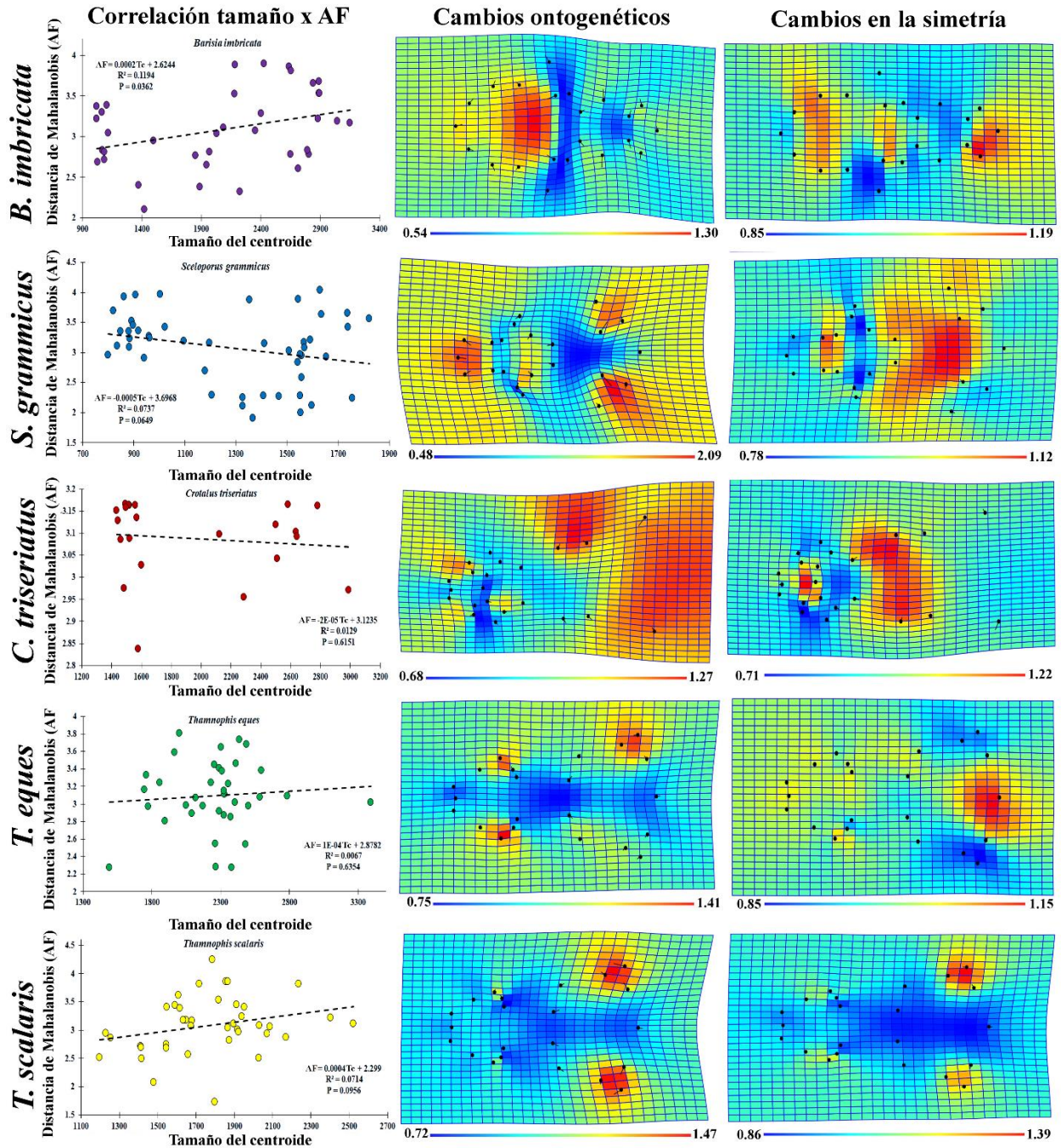


Figura 7. Factores de expansión y regresión lineal. Análisis de la relación entre asimetría y ontogenia, así como cambios en ontogenia y simetría en columnas, las filas muestran análisis para cada especie de escamado. Los valores más bajos en los cambios representan contracciones y los valores más altos representan expansiones.

Variación intraespecífica en *Sceloporus grammicus*

El ANOVA para comparar la distancia de Mahalanobis no reveló diferencias estadísticamente significativas entre sexos ni en la interacción sexo*clases de edad, pero sí entre clases de edad (Cuadro 2) siendo los juveniles ($\bar{X} = 3.08 \pm 0.48$) más asimétricos que los adultos ($\bar{X} = 3.06 \pm 0.49$). La suma de cuadrados muestra una mayor contribución a la variación de las clases de edad y una pobre contribución de los sexos (Cuadro 3). Los sexos no demostraron diferencias en la variación de la distancia de Mahalanobis según la prueba de Levene (machos $\sigma = 0,62$, mujeres $\sigma = 0,54$, $F = 0,7619$, $P = 0,5269$), pero sí las clases de edad (juveniles $\sigma = 0,32$, adultos $\sigma = 0,62$, $F = 3,8037$, $p = 0,0057$).

Cuadro 2. ANOVA para probar las diferencias en AF (distancia de Mahalanobis) entre clases de edad y sexos en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*. Los valores significativos se muestran en negritas

Factores	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	P
Clase de edad	2.84981	1	2.84981	9.65	0.0034
Sexo	0.00583559	1	0.00583559	0.02	0.8889
Interacción	0.0199544	1	0.0199544	0.07	0.7962
Residual	12.7029	43	0.295417		
Total (Corregido)	15.5931	46			

Los resultados del ANOSIM para probar las diferencias en la canalización muestran diferencias entre los cuatro grupos considerados ($R = 0,0946$, $P > 0,0001$). La comparación por pares corregida con la corrección de Bonferroni muestra diferencias entre todos los grupos excepto entre hembras juveniles y machos juveniles (Cuadro 4). Para la interpretación se utilizaron los dos primeros componentes principales ya que alcanzaron el 63% de variación explicada. La

prueba de Levene del CP1 y CP2 revela una diferencia global en la varianza (Fig. 8). Las comparaciones por pares en CP1 revelan diferencias en la varianza entre todos los grupos excepto entre hembras ($\sigma = 0.0192$) y machos ($\sigma = 0.0182$) adultos, y entre hembras ($\sigma = 0.0450$) y machos ($\sigma = 0.0409$) juveniles, por otro lado, no hubo diferencias significativas en CP2 (Fig. 8).

Cuadro 3. ANOSIM por pares para probar las diferencias en la canalización entre clases de edad y sexos en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*, los valores de P corregidos con la corrección de Bonferroni se muestran debajo de la diagonal y los valores de R en la parte superior de la diagonal, los valores significativos se muestran en negrita.

	Hembras adultas	Hembras juveniles	Machos adultos	Machos juveniles
Hembras adultas		0.1625	0.0566	0.1219
Hembras juveniles	0.0005		0.1303	0.0242
Machos adultos	0.0083	0.0005		0.0933
Machos juveniles	0.0005	0.2562	0.0005	

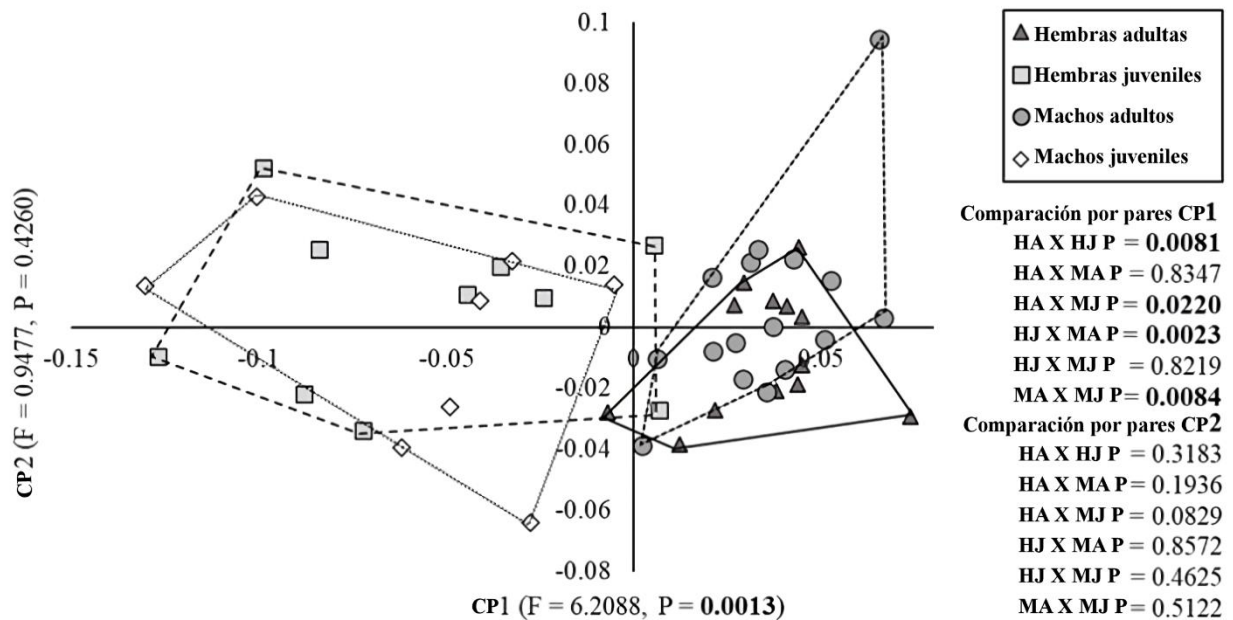


Figura 8. Componentes principales de la forma de la cabeza de *S. grammicus*. Los dos primeros componentes principales y los resultados de las pruebas de Levene para evaluar las diferencias en la varianza entre clases de edad y sexos en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*. Los valores de R y P en los ejes atienden a una comparación general y la columna de la derecha a las comparaciones por pares, los valores significativos se muestran en negrita. HA = hembras adultas, HJ = hembras juveniles, MA = machos adultos, MJ = machos juveniles.

Con respecto a la alometría, la regresión multivariada sobre el componente simétrico explica el 26,73 % de la variación de los datos y revela una dependencia estadísticamente significativa de la forma de la cabeza en el logaritmo del tamaño del centroide ($P > 0.0001$). El ajuste a un modelo lineal es deficiente ya que los individuos más pequeños están muy dispersos, lejos de los valores esperados (Fig. 9A). Los principales cambios alométricos en la forma de la cabeza se presentan anterior y posteriormente a las escamas supraoculares, entre las escamas postrostrales y anterior a las nasales (Fig. 9B). La comparación de líneas de regresión del componente alométrico entre sexos no revela diferencias significativas (intercepto: hembras = -0.1197, machos = -0.0556, $F = 0.31$, $P = 0.5823$; pendiente: hembras = 0.0001, machos < 0.0001 , $F = 0.89$, $P = 0.3517$).

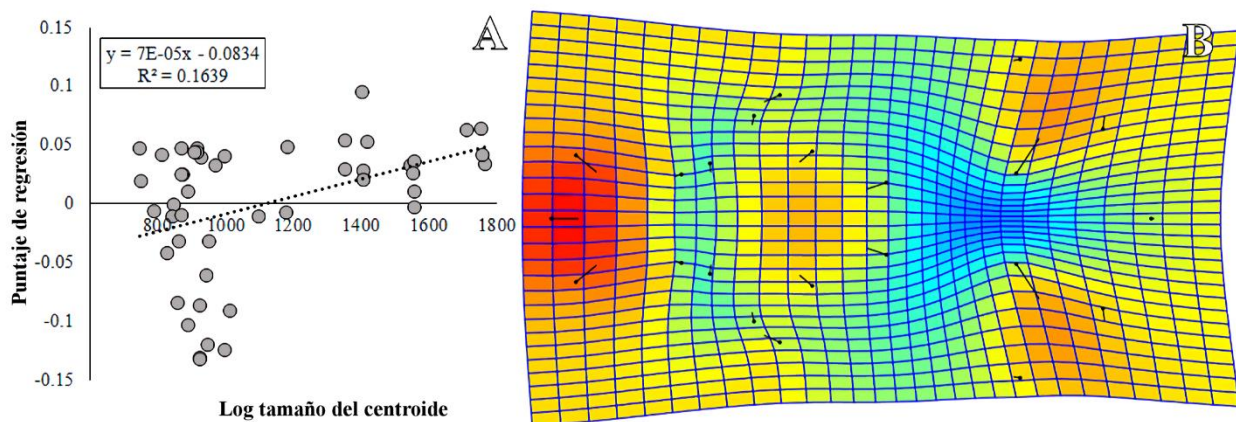


Figura 9. Alometría. Regresión sobre la forma de la cabeza y el tamaño del centroide logarítmico (A) y los cambios de forma ontogenéticos para evaluar la alometría en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*, los colores rojizos representan expansiones y los azulados contracciones (B).

Los resultados del PERMANOVA para evaluar las diferencias entre sexos en la forma de la cabeza de *S. grammicus*, mostraron que no existe dimorfismo sexual en esta característica ($F = 0.4227$, $P = 0.8693$).

DISCUSIÓN

En escamados, la asimetría fluctuante ha presentado diferentes respuestas en ambientes antropizados que van desde el aumento de la inestabilidad del desarrollo (Lazić et al., 2013; Lazić et al., 2016; Mirč et al., 2019), no presentar diferencias en este bioindicador entre grupos (Sacchi et al., 2018; Simbula et al., 2021b), o la reducción en la inestabilidad del desarrollo, pero esa última posibilidad podría estar relacionada con la eliminación de organismos asimétricos (Winchell et al., 2019). En el presente estudio, analizamos el patrón de asimetría fluctuante en cinco especies de escamados, tres de las cuales exhibieron asimetría fluctuante en la forma de la cabeza (revelada por la significancia estadística de la interacción entre los factores individuo y lado en *B. imbricata*, *T. eques* y *T. escalaris*). La asimetría fluctuante es un indicador confiable del estrés ambiental en las poblaciones (Palmer y Strobeck, 1986), y se observó en *B. imbricata*, *T. eques* y *T. scalaris* en el área antropizada de estudio, lo que sugiere un efecto adverso de las condiciones ambientales en estas especies, pero no en *C. triseriatus* y *S. grammicus*.

La falta de relación entre el tamaño del centroide y la distancia de Mahalanobis en casi todas las especies estudiadas contradice la hipótesis del crecimiento compensatorio, denotando que la AF no se puede corregir con la edad. Sin embargo, otra posibilidad es que las fuentes de estrés en El Cerrillo, Piedras Blancas afecten por igual a individuos jóvenes y adultos de la localidad

estudiada. En el caso específico de *B. imbricata*, los adultos fueron más asimétricos que los juveniles como lo registraron previamente Lazić et al. (2017), esto podría deberse a cambios ambientales drásticos que influyeron en la estabilidad del desarrollo en adultos durante su desarrollo embrionario, pero que posteriormente cesó cuando nacieron los individuos juveniles. Las observaciones sobre el factor de expansión de Jacobiano revelan diferencias en la asimetría a lo largo de la cabeza en la dirección anteroposterior. Estos hallazgos pueden proporcionar conocimiento sobre que la AF no es una propiedad de cuerpo completo, dado que algunas expansiones o contracciones están presentes en un solo lado de la cabeza en las diferentes especies y no se mantienen constantes en toda la cabeza. A esta misma conclusión llegaron Lazić et al. (2013).

El modelo clásico de especies especialistas y generalistas está relacionado con la vulnerabilidad diferencial en escamados

Dado que los saurópsidos no aves son ectotermos, son especialmente susceptibles a los cambios ambientales, incluidas las alteraciones inducidas por el hombre (Gibbons et al., 2020).

Dependiendo de cómo se produzca la modificación del hábitat, algunas especies podrían ser menos vulnerables si son capaces de habitar una gran variedad de hábitats (Segura et al., 2007), tienen un amplio intervalo de distribución (Kiessling y Aberhan, 2007) o tienen una dieta extensa (Boyles y Storm, 2007). *Sceloporus grammicus*, que no mostró asimetría fluctuante, se considera una especie generalista porque: 1) se distribuye por todas las principales formaciones montañosas de México y parte del Altiplano Mexicano (Sites et al., 1992), llegando incluso al sur de Texas, 2) puede utilizar una gran variedad de hábitats e incluso vivir en ambientes contrastantes (Díaz de la Vega-Pérez et al., 2019), y 3) y se alimenta de presas pertenecientes a varios grupos taxonómicos (Leyte-Manrique y Ramírez-Bautista, 2010). De igual forma, *C.*

triseriatus que no presenta AF, pese a que su distribución se restringe a la Faja Transvolcánica Mexicana, tiene una amplia distribución altitudinal desde 1 905 – 4 600 msnm, es euritermo y tiene una dieta generalista (Bryson jr. et al., 2011; Mociño-Deloya et al., 2014; Jaramillo-Alba et al., 2020; Castillo-Juárez et al., 2021). *Barisia imbricata* y *T. eques* han demostrado estar en una “zona gris” en el gradiente especialista-generalista, presentando algunas características generalistas (Drummond, and García, 1989; Sunny et al., 2017; González-Fernández et al., 2018; Fierro-Estrada et al., 2019) y otras de especialistas (Rosen, 1991; Sunny et al., 2017). Por el contrario, *T. scalaris* presenta una dieta altamente especializada y una distribución potencial limitada a la Faja Transvolcánica Mexicana (Manjarrez et al., 2007; Sunny et al., 2017). Nuestra hipótesis es que las especies con características más generalistas se ven menos afectadas por el estrés de habitar un área antropizada.

Lejos del suelo: los hábitos de los escamados se relacionan con la vulnerabilidad diferencial en hábitats antropizados

En los agroecosistemas, los pesticidas se emplean comúnmente para mejorar la supervivencia y la productividad de los cultivos. En Squamata, la transmisión vía materna de pesticidas ya se ha estudiado, revelando una reducción en la calidad de la descendencia (Simbula et al., 2021a). Los pesticidas utilizados en El Cerrillo, Piedras Blancas, ya han sido registrados como problemáticos para el desarrollo de escamados (Walters et al., 2014; Parsley et al., 2015; Chen et al., 2017). Los principales mecanismos de intoxicación por pesticidas en estos organismos son la ingestión, la exposición dérmica y la inhalación en ese orden de importancia (Hopkins, 2006). La exposición podría ser mayor a nivel del suelo que en el estrato arbóreo, ya que los residuos de algunos plaguicidas en el suelo son mayores que los que se encuentran en los frutos de los árboles (Liu et al., 2016), en las aguas superficiales las concentraciones de agroquímicos son aún mayores

(Peruzzo et al., 2008). En el área de estudio, *S. grammicus* se muestreó mayoritariamente de árboles caídos y sanos. *Crotalus triseriatus* se encontró principalmente en macollos y fisuras. *Thamnophis eques* y *T. scalaris* se encontraron en fisuras, cuerpos de agua o caminos de terracería mientras que *B. imbricata* habita en macollos a los lados de los caminos de terracería cercanos a pequeños cuerpos de agua que utilizaban como vía de escape. Los hábitos de las especies podrían estar relacionados con el estrés por plaguicidas en agroecosistemas como lo revela la presencia de asimetría fluctuante en especies que utilizan microhábitats a nivel de suelo y aguas superficiales, misma que está ausente en las especies exclusivamente terrestres y la arbórea.

La persecución humana y su posible relación con la inestabilidad del desarrollo

Las heridas en saurópsidos no aves producen estrés relacionado con la cicatrización y, en consecuencia, podrían causar estrés fisiológico a largo plazo (Neuman Lee et al., 2014; Hudson et al., 2021). Las lesiones en lagartijas tienden a aumentar de los hábitats naturales a los urbanos (Winchell et al., 2019). El comportamiento de matanza intencional es común cuando ocurren interacciones entre humanos y animales, debido al miedo, a sentir repugnancia por ellos, o a los mitos negativos que los rodean, las personas se sienten obligadas a intentar matar a serpientes y lagartijas (Alvarado-Avilés et al., 2019; Onyishi et al., 2021). Previamente ya se ha registrado la matanza intencional de culebras listonadas en áreas antropizadas (Gray, 2015), y *T. eques* y *T. scalaris* no son ajenas a este problema. Durante los muestreos, se observó aversión a todas las especies de serpientes en el área de estudio entre los agricultores que trabajaban en el área. Además, se observaron comúnmente heridas en *T. eques* y *T. scalaris*, e incluso se documentó la matanza intencional de culebras en varias ocasiones. Por el contrario, solo se registraron dos eventos de *C. triseriatus* heridos que en realidad ocurrieron por accidente, y solo se observó un

evento de serpientes de cascabel asesinadas intencionalmente, puede que esa especie sea más evasiva con los humanos. Por otro lado, los mitos sobre *B. imbricata* como un lagarto venenoso que “pica con la cola” son normalmente contados entre los habitantes de los pueblos aledaños y era común encontrar individuos muertos o heridos de esta especie. Afortunadamente, los humanos no muestran aversión a *S. grammicus*. La persecución humana constante induce estrés en escamados debido a la frecuencia constante con que debe escapar (Kerr et al., 2004; French et al., 2018). Las especies que habitan en los árboles pueden escapar de los humanos sin sufrir demasiado estrés, ya que los escapes pueden no ser necesarios en elevaciones altas a las que los humanos no pueden llegar, lo que puede contribuir a la falta de asimetría fluctuante en *S. grammicus*. *Crotalus triseriatus* podría reducir el estrés de escape evitando a los humanos, tomando el sol inmediatamente cerca de los refugios.

Las condiciones del hábitat antropizado actúan concomitantemente para inducir AF en los escamados

Nuestros resultados demuestran el efecto de la antropización en la AF de las especies y metapoblaciones de escamados, lo que denota una relación directa entre el gradiente de antropización y la inestabilidad del desarrollo. Sacchi et al. (2018) discutieron algunas necesidades en el estudio de AF para ser un biomarcador confiable, dentro de estas necesidades, los autores sugieren evaluar cuantitativamente el verdadero efecto del estrés, con nuestra evaluación de AF basada en el análisis de patrones espaciales, estamos contribuyendo a lograr esta necesidad. Las diferencias en las condiciones del hábitat entre metapoblaciones y microhábitats revelan no solo la relación entre la AF y el estrés por antropización, sino que también nos permiten identificar las características potenciales que causan un aumento de la AF, en este caso, el cambio de uso del suelo, la presencia humana y el uso de pesticidas. son los

estresores más importantes en las poblaciones estudiadas. Sin embargo, dado que se lograron diferencias significativas entre los conglomerados en todas las variables estudiadas excepto en la pendiente SMI, podemos concluir que las variables ambientales en un hábitat antropizado probablemente estén actuando de manera concomitante.. Es necesario tratar siempre la antropización como un fenómeno multifactorial, solo considerar los cambios más evidentes a través de un gradiente o entre varias poblaciones podrían sesgar los resultados, ya que los cambios menos evidentes también están induciendo estrés en las poblaciones.

Variación intraespecífica en la forma de la cabeza de *Sceloporus grammicus*

El análisis de la asimetría demuestra que los jóvenes son más asimétricos que los adultos, pero esta asimetría varía más en los adultos, dado que la asimetría aquí no está relacionada con el estrés ambiental, la ontogenia de la simetría observada podría ser el resultado de una variación natural. En *S. grammicus*, la presencia de antisimetría, un tipo de simetría que resulta del desarrollo normal (Van Valen 1962), ya fue documentada (Dosselman et al., 1998) pero no existe una explicación evolutiva evidente para la presencia de antisimetría en la forma de la cabeza o configuración de las escamas. Una fuente de asimetría no relacionada con el estrés ambiental debe estar presente durante el desarrollo embrionario actuando al azar en uno de los lados de la cabeza, pero el crecimiento post embrionario aparentemente puede corregir esa asimetría. Puede que la posición del embrión dentro de la hembra sea una fuente de asimetría natural en las especies vivíparas, pero no hay información al respecto, se requieren más estudios para probar esa hipótesis. El hecho de que la asimetría no relacionada con el estrés se presente por igual en hembras y machos refuerza esa idea, ambos sexos tienen una posición intrauterina aleatoria y, por lo tanto, podrían desarrollar asimetría por igual, además, se ha demostrado que la posición intrauterina regula varias características fenotípicas en vertebrados (Vom Saal, 1981).

El análisis de la canalización revela diferencias entre clases de edad y entre sexos en la clase adulta pero no en la clase juvenil. Una canalización menos restrictiva en los jóvenes no significa que la descendencia esté bajo condiciones de mayor estrés que los adultos, pero revela que los adultos podrían lidiar con los factores ambientales estresantes y luego retomar la vía desarrollo predeterminada de la especie. Para ello, el aprendizaje y la confianza en el hábitat son fundamentales. En las lagartijas del género *Sceloporus* se ha documentado ampliamente la territorialidad (Sheldahl & Martins, 2000; Haenel et al., 2003) e incluso la capacidad de los adultos de esta especie para aprender dónde encontrar recursos (Punzo, 2002), haciendo que la supervivencia sea menos estresante. Las diferencias entre sexos solo presentes en adultos podrían estar relacionadas con la reproducción, concretamente, con interacciones agresivas entre machos. En estas lagartijas la competencia intrasexual incluye comportamientos agresivos de los machos dominantes sobre los subordinados para dominar el territorio y las hembras para la reproducción (García-Rosales et al., 2021), este tipo de interacciones no se presentan en las hembras. Nuestros resultados sobre canalización sugieren que el eustrés interactúa con el distrés en *S. grammicus*, lo que podría ocurrir en otras lagartijas, alterando los patrones de bioindicadores según la clase de edad o el sexo.

La alometría es un fenómeno interesante de estudiar por sí solo, ya que describe las demandas funcionales a lo largo de la vida de un organismo en las características estudiadas (Zelditch et al. 2012). En *Sceloporus grammicus* hubo cambios importantes en la forma de la cabeza debido al tamaño, las modificaciones en las escamas postrostrales podrían estar relacionadas con cambios en el hocico debido a las diferencias de amplitud de nicho dietético entre adultos y jóvenes ya registradas para esta especie (Durán-Servín, 2012). Dicho lo anterior, podemos concluir que los requerimientos dietéticos exigen cambios ontogenéticos en la forma del hocico de *Sceloporus*

grammicus. Un mal ajuste al modelo lineal corrobora la canalización menos restrictiva en los jóvenes, que se corrige en los adultos. La ausencia de una diferencia significativa entre las líneas de regresión de los sexos atiende nuevamente a la dieta, ya que los sexos presentan un importante solapamiento dietético en *S. grammicus* (Leyte-Manrique & Ramírez-Bautista, 2010) y los principales cambios ontogenéticos se dan en el hocico en esta especie.

La ausencia de dimorfismo sexual en la forma de la cabeza contrasta con los resultados encontrados previamente mediante morfometría lineal. Hernández-Salinas et al. (2010) registraron que los machos tienen cabezas más largas y anchas que las hembras, pero nuestros resultados no muestran diferencias en la forma. En el género *Phymaturus*, lagartija de la familia Liolaemidae, ambos métodos coincidieron, ya que con ambos se registró que no existe dimorfismo sexual en la cabeza (González-Marín et al., 2016), contrario a los resultados observados en *S. grammicus*. Es posible que la cabeza difiera entre sexos solo en tamaño, pero no en la forma, dado que la cabeza de *S. grammicus* varía en dos direcciones X e Y, o en este caso ancho y largo (Hernández-Salinas et al., 2010), aunque la cabeza sea más grande en los machos, las escamas también aumentan de tamaño en las mismas direcciones, teniendo entonces una forma similar en configuración de escamas cefálicas y cabeza entre sexos, pero de diferente tamaño. Otra posible explicación sobre la discrepancia entre los métodos morfométricos lineales y geométricos, es que los landmarks seleccionados no incluyeron las características de forma que varían con el tamaño, algunos autores sugieren que no siempre es posible determinar los puntos donde las estructuras varían cuando se utiliza la morfometría geométrica (Richtsmeier et al., 2002), pero en este caso se sugiere que la cabeza es dimórfica solo en tamaño pero no en forma en *Sceloporus grammicus*, ya que nuestra selección de landmarks explica adecuadamente la forma de la cabeza en esta lagartija.

Implicaciones en biología de la conservación

Mediante la evaluación de AF se demostró la presencia de estrés en tres especies debido a la antropización. González-Fernández et al. (2018) describieron cómo los diferentes grados de antropización limitarán la distribución de dos de las especies aquí estudiadas, *T. eques* y *T. scalaris*, en el futuro. Sunny et al. (2017) también discutieron el impacto de la antropización en la distribución de *B. imbricata* y declararon que las actividades humanas podrían tener efectos negativos a largo plazo. Ambos trabajos concuerdan con nuestros hallazgos sobre la antropización, en su mayoría relacionada con la agricultura, como fuente de estrés y riesgo potencial de extinción local. Afortunadamente, estas tres especies habitan en un gran número de Áreas Naturales Protegidas en México (Sunny et al., 2017; Méndez-de la Cruz et al., 2018) lo que representa un acervo genético importante para la conservación de las especies. La amenaza humana a través de la matanza directa es otra problemática constante en la conservación de escamados, como se discutió anteriormente, nuestras especies estudiadas no son ajenas a este problema. La presencia de asimetría fluctuante en algunas especies temidas representa una justificación para trabajar con programas de educación ambiental en el área de estudio, y así disminuir el estrés que sufren las especies, es necesario informar a los trabajadores de campo sobre los servicios ecosistémicos que ofrecen las especies, incluyendo aquéllos que les benefician en su labor, como el control de plagas, e incluso instruir a los residentes sobre el manejo adecuado de las serpientes para que puedan reubicar a los organismos que encuentren en su área de trabajo. Los programas de conservación de la conectividad del paisaje son necesarios para reducir el estrés debido a la fragmentación del hábitat causada por la antropización. Evaluar la vulnerabilidad diferencial y rastrear las condiciones ambientales relacionadas, nos permitirá dirigir eficientemente los esfuerzos de conservación de especies amenazadas en hábitats

antropizados de acuerdo con las características ambientales específicas que les afectan, aunque nos gustaría trabajar con todas las especies y así poder ayudarlas, los esfuerzos de investigación y conservación aplicada son finitos, detectar qué especies están siendo las más afectadas nos permitirá orientar los recursos disponibles a necesidades de conservación más urgentes y los modelos empíricos podrían ser una alternativa para generar respuestas rápidas para la conservación animal. Finalmente, comprender las fuentes de variación intraespecíficas nos permite no solo comprender los procesos evolutivos de las especies, sino también comprender las fuentes de variación que podrían influir en los resultados de algunos bioindicadores, contribuyendo al conocimiento sobre el uso de éstos y mejorando los resultados obtenidos de bioindicadores como la canalización y la asimetría estudiados mediante morfometría geométrica.

LITERATURA CITADA

Alagić, A., Krofel, M., Lazić, M., & Žagar, A., 2021. Effects of biotic and abiotic stressors on asymmetries and head size in two sympatric lizard species. *Anim. Biol.* 71, 329–347.

<https://doi.org/10.1163/15707563-bja10058>

Alvarado-Avilés, J.C., Manjarrez, J., Sánchez-Sánchez, H., 2019. Intentional Human-Caused Mortality of *Plestiodon copei* (Scincidae). *Revista Latinoamericana de Herpetología* 2, 35–36.

Álvarez-Lopezello, J., Rivas-Manzano, I.V., Aguilera-Gómez, L.I., González-Ledesma, M., 2016. Diversity and structure of a grassland at El Cerrillo, Piedras Blancas, Estado de México, Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* 87, 980–989. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.006>.

Bell, R.C., Parra, J.L., Tonione, M., Hoskin, C.J., Mackenzie, J.B., Williams, S.E., Moritz, C., 2010. Patterns of persistence and isolation indicate resilience to climate change in montane rainforest lizards. *Mol. Ecol.* 19, 2531–2544. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04676.x>.

Boyles, J.G., Storm, J.J., 2007. The Perils of Picky Eating: Dietary Breadth Is Related to Extinction Risk in Insectivorous Bats. *Plos One* 2, e672.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000672>.

Bryson jr., R.W., Murphy, R.W., Lathrop, A., Lazcano-Villareal, D., 2011. Evolutionary drivers of phylogeographical diversity in the highlands of Mexico: a case study of the *Crotalus triseriatus* species group of montane rattlesnakes. *J. Biogeogr.* 38, 697–710.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02431.x>.

Castillo-Juárez, J.L., Vásquez-Cruz, V., Taval-Velázquez, L.P., Ávalos-Vela, R., Lara-Hernández, L.A., 2021. Distributional and natural history notes of *Crotalus triseriatus* (Viperidae) in the central-west of the state of Veracruz and in the east of the state of Puebla. *Rev. Latinoam. Herpetol.* 4, 133–139. <https://doi.org/10.22201/fc.25942158e.2021.02.213>.

Chen, L., Wang, D., Tian, Z., Di, S., Zhang, W., Wang, F., Zhou, Z., Diao, J., 2017. Comparative toxic responses of male and female lizards (*Eremias argus*) exposed to (S)-metolachlor-contaminated soil. *Environ. Pollut.* 227, 476–483. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.006>.

Coda, J.A., Martínez, J.J., Steinmann, A.R., Priotto, J., Gomez, M.D., 2017. Fluctuating Asymmetry as an Indicator of Environmental Stress in Small Mammals. *Mastozool. Neotrop.* 24, 313–321.

Díaz de la Vega-Pérez, A.H., Barrios-Montiel, R., Jiménez-Arcos, V.H., Bautista, A., Bastiaans, E., 2019. High-mountain altitudinal gradient influences thermal ecology of the Mesquite lizard *Sceloporus grammicus*. *Can. J. Zool.* 97, 659–668 <https://doi.org/10.1139/cjz-2018-0263>.

- Dosselman, D.J., G.B. Schaalje, Sites Jr., J.W. 1998. An analysis of fluctuating asymmetry in a hybrid zone between two chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Squamata: Phrynosomatidae) in Central Mexico. *Herpetologica* 54, 434–447.
- Drummond, H., Garcia, C.M., 1989. Limitations of a Generalist: a Field Comparison of Foraging Snakes. *Behaviour* 108, 23–42. <https://doi.org/10.1163/156853989X00033>.
- Durán-Servín, S.L., 2012. Contribución al conocimiento de la alimentación de la lagartija *Sceloporus grammicus* (Reptilia: Phrynosomatidae) en la localidad de la Palma, Municipio de Isidro Fabela, Estado de México. *Rev. Zool.* 23, 9–20.
- Fierro-Estrada, N., González-González, G.G., Miles, D.B., Martínez-Gómez, M., García, A., Salgado-Hugarte, I.H., Méndez-de la Cruz, F.R., 2019. Thermoregulation of the lizard *Barisia imbricata* at altitudinal extremes. *Amphibia-Reptilia* 38, 225–231. <https://doi.org/10.1163/15685381-00003092>.
- Flatt, T., Shine, R., Borgues-Landaez, P. A., Downes, S. J., 2008. Phenotypic variation in an oviparous montane lizard (*Bassiana duperreyi*): the effects of thermal and hydric incubation environments. *Biol. J. Linn. Soc.* 74, 339–350. <https://doi.org/10.1006/bijl.2001.0581>.
- Flores-Villela, O., Geréz, P., 1994. Biodiversidad y conservación en México: vertebrados, vegetación y uso desuelo. CONABIO-UNAM, Mexico Federal District.
- Franco-Martínez, J.R.P., González-Huerta, A., Pérez-López, D.J., González-Ronquillo, M., 2015. Phenotypic characterization of hybrids and varieties of forage maize in High Valley State of Mexico, Mexico. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 8, 1915–1927. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000801915.

French, S.S., Webb, A.C., Hudson, S.B., Virgin, E.E., 2019. Town and Country Reptiles: A Review of Reptilian Responses to Urbanization. *Integr. Comp. Biol.* 58, 948–966.

<https://doi.org/10.1093/icb/icy052>.

García-Rosales, A., Stephenson, B.P., Ramírez-Bautista, A., Manjarrez, J., Pavón, N.P., 2021. Female choice and male aggression in the polymorphic lizard *Sceloporus minor*. *Ethology* 127, 1053–1063. <https://doi.org/10.1111/eth.13228>.

Gibbons, J.W., Scott, D.E., Ryan, T.J., Buhlmann, K.A., Tuberville, T.D., Metts, B.S., Green, J.L., Mills, T., Leiden, Y., Poppy, Y., Winne, C.T., 2000. The Global Decline of Reptiles, Déjà Vu Amphibians. *BioScience* 50, 653–666. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2000\)050\[0653:TGDORD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2000)050[0653:TGDORD]2.0.CO;2).

Gómez-Benitez, A., Walker, J.M., López-Moreno, A.E., Hernández-Gallegos, O., 2021. The influence of urbanization on morphological traits in the Balsas Basin Whiptail lizard (*Aspidoscelis costatus costatus*). *Urb. Ecosyst.* 24, 327–333.

González-Fernández, A., Manjarrez, J., García-Vázquez, U., D'Addario, M., Sunny, A., 2018. Present and future ecological niche modeling of garter snake species from the Trans-Mexican Volcanic Belt. *PeerJ* 6, e4618 <https://doi.org/10.7717/peerj.4618>.

González-Marín, A., Morando, A., Avila, L.J., 2016. Linear and geometric morphology in a group of Patagonian lizards of the genus *Phymaturus* (Squamata: Liolaemini). *Rev. Mex. Biodivers.* 87, 399–408. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.04.009>..

Google earth engine, 2022. Non-Parametric Trend Analysis.

<https://developers.google.com/earth-engine/tutorials/community/nonparametric-trends> (accessed October 2022).

Graham, J.H., Raz, S., Hel-Or, H., Nevo, E., 2010. Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. *Symmetry* 2, 466–540. <https://doi.org/10.3390/sym2020466>.

Gray B.S., 2015. Natural History Observations of the Common Gartersnake, *Thamnophis sirtalis*, from Northwest Pennsylvania. *Bull. Chicago Herp. Soc.* 50, 61–72.

Haenel, G.J., Smith L.C., John-Alder, H.B., Guyer C., 2003. Home-Range Analysis in *Sceloporus undulatus* (Eastern Fence Lizard). I. Spacing Patterns and the Context of Territorial Behavior. *Copeia* 2003, 99–112.

Hernández-Salinas, U., Ramírez-Bautista, A., Leyte-Manrique, A., Smith, G.R., 2010. Reproduction and Sexual Dimorphism in Two Populations of *Sceloporus grammicus* (Sauria: Phrynosomatidae) from Hidalgo, Mexico. *Herpetologica* 66, 12–22.

Hopkins, W.A., 2006. Use of tissue residues in reptile ecotoxicology: a call for integration and experimentalism. In: Gardner, S.C., Oberdorfer, E. (Eds.), *Toxicology of Reptiles*. Taylor and Francis, New York, pp. 35–62.

Hudson, S.B., Virgin, E.E., Brodie, E.D., French, S.S., 2021. Recovery from discrete wound severities in side-blotched lizards (*Uta stansburiana*): implications for energy budget, locomotor performance, and oxidative stress. *J. Comp. Physiol. B* 191, 531–543.

<https://doi.org/10.1007/s00360-021-01347-z>.

Jaramillo-Alba, J.L., Díaz de la Vega-Pérez, A.H., Bucio-Jiménez, L.E., Méndez-De la Cruz, F.R., Pérez-Mendoza, H.A., 2020. Comparative thermal ecology parameters of the Mexican dusky rattlesnake (*Crotalus triseriatus*). *J. Therm. Biol.* 92, 102695, <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102695>.

Jiménez-Cruz, E., Ramírez-Bautista, A., Marshall, J. C., Lizana-Avia, M., Nieto-Montes De Oca, A., 2005. Reproductive cycle of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Teotihuacán, México. *The Southwest. Nat.* 50, 178–187.

Kellner, J.R., Alford, R.A., 2003. The Ontogeny of Fluctuating Asymmetry. *Am. Nat.* 161, 931–47. <https://doi.org/10.1086/375177>.

Kerr, G.D., Bull, C.M., Mackay, D., 2004. Human Disturbance and Stride Frequency in the Sleepy Lizard (*Tiliqua rugosa*): Implications for Behavioral Studies. *J. Herpetol.* 38, 519–526. <https://doi.org/10.1670/13-04A>.

Kiessling, W., Aberhan, M., 2007. Geographical distribution and extinction risk: lessons from Triassic–Jurassic marine benthic organisms. *J. Biogeogr.* 34, 1473–1489. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01709.x>

Klingenberg, C.P., Barluenga, M., Meyer, A., 2002. Shape analysis of symmetric structures: Quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56, 1909–1920. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00117.x>

Klingenberg, C.P., McIntyre, G.S., 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: Analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution*, 52, 1363–1375. <https://doi.org/10.2307/2411306>

Klingenberg, C.P., Monteiro, L.R., 2005. Distances and directions in multidimensional shape spaces: Implications for morphometric applications. *Syst. Biol.* 54, 678–688. <https://doi.org/10.1080/10635150590947258>

Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M., Steffan-Dewenter, I., 2010. Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecol. Lett.* 13, 597–605.

<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01457.x>.

Lazić, M.M., Carretero M.A., Crnobrnja-Isailović, J., Kaliontzopoulou, A., 2015. Effects of environmental disturbance on phenotypic variation: an integrated assessment of canalization, developmental stability, modularity, and allometry in lizard head shape. *Am. Nat.* 185: 44–58.

<https://doi.org/10.1086/679011>.

Lazić, M.M., Carretero, M.A., Crnobrnja-Isailović, J., Kaliontzopoulou, A., 2016. Postnatal Dynamics of Developmental Stability and Canalization of Lizard Head Shape Under Different Environmental Conditions. *Evol. Biol.* 43, 368–379. <https://doi.org/10.1007/s11692-016-9377-4>.

Lazić, M.M., Kaliontzopoulou, A., Carretero, M.A., Crnobrnja-Isailović, J., 2013. Lizards from Urban Areas Are More Asymmetric: Using Fluctuating Asymmetry to Evaluate Environmental Disturbance. *PLoS One.* 8, e84190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084190>.

Lazić, M.M., Rödder, D., Kaliontzopoulou, A., 2017. The ontogeny of developmental buffering in lizard head shape. *Evol. Dev.* 19, 244–252. <https://doi.org/10.1111/ede.12238>.

Leamy, L., 1984. Morphometric studies in inbred and hybrid mouse mice. V. directional and fluctuating asymmetry. *Am. Nat.* 123, 579–593. <https://doi.org/10.1086/284225>.

Lemos-Espinal, J.A., Smith, G.R., 2020. A conservation checklist of the amphibians and reptiles of Mexico City, with comparisons with adjoining states. *Zookeys* 951, 109–131.

<https://doi.org/10.3897/zookeys.951.52578>

Lens, L., Van Dongen, S., 1999. Evidence for Organism-Wide Asymmetry in Five Bird Species of a Fragmented Afrotropical Forest. *Proc. Royal Soc. B* 266, 1055–1060.

<https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0743>.

Leyte-Manrique, A., Ramírez-Bautista, A., 2010. Diet of Two Populations of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Hidalgo, Mexico. *Southwest. Nat.* 55, 98–103.

<https://doi.org/10.1894/GC-194.1>.

Liu, Y., Li, S., Ni, Z., Qu, M., Zhong, D., Ye, C., Tang, F., 2016. Pesticides in persimmons, jujubes and soil from China: Residue levels, risk assessment and relationship between fruits and soils. *Sci. Total Environ.* 542, 620–628. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.148>.

Manjarrez, J., Venegas-Barrera, C.S., García-Guadarrama, T., (2007). Ecology of the mexican alpine blotched garter snake (*Thamnophis scalaris*). *Southwest. Nat.* 52, 258–262.

[https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2007\)52\[258:eotmab\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2007)52[258:eotmab]2.0.co;2).

Martínez-Fernández, J., Ruiz-Benito, P., Zavala, M.A., 2014. Recent land cover changes in Spain across biogeographical regions and protection levels: Implications for conservation policies. *Land Use Policy* 44, 62–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2014.11.021>.

Méndez-de la Cruz, F.R., Díaz de la Vega-Pérez, A., Centenero-Alcalá, E., Jiménez-Arcos, V.H., 2018. Anfibios y Reptiles del Parque Nacional la Malinche. Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala.

Mirč, M., Tomašević-Kolarov, N., Stamenković, S., Vukov T.D., 2019. Asymmetry in the common wall lizard *Podarcis muralis* under different levels of urbanization: the effect of trait and FA index selection. *Arch. Biol. Sci.* 71, 501–508. <https://doi.org/10.2298/ABS190225033M>.

Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Gil, P.R., 2005. Megadiversity: Earths Biologically Wealthiest Nations. Cemex, Mexico Federal District.

Mociño-Deloya, E., Setser, K., Pérez-Ramos, E., 2014. Observations on the diet of *Crotalus triseriatus* (Mexican dusky rattlesnake). Rev. Mex. Biodivers. 85, 1289–1291.
<https://doi.org/10.7550/rmb.43908>.

Montefalcone, M., Parravicini, V., Vacchi, M., Albertelli, G., Ferrari, M., Morri, C., Bianchi, C.N., 2010. Human influence on seagrass habitat fragmentation in NW Mediterranean Sea. Estuar. Coast. Shelf Sci. 86, 292–298. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009.11.018>.

Murthag, F., Legendre, P., 2014. Ward’s Hierarchical Agglomerative Clustering Method: Which Algorithms Implement Ward’s Criterion? J. Classif. 31, 274–295. doi:10.1007/s00357-014-9161-z.

Neuman-Lee, L.A., French, S.S., 2014. Wound healing reduces stress-induced immune changes: evidence for immune prioritization in the side-blotched lizard. J. Comp. Physiol. B 184, 623–629. <https://doi.org/10.1007/s00360-014-0826-z>.

Onyishi, I.E., Nwonyi, S.K., Pazda, A., Prokop, P., 2021. Attitudes and behaviour toward snakes on the part of Igbo people in southeastern Nigeria. Sci. Total Environ. 763, 143045.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143045>.

Palmer, A.R., Strobeck, C., 1986. Fluctuating asymmetry - measurement, analysis, patterns. Annu, Rev, Ecol, Evol, Syst, 17, 391–421. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.002135>

Parker, E.D., 1979. Phenotypic Consequences of Parthenogenesis in *Cnemidophorus Lizards*. I. Variability in Parthenogenetic and Sexual Populations. *Evolution* 33, 1150–1166.

<https://doi.org/10.2307/2407474>.

Parsley, L.M., Wapstra, E., Jones, S.M., 2015. Atrazine disrupts gonadal development in a live-bearing lizard. *Endocrine Disruptors* 3, e1006071.

<https://doi.org/10.1080/23273747.2015.1006071>.

Peruzzo, P.J., Porta, A.A., Ronco, A.E., 2008. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environ. Pollut.* 156, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.01.015>.

Pineda, E., Halffter, G., 2004. Species diversity and habitat fragmentation: frogs in a tropical montane landscape in Mexico. *Biol. Conserv.* 117, 499–508.

<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2003.08.009>.

Punzo, F., 2002. Spatial associative learning in the crevice spiny lizard, *Sceloporus poinsettii* (Sauria: Iguanidae). *Tex. J. Sci.* 54, 45–50.

Quiroga, R., Perazaa, M.A., Corderi, D., Banerjee, O., Cotta, J., Watkins, G.G., López-Sancho, J.L., 2016. Environment and Biodiversity: Priorities for Protecting Natural Capital and Competitiveness in Latin America and the Caribbean. Inter-American Development Bank, Washington D.C.

Richtsmeier, J.T., DeLeon, V.B., Lele, S.R., 2002. The promise of geometric morphometrics. *Yearb. Phys. Anthropol.* 45, 63–91.

Rosen, P.C., 1991. Comparative Field Study of Thermal Preferenda in Garter Snakes (*Thamnophis*). J. Herpetol. 25, 301–312. <https://doi.org/10.2307/1564588>.

Sacchi, R., Polo, M.S., Coladonato, A.J., Mangiacotti, M., Scali, S., Zuffi, M.A.L., 2018. The exposition to urban habitat is not enough to cause developmental instability in the common wall lizards (*Podarcis muralis*). Ecol. Indic. 93, 856–863. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.05.035>.

Segura, C., Feriche, M., Pleguezuelos, J.M., Santos, X., 2007. Specialist and generalist species in habitat use: implications for conservation assessment in snakes. J. Nat. Hist. 41, 2765–2774. <https://doi.org/10.1080/00222930701664203>.

Shamiminoori, L., Bull, C.M., 2016. Ontogenetic changes in head scale symmetry in the pygmy bluetongue lizard. Trans. R. Soc. S. Aust. 140, 7–16. <https://doi.org/10.1080/03721426.2016.1144243>

Sheldahl, L.A., Martins, E.P., 2000. The Territorial Behavior of the Western Fence Lizard, *Sceloporus occidentalis*. Herpetologica, 56, 469–479.

Simbula, G., Macale, D., Gomes, V., Vignoli, L., Carretero M.A., 2021a. Effects of pesticides on eggs and hatchlings of the Italian wall lizard (*Podarcis siculus*) exposed via maternal route. Zool. Anz. 293, 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2021.06.001>.

Simbula, G., Vignoli, L., Carretero, M.A., Kaliontzopoulou, A., 2021b. Fluctuating asymmetry as biomarker of pesticides exposure in the Italian wall lizards (*Podarcis siculus*). Zoology. 147, 125928. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2021.125928>.

Sites Jr., J.W., Archie, J.W., Cole, C.J., Flores-Villela, O.A., 1992. A review of phylogenetic hypotheses for lizards of the genus *Sceloporus* (Phrynosomatidae): Implications for ecological and evolutionary studies. *Bull. Am. Mus. Nat.* 213, 1–110.

Stark, J.D., Banks, J.E., Vargas, R., 2004. How risky is risk assessment: The role that life history strategies play in susceptibility of species to stress. *PNAS* 101, 732–736.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0304903101>.

Sunny, A., González-Fernández, A., D’Addario, A., 2017. Potential distribution of the endemic imbricate alligator lizard (*Barisia imbricata imbricata*) in highlands of central Mexico.

Amphibia-Reptilia 40, 349–360. <https://doi.org/10.1163/15685381-20191155>.

Urošević, A., Ljubisavljević, K., Ivanovic, A., 2015. Fluctuating asymmetry and individual variation in the skull shape of the common wall lizard (*Podarcis muralis Laurenti*, 1768) estimated by geometric morphometrics. *Herpetol. J.* 25, 177–186.

Van Valen, L., 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16, 125–142.

<https://doi.org/10.2307/2406192>.

Vom Saal, F.S., 1981. Variation in phenotype due to random intrauterine positioning of male and female fetuses in rodents. *Reproduction* 62, 633–650. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0620633>.

Walters, A.D., Chamberlain, K., Ford, N.B., Placyk jr., J.S., 2014. Influence of Atrazine on the Scalation of Marcy’s Checkered Gartersnake, *Thamnophis m. marcianus* (Baird and Girard, 1853). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 92, 1–5. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1147-8>.

Wilson, L.D., Mata-Silva, V., Johnson, J., 2013. A conservation reassessment of the reptiles of Mexico based on the EVS measure. *Amphib. Reptile. Conserv.* 7, 1–47.

Winchell, K.M., Briggs, D., Revell L.J., 2019. The perils of city life: patterns of injury and fluctuating asymmetry in urban lizards. *Biol. J. Linn. Soc.* 126, 276–288.

<https://doi.org/10.1093/biolinnean/bly205>.

Whitfield Gibbons, J. Scott, D.E, Ryan, T. J., Buhlmann K.A., Tuberville, T.D., Metts, B.S., Greene J.L, Mills, T., Leiden, Y., Poppy, S., Winne, C.T., 2000. The Global Decline of Reptiles, Déjà Vu Amphibians: Reptile species are declining on a global scale. *BioScience* 50, 653–666.

[https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2000\)050\[0653:TGDORD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2000)050[0653:TGDORD]2.0.CO;2)

Yousefkhani, S.S.H., Yousefi, M., Mohammadpour, A., Masroor, R., Rastegar-Pouyani N., 2014. Phenotypic Variation in Males of the Agamid Lizard *Paralaudakia caucasia* (Eichwald, 1831) Across a Wide Geographic Range. *Herpetologica* 70, 464–471.

Zelditch, M.L., Lundrigan, B.L., Garland jr., T., 2004. Developmental regulation of skull morphology. I. Ontogenetic dynamics of variance. *Evol. Develop.* 6, 194–206.

<https://doi.org/10.1111/j.1525-142X.2004.04025.x>.

Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., 2012. Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. Academic press, Cambridge.

Differential vulnerability of squamates metapopulations to anthropogenic stressors

Aldo Gómez-Benitez¹, Carlos A. Mastachi-Loza², Jose F. Méndez-Sánchez³, Justin L. Rheubert⁴,
Oswaldo Hernández-Gallegos^{1*}

¹Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado México

²Instituto Interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua, Universidad Autónoma del Estado de México

³Laboratorio de Ecofisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado México

⁴Department of Biology, University of Findlay

*Corresponding author: ohg@uaemex.mx

Abstract

Fragmentation and land use transformations due to anthropization are well documented causes of local extinctions. Therefore, there is a need for studying bioindicators to detect stress in species at early stages before long term effects impact populations. Fluctuating asymmetry has been shown to be a reliable indicator of developmental instability caused by environmental stress that can be measured with geometric morphometrics and used to identify potential environmental stress. We studied the fluctuating asymmetry in five sympatric squamate species (two lizards: *Barisia imbricata* and *Sceloporus grammicus*, and three snakes: *Crotalus triseriatus*, *Thamnophis eques*, and *Thamnophis scalaris*) inhabiting an anthropized habitat. We sampled squamates in El Cerrillo, Piedras Blancas, State of Mexico, Mexico and took photographs of the

dorsal view of the head. We digitized 22 landmarks in all the studied species and the different configurations were superimposed. Procrustes ANOVA was conducted to detect fluctuating asymmetry in head shape, Mahalanobis distance was calculated as an asymmetry index and related to centroid size to understand the relationship between fluctuating asymmetry and size, Jacobian expansion factor was calculated to assess ontogenetic and symmetric differences in the studied population, and an empirical model was built to predict asymmetry according to the degree of habitat modification. Three of five studied species (*B imbricata*, *T. eques*, and *T. scalaris*) present fluctuating asymmetry. No relationship was observed between Mahalanobis distance and centroid size in most species. Expansion factor reveals that fluctuating asymmetry is not a wide-organism property. An empirical model to predict asymmetry is presented, it will be helpfully to rapidly assess stress in squamates across anthropized habitats.

Resumen

La fragmentación y los cambios de uso de suelo debido a la antropización son causas bien documentadas de extinciones locales. Por lo tanto, es necesario estudiar bioindicadores para detectar el estrés de las especies en etapas tempranas, antes de que se presenten efectos a largo plazo en las poblaciones. Se ha demostrado que la asimetría fluctuante es un indicador confiable de la inestabilidad del desarrollo, causada por el estrés ambiental, que se puede medir con morfometría geométrica y utilizar para identificar el estrés ambiental. Estudiamos la asimetría fluctuante en cinco especies simpátricas de escamados (dos lagartijas: *Barisia imbricata* y *Sceloporus grammicus*, y tres serpientes: *Crotalus triseriatus*, *Thamnophis eques* y *Thamnophis scalaris*) que habitan en un hábitat antropizado. Muestreamos escamados en El Cerrillo, Piedras Blancas, Estado de México, México y tomamos fotografías de la parte dorsal de la cabeza. Digitalizamos 22 landmarks en todas las especies estudiadas y las diferentes configuraciones se

superimpusieron. Se realizó un ANOVA de Procrustes para detectar la asimetría fluctuante en la forma de la cabeza, se calculó la distancia de Mahalanobis como un índice de asimetría y se relacionó con el tamaño del centroide para comprender la relación entre la asimetría fluctuante y el tamaño, se calculó el factor de expansión de Jacobiano y se construyó un modelo empírico para predecir la asimetría de acuerdo con el grado de modificación del hábitat. Tres de las cinco especies estudiadas (*B imbricata*, *T. eques* y *T. scalaris*) presentan asimetría fluctuante. No se observó relación alguna entre la distancia de Mahalanobis y el tamaño del centroide en la mayoría de las especies. El factor de expansión revela que la asimetría fluctuante no es una propiedad de todo el organismo. Se presenta un modelo empírico para predecir la asimetría, que será útil para evaluar rápidamente el estrés de escamados ante hábitats antropizados.

Keywords: Fluctuating asymmetry; Anthropization; squamates; Developmental instability; Life history

1. Introduction

Anthropization is defined as the transformation process from natural conserved areas to fewer natural areas. The process may include total conversion to artificial surfaces (urbanization), agroenvironment establishment, agroenvironment modification, and vegetation structure changes (Martínez-Fernández, Ruiz-Benito & Zavala, 2014). Anthropized habitats are characterized by a severe habitat fragmentation (Montefalcone et al., 2010) which is one of the main causes of biodiversity loss (Krauss et al., 2010) and has already been documented in Mexico (Pineda and Halffter, 2004). Developmental stability, the capacity of genotype to buffer environmental and genetic noise during development resulting in a specific phenotype (Zelditch, Swiderski & Sheets, 2012), can be reduced due to environmental stress. The species susceptibility to changes in developmental stability, and thus to environmental stress, may be related to their natural

history characteristics and differential life history strategies (Stark, Banks & Vargas, 2004). Fluctuating asymmetry (FA), defined as a random deviation from perfect bilateral symmetry (Palmer and Strobeck, 1986), is a measure of developmental stability, or its counterpart developmental instability, and can be a reliable, cheap, and fast indicator of environmental stress (Coda et al., 2017). Since both sides of a bilaterally symmetric organism have the same genotype and grow up in the same environment, they must be identical unless developmental anomalies occur (Palmer and Strobeck, 1986). Using geometric morphometrics to analyze fluctuating symmetry may serve as a precise conservation tool that can detect environmental stress at very early stages (Zelditch et al., 2012).

Fluctuating asymmetry in squamates has been extensively studied but the existence of different responses to anthropized habitats conditions in different species has not been investigated. Commonly, urbanization induces FA in squamates (Lazić et al., 2013), but different responses have been also obtained, as no differences between urban and wild populations (Alagić et al., 2021) or a higher asymmetry in natural habitats (Winchell, Briggs & Revell, 2019). The “compensatory growth hypothesis” (Kellner et al., 2003) explains how FA may be corrected during postembryonic development. However, that correction depends on intrinsic buffer mechanisms (Lazić et al., 2017) leading to two different responses observed: adults being more asymmetric than juveniles (Lazić et al., 2017), or juveniles presenting higher FA, but FA being corrected with age (Lazić et al., 2016; Shamiminoori and Bull, 2016). The level of FA across the whole body of an organism is another source of variation, Lens and Van Dongen (1999) found that FA was an organism-wide property in birds, but results founded by Lazić et al. (2013) in a squamate contradicts that hypothesis.

Mexico is one of the 17 megadiverse countries in the world, that are home to 70% of existing species (Mittermeier, Mittermeier & Gil, 1997), additionally, it is among the top three in endemism (Quiroga et al., 2016). In regard to reptiles, Mexico is the second richest country in the world and approximately 50% of its species are endemic (Flores-Villela and Gerez, 1994). According to the conservation status of IUCN, just 10.8% of the reptile species in Mexico are highly threatened, this percentage likely underestimates current threats and contrasts with the environmental vulnerability score which suggests that 55.9% of the species are highly vulnerable (Wilson, Mata-Silva & Johnson, 2013). This high threatened level coupled with the multiple risk factors that affect reptiles (habitat loss, invasive species introduction, pollution, diseases, unsustainable use, and climate change; Gibbons et al., 2000), showcases the importance of using bioindicators to assess differential vulnerability in this group.

In the present study, we use fluctuating asymmetry to evaluate the susceptibility to environmental stress in a squamate community through an anthropized gradient. This approach may highlight any differential susceptibility between species to anthropogenic habitat conditions, a characteristic that could be used for conservation purposes. Additionally, a novel methodology based on cluster analysis is proposed to understand the anthropization characteristics inducing stress in squamates metapopulations.

2. Materials and Methods

2.1. Study area and sampling

We collected lizards and snakes species in El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, State of Mexico, Mexico between April and October 2021. The area is located between 19°25'0" - 19°24'14" N and 99°42'22" - 99°40'58" W at 2 610 masl (Fig. 1a,b). The climate is temperate

sub-humid, and the site presents a well-differentiated seasonality between droughts (November to February) and rains (June to September; Álvarez-Lopezello et al., 2016). The vegetation consists mainly of grasslands with up to 118 angiosperms species (Álvarez-Lopezello et al., 2016). *Casuarina equisetifolia*, *Cupressus spp*, *Pinus spp*, and *Salix babylonica* are present in the arboreal stratum. The disturbance in the area is caused by agricultural practices, livestock, and constant human presence, which has led to habitat degradation and fragmentation (Fig. 1c,d). Species inhabits in ecological islands formed by human modifications. Agriculture in the area involves the burning of the land, the presence of an irrigation canal made of cement that causes the death of animal species when trapped, and the treatment of the soil with 1.5 L ha⁻¹ malathion (insecticide), and herbicides (atrazine and (S)-metolachlor in early cultivation mixed in 200 L of water post-emergence; Franco-Martínez et al., 2015).

Squamates were captured by hand, turning rocks, using a fishing rod, or moving artificial substrates under which individuals got refuge. Eight squamate species inhabit In El Cerrillo, Piedras Blancas. Because of their high abundance, we prioritized five of them: two lizards, *Barisia imbricata*, and *Sceloporus grammicus*, and three snakes, *Crotalus triseriatus*, *Thamnophis eques*, and *Thamnophis scalaris*; the other less common species are *Conopsis lineata*, *Sceloporus torquatus* and *Thamnophis melanogaster*. Animals were sexed, measured, and photographed before being released at point of capture.

2.3. Photographs, landmarks digitalization and superimposition

We took photographs of the dorsal plane of the head in the five species using a Nikon D3500 (parameters: 1/200, f/22, ISO 100-400) equipped with a Nikkor 70-300 lens (focal distance = 300), suspended 60 cm from the floor with a tripod. Extension tubes were used to avoid the lens focus limitation and images were lighted with the integrated camera flash. Previous studies have

shown that head scales are not affected by muscles contractions, and their use has been extensively documented in squamates inhabiting anthropized habitats (see Lazić et al., 2013; Urošević, Ljubisavljević & Ivanovic, 2015; Simbula et al., 2021b).

With the software TpsUtil 1.81, empty TPS files were created to digitize landmarks from species separately. Digitization was conducted in the software TpsDig 2.31, we digitalize 22 landmarks (Fig. 2) twice in all individuals. With TpsRelw 1.74 we conducted a principal component analysis (PCA) for each species separately to detect errors in digitization or resampling. We conducted a Procrustes superimposition in the software MorphoJ 1.07 to remove all variation not shape-dependent. From superimposition we obtained three important variables: centroid size (used thereafter as size indicator), symmetric component and asymmetric component (components to be compared since head shape are evaluated with object symmetry methods; Zelditch et al., 2012).

2.4. Statistical analyses

A mixed two-way ANOVA with replication, which works as an observational block design, was conducted using side as fixed factor and individual as a block factor, interaction of both factors is a mixed effect and represents the unavailability of individual factor to have the same effect on both levels of side factor, revealing fluctuating asymmetry. To reliably assess fluctuating asymmetry, measurement error must be estimated and subtracted from the asymmetry mean square. To achieve that, an error term was included in the analysis as a replication of landmark digitalization in each individual (Leamy, 1984; Palmer and Strobeck, 1986; Klingenberg and McIntyre 1998; Klingenberg, Barluenga & Meyer, 2002; Graham et al., 2010).

Mahalanobis distance was calculated to measure the overall magnitude of fluctuating asymmetry which consider the variation of symmetry in the sample (Klingenberg and Monteiro, 2005 in Zelditch et al., 2012). The aforementioned statistic was calculated in MorphoJ 1.07.

After determining the species which presents fluctuating asymmetry, Mahalanobis distance and geographic coordinates (decimal latitude and longitude) of the affected species were employed in a cluster analysis to stablish different metapopulations according to its fluctuating asymmetry levels. Ward's method for dissimilarity in the Euclidean distance was selected for cluster analysis since it produce clusters with the minimum within-group dispersion (Murthag and Legendre, 2014). Difference in FA between metapopulations was tested using a multifactorial ANOVA, with metapopulation and species as factors, to support the existence of different metapopulations subjected to different environmental stressors. Based on this comparison, metapopulations were catalogued according to the level of affection in less affected, moderately affected and highly affected (Fig. 1c). To assess the effect of anthropogenic habitat conditions on FA, five characteristics related to anthropization were assessed. First, distance from buildings and crops with intensive pesticides use were calculated in QGIS 3.24.1. The slopes of trend were calculated for three indexes: normalized difference vegetation index (NDVI), and land surface temperature (LST) and soil moisture index (SMI). To do this, Sen's slope was obtained for all trends observed, it is defined as the median slope of all possible pairs in a time series (Google Earth Engine, 2022), in this case, for the period 2016-2021, which are the year in which developmental instability could occurs in the sampled individuals. Slopes of trend were obtained in the Climate Engine app and Google earth engine using Landsat 8 satellite imagery with a spatial resolution of 30 m, that resolution was employed in all the explicative variables. Employing the point sampling tool from QGIS 3.24.1, values of all the spatial variables were

obtained for each individual, these value was compared between metapopulations and species, in a multivariate way using a two-way PERMANOVA, and univariately employing a multifactorial ANOVA, companied with a pairwise comparison in the software Statgraphics 19.1.1 with $\alpha = 0.05$. A classification and regression tree (CART) analysis was conducted to develop a model which could explain asymmetry in function of environmental variables and to obtain importance values for each of them, this analysis was conducted with the R package rpart.

Relationship between Mahalanobis distance and centroid size was tested with a linear regression to understand the relationship of FA with size. Linear regression between size and FA was conducted in the software PAST 4.06 with $\alpha = 0.05$. Jacobian expansion factor in a thin-plate spline was calculated in order to understand differences in head shape between symmetric and asymmetric individuals just as ontogenetic changes in the software PAST 4.06.

3. Results

The sample sizes for each species were: *B. imbricata* $n = 37$, *S. grammicus* $n = 47$, *C. triseriatus* $= 22$, *T. eques* $n = 36$, and *T. scalaris* $n = 40$; all sampled in 1.43 km². Mean asymmetry, with an exaggeration factor of 10, reveals a deviation from symmetry occurring mainly in the posterior part of the head in *B. imbricata*, *T. eques*, and *T. scalaris*, but not in *S. grammicus* nor *C.*

triseriatus which had higher asymmetry in the central and the anterior part respectively (Fig. 3).

Procrustes ANOVA reveals the presence of fluctuating asymmetry in *B. imbricata* and the two *Thamnophis* species but not in *S. grammicus* and *C. triseriatus* (Table 1).

Since *S. grammicus* and *C. triseriatus* didn't present FA, those species were excluded from the FA spatial pattern analysis and only *B. imbricata*, *T. eques* and *T. scalaris* individuals were used for the cluster analysis and the subsequent comparisons involving it. Mahalanobis distance

centroids were 2.90 for the less affected metapopulation, 3.07 for the moderately effected, and 3.28 for the highly affected. Multifactorial ANOVA reveals significant statistics differences in Mahalanobis distance between metapopulations but not between species nor a significative interaction of these factors (Fig. 4). In regard to environmental variables, in a multivariate way only metapopulations factor was significative, revealing no contribution of species to the difference observed in this factor (Table 2). Univariately, differences between metapopulations was observed in all variables except SMI slope, species factor was only significative in distance from buildings and SMI slope, and the interaction was statistical significative in distance from buildings and NDVI slope (Fig. 4). The CART analysis shows six splits to organize 91 individuals according to its asymmetry, firstly individuals were divided by its distance from crops revealing that most of the individuals sampled are far than 0.0003 decimal degrees (DD) from crops, the second partition divided the left node according to the NDVI slope (0.0055) while right node get divided by distance from buildings (0.0064 DD). In the next subnodes, NDVI (0.0038) appears again at the left branch, suggesting not enough partitioning power on the anterior node, the right node get divided with the conditional LST slope < -0.15 °C. The last division occurs only in the right branch with distance from buildings (0.0082 DD), the previous divisions led to seven endnodes (Fig. 4). Importance values obtained from CART analysis were: NDVI slope = 33, Distance from buildings = 30, Distance from crops = 20, LST slope = 12, and SMI slope = 5.

Mahalanobis distance and centroid size correlation reveals a poor adjustment to lineal model in the five species, additionally, significative P values was obtained only in *B. imbricata*, where bigger individuals are the most asymmetric, then, asymmetry could not get corrected with growth (Fig. 5).

The expansion factor in the ontogenetic changes shows important expansion in prefrontal and posterior internasals scales of *B. imbricata* followed by a contraction in the frontal and frontoparietal scales. In *S. grammicus*, an expansion occurs in the postrostral scales, a contraction reduces the space occupied for the frontonasal scale and at the anterior part of the supraocular. Additionally, an expansion is present in the parietal scales at the left side but less prominent in the right side then, suggesting ontogenetic variations that have led to asymmetry growth in *S. grammicus* different from FA. In *C. triseriatus*, a minor expansion occurs at both sides of the internasal scales, asymmetric expansions occurs in the scales in the crown of head, and an asymmetric contraction in the intercanthals and prefrontals. In both *Thamnophis* species, an important contraction occurs across the midline of the head. For *T. scalaris* this contraction does not includes the anterior part of the head. In *T. eques* landmarks in the temporal scales suffer a more drastic expansion at the right side of the head while *T. scalaris* present a similar expansion but at both sides. In the symmetry changes, *B. imbricata* present a more marked contraction in the supraocular scales at the left side of the head, additionally, there are prominent expansions at the left side in the interparietal. Additionally, some symmetrical contractions are presented in the prefrontals. In *C. triseriatus* an slightly expansion occurs at the left side in the intercanthals and another one in the right side at the supraoculars. In *T. eques* just a contraction in the temporal scales, more pronounced in the left side than in the right, reveals asymmetry. *Thamnophis scalaris* just presents an asymmetric expansion in the temporal scales more prominent at the right side (Fig. 5).

4. Discussion

In squamates, fluctuating asymmetry has presented different responses in anthropized environments ranging from augmentation of developmental instability (Lazić et al., 2013; Lazić

et al., 2016; Mirč et al., 2019), presenting no differences in this bioindicator between groups (Sacchi et al., 2018; Simbula et al., 2021b), or reduction in developmental instability, but that last possibility could be related to deletion of asymmetric organisms (Winchell et al., 2019). In the present study, we analyzed the pattern of fluctuating asymmetry in five squamates species, three of which exhibited fluctuating asymmetry in head shape (revealed by the statistical significance of individual and side factors interaction in *B. imbricata*, *T. eques* and *T. scalaris*). Fluctuating asymmetry have previously been shown to be a reliable indicator of environmental stress in populations (Palmer and Strobeck, 1986), and was observed in *B. imbricata*, *T. eques* and *T. scalaris* in the anthropized studied area, suggesting a potential adverse effect of environmental conditions in these species but not in *C. triseriatus* and *S. grammicus*.

Lack of relationship between centroid size and Mahalanobis distance in almost all of the studied species contradicts the compensatory growth hypothesis, denoting that FA cannot be corrected with the age. Nevertheless, another possibility is that sources of stress in El Cerrillo, Piedras Blancas affects young and adult individuals equally in the studied population. In the specific case of *B. imbricata*, adults were more asymmetric than juveniles as previously recorded by Lazić, Rödder & Kaliontzopoulou (2017), that could be due to drastic environmental changes influencing developmental stability in adults during its embryonic development that was absent when the juvenile individuals born. Observations on Jacob expansion factor reveals differences in asymmetry across the head in the anterior-posterior direction. These findings may provide knowledge about FA as not an organism-wide property, given that some expansions or contractions are present on only one side of the head in the different species and do not remain constant throughout the head. This same conclusion was reached by Lazić et al. (2013).

4.1. Classic specialist and generalist species model is related to differential vulnerability in squamates

Since squamates are ectotherms, they are especially susceptible to environmental changes, including those human-induced alterations (Gibbons et al., 2020). Depending on how habitat modification occurs, some species could be less vulnerable if they are capable of inhabiting a high variety of habitats (Segura et al., 2007), have a high distribution range (Kieffer and Aberhan, 2007) or have a great dietary breadth (Boyles and Storm, 2007). *Sceloporus grammicus*, which did not show fluctuating asymmetry is considered a generalist species because: 1) it is distributed throughout all the principal mountainous formations in Mexico and part of the Mexican Highlands (Sites et al., 1992) reaching even south Texas, 2) can inhabit severe, and even contrasting, habitats (Díaz de la Vega-Pérez et al., 2019), and 3) feeds on several taxonomic groups (Leyte-Manrique and Ramírez-Bautista, 2010). Similarly, *C. triseriatus* did not present FA. Though they may be restricted to the Mexican Transvolcanic Belt, they have a wide altitudinal distribution from 1,905 – 4,600 masl, is eurythermal, and have a generalist diet (Bryson jr. et al., 2011; Mociño-Deloya, Setser & Pérez-Ramos, 2014; Jaramillo-Alba et al., 2020; Castillo-Juárez et al., 2021). *Barisia imbricata* and *T. eques* have demonstrated to be in a “gray area” in the specialist-generalist gradient, presenting some generalist characteristics (Drummond, and García, 1989; Sunny, González-Fernández & D’Addario, 2017; González-Fernández et al., 2018; Fierro-Estrada et al., 2019) and others from specialists (Rosen, 1991; Sunny et al., 2017). Conversely, *T. scalaris* presents a highly specialized diet and a potential distribution limited to the Mexican Transvolcanic Belt (Manjarrez, Venegas-Barrera & García-Guadarrama, 2007; Sunny et al., 2017). We hypothesize that species with more generalist characteristics are less impacted by stress of inhabiting an anthropized area.

4.2. *Far from soil: squamates' habits are related to differential vulnerability in anthropized habitats*

In agroenvironments, pesticides are commonly employed to enhance survival and productivity of crops. In squamates, maternal pesticides transmission was already studied revealing alterations in offspring quality (Simbula et al., 2021a). Pesticides used in El Cerrillo, Piedras Blancas have been registered as problematic to squamates development (Walters et al., 2014; Parsley, Wapstra & Jones, 2015; Chen et al., 2017). The principal mechanism of pesticides intoxication in squamates are ingestion, dermal exposure, and inhalation in that order of importance (Hopkins, 2006). Exposure could be greater at the soil level than at the arboreal stratum since residues of some pesticides in soil are higher than those founded in fruits of trees (Liu et al., 2016), in surface waters, agrochemicals concentrations are even higher (Peruzzo, Porta & Ronco, 2008). In the study area, *S. grammicus* was majorly sampled from trees of both types, fallen and healthy ones. *Crotalus triseriatus* were founded mainly in tussocks and fissures. *Thamnophis eques* and *T. scalaris* were found in fissures, water bodies, or dirt roads while *B. imbricata* inhabits in tussocks in that dirt roads near to small water bodies used to scape. Species habits could be related to stress due to pesticides in agroenvironments as revealed by the presence of fluctuating asymmetry in species which use microhabitats at soil level and surface waters, but not founded in the exclusively terrestrial and the arboreal species.

4.3. *Human persecution and its possible relationship with developmental instability*

Wounds in squamates produce stress related to healing and, in consequence, could cause long-term physiological stress (Neuman Lee et al., 2014; Hudson et al., 2021). Injuries in lizards tends to increase from natural to urban habitats (Winchell et al., 2019). Intentional killing behavior is common when human-animal interactions occur as humans try to avoid squamates due to fear or

disgust, or negative myths entice people to try to kill snakes and lizards (Alvarado-Avilés, Manjarrez & Sánchez-Sánchez, 2019; Onyishi et al., 2021). Intentionally killing of Garter snakes in anthropized areas has previously been recorded (Gray, 2015), and *T. eques* and *T. scalaris* are not unrelated to this problem. During surveys, aversion to every snake species in the study area was noted in farmers working in the area. Additionally, wounds were commonly observed in *T. eques* and *T. scalaris*, and even intentionally killing of Garter snakes was documented. Conversely, just two injured *C. triseriatus* were recorded, and occurred by accident and just one event of intentionally killed rattlesnakes was observed. On the other hand, myths about *B. imbricata* as a venomous lizard which stings with its tail are normally spoken between inhabitants of surrounding towns and dead or injured individuals were commonly found. However, humans do not show aversion to *S. grammicus*. Constant human persecution induces stress in squamates due to constant escape and stride frequency (Kerr, Bull & Mackay, 2004; French et al., 2018). Inhabits in trees can make escapes from humans less stressful since escapes may not even be necessary at high elevations not reachable by humans, which may contribute to the lack of fluctuating asymmetry in *S. grammicus*. *Crotalus triseriatus* avoiding humans, basking immediately near to refuges could reduce the escape stress in that rattlesnake species.

4.4 Anthropized habitat conditions acts concomitantly to induce FA in squamates

Our results demonstrate the effect of anthropization on squamates species FA and metapopulations, denoting a direct relationship between anthropization gradient and developmental instability. Sacchi et al. (2018) discussed some necessities on the study of FA to be a reliable biomarker, within these necessities, the authors suggested assessing quantitatively the true effector of the stress. The FA assessment done in this study based on spatial pattern analysis, aims to achieve that necessity. Differences in habitat conditions between

metapopulations and microhabitats reveals not just the relationship between FA and the stress due to anthropization, but also allow us to identify the potential characteristics causing an increase in FA, in this case, land change use, human presence and pesticides use are the most important stressors in the studied populations. Nevertheless, since significant differences were achieved between clusters in all variables studied except SMI slope, we can conclude that environmental variables in an anthropized habitat are most likely acting concomitantly. It is necessary to always treat anthropization as a multifactorial phenomenon, as solely considering the more evident changes across a gradient or between several populations could bias results, since less evident changes are also inducing stress in populations. In the present study we present an empiric model to predict FA values in squamates according to environmental variables, it could be used to rapidly assess squamates vulnerability in anthropized habitats and short the time required to establish conservation strategies.

4.5. Implications in conservation biology

Presence of stress in three species due to anthropization was demonstrated through the evaluation of FA. González-Fernández et al. (2018) described how different degrees of anthropization will limit distribution of two of our studied species, *T. eques* and *T. scalaris*, in the future. Sunny et al. (2017) also discussed the impact of anthropization in the distribution of *B. imbricata* and declare that human activities could have long-term negative effects. Both previous works agree with our findings concerning anthropization, mostly related to agriculture, as a source of stress and a potential risk of local extinctions. Fortunately, these three species inhabit a high number of Natural Protected Areas in Mexico (Sunny et al., 2017; Méndez-de la Cruz et al., 2018) which represents an important genetic pool to conserve the species. Human menace through direct killing is another constant problem in squamates conservation, as was discussed above, our

studied species are not alien to this problem. Fluctuating asymmetry presence in some feared species represents a justification for working with environmental education programs in the study area, to reduce the stress suffered by the species. Informing field workers about the ecosystem services offered by the species, including those that benefit agriculture as pest control, and even instruct residents on the proper handling of snakes so that they can relocate the organisms they find in their work area is necessary to reduce stress induced by human interaction. Finally, landscape connectivity conservation programs are necessary to reduce stress due to habitat fragmentation caused by anthropization. Assessing the differential vulnerability and tracing the environmental conditions related, allow us to efficiently direct conservation efforts to menaced species in anthropized habitats according to the specific environmental characteristics affecting them, even when we would like to work with all species and thus, be able to help them, the efforts of research and applied conservation are finite, detect which species are being most affected will allow us to direct the resources available to a more urgent conservation necessities and empiric models could be an alternative to generate rapid responses for animal conservation.

Acknowledgments

To students in the Laboratorio de Herpetología at Facultad de Ciencias, UAEMex, especially to Erika Adriana Reyes Velázquez for its help during samplings, and to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for the PhD scholarship for AGB.

References

Alagić, A., Krofel, M., Lazić, M., & Žagar, A. (2021). Effects of biotic and abiotic stressors on asymmetries and head size in two sympatric lizard species. *Anim. Biol.*71, 329–347.

<https://doi.org/10.1163/15707563-bja10058>

Alvarado-Avilés, J.C., Manjarrez, J. & Sánchez-Sánchez, H. (2019). Intentional Human-Caused Mortality of *Plestiodon copei* (Scincidae). *Revista Latinoamericana de Herpetología* 2, 35–36.

Álvarez-Lopezello, J., Rivas-Manzano, I.V., Aguilera-Gómez, L.I. & González-Ledesma, M. (2016). Diversity and structure of a grassland at El Cerrillo, Piedras Blancas, Estado de México, Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* 87, 980–989. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.006>.

Boyles, J.G. & Storm, J.J. (2007). The Perils of Picky Eating: Dietary Breadth Is Related to Extinction Risk in Insectivorous Bats. *Plos One* 2, e672. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000672>.

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

Castillo-Juárez, J.L., Vásquez-Cruz, V., Taval-Velázquez, L.P., Ávalos-Vela, R. & Lara-Hernández, L.A. (2021). Distributional and natural history notes of *Crotalus triseriatus* (Viperidae) in the central-west of the state of Veracruz and in the east of the state of Puebla. *Rev. Latinoam. Herpetol.* 4, 133–139. <https://doi.org/10.22201/fc.25942158e.2021.02.213>.

Chen, L., Wang, D., Tian, Z., Di, S., Zhang, W., Wang, F., Zhou, Z. & Diao, J. (2017). Comparative toxic responses of male and female lizards (*Eremias argus*) exposed to (S)-metolachlor-contaminated soil. *Environ. Pollut.* 227, 476–483. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.006>.

Coda, J.A., Martínez, J.J., Steinmann, A.R., Priotto, J. & Gomez, M.D. (2017). Fluctuating Asymmetry as an Indicator of Environmental Stress in Small Mammals. *Mastozool. Neotrop.* 24, 313–321.

Díaz de la Vega-Pérez, A.H., Barrios-Montiel, R., Jiménez-Arcos, V.H., Bautista, A. & Bastiaans, E. (2019). High-mountain altitudinal gradient influences thermal ecology of the Mesquite lizard *Sceloporus grammicus*. *Can. J. Zool.* 97, 659–668 <https://doi.org/10.1139/cjz-2018-0263>.

Drummond, H. & Garcia, C. M. (1989). Limitations of a Generalist: a Field Comparison of Foraging Snakes. *Behaviour.* 108, 23–42. <https://doi.org/10.1163/156853989X00033>.

Fierro-Estrada, N., González-González, G.G., Miles, D.B., Martínez-Gómez, M., García, A. & Salgado-Hugarte, I.H., Méndez-de la Cruz, F.R. (2019). Thermoregulation of the lizard *Barisia imbricata* at altitudinal extremes. *Amphibia-Reptilia* 38, 225–231. <https://doi.org/10.1163/15685381-00003092>.

Flores-Villela, O. & Geréz, P. (1994). *Biodiversidad y conservación en México: vertebrados, vegetación y uso desuelo*. 1st edn Mexico city: CONABIO-UNAM.

Franco-Martínez, J.R.P., González-Huerta, A., Pérez-López, D.J. & González-Ronquillo, M. (2015). Phenotypic characterization of hybrids and varieties of forage maize in High Valley State of Mexico, Mexico. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 8, 1915–1927. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000801915.

French, S.S., Webb, A.C., Hudson, S.B. & Virgin, E.E. (2019). Town and Country Reptiles: A Review of Reptilian Responses to Urbanization. *Integr. Comp. Biol.* 58, 948–966. <https://doi.org/10.1093/icb/icy052>.

Gibbons, J.W., Scott, D.E., Ryan, T.J., Buhlmann, K.A., Tuberville, T.D., Metts, B.S., Green, J.L., Mills, T., Leiden, Y., Poppy, Y. & Winne, C.T. (2000). The Global Decline of Reptiles, Déjà Vu Amphibians. *BioScience* 50, 653–666. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2000\)050\[0653:TGDORD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2000)050[0653:TGDORD]2.0.CO;2).

González-Fernández, A., Manjarrez, J., García-Vázquez, U., D'Addario, M. & Sunny, A. (2018). Present and future ecological niche modeling of garter snake species from the Trans-Mexican Volcanic Belt. *PeerJ* 6, e4618 <https://doi.org/10.7717/peerj.4618>.

Google earth engine (2022). Non-Parametric Trend Analysis. <https://developers.google.com/earth-engine/tutorials/community/nonparametric-trends> (accessed October 2022).

Graham, J.H., Raz, S., Hel-Or, H. & Nevo, E. (2010). Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. *Symmetry* 2, 466–540. <https://doi.org/10.3390/sym2020466>.

Gray B.S. (2015). Natural History Observations of the Common Gartersnake, *Thamnophis sirtalis*, from Northwest Pennsylvania. *Bull. Chicago Herp. Soc.* 50, 61–72.

Hopkins, W.A. (2006). Use of tissue residues in reptile ecotoxicology: a call for integration and experimentalism. In *Toxicology of Reptiles*: 35e62. Gardner, S.C. & Oberdorster, E. (Eds.). New York: Taylor and Francis.

Hudson, S.B., Virgin, E.E., Brodie, E.D. & French, S.S. (2021). Recovery from discrete wound severities in side-blotched lizards (*Uta stansburiana*): implications for energy budget, locomotor performance, and oxidative stress. *J. Comp. Physiol. B* 191, 531–543. <https://doi.org/10.1007/s00360-021-01347-z>.

Jaramillo-Alba, J.L., Díaz de la Vega-Pérez, A.H., Bucio-Jiménez, L.E., Méndez-De la Cruz, F.R. & Pérez-Mendoza, H.A. (2020). Comparative thermal ecology parameters of the mexican dusky rattlesnake (*Crotalus triseriatus*). *J. Therm. Biol.* 92, 102695, <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102695>.

Kellner, J.R. & Alford, R.A. (2003). The Ontogeny of Fluctuating Asymmetry. *Am. Nat.* 161, 931–47. <https://doi.org/10.1086/375177>.

Kerr, G.D., Bull, C.M. & Mackay, D. (2004). Human Disturbance and Stride Frequency in the Sleepy Lizard (*Tiliqua rugosa*): Implications for Behavioral Studies. *J. Herpetol.* 38, 519–526. <https://doi.org/10.1670/13-04A>.

Kiessling, W. & Aberhan, M. (2007). Geographical distribution and extinction risk: lessons from Triassic–Jurassic marine benthic organisms. *J. Biogeogr.* 34, 1473–1489. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01709.x>

Klingenberg, C.P., Barluenga, M. & Meyer, A. (2002). Shape analysis of symmetric structures: Quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56, 1909–1920. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00117.x>

Klingenberg, C.P. & McIntyre, G.S. (1998). Geometric morphometrics of developmental instability: Analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution*, 52, 1363–1375. <https://doi.org/10.2307/2411306>

Klingenberg, C.P. & Monteiro, L.R. (2005). Distances and directions in multidimensional shape spaces: Implications for morphometric applications. *Syst. Biol.* 54, 678–688. <https://doi.org/10.1080/10635150590947258>

Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M. & Steffan-Dewenter, I. (2010). Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecol. Lett.* 13, 597–605.

<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01457.x>.

Lazić, M.M., Carretero, M.A., Crnobrnja-Isailović, J. & Kaliontzopoulou, A. (2016). Postnatal Dynamics of Developmental Stability and Canalization of Lizard Head Shape Under Different Environmental Conditions. *Evol. Biol.* 43, 368–379. <https://doi.org/10.1007/s11692-016-9377-4>.

Lazić, M.M., Kaliontzopoulou, A., Carretero, M.A. & Crnobrnja-Isailović, J. (2013). Lizards from Urban Areas Are More Asymmetric: Using Fluctuating Asymmetry to Evaluate Environmental Disturbance. *PLoS One.* 8, e84190.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084190>.

Lazić, M.M., Rödder, D. & Kaliontzopoulou, A. (2017). The ontogeny of developmental buffering in lizard head shape. *Evol. Dev.* 19, 244–252. <https://doi.org/10.1111/ede.12238>.

Leamy, L. (1984). Morphometric studies in inbred and hybrid mouse mice. V. directional and fluctuating asymmetry. *Am. Nat.* 123, 579–593. <https://doi.org/10.1086/284225>.

Lens, L. & Van Dongen, S. (1999). Evidence for Organism-Wide Asymmetry in Five Bird Species of a Fragmented Afrotropical Forest. *Proc. Royal Soc. B* 266, 1055–1060.

<https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0743>.

Leyte-Manrique, A. & Ramírez-Bautista, A. (2010). Diet of Two Populations of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Hidalgo, Mexico. *Southwest. Nat.* 55, 98–103.

<https://doi.org/10.1894/GC-194.1>.

Liu, Y., Li, S., Ni, Z., Qu, M., Zhong, D., Ye, C. & Tang, F. (2016). Pesticides in persimmons, jujubes and soil from China: Residue levels, risk assessment and relationship between fruits and soils. *Sci. Total Environ.* 542, 620–628. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.148>.

Manjarrez, J., Venegas-Barrera, C.S. & García-Guadarrama, T. (2007). Ecology of the mexican alpine blotched garter snake (*Thamnophis scalaris*). *Southwest. Nat.* 52, 258–262. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2007\)52\[258:eotmab\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2007)52[258:eotmab]2.0.co;2).

Martínez-Fernández, J., Ruiz-Benito, P. & Zavala, M.A. (2014). Recent land cover changes in Spain across biogeographical regions and protection levels: Implications for conservation policies. *Land Use Policy* 44, 62–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2014.11.021>.

Méndez-de la Cruz, F.R., Díaz de la Vega-Pérez, A., Centenero-Alcalá, E. & Jiménez-Arcos, V.H. (2018). *Anfibios y Reptiles del Parque Nacional la Malinche*. Tlaxcala: Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Mirč, M., Tomašević-Kolarov, N., Stamenković, S. & Vukov T.D. (2019). Asymmetry in the common wall lizard *Podarcis muralis* under different levels of urbanization: the effect of trait and FA index selection. *Arch. Biol. Sci.* 71, 501–508. <https://doi.org/10.2298/ABS190225033M>.

Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G. & Gil, P.R. (2005). *Megadiversity: Earths Biologically Wealthiest Nations*. Mexico city: Cemex.

Mociño-Deloya, E., Setser, K. & Pérez-Ramos, E. (2014). Observations on the diet of *Crotalus triseriatus* (Mexican dusky rattlesnake). *Rev. Mex. Biodivers.* 85, 1289–1291. <https://doi.org/10.7550/rmb.43908>.

- Montefalcone, M., Parravicini, V., Vacchi, M., Albertelli, G., Ferrari, M., Morri, C. & Bianchi, C.N. (2010). Human influence on seagrass habitat fragmentation in NW Mediterranean Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 86, 292–298. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009.11.018>.
- Murthag, F. & Legendre, P. (2014). Ward's Hierarchical Agglomerative Clustering Method: Which Algorithms Implement Ward's Criterion? *J. Classif.* 31, 274–295. doi:10.1007/s00357-014-9161-z.
- Neuman-Lee, L.A. & French, S.S. (2014). Wound healing reduces stress-induced immune changes: evidence for immune prioritization in the side-blotched lizard. *J. Comp. Physiol. B* 184, 623–629. <https://doi.org/10.1007/s00360-014-0826-z>.
- Onyishi, I.E., Nwonyi, S.K., Pazda, A. & Prokop, P. (2021). Attitudes and behaviour toward snakes on the part of Igbo people in southeastern Nigeria. *Sci. Total Environ.* 763, 143045. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143045>.
- Palmer, A.R. & Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry - measurement, analysis, patterns. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 17, 391–421. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.002135>
- Parsley, L.M., Wapstra, E. & Jones, S.M. (2015). Atrazine disrupts gonadal development in a live-bearing lizard. *Endocrine Disruptors* 3, e1006071. <https://doi.org/10.1080/23273747.2015.1006071>.
- Peruzzo, P.J., Porta, A.A. & Ronco, A.E. (2008). Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environ. Pollut.* 156, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.01.015>.

Pineda, E. & Halffter, G. (2004). Species diversity and habitat fragmentation: frogs in a tropical montane landscape in Mexico. *Biol. Conserv.* 117, 499–508.

<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2003.08.009>.

Quiroga, R., Perazaa, M.A., Corderi, D., Banerjee, O., Cotta, J., Watkins, G.G. & López-Sancho, J.L. (2016). *Environment and Biodiversity: Priorities for Protecting Natural Capital and Competitiveness in Latin America and the Caribbean*. Washington: Inter-American Development Bank.

Rosen, P.C. (1991). Comparative Field Study of Thermal Preferenda in Garter Snakes (*Thamnophis*). *J. Herpetol.* 25, 301–312. <https://doi.org/10.2307/1564588>.

Sacchi, R., Polo, M.S., Coladonato, A.J., Mangiacotti, M., Scali, S. & Zuffi, M.A.L. (2018). The exposition to urban habitat is not enough to cause developmental instability in the common wall lizards (*Podarcis muralis*). *Ecol. Indic.* 93, 856–863.

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.05.035>.

Segura, C., Feriche, M., Pleguezuelos, J.M. & Santos, X. (2007). Specialist and generalist species in habitat use: implications for conservation assessment in snakes. *J. Nat. Hist.* 41, 2765–2774. <https://doi.org/10.1080/00222930701664203>.

Shamiminoori, L. & Bull, C.M. (2016). Ontogenetic changes in head scale symmetry in the pygmy bluetongue lizard. *Trans. R. Soc. S. Aust.* 140, 7–16.

<https://doi.org/10.1080/03721426.2016.1144243>

Simbula, G., Macale, D., Gomes, V., Vignoli, L. & Carretero M.A. (2021a). Effects of pesticides on eggs and hatchlings of the Italian wall lizard (*Podarcis siculus*) exposed via maternal route.

Zool. Anz. 293, 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2021.06.001>.

Simbula, G., Vignoli, L., Carretero, M.A. & Kaliontzopoulou, A. (2021b). Fluctuating asymmetry as biomarker of pesticides exposure in the Italian wall lizards (*Podarcis siculus*). *Zoology*. 147, 125928. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2021.125928>.

Sites Jr., J.W., Archie, J.W., Cole, C.J. & Flores-Villela, O.A. (1992). A review of phylogenetic hypotheses for lizards of the genus *Sceloporus* (Phrynosomatidae): Implications for ecological and evolutionary studies. *Bull. Am. Mus. Nat.* 213, 1–110.

Stark, J.D., Banks, J.E. & Vargas, R. (2004). How risky is risk assessment: The role that life history strategies play in susceptibility of species to stress. *PNAS* 101, 732–736. <https://doi.org/10.1073/pnas.0304903101>.

Sunny, A., González-Fernández, A. & D'Addario, A. (2017). Potential distribution of the endemic imbricate alligator lizard (*Barisia imbricata imbricata*) in highlands of central Mexico. *Amphibia-Reptilia* 40, 349–360. <https://doi.org/10.1163/15685381-20191155>.

Urošević, A., Ljubisavljević, K. & Ivanovic, A. (2015). Fluctuating asymmetry and individual variation in the skull shape of the common wall lizard (*Podarcis muralis Laurenti*, 1768) estimated by geometric morphometrics. *Herpetol. J.* 25, 177–186.

Walters, A.D., Chamberlain, K., Ford, N.B. & Placyk jr., J.S. (2014). Influence of Atrazine on the Scallation of Marcy's Checkered Gartersnake, *Thamnophis m. marcianus* (Baird and Girard, 1853). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 92, 1–5. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1147-8>.

Wilson, L.D., Mata-Silva, V. & Johnson, J. (2013). A conservation reassessment of the reptiles of Mexico based on the EVS measure. *Amphib. Reptile. Conserv.* 7, 1–47.

Winchell, K.M., Briggs, D. & Revell L.J. (2019). The perils of city life: patterns of injury and fluctuating asymmetry in urban lizards. *Biol. J. Linn. Soc.* 126, 276–288.

<https://doi.org/10.1093/biolinnean/bly205>.

Zelditch, M.L., Swiderski, D.L. & Sheets, H.D. (2012). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Academic press, Cambridge.

Table 1. Results from Procrustes ANOVA to test fluctuating asymmetry in the head shape of five squamate species. Statistically significant values are shown in bold.

Effect	SS	MS	df	F	P
<i>Barisia imbricata</i> (n = 37)					
Individual	0.2310	0.0003	720	7.15	<0.0001
Side	0.0019	0.0001	20	2.13	0.0029
Ind * Side	0.0323	0.0000	720	3.39	<0.0001
Error	0.0195	0.0000	1480		
<i>Sceloporus grammicus</i> (n = 47)					
Individual	0.5381	0.0005	920	5.33	<0.0001
Side	0.0024	0.0001	20	1.10	0.3447
Ind * Side	0.1009	0.0001	920	1.08	0.0938
Error	0.1915	0.0001	1880		
<i>Crotalus triseriatus</i> (n = 22)					
Individual	0.1769	0.0004	420	3.68	<0.0001
Side	0.0033	0.0001	20	1.48	0.0827
Ind * Side	0.0480	0.0001	420	0.96	0.6688
Error	0.1044	0.0001	800		
<i>Thamnophis eques</i> (n = 36)					
Individual	0.1339	0.0001	700	3.88	<0.0001
Side	0.0017	0.0000	20	1.75	0.0228
Ind * Side	0.0344	0.0000	700	7.60	<0.0001
Error	0.0093	0.0000	1440		
<i>Thamnophis scalaris</i> (n = 40)					
Individual	0.2476	0.0003	780	4.15	<0.0001
Side	0.0024	0.0001	20	1.58	0.0511
Ind * Side	0.0596	0.0000	780	25.97	<0.0001
Error	0.0047	0.0000	1600		

Table 2. Results of the two-way PERMANOVA to test for differences in environmental variables used by the clusters and the three species considered for the spatial analysis: *B. imbricata*, *T. eques*, and *T. scalaris*. Statistically significant values are shown in bold.

Effect	SS	MS	df	F	P
Metapopulations	0.6310	0.3155	2	17.21	0.0001
Species	0.0898	0.0449	2	2.45	0.0893
Interaction	0.0790	0.0197	4	1.07	0.3840
Residual	1.5032	0.0183	82		
Total	2.3032		90		

Figure captions

Fig. 1. Location of the study area at federative level in Mexico (A). Location of the study area at statal level in the State of Mexico, Red lines represents delimitation of the State of Mexico (B). Satellite imagery of the study area at El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, State of Mexico, Mexico showing metapopulations based on clusters analysis and that the main land use is agriculture, additionally, there are human constructions property of the Facultad de Ciencias from Universidad Autónoma del Estado de México. Sources: Esri, DigitalGlobe, GeoEye, i-cubed, USDA FSA, USGS, AEX, Getmapping, Aerogrid, IGN, IGP, swisstopo, and the GIS User Community (C). Photograph of the paths through which the different agricultural plots are accessed (D).

Fig. 2. Digitalized landmarks on the five species head shape, same landmarks were digitalized in both *Thamnophis* species. Landmarks 2-21 are paired bilaterally while landmarks 1 and 22 are used for the alignment during Procrustes superimposition. AI = Anterior internasals, CH = Scales on the crown of head, F = Frontal, FN = Frontonasals, FP = Frontoparietal, IC = Intercanthal, IN = Internasals, IP = Interparietals, ISO = Intrasupraoculars, P = Parietal, PF = Prefrontal, PI = Posterior internasals, PR = Postrostrals, R = Rostral, SO = Supraoculars, T = Temporals.

Fig. 3. Mean asymmetry in the head shape of the five studied species.

Fig. 4. Multifactorial ANOVA results, with pairwise comparison, of Mahalanobis distance and environmental variables between metapopulations, additionally, a empiric model to predict asymmetry in squamates based on CART analysis are presented, R^2 values appears to be low but have good resolution on the model, X error refers to the error of cross validation, the values

obtained backup the prediction potential of the model. Significant values are shown in red above interactions plots.

Fig. 5. Analysis for the relationship between asymmetry and ontogeny as changes in ontogeny and symmetry in columns, rows show analyses for each squamate species. Lower values in the changes represents contractions and higher values represents expansions.

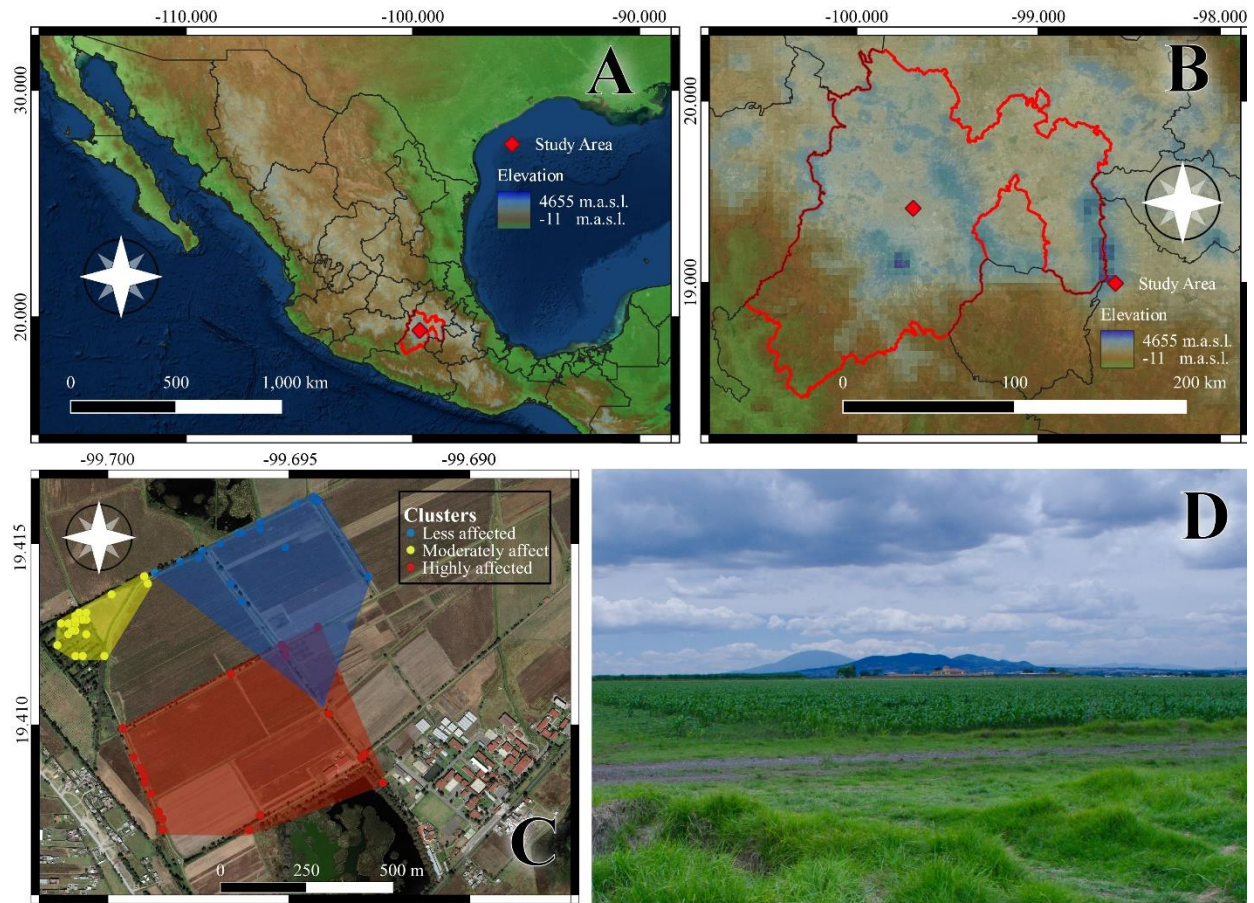
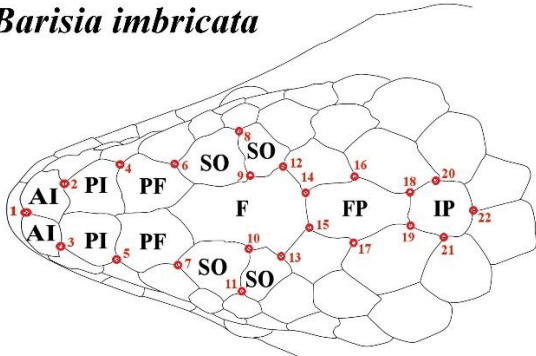
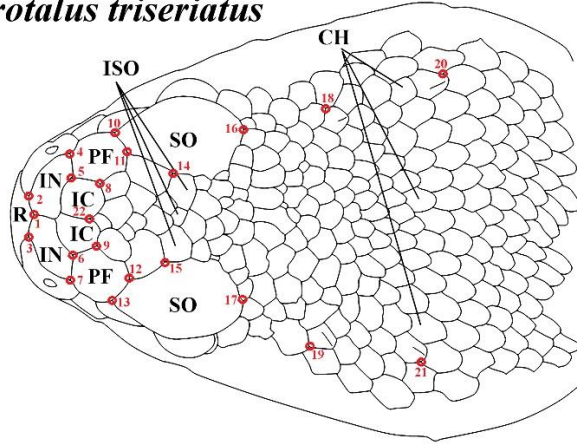


Fig. 1. Two-column fitting.

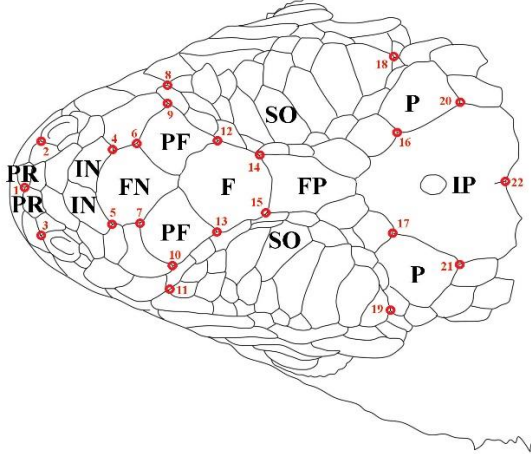
Barisia imbricata



Crotalus triseriatus



Sceloporus grammicus



Thamnophis spp.

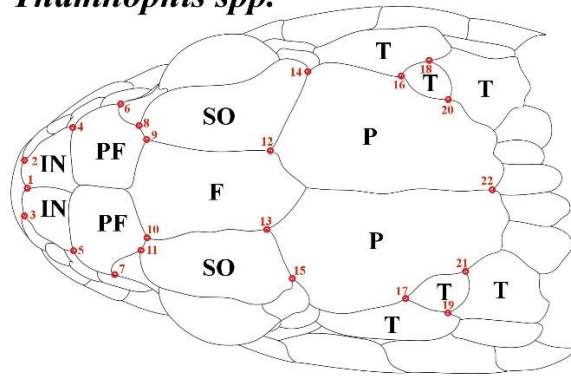


Fig. 2. Two-column fitting.

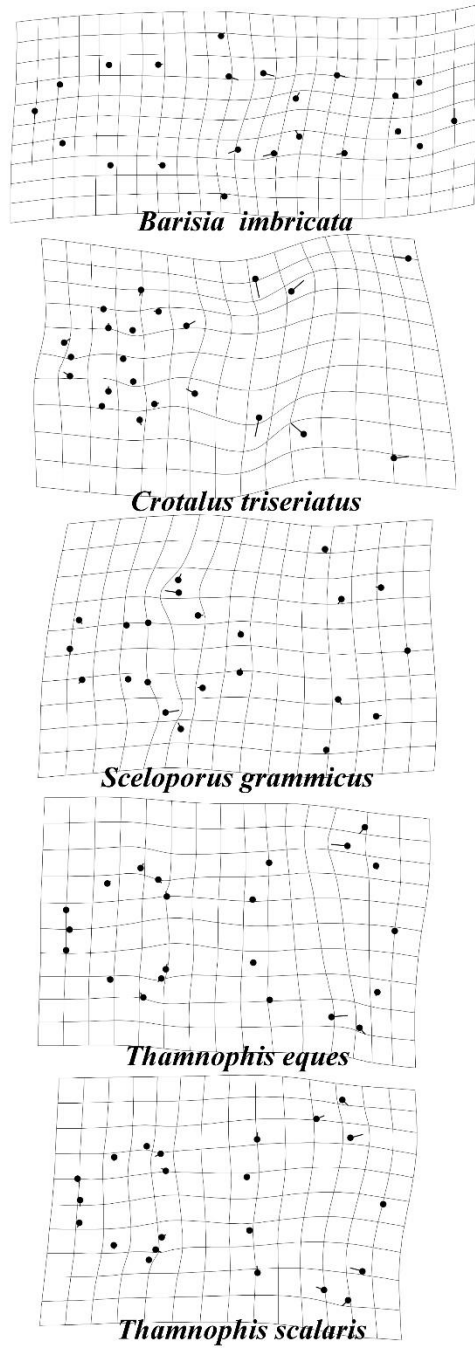
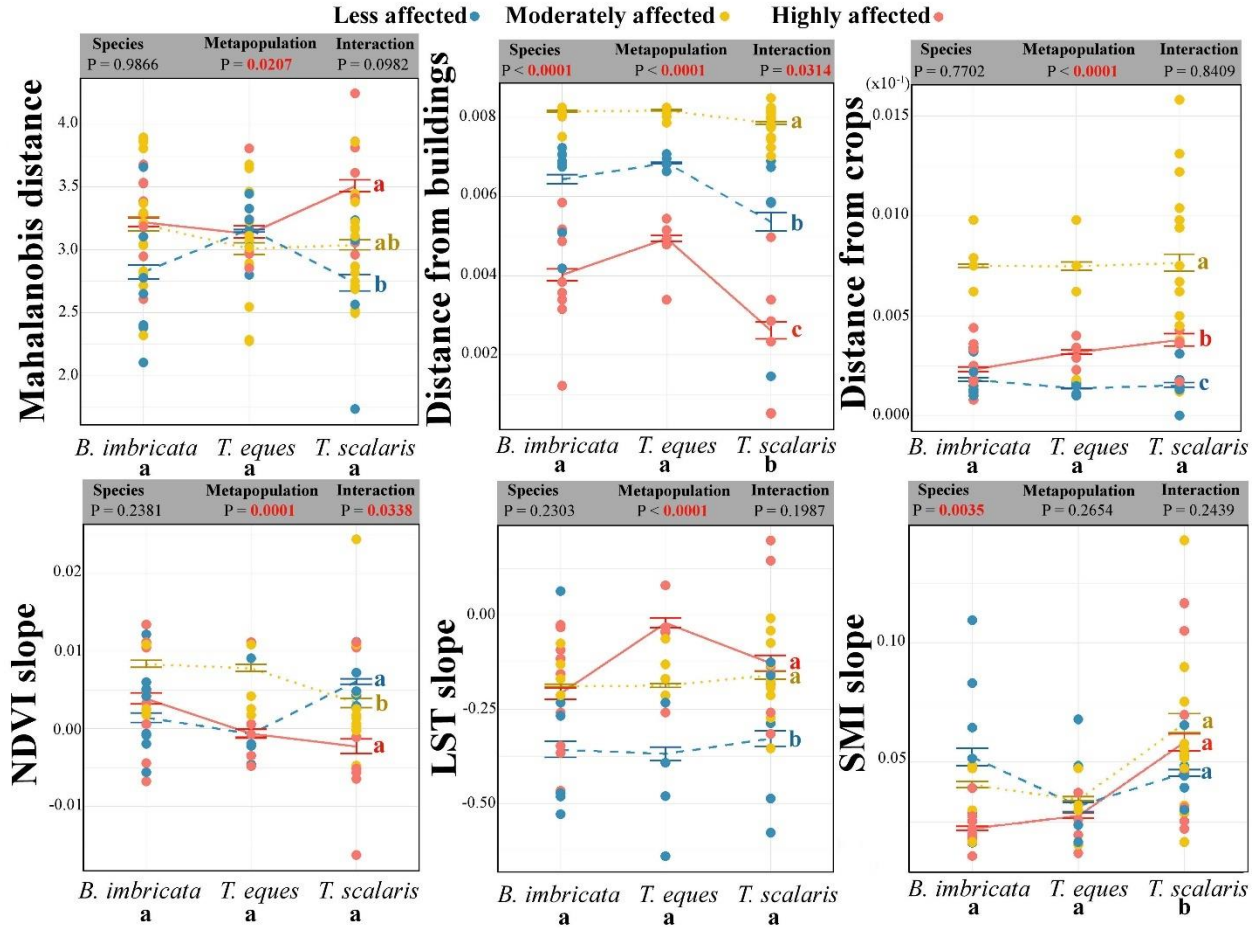


Fig. 3. Single column fitting.



Classification and regression tree for Mahalanobis distance

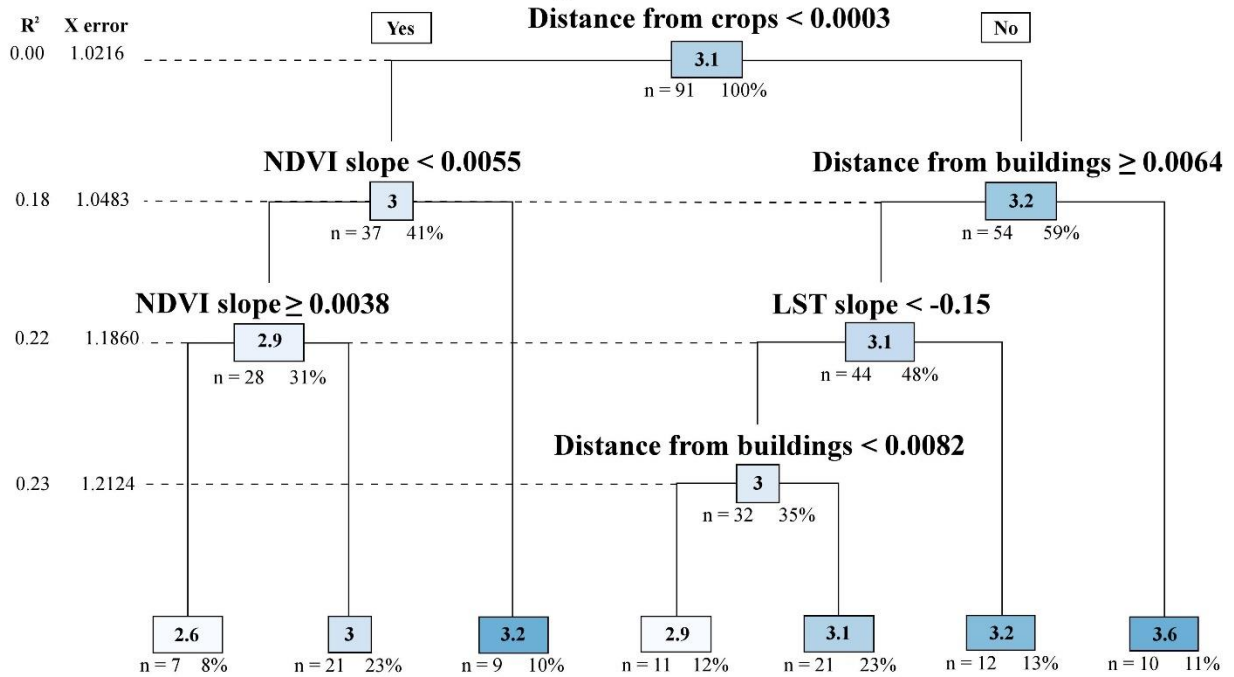


Fig. 4. Two-column fitting.

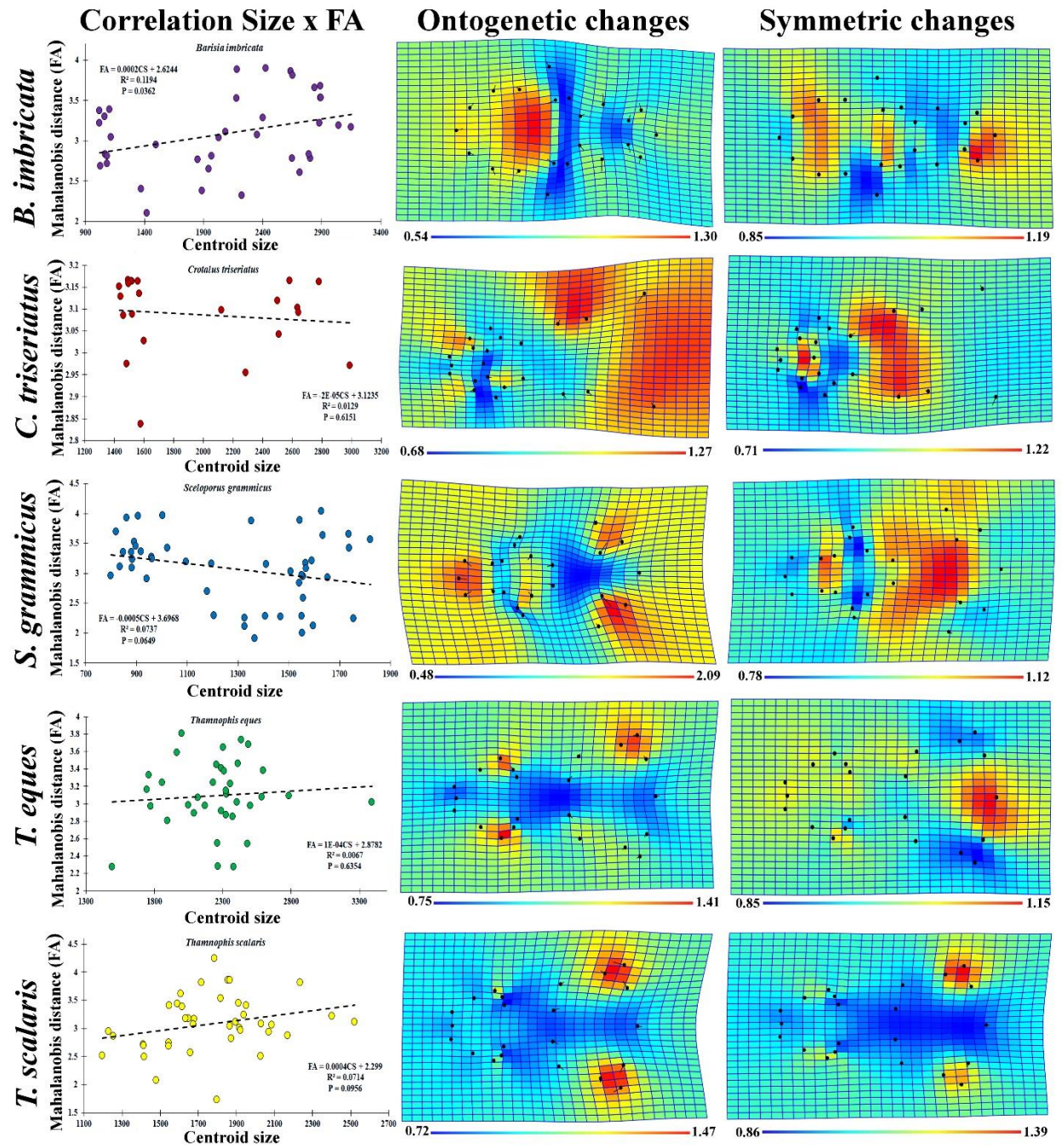


Fig. 5. Two-column fitting.

Variation in a widely distributed lizard inhabiting an anthropized habitat: an evaluation of asymmetry, canalization, allometry and sexual dimorphism

Aldo Gómez-Benitez^{1*}, Erika Adriana Reyes-Velázquez¹, Carlos A. Mastachi-Loza², Jose F. Méndez-Sánchez³, & Oswaldo Hernández-Gallegos¹

¹Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado México, Instituto Literario # 100 Centro, Toluca, Estado de México C. P. 50000, México.

²Instituto Interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario # 100 Centro, Toluca, Estado de México C. P. 50000, México.

³Laboratorio de Ecofisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario # 100 Centro, Toluca, Estado de México C. P. 50000, México.

*Corresponding author: gobeal940814@gmail.com, ORCID 0000-0003-3346-9967.

Abstract

Phenotypic variation in lizards could be linked to natural and anthropogenic stressors, being eustress and distress consequence. Understand different sources of variation allow us to interpret evolutive constrains, ecological pressure, and threatened status. The objective of this study was to evaluate the intra-specific head shape variation in *Sceloporus grammicus*, a widely distributed lizard. We sample lizards in an anthropized habitat, organism was sexed, measured and a photograph from the dorsal view of the head was taken. Twenty-two landmarks were digitized across the lizards head and, the different landmark configurations were superimposed. An asymmetry index was compared between age classes and sexes, variance/covariance matrices were compared between groups to assess difference in canalization. A multivariate regression in the symmetric component of variation and the centroid size was conducted to test allometry, and regression lines were compared between sexes. Sexual dimorphism was assessed with a PERMANOVA. Age class have a significative effect in the studied variables, with juveniles being more asymmetric and less canalized, but sex didn't. Allometry analysis reveals important changes in the snout region and in the interparietal scale. Some aspects of natural history as diet and intra-specific interactions could explain the morphometric pattern observed in *S. grammicus*; may eustress and distress acts concomitantly to regulate variation.

Keywords. Variation, Mesquite Lizard, asymmetry, canalization, allometry, sexual dimorphism.

Running head. Variation in Mesquite lizard.

Naturally, phenotypic variation in lizards is linked to temperature and moisture (FLATT et al. 2008), geographic distribution (YOUSEFKHANI et al. 2014), parthenogenetic or gonochoristic reproduction (PARKER 1979), genetic isolation (BELL et al. 2010), insularity (SAGONAS et al. 2014), etc. But phenotypic variation could also suffer changes due to environmental stress (LAZIĆ et al. 2015), but some species can buffer the developmental noise, and not suffering changes in phenotypic variation even in contrasting habitats (GÓMEZ-BENITEZ et al. 2021). Then, phenotypic variation it's not just relevant for the evolutive significance it has, but also allows us to use it as a reliable bioindicator of environmental stress. Canalization and asymmetry are two bioindicators extensively used to assess stress, the first one refers to the capability of an organism to buffer environmental or genetic perturbances and continue in a predetermined developmental pathway promoting similar phenotypes within-populations (ZAKHAROV 1992; WILLMORE et al. 2007); while developmental stability denotes the capability of a genotype to produce the same phenotype independently of the environmental conditions (ZELDITCH et al. 2012). On the other hand, allometry and sexual dimorphism are two well studied source of variation related to natural selection pressures (SHINE 1989; VOJE et al., 2012). Both kind of variation sources, the natural and the stress related, describes ecological and evolutive characteristics, and allow us to identify threats to animals' conservation.

In Phrynosomatidae species, some aspects related to asymmetry, canalization, allometry and sexual dimorphism have been described. In *Sceloporus grammicus*, there is evidence of a higher fluctuating asymmetry in parental races respect to hybrid chromosome races, and the presence of antisymmetry in the supraocular scales (DOSSELMAN et al. 1998). In another Sceloporine lizard, *Sceloporus aeneus*, a comparison of asymmetry between three males morphotypes show no significative statistical differences (ANDRADE-SOTO 2021). Regard to canalization, BUCKLEY et al. (2019) described that characteristics related to performance are highly canalized in *Sceloporus occidentalis*. Evolutionary allometry across Phrynosomatidae family is apparently constant between species, except for *Phrynosoma* genus which is highly divergent in the cranial configuration (KNIGHT et al. 2022). In a Sceloporine lizard, PÉREZ-QUINTERO et al. (2019) describes the presence of hyperallometry (positive allometry with slopes higher than one) in

females but not in males for one characteristic. Concerning on sexual dimorphism, males having larger head than females appears to be a common pattern (HERNÁNDEZ-SALINAS et al. 2010; RAMÍREZ-BAUTISTA et al. 2016; CRUZ-ELIZALDE et al. 2020), but shape did not demonstrate differences (CRUZ-ELIZALDE et al. 2020).

Sexes and age classes are subjected to different natural stressors, but these stressors are acting while environmental stress anthropization-related is occurring, then, understand phenotypic variation in anthropized environments could reveal intra-specific differential vulnerability. Study phenotypic variation employing geometric morphometrics offers precise morphological description and a wide repertoire of robust statistical procedures.

Sceloporus grammicus is a viviparous high mountain lizard endemic to Mexico, which inhabits in the Mexican Transvolcanic Belt, Sierra Madre del Sur, and the Mexican Plateau (RAMÍREZ-BAUTISTA et al. 2009). Its generalist diet (LEYTE-MANRIQUE & RAMÍREZ-BAUTISTA 2010), eurythermic condition, and capability to inhabit contrasting thermal habitats (DÍAZ DE LA VEGA-PÉREZ et al. 2019), indicates that *S. grammicus* is a highly resilient lizard.

Our objective was understanding phenotypic variation in the widely distributed lizard, *S. grammicus* inhabiting an anthropized habitat, assessing the asymmetry, canalization, allometry and sexual dimorphism in the head shape employing geometric morphometrics across.

We sample *S. grammicus* in El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México located at 19°25'0" - 19°24'14" N, 99°42'22" - 99°40'58" W. The study site is an anthropized habitat that presents grassland patches surrounded by agricultural plots (Fig. 1A), in these patches inhabits a relatively high diversity of vertebrates, including eight reptiles, and five amphibians. A sparse arboreal stratum is represented by *Pinus sp.*, *Cupressus sp.* and *Salix babylonica*. The anthropization process in El Cerrillo, Piedras Blancas involves constant human presence, land change use, contamination due to unregulated pesticides, and intentional burning. Climate in the study area is temperate sub-humid with summer rains and a well-marked seasonality. *Sceloporus grammicus* individuals were collected in trees, fallen logs and walls (Fig. 1C) by hand or by noosing. Animals were measured, sexed, and photographed before being released exactly where they were collected. Age classes determination was conducted according to JIMÉNEZ-CRUZ et al. (2005) classifying as adults the males with a snout-vent length higher than 44.5 mm and the females larger than 44.1 mm, the size in which the sexes in *Sceloporus*

grammicus reach the sexual maturity. To sexing organisms, we used the presence of enlarged postanal scales in males which are absent in females (STEBBINS 1954).

Photographs of the dorsal view of the head of all the individuals collected were taken employing a camera Nikon D3500 with a Nikkor lens 70-300 (at its maximum focal length) with the following parameters: shutter speed 1/200 seconds, diaphragm aperture f/22, and ISO 100-400. The photographs were standardized maintaining the camera at 60 cm from the floor using a tripod and employing extension tubes to avoid lens focus limitation. Lizards were hold by a second researcher above a graph paper, sedatives or cooler temperatures were not required.

Empty TPS files were created in the software TpsUtil, posteriorly, 22 landmarks were digitized twice in each individual (Fig. 1B) with the software TpsDig. All the landmarks were paired bilaterally except by the landmarks one and 22 used to superimpose the data. To detect and correct digitalization errors, a principal components analysis was conducted in the software TpsRelw, that analysis also reveal resamples. To remove all non-shape dependent variation, a Procrustes superimposition was conducted in the software MorphoJ, that procedure consists in three steps: translation, escalation, and rotation.

To assess if some of the sexes or age classes presents fluctuating asymmetry, a Procrustes ANOVA was conducted for each group, employing as fixed factor the ID and the side as random factor, the interaction between both factors reveals fluctuating asymmetry. Mahalanobis distance was calculated to be used as asymmetry index, that index was compared with a multifactorial ANOVA using age classes and sex as factors. To understand dispersion in asymmetry, a Levene test was used to compare variances in Mahalanobis distance between age classes and sexes.

To assess differences in canalization, we calculated the within-group variance-covariance (VCV) matrix according to ZELDITCH et al. (2004) and compared the matrices between four groups: adult females, juvenile females, adult males, and juvenile males; using an ANOSIM with 10,000 permutations and a posterior pairwise comparisons with Bonferroni correction. To interpret canalization results, a principal components analysis was conducted with all the landmark configurations and then, the principal components which achieve more variability, were compared between the four groups aforementioned with a Levene test.

Allometry evaluation entailed a multivariate regression in the symmetric component of the *Sceloporus grammicus* head shape and the log-transformed centroid size used as size indicator in geometric morphometrics. A Jacobian expansion factor was conducted to better interpret the ontogenetic changes in shape. Comparisons of regression lines were conducted using the regression scores as dependent variable and log centroid size as independent variable, to assess if *S. grammicus* presents allometric sexual dimorphism. Finally, a PERMANOVA with 10,000 permutations was conducted in the symmetric component to assess if there is sexual dimorphism in *S. grammicus* head shape. All the statistics procedures were conducted in three softwares: MorphoJ, PAST4 and Statgraphics Centurion 19 with a confidence level of 95%.

A total of 47 individuals were captured, 24 males and 23 females. Procrustes ANOVA reveals a significative interaction between ID * side, and therefore the presence of FA, only in the adult age class ($P < 0.0001$), but not in juveniles ($P = 1.0000$) or in any of the two sexes (males $P = 0.2017$; females $P = 0.1174$). The ANOVA on the Mahalanobis distance revealed not significative statistical differences between sexes or in the interaction sex * age classes, but there were differences between age classes (Table 1) with juveniles ($\bar{X} = 3.08 \pm 0.48$) being more asymmetric than adults ($\bar{X} = 3.06 \pm 0.49$). Sum of squares shows a high contribution to variation from age classes and a poor contribution from sexes (Table 1). Sexes did not demonstrate differences in Mahalanobis distance variation according to Levene's test (males $\sigma = 0.62$, females $\sigma = 0.54$, $F = 0.7619$, $P = 0.5269$), but age classes did (juveniles $\sigma = 0.32$, adults $\sigma = 0.62$, $F = 3.8037$, $P = 0.0057$).

The results from ANOSIM to test differences in canalization shows differences between the four groups considered ($R = 0.0946$, $P > 0.0001$). The pairwise comparison corrected with Bonferroni's correction shows differences between all groups except between juvenile females and juvenile males (Table 2). Two first principal components were used for interpretations since they explained 63% of variation. The Levene's test on PC1 and PC2 reveals a global difference in variance (Fig. 2). The pairwise comparisons in PC1 reveal differences in variance between all groups except between female ($\sigma = 0.0192$) and male ($\sigma = 0.0182$) adults, and between female ($\sigma = 0.0450$) and male ($\sigma = 0.0409$) juveniles. There were no differences in PC2 (Figure 2).

Regarding allometry, multivariate regression on symmetric component explains the 26.73% of variation on data and reveals a statistically significant dependance of head shape in log centroid

size ($P > 0.0001$). Adjustment to a linear model is poor since smaller individuals are widely dispersed away from the expected values (Fig. 3A). Major allometric changes in head shape are presented anteriorly and posteriorly to supraocular scales, between postrostrals and anteriorly to nasal scales (Fig. 3B). The comparison of regression lines of allometric component between sexes reveals no significant differences (intercepts: females = -0.1197, males = -0.0556, $F = 0.31$, $P = 0.5823$; slopes: females = 0.0001, males < 0.0001 , $F = 0.89$, $P = 0.3517$).

The results of PERMANOVA to evaluate the differences between sexes in the head shape of *S. grammicus*, showed that there is not sexual dimorphism in this characteristic ($F = 0.4227$, $P = 0.8693$).

Asymmetry analysis demonstrates that juveniles are more asymmetric than adults, but this asymmetry fluctuate in adults. Since the asymmetry in juveniles is not fluctuating, the ontogeny of symmetry observed could be a result of natural variation. In *S. grammicus*, the presence of antisymmetry, a type of symmetry that result from normal development (VAN VALEN 1962), was already documented (DOSSELMAN et al. 1998), but there is no an evident evolutive explanation for the presence of head shape or scales configuration antisymmetry. A source of asymmetry not environmental stress related, must be present during embryonic development acting randomly in one of the sides of the head, but post embryonic growth apparently can correct that asymmetry, explaining why the adults have FA, environmental conditions in the anthropized habitat allow to just some of the older individuals to correct that asymmetry. May the position of the embryo inside the female is a source of natural asymmetry in viviparous species due to steroid flux emanating from male embryos and affecting adjacent fetuses, affecting not just morphology but physiology and behavior (EVEN et al. 1992). The fact that asymmetry not stress-related is equally presented in females and males reinforce that idea, both sexes have a random intrauterine position and therefore, could develop asymmetry equally, additionally, the intrauterine position have demonstrated to regulate several phenotypic characteristics in vertebrates (VOM SAAL 1981).

Canalization analysis reveals differences between age classes, and between sexes in adult class but not in juvenile class. A less restrictive canalization in juveniles does not means that offspring are under higher stress conditions than adults but reveals that adults could deal with environmental stressors and then, return to the species predetermined developmental pathway.

To do that, learning and confidence in the habitat are essentials. In Sceloporine lizards, territoriality have been extensively documented (SHELDAHL & MARTINS 2000; HAENEL et al. 2003) and even the capacity of these adult species to learn where to find resources (PUNZO 2002), making survival less stressful. Between sex differences in the adults' class could be related to reproduction, concretely, to aggressive male-male interactions. In Sceloporine lizards intrasexual competition includes aggressive behaviors from dominant males over subordinates to domine territory and females for reproduction (GARCÍA-ROSALES et al. 2021), this kind of interactions are not presented in females. Our results on canalization suggest that eustress interact with distress in *S. grammicus* that could occur in another lizards, altering patterns of bioindicators according to age classes or sexes.

Allometry is an interesting phenomenon on its own since it describes functional demands over an organism life on the studied characteristics (ZELDITCH et al. 2012). In *Sceloporus grammicus* idem there were important changes in head shape due to size, modifications in the postrostral scales could be related to changes in snout due to the, already registered, dietary differences between adults and juveniles (DURÁN-SERVÍN 2012). Then, dietary requirements demand ontogenetic changes in *Sceloporus grammicus* idem snout shape. A poor adjustment to linear model corroborate the lesser restrictive canalization in juveniles, which gets corrected in adults. Non-difference between regression lines between sexes attends again to diet, since sexes presents an important dietary overlapping in *S. grammicus* (LEYTE-MANRIQUE & RAMÍREZ-BAUTISTA 2010) and the main ontogenetic changes occur in the snout in that species.

Absence of sexual dimorphism in head shape contrast with the results previously found using lineal morphometry. HERNÁNDEZ-SALINAS et al. (2010) registered that males have longer and wider heads than females, but our results show no differences in shape. In the genus *Phymaturus*, a liolaemid lizards, both methods coincided, since both registered no sexual dimorphism in head (GONZÁLEZ-MARÍN et al 2016), contrary to the results observed in *S. grammicus*. It is possible that head differs between sexes just in size but not in shape, since *S. grammicus* head varies in two directions X and Y, or in this case wide and length (HERNÁNDEZ-SALINAS et al. 2010), head could be bigger in males, but scales also increase in size in the same directions having then a similar shape between sexes. Another possible explanation for the discrepancy between linear and geometric morphometric methods, is that landmarks selected may did not include the

characteristics of shape which varies with size, some authors suggest that it is not always possible to determine the points where structures vary when geometric morphometrics is used (RICHTSMIEIER et al. 2002), but we suggest that head is dimorphic only in size but not in shape in *S. grammicus* instead, since our landmarks selection explains adequately the shape of that lizard head.

Understanding variation sources allow us not just to understand evolutionary processes, but also let us comprehend sources of variation which could influence results in some bioindicators, contributing to the knowledge about them, and enhancing the results obtained of bioindicators such as canalization and asymmetry with geometric morphometrics. Further multifactorial studies in which age classes and sex interact with habitat types in different species must be conducted to definitely understand the role of intrinsic and extrinsic variables in the study of bioindicators.

Acknowledgments

To the students of the Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México for its help during samplings, and to CONACyT for the PhD scholarship for AGB.

References

ANDRADE-SOTO, G. (2021): Polimorfismo en una lagartija de alta montaña: el caso de los machos de *Sceloporus aeneus* (Squamata: Phrynosomatidae). – Bachelor Thesis, Universidad Autónoma del Estado de México, State of Mexico.

BELL, R. C., J. L. PARRA, M. TONIONE, C. J. HOSKIN, J. B. MACKENZIE, S. E. WILLIAMS & C. MORITZ (2010): Patterns of persistence and isolation indicate resilience to climate change in montane rainforest lizards. *Molecular Ecology*, 19: 2531–2544.

BUCKLEY, C. R., D. J. IRSCHICK & S. C. ADOLPH (2010): The contributions of evolutionary divergence and phenotypic plasticity to geographic variation in the western fence lizard, *Sceloporus occidentalis*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99: 84–98.

- CRUZ-ELIZALDE, R., A. RAMÍREZ-BAUTISTA, L. F. ROSAS-PACHECO, A. LOZANO & F. J. RODRÍGUEZ-ROMERO (2020): Sexual dimorphism in size and shape among populations of the lizard *Sceloporus variabilis* (Squamata: Phrynosomatidae). *Zoology*, 140: e125781.
- DÍAZ DE LA VEGA-PÉREZ, A.H., R. BARRIOS-MONTIEL, V. H. JIMÉNEZ-ARCOS, A. BAUTISTA & E. BASTIAANS (2019): High-mountain altitudinal gradient influences thermal ecology of the Mesquite Lizard (*Sceloporus grammicus*). *Canadian Journal of Zoology*, 97: 659–668.
- DOSELMAN, D. J., G. B. SCHAALJE & J. W. SITES Jr. (1998): An analysis of fluctuating asymmetry in a hybrid zone between two chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Squamata: Phrynosomatidae) in Central Mexico. *Herpetologica*, 54: 434–447.
- DURÁN-SERVÍN, S. L. (2012): Contribución al conocimiento de la alimentación de la lagartija *Sceloporus grammicus* (Reptilia: Phrynosomatidae) en la localidad de la Palma, Municipio de Isidro Fabela, Estado de México. *Revista de Zoología*, 23: 9–20.
- EVEN, M. D., M. G. DHAR, & F. S. VOM SAAL (1992): Transport of steroids between fetuses via the amniotic fluid in relation to the intrauterine position phenomenon in rats. *Journal of reproduction and fertility*, 96: 709–716.
- FLATT, T., R. SHINE, P. A. BORGUES-LANDAEZ & S. J. DOWNES (2008): Phenotypic variation in an oviparous montane lizard (*Bassiana duperreyi*): the effects of thermal and hydric incubation environments. *Biological Journal of the Linnean Society*, 74: 339–350.
- GARCÍA-ROSALES, A., B. P. STEPHENSON, A. RAMÍREZ-BAUTISTA, J. MANJARREZ & N. P. PAVÓN (2021): Female choice and male aggression in the polymorphic lizard *Sceloporus minor*. *Ethology*, 127: 1053–1063.
- GÓMEZ-BENITEZ, A., J. M. WALKER, A. E. LÓPEZ-MORENO & O. HERNÁNDEZ-GALLEGOS (2021): The influence of urbanization on morphological traits in the Balsas Basin Whiptail lizard (*Aspidoscelis costatus costatus*). *Urban Ecosystems*, 24: 327–333.
- GONZÁLEZ-MARÍN, A., A. MORANDO & L. J. AVILA (2016): Linear and geometric morphology in a group of Patagonian lizards of the genus *Phymaturus* (Squamata: Liolaemini). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87: 399–408.

- HAENEL, G. J., L. C. SMITH, H. B. JOHN-ALDER & C. GUYER (2003): Home-Range Analysis in *Sceloporus undulatus* (Eastern Fence Lizard). I. Spacing Patterns and the Context of Territorial Behavior. *Copeia*, 2003: 99–112.
- HERNÁNDEZ-SALINAS, U., A. RAMÍREZ-BAUTISTA, A. LEYTE-MANRIQUE & G. R. SMITH (2010): Reproduction and Sexual Dimorphism in Two Populations of *Sceloporus grammicus* (Sauria: Phrynosomatidae) from Hidalgo, Mexico. *Herpetologica*, 66: 12–22.
- JIMÉNEZ-CRUZ, E., A. RAMÍREZ-BAUTISTA, J. C. MARSHALL, M. LIZANA-AVIA & A. NIETO-MONTES DE OCA (2005): Reproductive cycle of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Teotihuacán, México. *The Southwestern Naturalist*, 50: 178–187.
- KNIGHT, J. A., D. T. LEDESMA & M. E. KEMP (2022): Allometric patterns in phrynosomatid lizards and the implications for reconstructing body size for fossils. *Evolutionary Ecology*, 36: 561–590.
- LAZIĆ, M. M., M. A. CARRETERO, J. CRNOBRNJA-ISAILOVIĆ & A. KALIONTZOPOULOU (2015): Effects of environmental disturbance on phenotypic variation: an integrated assessment of canalization, developmental stability, modularity, and allometry in lizard head shape. *American Naturalist*, 185: 44–58.
- LEYTE-MANRIQUE, A., & A. RAMÍREZ-BAUTISTA (2010): Diet of Two Populations of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Hidalgo, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 55: 98–103.
- PARKER, E. D. (1979): Phenotypic Consequences of Parthenogenesis in *Cnemidophorus* Lizards. I. Variability in Parthenogenetic and Sexual Populations. *Evolution*, 33: 1150–1166.
- PÉREZ-QUINTERO, M. J., V. H. JIMÉNEZ-ARCOS & R. CUEVA DEL CASTILLO (2019): The Allometry of Sexual Dimorphism in *Sceloporus formosus* (Squamata: Phrynosomatidae). *Copeia*, 107: 475–480.
- PUNZO, F. (2002): Spatial associative learning in the crevice spiny lizard, *Sceloporus poinsettii* (Sauria: Iguanidae). *Texas Journal of Science*, 54:45–50.
- RAMÍREZ-BAUTISTA, A., U. HERNÁNDEZ-SALINAS, R. CRUZ-ELIZALDE, A. LOZANO & F. J. RODRÍGUEZ-ROMERO (2016): Sexual dimorphism and reproductive traits over time in *Sceloporus*

aeneus (Squamata: Phrynosomatidae), based on a population in the Transmexican Volcanic Belt, Mexico. *Salamandra*, 52: 197–203.

RAMÍREZ-BAUTISTA, A., U. HERNÁNDEZ-SALINAS, U. O. GARCÍA-VÁZQUEZ, A. LEYTE-MANRIQUE & L. CANSECO-MÁRQUEZ (2009): Herpetofauna del Valle de México: diversidad y conservación. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca.

RICHTSMEIER, J. T., V. B. DELEON & S. R. LELE (2002): The promise of geometric morphometrics. *Yearbook of Physical Anthropology*, 45: 63–91.

SAGONAS, K., P. PAFILIS, P. LYMBERAKIS, C. M. DONIHUE, A. HERREL & E. D. VALAKOS (2014): Insularity affects head morphology, bite force and diet in a Mediterranean lizard. *Biological Journal of the Linnean Society*, 112: 469–484.

SHELDAHL, L. A. & E. P. MARTINS (2000): The Territorial Behavior of the Western Fence Lizard, *Sceloporus occidentalis*. *Herpetologica*, 56: 469–479.

SHINE, R. (1989): Ecological Causes for the Evolution of Sexual Dimorphism: A Review of the Evidence. *The Quarterly Review of Biology*, 64: 419–461.

STEBBINS, R. C. (1954). *Amphibians and Reptiles of Western North America*. McGraw-Hill, New York.

VAN VALEN, L. (1962): A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, 16: 125–142.

VOJE, K. L., T. F. HANSEN, C. K. EGSET, G. H. BOLSTAD & C. PÉLABON (2014): Allometric constraints and the evolution of allometry. *Evolution*, 68: 866–885.

VOM SAAL, F. S. (1981): Variation in phenotype due to random intrauterine positioning of male and female fetuses in rodents. *Reproduction*, 62: 633–650.

WILLMORE, K. E., N. M. YOUNG & J. T. RICHTSMEIER (2007): Phenotypic Variability: Its Components, Measurement and Underlying Developmental Processes. *Evolutionary Biology*, 34: 99–120.

YOUSEFKHANI, S. S. H., M. YOUSEFI, A. MOHAMMADPOUR, R. MASROOR & N. RASTEGAR-POUYANI (2014): Phenotypic Variation in Males of the Agamid Lizard *Paralaudakia caucasia* (Eichwald, 1831) Across a Wide Geographic Range. *Herpetologica*, 70: 464–471.

ZAKHAROV, V. M. (1992): Population phenogenetics: Analysis of developmental stability in natural populations. *Acta Zoologica Fennica*, 191: 7–30.

ZELDITCH, M.L., B. L. LUNDRIGAN, T. GARLAND jr. (2004): Developmental regulation of skull morphology. I. Ontogenetic dynamics of variance. *Evolution & Development*, 6: 194–206.

ZELDITCH, M. L., D. L. SWIDERSKI. & H. D. SHEETS. (2012): *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. Academic Press, Massachusetts.

Table 1. ANOVA to test differences in FA (Mahalanobis distance) between age classes and sexes in *Sceloporus grammicus* head shape at El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México. Significant values are shown in bold.

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	P
Age class	2.84981	1	2.84981	9.65	0.0034
Sex	0.00583559	1	0.00583559	0.02	0.8889
Age class * Sex	0.0199544	1	0.0199544	0.07	0.7962
Residual	12.7029	43	0.295417		
Total (Corrected)	15.5931	46			

Table 2. Pairwise ANOSIM to test differences in canalization between age classes and sexes in *Sceloporus grammicus* head shape at El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México. The P values corrected with Bonferroni's correction are showed below the diagonal and R values above the diagonal, significant values are shown in bold.

	Adult females	Juvenile females	Adult males	Juvenile males
Adult females		0.1625	0.0566	0.1219
Juvenile females	0.0005		0.1303	0.0242
Adult males	0.0083	0.0005		0.0933
Juvenile males	0.0005	0.2562	0.0005	

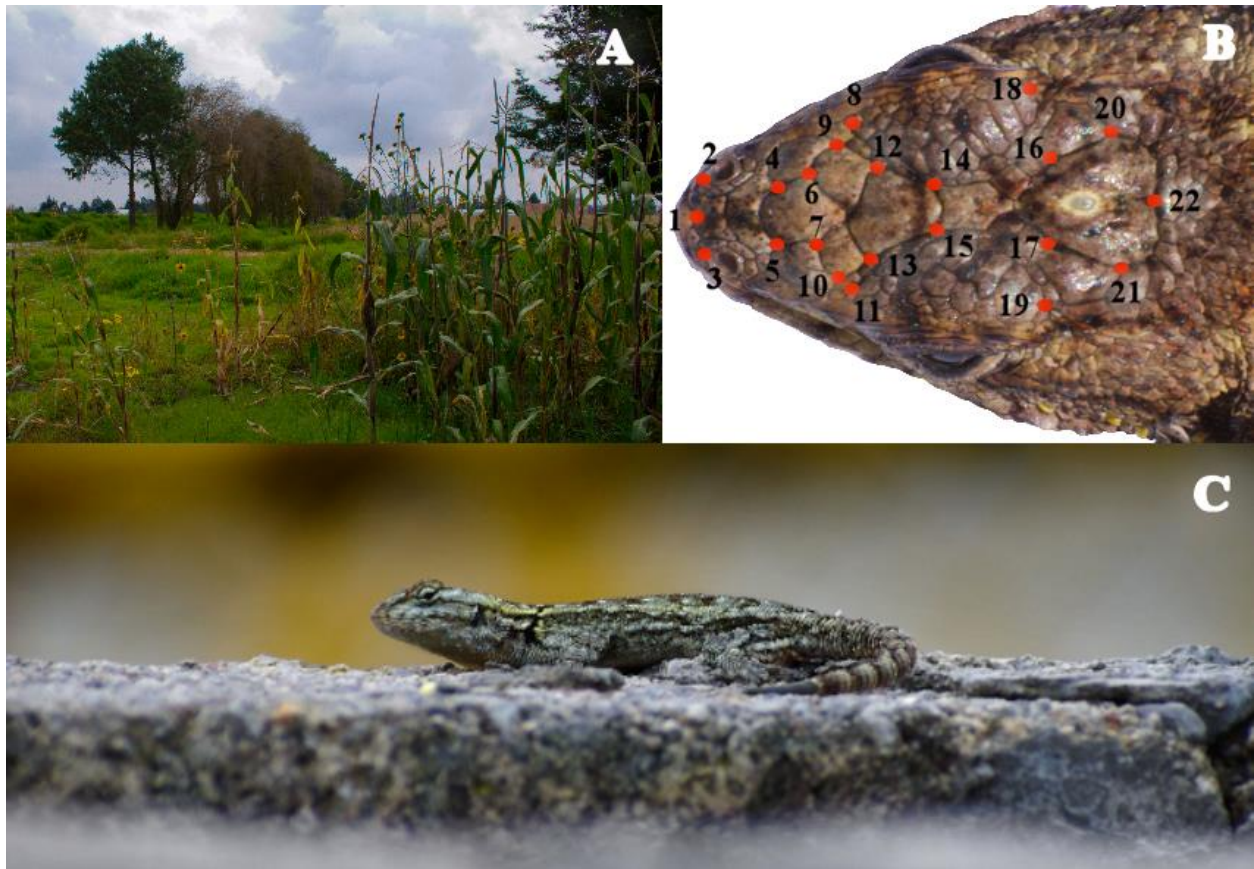


Figure 1. Study site photography in which we can observe the presence of corn crops, cars road and buildings (A), 22 landmarks digitized in *Sceloporus grammicus* head (B), and an adult *Sceloporus grammicus* organism perching in a wall in El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México.

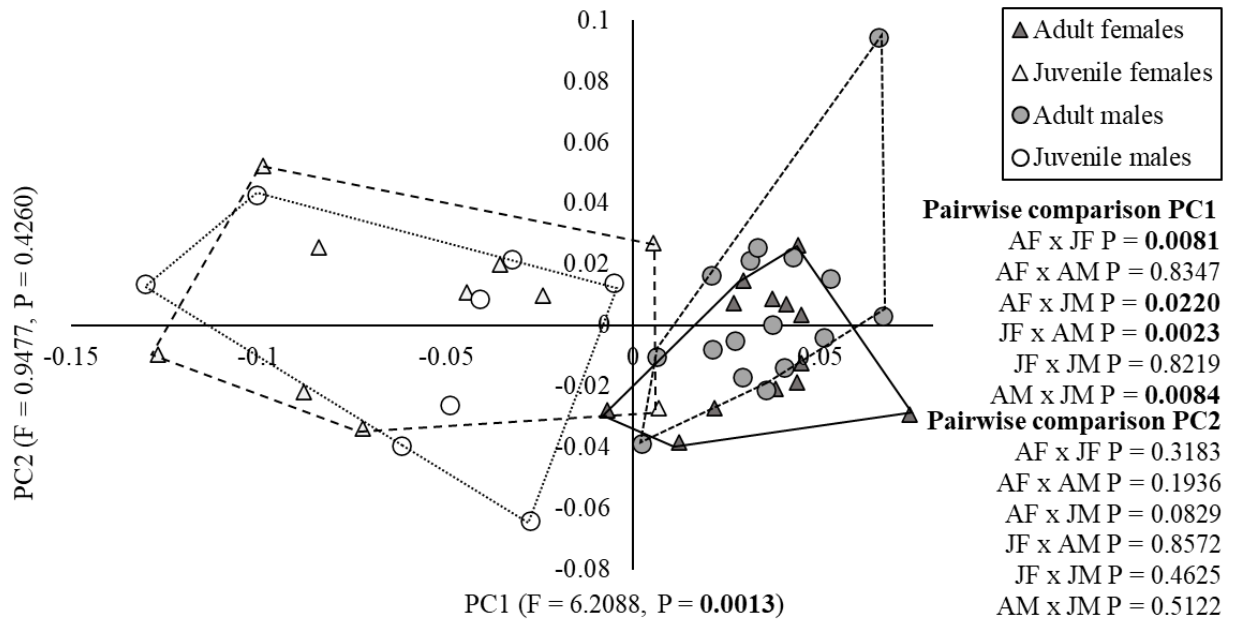


Figure 2. First two principal components and Levene's tests results to assess differences in variance between age classes and sexes in *Sceloporus grammicus* head shape at El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México. The R and P values on the axes attend to a general comparison and the column on the right to the pairwise comparisons, significant values are shown in bold. AF = adult females, JF = juvenile females, AM = adult males, JM = juvenile males.

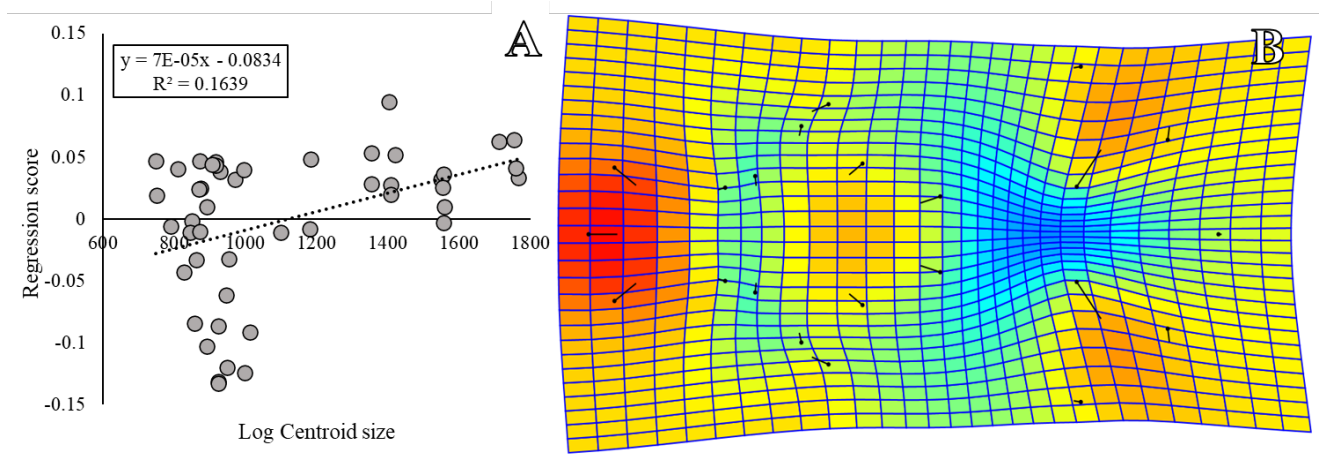


Figure 3. Regression on head shape and log centroid size (A), and ontogenetic shape changes to assess allometry in *Sceloporus grammicus* head shape at El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, Estado de México, México, reddish colors represents expansions and blueish contractions (B).

***Aspidoscelis costatus costatus* en un ambiente urbanizado**

La urbanización es tal vez el grado más severo de antropización que se puede presentar al transformar un ambiente natural. Esta conlleva cubrir casi por completo la superficie de un área predeterminada con un sustrato artificial e impermeable, así como mermar por completo o parcialmente las poblaciones arbóreas, generando islas de calor en las que la infiltración del agua hacia los mantos acuíferos es prácticamente nula. En ambientes urbanizados la constante presencia humana resulta uno de los mayores impedimentos a las especies animales para sobrevivir, no solo por percibir a las personas como potenciales depredadores, sino también por la muerte intencionada e inintencionada. La producción y constante movimiento de los pobladores en las ciudades es una fuente de contaminación que puede ocasionar la extinción local de las especies faunísticas, principalmente aquellas con hábitos acuáticos. Sabiendo que la urbanización es un fenómeno que ocasiona extinciones locales, y que las especies ectotérmicas, al tener una relación especialmente estrecha con su ambiente, podrían ser especialmente susceptibles a los cambios abruptos en su ambiente. Se realizó una investigación para poder entender como el grado más severo de la antropización podría estar afectando a una especie de lagartija cuya población urbanizada no solo era abundante en un sitio urbanizado, sino que además el área en la que podían existir todos esos individuos era muy limitada. La población antes descrita corresponde a la especie *Aspidoscelis costatus costatus*, la Lagartija Cola de Látigo de la Cuenca del Balsas, con este especie se buscó entender como las condiciones extremas del parche en el que vivía esta lagartija modificaba su morfología. Al comparar la morfología y la coloración de la población urbana de *A. costatus costatus* con los de una población silvestre, se observó que la población urbana tenía extremidades más largas, cabezas más pequeñas y un menor número de poros femorales, interesantemente, estos cambios eran “la regla” en la población sujeta a perturbación. Estos cambios hacían a *A. costatus costatus* más propensa a sobrevivir en la ciudad. Respecto a la coloración, los cambios ontogenéticos en esta característica ocurrían de igual forma en los ambientes urbanizados que en los silvestres. Lo anterior denota que, si bien sería exagerado llamar a esta lagartija urbanofila, esta especie presenta una baja a moderada susceptibilidad a los ambientes urbanizados y los cambios morfológicos que sufrió la hicieron aclimatizarse a la vida en la ciudad. Derivado de estas observaciones, se volvió evidente que las especies podrían presentar una vulnerabilidad diferencial ante la antropización y que utilizar bioindicadores para entender esta característica nos permitiría dirigir los esfuerzos de conservación para proteger a las especies más susceptibles a desaparecer a causa de este fenómeno, además, plasmar dicha vulnerabilidad en un valor numérico abriría las puertas a comparaciones subsecuentes. Es por eso que los resultados publicados en los manuscritos “The influence of urbanization on morphological traits in the Balsas Basin Whiptail lizard (*Aspidoscelis costatus costatus*)” y “Color pattern and body size variation in live *Aspidoscelis costatus costatus* (Squamata: Teiidae) from a protected enclave in Southern Mexico” son un antecedente al trabajo realizado y registrado en la presente tesis, cabe señalar que dichos manuscritos fueron publicados durante la estancia en el programa de doctorado.



The influence of urbanization on morphological traits in the Balsas Basin Whiptail lizard (*Aspidoscelis costatus costatus*)

Aldo Gómez-Benitez¹ · James Martin Walker² · Ana Esthela López-Moreno¹ · Oswaldo Hernández-Gallegos¹

© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2020

Abstract

Urbanization is the process of wildlands transformation for development of human settlements and the resulting ecosystem presents changes that could affect animal populations. *Aspidoscelis costatus costatus* is an endemic Mexican lizard (Family Teiidae); preliminary observations show possible effects of urbanization on this lizard. We collected 50 *A. costatus costatus* from an urban area in Ixtapan de la Sal, Estado de México, that were compared with 56 *A. costatus costatus* from wildlands close to Ixtapan de la Sal and Tonicato, Estado de México. Weight, snout-vent length and other eight morphometric traits, and three meristic traits were recorded for each specimen. We compared between habitat types (urban and wildlands), the differences in morphological variation (dispersion measures), and morphological shifts (central tendency measures) using univariate and multivariate statistical methods. Multivariate results show morphological shifts, but not significant differences in morphological variation. Therefore, there exist no influence of urbanization in the population canalization. In the univariate analyses, four characteristics show differences in dispersion measures using variance-ratio test for normal traits (axilla-groin length and hindlimb length) and Levene's test for non-normal traits (supraocular scales and femoral pores). Likewise, eight characteristics show differences in central tendency using ANCOVA with snout-vent length as covariate for morphometric traits (limb measurements, head measurements and axilla-groin length) and Mann-Whitney *U* test for meristic traits (femoral pores). The differences in some morphometric traits could be explained by the flight requirements of the population in the urbanized habitat; in addition, the differences in femoral pores may be related with chemical pollution.

Keywords *Aspidoscelis costatus costatus* · Estado de México · Urbanization · Morphological variation · Morphological shifts · Human settlement

Introduction

The human population continues to alter ecosystems around the world (Horiuchi 1992; Vitousek et al. 1997) and wildlands are being urbanized in a process that gradually transforms them into urban lands with some degree of relatively permanent human presence (Marzluff et al. 2001). As a result of urbanization, the land is increasingly fragmented into areas with new climatic conditions, modified vegetation structures and human constructions (Bradley 1995; Koenig et al. 2002; McKinney 2002;

Nowak et al. 2016). Those environmental conditions produce environmental stresses on animal populations that can induce rapid changes in some morphological characteristics (Hoffmann and Hercus 2000). In reptiles some of these changes are: the induction of fluctuating asymmetry (Lazić et al. 2013), reduction in body condition (Lazić et al. 2017), increase in wound occurrences (Koenig et al. 2002; Winchell et al. 2019), and modification of typically invariable diagnostic characteristics. That is, morphological characteristics that are unique and constant in the species, therefore are considered of importance for its taxonomy (Gómez-Benitez et al. 2016). Urbanization can also induce changes in morphometric and meristic traits of lizards; some studies have reported that urban lizards are larger and lighter (in mass) with larger limbs than wild lizards (Iglesias et al. 2012; Winchell et al. 2016).

Hoffmann and Parson (1997) and Hoffmann and Hercus (2000) established that when an animal population reaches a new environment, an increase in the phenotypic variation normally occurs, some studies report an increase in genetic variation

✉ Aldo Gómez-Benitez
gobeal940814@gmail.com

¹ Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario # 100, Colonia Centro, Toluca 50000, Estado de México, Mexico

² Department of Biological Sciences, University of Arkansas, Fayetteville, AR 72701, USA

of reptile species when they inhabit cities (Delaney et al. 2010; Lazić et al. 2015). Nevertheless, there have been cases in which urbanization did not generate any consequences on genetic variation (Rubin et al. 2001) or produce the opposite effect to those previously exposed (Noël et al. 2007).

In the last 5 years, the more widely studied group of lizards in urban habitats were species of the genus *Anolis* (Kolbe et al. 2015; Winchell et al. 2016; Chejanovski et al. 2017; Winchell et al. 2018). In México, among the few studies of lizards in urbanized habitats included diet and reproductive changes in the gecko *Gehyra mutilate* (Barragán-Ramírez et al. 2015) and extirpation of populations of *Aspidoscelis* in Central Mexico (Hernández-Gallegos et al. 2009). We provide the first study of morphological changes in teiid lizards in Mexican urban habitats. *Aspidoscelis costatus costatus* comprises a diverse clade of lizards (Barley et al. 2019) that, according to Duellman and Zweifel (1962), invariably possess enlarged postantibrachial scales. However, Gómez-Benitez et al. (2016) recorded in an urbanized habitat, an individual of *Aspidoscelis costatus costatus* with slightly enlarged postantibrachial scales. This record and diverse field observations indicated the need to assess the additional effects of urbanization on *A. costatus costatus*. This species, commonly named Balsas Basin Whiptail lizard, is endemic to México and distributed at different elevations in the states of México, Guerrero, Morelos, Puebla, Tlaxcala, and Oaxaca (Maslin and Secoy 1986; Rodríguez-Romero et al. 2003; Gómez-Benitez et al. 2016; Méndez-de la Cruz et al. 2018; Barley et al. 2019). It is considered a species of least concern by the IUCN Red List (Frost et al. 2007), but it is under special protection by Mexican laws (SEMARNAT 2010), and ranked as 11 placing it as a species with a medium vulnerability according to EVS (Wilson et al. 2013). The objective of the present study was to evaluate the effect of urbanization on the morphology of *A. costatus costatus*, specifically, changes in morphological variation (dispersion) and morphological shifts (central tendency) compared to wild populations.

Material and methods

Study area

We collected individuals of *A. costatus costatus* in an urbanized population in the municipality of Ixtapan de la Sal, Estado de México (18°50'34.5" N, 99°40'51.8" W) with an elevation of 1800 m. Ixtapan de la Sal is a small city with a population of 33,541 inhabitants (INEGI 2010). The climate is semi-warm subhumid with rainfall primarily in summer, the temperature ranges from 14 °C to 22 °C and a mean annual precipitation between 1000 and 1200 mm throughout the year (INEGI 2009). The urban footprint of this city is constantly growing and altering land previously occupied by agriculture, grasslands and wildlands (natural environment not build or cultivated).

Degree of urbanization was determined using the settlement landscape criteria proposed by Marzluff et al. (2001): percent land covered by buildings, building density and residential human density. Ixtapan de la Sal is within the urban category with 52% of the area with buildings, and a density of 22 buildings per hectare, of which 16 are dwellings according to Gómez-Benitez (2017). *Aspidoscelis costatus costatus* were captured within private property in an urban habitat near an asphalt road. A wide variety of grasses and herbaceous annual and perennial plant species (i.e., *Tridax coronopifolia*, *Thunbergia alata* and *Phaseolus vulgaris*) were along sidewalks and driveways and in small limestone barrens; moreover, an introduced South American tree species (*Jacaranda sp.*) and introduced landscape ornamentals shrubs mainly of the family Cupressaceae were also found. Cats and dogs were potential domesticated predators on lizards at the study site, whereas *Bassariscus astutus* (Ring-Tailed Cat) was a potential natural predator.

Sampling and data collection

We collected *A. costatus costatus* by hand, turning rocks or employing a drift fence and transported them in blanket bags to the Laboratorio de Herpetología of the Facultad de Ciencias of the Universidad Autónoma del Estado de México. We recorded the weight of each individual, assessed snout-vent length (SVL), axilla-groin length (AGL), femur length (FemL), hindlimb length (HLL), forelimb length (FLL), longest finger length (FiL), head width (HW), head height (HH) and head length (HL), and three meristic measures [femoral pores (FP), supraocular scales (SO) and subdigital lamellae (SDL)]. To sex the individuals, we considered post-cloacal scales (Ashton, 2003). Processed animals from urban population were released where they were collected.

We also recorded both, morphometric and meristic features, in individuals of a wild *A. costatus costatus* population in Ixtapan de la Sal, Estado de México (18°50'31" N, 99°39'5" W) with an elevation of 2076 m and Tonatico (18°45'17.1" N, 99°37'20.1" W) with an elevation between 1500 and 1600 m. Specimens of the wild populations had been captured, and used for previous studies (Pérez-Almazán 2007; Granados-González et al. 2015; López-Moreno et al. 2016). Both populations fit in wildlands category according to Marzluff et al. (2001), in Ixtapan de la Sal *A. costatus costatus* population is located on the outskirts of the city within a tropical deciduous rainforest and coniferous forest and in Tonatico wild population is located near to a rural population in a tropical deciduous rainforest.

Data analysis

We conducted a principal component analysis (PCA), based in a correlation matrix, to determine the pattern of

morphological variation, applying a size correction to morphometric traits (SVL was not used in the PCA; Villamil et al. 2017). We compared the principal components in PC1, PC2 and PC3 (due that principal components achieve an eigenvalue major than 1; PC1 = 4.12, PC2 = 1.40, PC3 = 1.18) with a variance-ratio test (to evaluate differences in dispersion measures, thereafter referred as morphological variation) and student's t test (to evaluate differences in central tendency measures, thereafter referred as morphological shifts) between urban and wild populations. PC1 was Box-Cox transformed to meet the assumptions of the parametric test using the following equation:

$$Y = \frac{X^\lambda - 1}{\lambda}$$

Where:

X = The data to be transformed, we added a constant 7.7094 to all PCA scores in order to avoid zero or negative values.

λ = Parameter of the Box-Cox transformations family. The value used was 1.7851 calculated by maximizing the log likelihood function:

$$L(\lambda) = \frac{-n}{2} \ln \sigma_\lambda^2 + (\lambda - 1) \sum_{i=1}^n \ln x_i$$

Where:

σ_λ^2 = variance of the transformed data.

We also assessed morphological variation in a univariate analysis comparing the standard deviation of the morphometric data using a variance-ratio test (Zar 1999). We evaluated variation in meristic traits with the Levene's test because these had a non-normal distribution.

The morphological shifts were determined by comparing the size corrected morphometric measurements with an ANCOVA using the degree of urbanization as a factor and SVL as a covariate between urban and wild populations. A Mann-Whitney *U* test was conducted for the meristic traits. All the hypothesis tests consider an $\alpha = 0.05$ of significance threshold. A multifactorial ANOVA to compare principal components, employing municipality, habitat type and sex as factors, was conducted in order to explain the effect of sex and geographic location in our results. The statistical analysis were conducted with the software Statgraphics Centurion XVI.II except the Box-Cox transformation which was conducted with PAST3.

Results

We compared 50 individuals from the urbanized population with 56 wild individuals collected in Ixtapan de la Sal ($n = 36$) and Tonalico ($n = 20$). The first three principal components for

interpretation summarized 56% of the variation: PC1 = 34.4%, PC2 = 11.7%, PC3 = 9.9%. The comparison of the principal components shows a statistically significant difference between urban and wild lizards in the components 1 and 2 (PC1: $df = 105$; $t = -11.3837$; $P < 0.0001$; PC2: $df = 105$; $t = -3.1875$; $P = 0.0019$; PC3: $df = 105$; $t = 1.1833$; $P = 0.2393$). Loads in PC1 shows high importance of HH, FLL, HW, HLL, FemL and weight. In the second component, HL, FP and AGL have the highest loads (Fig. 1). The variance-ratio test shows no differences in standard deviations between urban and wild lizards in any of the three considered components (PC1: $P = 0.8553$; PC2: $P = 0.3668$; PC3: $P = 0.7494$). Multifactorial ANOVA reveals that, independently of sex and municipality, there are significant differences in PC1 ($df = 105$; $F = 62.33$; $P < 0.0001$) and PC2 ($df = 105$; $F = 13.26$; $P = 0.0004$) but not in PC3 ($df = 105$; $F = 1.14$; $P = 0.2879$).

The univariate analysis of morphological variation showed differences in just four of 12 variables: AGL, HLL, SO and FP (Tables 1 and 2), this agrees with the results of multivariate analysis. The morphometric traits present a higher variation in urban lizards (Table 1) and meristic traits in wild lizards (Table 2). The univariate comparison of morphological shifts showed that the morphology of *A. costatus costatus* differs significantly between habitat types in most of the evaluated characteristics. Urban lizards have longer limbs, smaller longest finger length, smaller heads and a minor axilla-groin length. In addition, there is a difference in the number of femoral pores in which wild population have a higher median than urban lizards (Tables 1 and 2).

Discussion

Variation in urban populations is commonly reduced, at the genetic level, by the isolation occasioned by human construction (Delaney et al. 2010). The urban population of *A. costatus costatus* that we studied is highly isolated and abundant (more than 50 individuals inhabiting 0.27 ha), its morphological variation is equal to wild lizards so, anthropogenic-related isolation does not affect morphological variation in this species. Hoffmann and Hercus (2000) reported that environmental stress caused by adverse environmental conditions, could produce changes in the morphological characteristics of reptiles. Our comparison of morphometric and meristic characteristics shows that the urban population of *A. costatus costatus* is different from wild populations in most of the evaluated characteristics.

Canalization refers to an organisms' capacity to follow a predetermined embryonic development pathway perhaps of habitat and genetic perturbations, then, it reduces phenotypic variation directing the intraspecific development in a similar way (Zakharov 1992; Willmore et al. 2007). If under stress conditions, canalization often becomes less restrictive

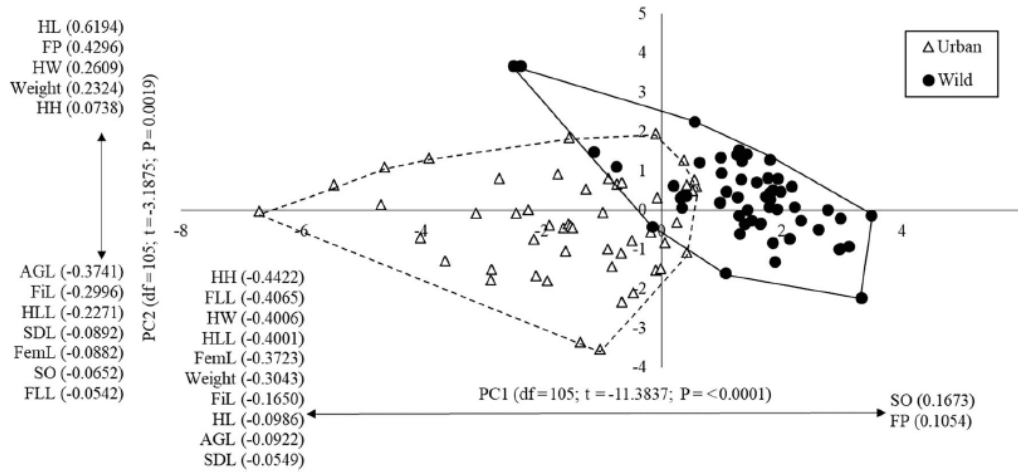


Fig. 1 Principal components analysis of morphometric and meristic traits of *Aspidoscelis costatus costatus* in urban and wildland habitats from Ixtapan de la Sal and Tonalico, Estado de México, México. At both sides of the axis are the PC loads for each variable

(Rutherford 2000), stress due to urbanization has been reported as a canalization’s antagonist in the lizard *Podarcis muralis* (Lazić et al. 2015), considering this, phenotypic variation is expected to increase. Our results indicate that morphological variation in *A. costatus costatus* shows differences in measures of central tendency in the first two principal components but equal variation between population types, and significant difference on variation in only four univariate traits. These results show no effect of urbanization in the canalization of lizards (i. e. both, urban and wild lizards, are following a determined developmental pathway, even when that pathway is different interpopulation, it is equal intrapopulation), and therefore, no influence on variation, which differs from the results commonly observed (Delaney et al. 2010; Lazić et al. 2015).

Urbanization of Ixtapan de la Sal (from 13,703 people in 1970 to 33,541 people in 2010; INEGI 1970, 2010) is a recent process, perhaps too recent for genetic changes. Due of the presence of morphological shifts and the similarity of morphological variation, we conclude that plasticity plays an

important role in the stability of the “urban morphology” of the *A. costatus costatus* population from the city. The consensus results in both, morphological variation and morphological shifts, between univariate and multivariate ways denote the robustness of our results.

Some of the characteristics in which we found a significant difference could be related to escape behavior (higher mean of FemL, HLL and FLL). These results accord with those obtained by Batabyal et al. (2017) who reported that males of *Psammodromus dorsalis*, an agamid lizard species, presents changes in its escape strategies when it inhabited urban systems. The number of subdigital lamellae is another indicator of the influence of flight in the urban population. Although it does not present a significant difference in the number of subdigital lamellae, there is a difference in the length of the longest finger, in which these scales are found, with the wild lizards having a major longest finger length. Therefore, the same number of subdigital lamellae is distributed in a smaller area in the urban lizards allowing them to generate more force

Table 1 ANCOVA to compare the means of the morphometric traits and variance-ratio test to compare the standard deviation of the morphometric traits of *Aspidoscelis costatus costatus* between two habitat types (urban and wildland) from Ixtapan de la Sal and Tonalico, Estado de México, México. Table shows mean (\bar{x}) \pm standard deviation (SD), the statistical test (ANCOVA = F and variance-ratio = F) and the significance level (P), highlighting the significant values in bold

	Urban habitat $\bar{x} \pm SD$	Wildland habitat $\bar{x} \pm SD$	ANCOVA		Variance-ratio test	
			F	P	F	P
Weigth	18.9 \pm 10.2	22.8 \pm 8.8	2.26	0.1359	0.8259	0.4967
AGL	43.1 \pm 8.7	46.5 \pm 5.6	76.61	<0.0001	3.4208	<0.0001
FemL	17.3 \pm 3.9	15.0 \pm 2.2	199.85	<0.0001	0.8605	0.5940
HLL	30.2 \pm 6.4	25.4 \pm 2.9	108.16	<0.0001	4.8173	<0.0001
FLL	17.6 \pm 3.8	15.6 \pm 2.1	5.82	0.0176	1.6725	0.0633
FIL	21.3 \pm 3.4	22.0 \pm 2.5	24.78	<0.0001	1.4557	0.1741
HW	11.7 \pm 2.5	12.0 \pm 1.8	91.90	<0.0001	0.6917	0.1899
HH	10.7 \pm 2.1	10.5 \pm 1.3	1.71	0.1944	1.3554	0.2705
HL	17.1 \pm 3.3	19.2 \pm 2.5	11.62	0.0009	1.7034	0.0545

Table 2 Mann-Whitney's *U* test to compare the medians and Levene's test to compare the variance of the meristic traits of *Aspidoscelis costatus costatus* between two habitat types (urban and wildland) from Ixtapan de la Sal and Tonatico, Estado de México, México. Table shows the median

	Urban habitat Me [σ^2]	Wildland habitat Me [σ^2]	Mann-Whitney test		Levene's test
			U	P	P
SO	8 [0.2]	8 [0.5]	1515	0.2777	0.0439
FP	34.5 [2.8]	35.5 [6.5]	1854	0.0036	0.0089
SDL	33 [3.6]	32 [3.7]	1205	0.2118	0.5760

(Me), the statistical test (Mann-Whitney = *U*), variance (σ^2) and significance level (P) of the Levene's test, highlighting the significant values in bold

on the ground during the escape and to hold on better to smooth surfaces, a conclusion also reached by Winchell et al. (2016). This could be tested with a rail experiment using soft and rough substrate to compare speed between urban and wild lizards and assess the correlation of the speed in different substrates with morphological characteristics related to fleeing. Urbanization can modify some biotic interactions that are often related to these changes in morphology and escape behavior. Tyler et al. (2016) demonstrated that urban lizards have the greatest amount of autotomized tails in the studied populations (reflecting a higher predator encounter rate and/or a higher survival rate). Additionally, Chejanovski and Kolbe (2019) found a relationship with body size in *Anolis sagrei* and predator abundance in urban habitats. Even if the predator abundance or the encounter rate do not increase, animals can perceive humans as potential predators (Frid and Dill, 2002) inducing species to flee.

The number of femoral pores is used as a measure to determine how much the species invest and engage in chemical signaling; fewer receptors would indicate a lower energy investment in signaling which may be affected by adverse environmental conditions (Baeckens et al. 2014). When transmission is hampered, animal species will no longer use the chemical method and will seek other alternatives (Endler 1993; Hews and Benard 2001; Stevens 2013). The urban population studied may have reduced the number of femoral pores to avoid an energetic expense that does not have any benefit, since the signaling is interrupted by urbanization conditions such as chemical contamination (Candolin and Wong 2012), but further studies to assess the relationship between some air contaminants and femoral pores number are needed.

According to Gómez-Benitez et al. (accepted), the ontogenetic change in both dorsal and ventral color pattern occurs in the urban studied population just as in wild populations (based on Zweifel 1959), denoting no relationship between ontogenetic change in dorsal color pattern and the habitat conditions. However, our study of morphological variation and morphological shifts in urbanized animal populations can provide information about environmental stress occasioned by anthropogenic activities across time. Those measures let us know if the

species inhabiting urban habitats will need management strategies for its conservation or the morphologic changes registered allow them to survive, in this case, *A. costatus costatus* could survive by its own in urban ecosystems. We suggest the use of the procedures used in this study to assess lizard species health in urban habitats. The presence of teiid lizards in urban habitats may be used as indicator of environmental health (De Andrade et al. 2019), in addition, we can track the principal characteristics of urbanization that affects animals analyzing the modified traits and establish conservation strategies for both, perturbed habitat and lizards. Finally, our study can be replicated and extended to other herpetofauna taxa which inhabits the zone (i. e., *Sceloporus*, *Urosaurus* and *Eleutherodactylus*).

Acknowledgments We thank the Delgado family for permission to capture and release individuals of *Aspidoscelis costatus costatus* on their property in Ixtapan de la Sal. Thanks also go to students from the Universidad Autónoma del Estado de México, including Daniel Sánchez-Manjarrez, Edgar Vásquez-Alcántara, Orlando Suárez-Rodríguez and Ailed Pérez-Pérez, for their help during samplings in the field. We would like to thank to project UAEM 2620/2008 U.

Authors contribution All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by Aldo Gómez-Benitez, Ana Esthela López-Moreno and Oswaldo Hernández-Gallegos. The first draft of the manuscript was written by Aldo Gómez-Benitez, and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Compliance with ethical standards

Scientific Collector Permit FAUT 0186, SEMARNAT.

The whole study was conducted following ethical norms for animal experiments and procedures for research at the Universidad Autónoma del Estado de México.

Welfare of animals All the organisms collected were returned to the exact place where they were found without any kind of injuries.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Availability of data and material The data that support the findings of this study are available from the corresponding author, Gómez-Benitez, A.

References

- Ashton K (2003) Sexing *Cnemidophorus* lizards using a postanal scale character. *Herp Rev* 34:109–111
- Baeckens S, Edwards S, Huyghe K, Van Damme R (2014) Chemical signaling in lizards: an interspecific comparison of femoral pore numbers in Lacertidae. *Biol J Linn Soc* 114:44–57. <https://doi.org/10.1111/bj.12414>
- Barley AJ, Nieto-Montes de Oca A, Reeder TW, Manríquez-Morán NL, Arenas Monroy JC, Hernández-Gallegos O, Thomson RC (2019) Complex patterns of hybridization and introgression across evolutionary timescales in Mexican whiptail lizards (*Aspidoscelis*). *Mol Phylogenet Evol* 132:284–295. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.016>
- Barragán-Ramírez JL, Reyes-Luis OE, Ascencio-Arraya JJ, Navarrete-Heredia JL, Vásquez-Bolaños M (2015) Diet and reproductive aspects of the exotic gecko *Gehyra mutilata* (Wiegmann, 1834) (Sauria: Gekkonidae) in the urban area of Chapala, Jalisco, México. *Acta Zool Mex* 31:67–73. <https://doi.org/10.21829/azm.2015.311506>
- Batabyal A, Balakrishna S, Thaker M (2017) A multivariate approach to understanding shifts in escape strategies of urban lizards. *Behav Ecol Sociobiol* 71:1–8. <https://doi.org/10.1007/s00265-017-2307-3>
- Bradley G (1995) Urban forest landscapes: integrating multidisciplinary perspectives in urban forest landscapes. Washington, USA
- Candolin U, Wong BBM (2012) Behavioral responses to a changing world. England, United Kingdom
- Chejanovski AZ, Kolbe JJ (2019) Close encounters of the urban kind: predators influence prey body size variation in an urban landscape. *Evol Ecol* 33:791–809. <https://doi.org/10.1007/s10682-019-10008-1>
- Chejanovski ZA, Avilés-Rodríguez KJ, Lapiedra O, Preisser EL, Kolbe JJ (2017) An experimental evaluation of foraging decisions in urban and natural forest populations of *Anolis* lizards. *Urban Ecosyst* 20: 1011–1018. <https://doi.org/10.1007/s11252-017-0654-5>
- Delaney KS, Riley SPD, Fisher RN (2010) A rapid, strong, and convergent genetic response to urban habitat fragmentation in four divergent and widespread vertebrates. *PLoS One* 5:1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012767>
- De Andrade AC, Dellefrate-Franzini L, Mesquita DO (2019) Assessing the effect of urbanization on tropical forest dwelling teiid lizards. *Ecol Indic* 99:225–229. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.12.037>
- Duellman WE, Zweifel RG (1962) A synopsis of the lizards of the *Sexlineatus* group (genus *Cnemidophorus*). *Bull Am Mus Nat Hist* 123:155–210
- Endler JA (1993) Some general comments on the evolution and design of animal communication systems. *Philos Trans Royal Soc B* 340: 215–225. <https://doi.org/10.1098/rstb.1993.0060>
- Frid A, Dill LM (2002) Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. *Conserv Biol* 6:11. <https://doi.org/10.5751/ES-00404-060111>
- Frost DR, Hammerson GA, Gadsden H (2007) *Aspidoscelis costatus*. The IUCN red list of threatened species 2007: e.T64259A12759232. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2007.RLTS.T64259A12759232.en>
- Gómez-Benitez A (2017) Efectos de la urbanización en *Aspidoscelis costata costata* (Squamata: Teiidae). Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca. Bachelor Thesis
- Gómez-Benitez A, López-Moreno AE, Walker JM, Vásquez-Alcántara E, Sánchez-Manjarrez D, Suárez-Rodríguez O, Hernández-Gallegos O (2016) *Aspidoscelis costata* scale variation. *Mesoam Herpetol* 3: 1089–1091
- Gómez-Benitez A, Hernández-Gallegos O, Lovell BR, Kadia P, Walker JM (Accepted) Color pattern and body size variation in live *Aspidoscelis costatus costatus* (Squamata: Teiidae) from a protected enclave in Southern Mexico. *Herpetol Conserv Bio* 15
- Granados-González G, Rheubert JL, Villagrán-SantaCruz M, González-Herrera ME, Dávila-Cedillo JV, Gribbins KM, Hernández-Gallegos O (2015) Male reproductive cycle in *Aspidoscelis costata costata* (Squamata: Teiidae) from Tonatico, Estado de México, México. *Acta Zool* 96:108–116. <https://doi.org/10.1111/azo.12057>
- Hernández-Gallegos O, Rodríguez-Romero FJ, Sánchez-Nava P, Méndez FR (2009) Rediscovered population of Mexican plateau spotted whiptail lizard, *Aspidoscelis septemvittata* (Teiidae), from México, D. F. *West N Am Nat* 69:49–55. <https://doi.org/10.3398/064.069.0115>
- Hews DK, Benard MF (2001) Negative association between conspicuous visual display and chemosensory behavior in two phrynosomatid lizards. *Ethology* 107:839–850. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0310.2001.00712.x>
- Hoffmann AA, Hercus MJ (2000) Environmental stress as an evolutionary force. *BioScience* 50:217–226. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2000\)050\[0217:ESAAEF\]2.3.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2000)050[0217:ESAAEF]2.3.CO;2)
- Hoffmann AA, Parsons PA (1997) Extreme environmental change and evolution. England, United Kingdom
- Horiuchi S (1992) Stagnation in the decline of the world population growth rate during the 1980s. *Science* 257:761–765. <https://doi.org/10.1126/science.1496396>
- Iglesias S, Tracy C, Bedford G, Christian K (2012) Habitat differences in body size and shape of the Australian agamid lizard, *Lophognathus temporalis*. *J Herpetol* 46:297–303. <https://doi.org/10.2307/23326898>
- INEGI (1970) Principales resultados del censo de población y vivienda 1970. Instituto Nacional de Estadística y Geografía [Online] Available at <http://www.betainegi.org.mx/proyectos/ccpv/1970/default.html>. Accessed 21 March 2017
- INEGI (2009) Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Ixtapan de la Sal, México Instituto Nacional de Estadística y Geografía [Online] Available at <https://fabianvargaslofiles.wordpress.com/2015/01/prontuariopdf> Accessed 21 March 2017
- INEGI (2010) Principales resultados del censo de población y vivienda 2010. Instituto Nacional de Estadística y Geografía [Online] Available at <http://www.betainegi.org.mx/proyectos/ccpv/2010/default.html>. Accessed 21 March 2017
- Koenig J, Shine R, Shea G (2002) The dangers of life in the city: patterns of activity, injury, and mortality of suburban lizards (*Tiliqua scincoides*) *J Herpetol* 136:62–68. [https://doi.org/10.1670/0022-1511\(2002\)036\[0062:TDOLIT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1670/0022-1511(2002)036[0062:TDOLIT]2.0.CO;2)
- Kolbe JJ, Battles AC, Avilés-Rodríguez KJ (2015) City slickers: poor performance does not deter *Anolis* lizards from using artificial substrates in human-modified habitats. *Funct Ecol* 30:1418–1429. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12607>
- Lazić MM, Carretero MA, Crnobrnja-Isailović J, Kaliontzopoulou A (2015) Effects of environmental disturbance on phenotypic variation: an integrated assessment of canalization, developmental stability, modularity, and allometry in lizard head shape. *Am Nat* 185:44–58. <https://doi.org/10.1086/679011>
- Lazić MM, Carretero MA, Živković U, Crnobrnja-Isailović J (2017) City life has fitness costs: reduced body condition and increased parasite load in urban common wall lizards, *Podarcis muralis*. *Salamandra* 53:10–17
- Lazić MM, Kaliontzopoulou A, Carretero MA, Crnobrnja-Isailović J (2013) Lizards from urban areas are more asymmetric: using fluctuating asymmetry to evaluate environmental disturbance. *PLoS One* 8:1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084190>
- López-Moreno AE, Rheubert JL, Pérez-Almazán C, Granados-González G, Hernández-Hernández LE, Gribbins KM, Hernández-Gallegos O

- (2016) Female reproductive cycle and clutch size of *Aspidoscelis costata costata* (Squamata: Teiidae) from Tonatico, Estado de México. *Rev Mex Biodivers* 87:1336–1341 <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2016.4.1655>
- Marzluff JM, Bowman R, Donnelly R (2001) Avian ecology and conservation in an urbanized world Washington, USA.
- Maslin TP, Secoy DM (1986) A checklist of the lizard genus *Cnemidophorus* (Teiidae). In: Contributions in Zoology, University of Colorado Museum, 60 pp
- McKinney ML (2002) Urbanization, biodiversity, and conservation. *BioScience* 52:883–890. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2002\)052\[0883:UBAC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0883:UBAC]2.0.CO;2)
- Méndez-de la Cruz FR, Díaz de la Vega-Pérez A, Centenero-Alcalá E, Jiménez-Arcos V (2018) Anfibios y reptiles del Parque Nacional la Malinche. Tlaxcala, México 137 pp.
- Noël S, Ouellet M, Galois P, Lapointe FJ (2007) Impact of urban fragmentation on the genetic structure of the eastern red-backed salamander. *Conserv Genet* 8:599–606. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9202-1>
- Nowak DJ, Hoehn RE, Bodine AR, Greenfield EJ, O'Neil-Dunne J (2016) Urban forest structure, ecosystem services and change in Syracuse, NY. *Urban Ecosyst* 19:1455–1477. <https://doi.org/10.1007/s11252-013-0326-z>
- Pérez-Almazán C (2007) Algunas características de historia de vida y su relación con la altitud en *Aspidoscelis costata* (Squamata: Teiidae). Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca. Bachelor Thesis
- Rodríguez-Romero F, Hernández-Gallegos O, López-González L (2003) *Aspidoscelis costata costata*, Geographic Distribution. *Herpetol Rev* 34:383
- Rubin CS, Warner RE, Bouzat JL, Paige KN (2001) Population genetic structure of Blanding's turtles (*Emydoidea blandingii*) in an urban landscape. *Biol Conserv* 99:323–330. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(00\)00198-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(00)00198-1)
- Rutherford SL (2000) From genotype to phenotype: buffering mechanisms and the storage of genetic information. *BioEssays* 22:1095–1105. [https://doi.org/10.1002/1521-1878\(200012\)22:12<1095::AID-BIES7>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1521-1878(200012)22:12<1095::AID-BIES7>3.0.CO;2-A)
- SEMARNAT (2010) Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-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, Segunda Sección, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, D.F., México
- Stevens M (2013) Sensory ecology, behaviour, and evolution. England, United Kingdom
- Tyler RK, Winchell KM, Revell LJ (2016) Tails of the city: caudal autotomy in the tropical lizard, *Anolis cristatellus*, in urban and natural areas of Puerto Rico. *J Herpetol* 50:435–441. <https://doi.org/10.1670/15-039>
- Villamil J, Camargo A, Maneyro R (2017) Morphological variation and sexual dimorphism in *Liolaemus wiegmanni* (Duméril & Bibron, 1837) (Squamata: Liolaemidae) from Uruguay. *Acta Herpetol* 12:3–17 https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-18188
- Vitousek PM, Mooney HA, Lubchenco J, Melillo JM (1997) Human domination of Earth's ecosystems. *Science* 277:494–499. <https://doi.org/10.1126/science.277.5325.494>
- Willmore KE, Young NM, Richtsmeier JT (2007) Phenotypic variability: its components, measurement and underlying developmental processes. *Evol Biol* 34:99–120. <https://doi.org/10.1007/s11692-007-9008-1>
- Wilson LD, Mata-Silva V, Johnson JD (2013) A conservation reassessment of the reptiles of Mexico based on the EVS measure. *Amphib Reptile Conserv* 7:1–47
- Winchell KM, Briggs D, Revell LJ (2019) The perils of city life: patterns of injury and fluctuating asymmetry in urban lizards. *Biol J Linn Soc* 126:276–288. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/bly205>
- Winchell KM, Maayan I, Fredette JR, Revell LJ (2018) Linking locomotor performance to morphological shifts in urban lizards. *Proc R Soc B* 285:1–10 <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0229>
- Winchell KM, Reynolds RG, Prado-Irwin SR, Puente-Rolón AR, Revell LJ (2016) Phenotypic shifts in urban areas in the tropical lizard *Anolis cristatellus*. *Evolution* 70:1009–1022. <https://doi.org/10.1111/evo.12925>
- Zakharov VM (1992) Population phenogenetics: analysis of developmental stability in natural populations. *Acta Zool Fenn* 191:7–30
- Zar JH (1999) Biostatistical analysis. New Jersey, USA
- Zweifel RG (1959) Variation in and distribution of lizards of western México related to *Cnemidophorus sackii*. *Bull Am Mus Nat Hist* 117:57–116

**COLOR PATTERN AND BODY SIZE VARIATION IN LIVE
ASPIDOSCELIS COSTATUS COSTATUS (SQUAMATA: TEIIDAE)
FROM A PROTECTED ENCLAVE IN SOUTHERN MEXICO**

**ALDO GÓMEZ-BENITEZ^{1,3}, OSWALDO HERNÁNDEZ-GALLEGOS¹, BRITANY R. LOVELL²,
PELAGIE KADIA², AND JAMES M. WALKER²**

¹Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México,
Instituto Literario # 100, Colonia Centro, Toluca, Estado de México 50000, México

²Department of Biological Sciences, University of Arkansas, Fayetteville, Arkansas 72701, USA

³Corresponding author; e-mail: gobeal940814@gmail.com

Abstract.—Whiptail lizards in the *sexlineatus* species group (genus *Aspidoscelis*) in North America represent some of the most challenging patterns of variation in the North American herpetofauna. The range of color patterns in these populations is based on individual, ontogenetic, sexual, seasonal, and/or geographic variation. We studied representatives of a population of Balsas Basin Whiptail (*A. costatus costatus*) from a protected private enclave of approximately 0.27 ha in the municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. We captured 50 lizards in 2016 and 24 in 2018, most of which we photographed *ex situ* and a few *in situ*. These photographs revealed that a variety of age/size related dorsal and ventral patterns were consistently present. Males progressed through five stages of dorsal pattern changes from pale stripes, dark intervening fields, no spots to spots, and diverse pale configurations set in a black ground color. Females in this population showed similar changes but did not lose striping as they grew. Ontogenetic changes in ventral color patterns were also apparent, with males becoming more colorful than females. The adaptive significance of extensive color pattern variation in this urban population of *A. c. costatus* warrants further study.

Key Words.—adaptive significance; Balsas Basin Whiptail; body size; dorsal coloration; Mexican lizards; ontogeny; spots; stripes; ventral coloration

INTRODUCTION

Individual, ontogenetic, sexual, and geographic variation in color patterns in the Teiid lizard genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae), endemic to the Americas, had been a characterization challenge for over a century prior to the seminal publications of Zweifel (1959), Duellman and Wellman (1960), and Duellman and Zweifel (1962). These authors provided a framework for understanding and describing variation in complex color patterns in whiptail lizards wherein the marked diversity had resulted in much confusion, and little previous success, in resolving species boundaries (e.g., Burt 1931; Smith 1949; Burger 1950). More recently, much of that troublesome variation was relegated to the genus *Aspidoscelis*. Based on a combination of morphological, karyotypic, electrophoretic, and genetic data, *Aspidoscelis* was resurrected from the synonymy of the genus *Cnemidophorus* to partly resolve paraphyly therein (Reeder et al. 2002). Thus, *Aspidoscelis*, as redefined, accommodated all taxa of whiptail lizards in North and Central America, except those temporarily retained in the *Cnemidophorus lemmiscatus* species group, pending the revisions offered by Harvey et al. (2012), McCranie and Hedges (2013), and Tucker et al. (2016).

Pertaining to resurrection of *Aspidoscelis* from the synonymy of *Cnemidophorus* (Reeder et al. 2002), the resulting nomenclature has been subject to confusion. We base the specific epithets of certain species of *Aspidoscelis* referenced in this report on Steyskal (1971), a publication long overlooked by researchers of whiptail lizards until Tucker et al. (2016) reiterated the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN) basis for treating *Aspidoscelis* as being of masculine rather than feminine sex. Consequently, in Appendix D of Tucker et al. (2016), it was indicated that names with the suffix -a (e.g., *alpina*, *costata*, *griseocephala*, *septemvittata*, *stictogramma*), as recommended for *Aspidoscelis* by Reeder et al. (2002), should be returned to the suffix -us (e.g., *alpinus*, *griseocephalus*, *costatus*, *septemvittatus*, *stictogrammus*).

Systematic treatment of diversity in the *Aspidoscelis* *deppii* (Duellman and Wellman 1960; Grismer 1999; Taylor and Walker 2014a,b), *A. cozumelus* (Fritts 1969; Taylor and Cooley 1995; Taylor et al. 2014), *A. sexlineatus* (Zweifel 1959; Duellman and Zweifel 1962; Walker 1981a,b; Walker et al. 2018), *A. tessellatus* (Walker et al. 1995, 1997; Cordes and Walker 2006), and *A. tigris* species groups (Walker and Maslin 1981; Hendricks and Dixon 1986) formerly in the

genus *Cnemidophorus* (Burt 1931), and reallocated to *Aspidoscelis* (Reeder et al. 2002), has been an ongoing problem that has only grown over time (Barley et al. 2019). In fact, none of the species groups in *Aspidoscelis* has escaped systematic chaos resulting primarily from confusing color pattern variation. The complexity of color pattern variation and its taxonomic implications in the speciose *A. sexlineatus* group, however, is especially noteworthy among reptilian complexes in the North American herpetofauna, and that in particular includes the uncertain taxonomic treatment of *A. c. costatus* and other included subspecies (Burt 1931; Smith 1949; Zweifel 1959; Duellman and Zweifel 1962; Reeder et al. 2002).

Aspidoscelis costatus, commonly called Western México Whiptail, was recognized as a problematic complex within the *A. sexlineatus* species group by Reeder et al. (2002), a conundrum that has remained unresolved (Barley et al. 2019). The choice of names used by Zweifel (1959) in the comprehensive study of morphological variation in the polytypic *costatus* complex exemplified problems stemming from misinterpretation of color pattern variation in whiptail lizards. For example, Zweifel (1959) acceded to the identification by Smith (1949) of the presently accepted holotype of *C. c. costatus* as that of *C. s. sackii* (= *C. s. sacki*), which was actually shown to have resulted from confusion regarding its dorsal color pattern. Duellman and Zweifel (1962), however, identified the type specimen in question as that of *C. c. costatus* and reallocated numerous populations previously treated as *C. sacki* (*sensu* Zweifel 1959) from Guerrero, Morelos, México, and Puebla in southern México, as well as from other Mexican states, to that taxon. Duellman and Zweifel (1962) then transferred all taxa to *C. costatus*, which had been treated as subspecies of *C. sacki* by Zweifel (1959) and Duellman (1960). Reeder et al. (2002) could not conclusively resolve the species status of *A. c. costatus* based on morphological and genetic data with respect to what they treated as polytypic *A. burtti* (see Walker and Cordes 2011), polytypic *A. gularis* (see Walker 1981a,b; Walker et al. 2001), and we add monotypic *A. alpinus* (see Walker 1980). Each of these comprised a widely distributed complex of populations with complicated ontogenies of color pattern. As such, the species is presently considered to consist of multiple subspecies including *A. c. costatus*, *A. costatus barrancarum* (= *barrancorum*), *A. costatus griseocephalus*, *A. costatus huico*, *A. costatus mazatlanensis*, *A. costatus nigrigularis*, *A. costatus occidentalis*, and *A. costatus zweifeli* (Zweifel 1959; Duellman and Zweifel 1962; Walker 1980), but see Wright (1993) and Barley et al. (2019). All eight provisionally recognized subspecies of *A. costatus* are endemic to México (i.e., in parts of the

states of Chihuahua, Jalisco, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Michoacán, Morelos, Guerrero, Puebla, Tlaxcala, Oaxaca, and México) spanning both temperate and tropical habitats (Zweifel 1959; Duellman 1960; Maslin and Secoy 1986; Reeder et al. 2002; Barley et al. 2019). According to Wilson et al. (2013), *A. costatus* scores a medium (11) environmental vulnerability score principally due to its restricted distribution.

We studied numerous aspects of the dorsal and ventral color patterns and attendant variation in body size of gonochoristic *A. c. costatus* (Balsas Basin Whiptail), primarily based on live lizards from a restricted urban area in Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. The results have resolved a major gap in our knowledge about color variation of this taxon (*sensu* Reeder et al. 2002) by extending knowledge beyond the preliminary notes on color patterns and snout-vent lengths (SVL) of preserved specimens of the taxon presented by Zweifel (1959), who used the name *C. s. sacki* (*sensu* Smith 1949). The objectives of this research were to provide the most extensive analyses possible to understand the complexities of size, dorsal color patterns, and ventral color patterns based on ontogenetic and sexual variation in the vulnerable local population of *A. c. costatus* (*sensu* Duellman and Zweifel 1962) on a private estate in the municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. This should enable subsequent workers to consider the adaptive significance of extensive color pattern variation in this protected urban population of *A. c. costatus*.

MATERIALS AND METHODS

Study site.—We examined live lizards captured from an isolated area (2,700 m²) at an urban site (= private estate) in Estado de México, México (Figs. 1 and 2), within the city and municipality of Ixtapan de la Sal (18°50'34.5"N, 99°40'51.8"W; WGS84; elevation 1,800 m). The study site was entirely surrounded by unsuitable habitat for whiptail lizards. The two first authors live-captured and subsequently released all lizards used in the study. We made captures either by using drift fences during whiptail lizard activity periods spanning about 1000–1700 Central Daylight Savings Time (CDST) on 27 May 2016 (end of dry season—start of rainy season, n = 50) and 1000–1200 CDST on 29 June 2018 (rainy season, n = 24) or by turning rocks. The release of lizards was a major concession to conservation of this vulnerable population at a restricted site in a densely populated urban area (Figs. 1 and 2). The study site for *A. c. costatus* at Ixtapan de la Sal comprised parts of the estate grounds of a human habitation, the owners of which have maintained as much naturalistic surroundings for privacy and conservation purposes as feasible within a densely

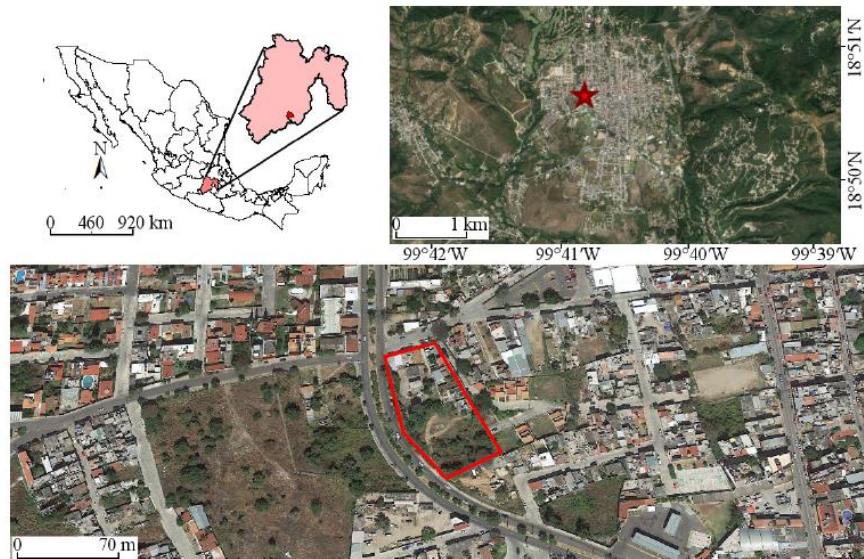


FIGURE 1. Estado de México (top left panel), the urban matrix of Ixtapan de la Sal (top right panel), and the surroundings of the outlined study area (bottom panel) where Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) was sampled in the insular-like urban site. (Images taken from: Google Earth).

populated urban matrix (Figs. 1 and 2). The first author first observed *A. c. costatus* at the site in 2012 on and near a sidewalk bordering the property (Figs. 1 and 2), and he initially sampled the population 20 March 2015. This site has a well-marked seasonality with patches of either completely exposed or relatively exposed mixtures of sandy and limestone rubble substrate amongst grasses and forbs (Fig. 2). Examples of vegetation at the site (which did not provide optimal habitat for lizards, *per se*) included an introduced South American tree species of the genus *Jacaranda* and introduced landscape ornamental shrubs mainly of the family Cupressaceae. A wide variety of grasses and herbaceous annual and perennial plant species were also present at the site bordering sidewalks, driveways, and small limestone barrens in intermittently sunlit areas provided optimal lizard habitat (Fig. 2). During the rainy season, the general habitat was denser and greener than in the dry season, when the vegetation was browner and less dense (Fig. 2), as documented previously in studies with other populations involving seasonal changes in the dorsal coloration related with the microhabitats in *A. c. costatus* (Hernández-Gallegos and Domínguez-Vega 2012). This urban enclave of *A. c. costatus* habitat was surrounded by human habitations and associated surroundings on three sides and by a street and sidewalk on the fourth side (Fig. 1), along which were rocks used as retreats by *A. c. costatus*. The numbers of lizards we captured and released at the site 27 May 2016 ($n = 50$) and 29 June 2018 ($n = 24$) were

indicative that *A. c. costatus* has maintained unusually high densities at this insular site since its discovery. We observed no other species of *Aspidoscelis* at the Ixtapan de la Sal study site; however, the area is the habitat of other herpetofauna taxa including frogs (*Eleutherodactylus*) and other lizards (*Sceloporus* and *Urosaurus*).

Analyses of body characteristics in *Aspidoscelis c. costatus*.—We determined the sex of whiptail lizards captured in 2016 by external characteristics (e.g., Ashton 2003), and we measured their SVL to the nearest 1 mm using a ruler. We released the 2018 captures after measuring SVL and tail lengths (i.e., original plus regenerated portion if applicable) to the nearest 1 mm, weighing to 0.5 g (using a 60 g spring scale), and photographing lizards. We photographed lizards using a standard distance (30 cm) and camera flash to ensure uniformity, *ex situ* prior to release, but we photographed several large adults *in situ*. Based on previous studies, we determined that adult females were ≥ 68 mm SVL, juvenile females were 46–67 mm SVL, hatchling females were ≤ 45 mm SVL, adult males were ≥ 67 mm SVL, juvenile males were 46–66 mm SVL, and hatchling males were ≤ 45 mm SVL (Rubio-Blanco 2007; Granados-González et al. 2013).

Analyses of dorsal and ventral color patterns.—Most stages of dorsal and ventral color pattern development were represented among the individuals (including

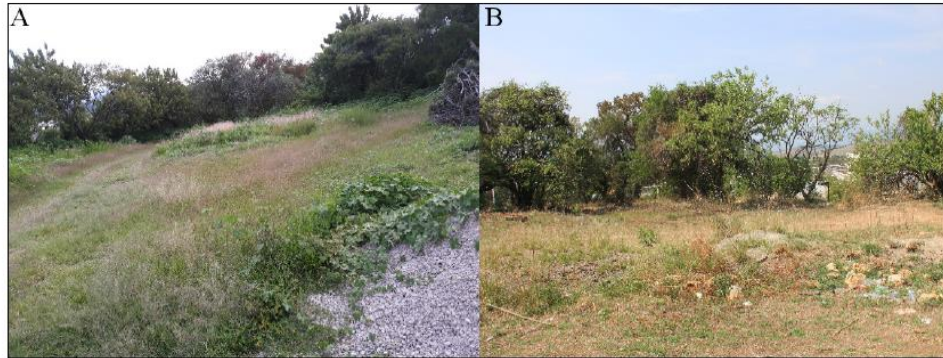


FIGURE 2. (A) The mixed habitat components of trees, shrubs, forbs, grasses, and exposed substrate during the rainy season on a property with a human habitation that supported Balsas Basin Whiptail, *Aspidoscelis c. costatus*. (Photographed by Aldo Gómez-Benitez). (B) The same property showing the dry season in the insular-like urban site in municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. (Photographed by Oswaldo Hernández-Gallegos).

both years 2016 and 2018) of *A. c. costatus* examined from Ixtapan de la Sal, Estado de México, México (Appendices 1–3). We used images of the dorsal and ventral patterns of the 2018 captives and data on color patterns (stripes, spots in dark fields and coloration) obtained by the first author. We synthesized the general framework for analyses of color pattern variation in *A. c. costatus* from studies by Burt (1931), Zweifel (1959), Duellman and Wellman (1960), and Duellman and Zweifel (1962), and modeled the study based on more recent studies of species such as *A. alpinus* in México (Walker 1980), *A. gularis* in México and the U.S. (Walker 1981a, b), *A. stictogrammus* in México and the U.S. (Walker and Cordes 2011), and *A. uniparens* in México (Walker et al. 2018).

We used standard terminology for dorsal color pattern components (i.e., longitudinal pale-colored stripes, dark-colored longitudinal fields, variously shaped pale-colored markings, and scales; Appendix 1) synthesized from studies by Burt (1931), Zweifel (1959), Duellman and Zweifel (1962), and Walker (1981a, b). These publications also analyzed ventral color patterns with reference to throat, chest, abdomen, limb, and tail colorations. Herein, we introduce the appellation Virtual Components based on the observation that distinct pale-hued stripes apparent in juvenile and young adult males of *A. c. costatus* were not readily apparent to the unaided eye in fully metamorphosed males but were often discernible as effects of photographic enlargement.

We quantified two aspects of scutellation: SPV, the scales transversely separating the paravertebral stripes, and CVC, count of contacts of vertebral configuration with paravertebral stripes in *A. c. costatus* in 2018 males ($n = 12$) and females ($n = 12$). We also measured SVL and body weight from UCM 8580, 8582–8583, 8626–8632, 8634–8638, 8641–8644, 8646, 8649–8660 collected by

others from several sites in Estado de Morelos listed by locality by Walker (1980). The Morelos sample also included one small lizard (UCM 8660) for which we could not determine its sex; however, we assumed its SVL of 31 mm was representative of the approximate hatchling size for the taxon. We could not describe CVC for the Morelos sample.

Statistical analyses.—We conducted a Principal Components Analysis on a correlation matrix using SVL, weight, SPV, and CVC to determine if dorsal-color pattern classes could be visually separated. Employing the same variables above, a MANOVA was conducted to assess differences between pattern classes. We used Statgraphics Centurion software version 18.1.01, for analysis. Our results were significant if $P \leq 0.05$.

RESULTS

Dorsal color pattern in *Aspidoscelis c. costatus*.—Size-related characteristics had the highest loadings on principal component 1, for which the convex hulls for the Ixtapan 2018 lizards separated. The PCA shows three pattern classes (Fig. 3), and these classes differed significantly (Wilks' $\lambda = 0.1304$, $F = 7.960$, $P < 0.001$). Five live female *A. c. costatus* (Fig. 4) and four live males (Fig. 5) captured in June 2018 were characterized by a dorsal pattern of pale-hued longitudinal stripes and a complex highly variable pale-hued linear middorsal configuration, all sharply bordered by mostly black fields, presence of green-hued developing spots particularly posteriorly in the dorsolateral fields, and an indistinctly striped brown-hued tail (i.e., equivalent to pattern class II of Zweifel 1959). Details of the patterns in these individuals comprised three primary stripes on each side of the body including: a white lateral,

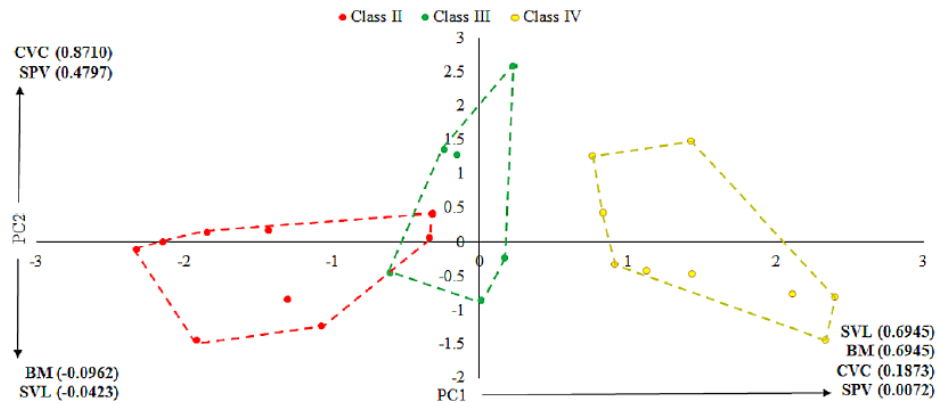


FIGURE 3. Principal Components Analysis for dorsal color pattern in Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) from Ixtapan de la Sal, Estado de México, México, based on the loading of SVL and weight (characteristics related to size) in principal component 1 (PC1), and the dispersion of data (note that convex hulls are separated) that analysis lends support to three pattern classes as Burt (1931), Zweifel (1959), Duellman and Zweifel (1962), and Walker (1981a, b) synthesized. The first two principal components accounted for 75.27% of the variability of the data.

irregular in outline on the head and relatively straight-margined on the body, from a pale circle surrounding the ear opening to the hind limb where it angled onto the anterior surface of the thigh; a pale yellow to yellow-green dorsolateral, irregular on the head and relatively straight-margined on the body, from beneath the orbit onto the base of the tail. They also show an evenly (e.g., Fig. 4E) to unevenly margined (e.g., Fig. 4G) yellow paravertebral (Appendix 2) from the supraciliary scales superior to the orbits to the base of the tail. From the occipital region of the head to the base of the tail were green to green-yellow components of a vertebral configuration consisting of either one or perhaps two poorly defined and highly irregularly margined lines with lateral extensions in contact with both right and left paravertebral stripes (Figs. 4 and 5; Appendix 2).

Also apparent in the dorsal pattern on each side of the body in each individual was a dusky black lower lateral field ventral to the lateral stripe, a black upper lateral field dorsal to the lateral stripe, and a black dorsolateral field dorsal to the dorsolateral stripe, devoid of distinct spots. Barely visible, however, are indications of developing (= incipient) spots that were present within the last few millimeters of the upper lateral and dorsolateral fields. These were the first discernable indications of ontogenetic changes in the subspecies (i.e., pattern class II of Zweifel 1959; herein Figs. 4A, C, E, G, I and 5A, C, E, G). The forelimbs were black with green-tan spotting and mottling, the hind limbs were similarly patterned dorsally though with a yellow-tan line on the posterior surface of each thigh. The dorsal aspect of the tail was dark brown with barely discernible striping (Figs. 4A, C, E, G, I and 5A, C, E, G).

Four live female *A. c. costatus* (Figs. 4K and 6) and two live males (Fig. 5I, K) captured in June 2018 possessed a different pattern of stripes, spots, and bars (i.e., pattern class III of Zweifel 1959), and had undergone a moderate amount of ontogenetic modifications. The six primary stripes (i.e., consistently present and relatively invariable paired laterals, dorsolaterals, and paravertebrals) and the secondary vertebral configuration (i.e., highly variable) were intact and distinct in these individuals. The black to dusky lower lateral fields (ventral to the lateral stripes), black upper lateral fields (dorsal to the lateral stripes), and black dorsolateral fields (dorsal to the dorsolateral stripes), however, had developed a linear series of essentially equally spaced green-tan cross-bars and spots, many of which were in contact with the stripes (Figs. 4K and 6A, C, E). The vertebral configuration was more individually variable than were the primary stripes. Also apparent were developing dot-like spots on the dorsal aspects of the hind limbs.

Three live female *A. c. costatus* (Fig. 6) and six live males (Fig. 7) captured in June 2018 possessed a third pattern of equally apparent stripes, spots, and bars (i.e., pattern class IV of Zweifel 1959). In the largest three of 12 females from 2018, the ubiquity of the spots and bars, along with the stripes of diminished ubiquity, had resulted in the black ground color appearing as essentially rectangular island-like remnants, particularly in the position of the dorsolateral fields. In fact, the primary stripes had been partly to largely replaced near the base of the tail in these females, and each of them had dot-like pale-hued markings on the hind limbs, and there was a lack of stripes on the tail. Interestingly, the largest of the 12 females (Fig. 6K) had the most distinct

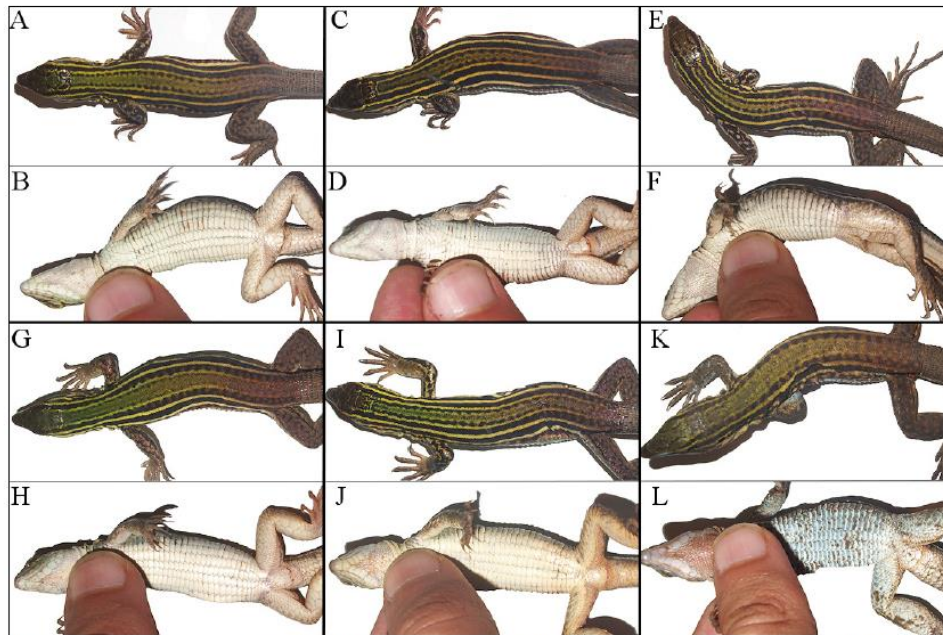


FIGURE 4. Dorsal and ventral view and pattern class (PC; dorsal, Roman numeral; ventral, Arabic numeral) of five live juvenile and one adult female of Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) captured and released 29 June 2018 from municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. (A-B) PC II-1, 59 mm SVL. (C-D) PC II-1, 65 mm SVL. (E-F) PC II-1, 67 mm SVL. (G-H) PC II-1, 69 mm SVL. (I-J) PC II-1, 70 mm SVL. (K-L) PC III-3, 80 mm SVL. (Photographed by Aldo Gómez-Benitez).

stripes, though each of the three largest females exhibited evidence of a black band developing in the positions of the upper lateral field on each side of the body. In each of the largest six of the 12 males from 2018, the integrity of the primary stripes was compromised by spots and bars either anteriorly near the head (Fig. 7K), posteriorly near the tail (Fig. 7C, E, G, I, K) or both ends of the body (Fig. 7A). The dorsal surfaces of the hind limbs had pale-hued dot-like markings, and there was a lack of evidence of stripes on the tail.

None of the 12 adult male *A. c. costatus* from 2018 had ontogenetically attained a dorsal pattern matching the description of Zweifel's (1959) pattern class V (i.e., entirely lacking more than remnants of the primary stripes). Thus, we included two males of 106 mm and 110 mm SVL from Ixtapan de la Sal to depict pattern class V and one hatchling for pattern class I (31 mm; Fig. 8), which we captured and released in 2016. These adults represent examples of dorsal patterns in the subspecies dominated by complex arrays of pale-hued dorsal components including spots, bars, annuli, and disruptive camouflage-like arrays rather than stripes (Fig. 8). Also, a distinctive feature of these dorsal patterns was the presence of a black band-like zone of ground color in the approximate position of the upper

lateral field on each side of the body, which is diagnostic in the color pattern of *A. c. costatus*. Dorsal and ventral to this black band on each side of the body were only isolated areas of the black ground color resulting from the extensive distribution of brown-tan components of various shapes; however, in the largest adults the anterior half of the dorsum was essentially brown with very little evidence of the black ground color, a description that also applied to the vertebral region. Such individuals also had irregularly shaped brown-tan lateral bars. Overall, the appearance of the dorsum could be best described as presenting a camouflage-like pattern as in Figs. 4–8. Also, present were distinctly spotted hind limbs and a brown tail as in Figs. 4–8. Based on the June 2018 sample of 12 males and 12 females of *A. c. costatus* from Ixtapan de la Sal, Estado de México, color pattern classes I–IV (*sensu* Zweifel 1959) in females and males were approximated have the following SVLs: (1) class I (31–55 mm SVL, n = 2, based on the hatchling from Estado de Morelos and the 2019 Ixtapan hatchling); (2) class II (59–72 mm SVL, n = 6); (3) class III (72–80 mm SVL, n = 9); (4) class IV (91–106 mm SVL, n = 9); and (5) class V (106, 110 mm SVL, n = 2 based on May 2016 specimens; Fig. 9).

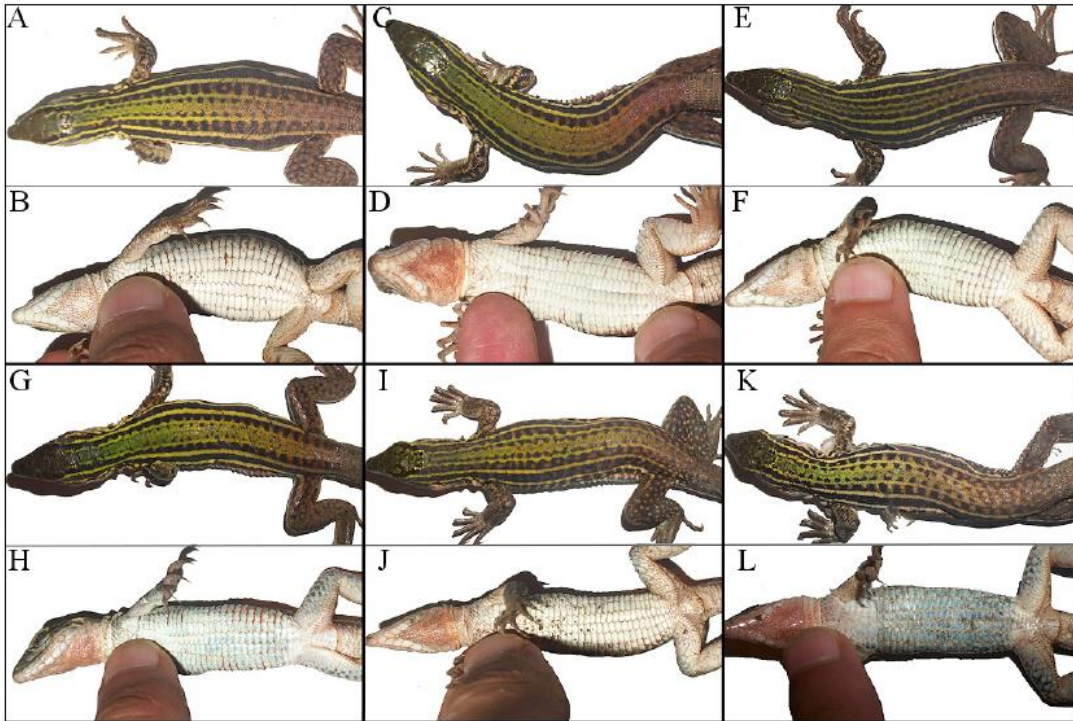


FIGURE 5. Dorsal and ventral view and pattern class (PC; dorsal, Roman numeral; ventral, Arabic numeral) of six live adult males of Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) captured and released 29 June 2018 from municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. (A-B) PC II-2, 72 mm SVL. (C-D) PC II-2, 80 mm SVL. (E-F) PC II-2, 80 mm SVL. (G-H) PC II-2, 81 mm SVL. (I-J) PC III-2, 83 mm SVL. (K-L) PC III-4, 88 mm SVL. (Photographed by Aldo Gómez-Benitez).

Ventral color pattern in *Aspidoscelis c. costatus*.—The ventral color patterns in female *A. c. costatus* ($n = 12$) in the 2018 Ixtapan de la Sal sample (Appendix 1) proceeded from essentially plain cream-white with a pinkish tinge in juveniles and small adults (e.g., Fig. 4) through several stages to become a complex array of colors in adult females to involve the chin (= pink to red gular region), chest (= mixed light and very dark blue thoracic region), abdomen (= mixed light and dark blue abdominal region), and pelvis (mixed red and blue hind limbs, cloacal area, and base of tail; e.g., Fig. 6). Although there were no juveniles among the males in the 2018 sample ($n = 12$), a similar sequence of stages (Appendix 1) was indicated in the development of the ventral pattern based on young males (Fig. 5B). The gular coloration in males of intermediate sizes continued to intensify before development of changes in more posterior areas (Fig. 5D, F, H, J, L). Complete metamorphosis of the ventral pattern was evident only in the largest males (Fig. 7).

Summary of dorsal color pattern in *Aspidoscelis c. costatus*.—We analyzed 15 photographs of lizards both subsequently released and *in situ* from 2016 representing the color pattern developmental stages of each sex. We

used these photographs to construct the description of each developmental stage: (1) stripes and no spots (two males 45 and 51 mm SVL, one female 53 mm SVL); (2) stripes with spots only starting to form in the posterior aspect of certain fields between stripes (three males 70–90 mm SVL, one female 66 mm SVL); (3) stripes and a profusion of distinct spots and bars (two males 61 and 91 mm SVL, three females 91–104 mm SVL); and (4) without stripes (three males 90–110 mm SVL, no completely unstriped females were observed). We analyzed photographs of all 24 lizards we captured in 2018 representing developmental stages of dorsal color patterns in each sex (12 males, 12 females). We used these photographs to construct the description of each developmental stage in 2018: (1) stripes with spots only starting to form in the posterior aspects of certain fields between stripes (five females of 59–70 mm SVL and four males 72–81 mm SVL); (2) stripes and a profusion of distinct spots and bars (four females 80–86 mm SVL and two males 83–88 mm SVL); and (3) spots and bars more prevalent than stripes (three females 97–98 mm SVL and six males 95–106 mm SVL). In Appendix 3 we have summarized sources of color pattern variation in *A. c. costatus* from Ixtapan de la Sal (i.e., individual, ontogenetic, and sexual).

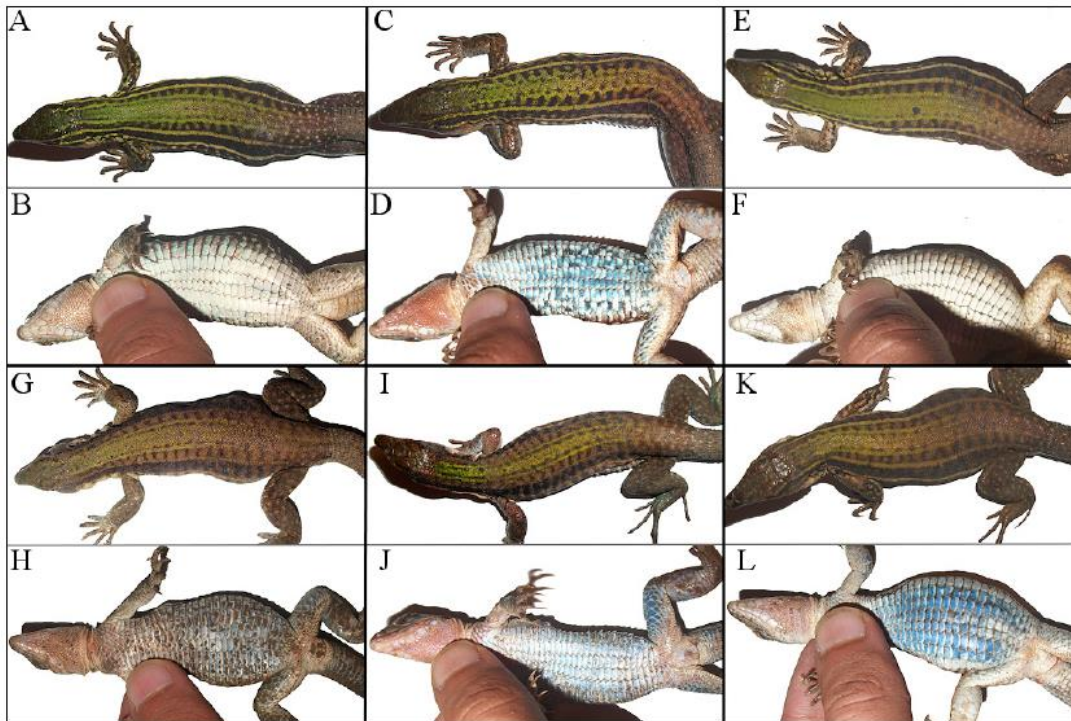


FIGURE 6. Dorsal and ventral view and pattern class (PC; dorsal, Roman numeral; ventral, Arabic numeral) of six live adult females of Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) captured and released 29 June 2018 from municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. (A-B) PC III-2, 84 mm SVL. (C-D) PC III-2, 85 mm SVL. (E-F) PC III-2, 86 mm SVL. (G-H) PC IV-4, 91 mm SVL. (I-J) PC IV-3, 97 mm SVL. (K-L) PC IV-3, 98 mm SVL. (Photographed by Aldo Gómez-Benitez).

DISCUSSION

We have studied large samples of nine relevant taxa with complicated color schemes (Appendix 4). The smallest individuals of *A. c. costatus* captured at Ixtapan de la Sal, though diagnostic in their middorsal configurations, exemplified the basic hatchling to early juvenile dorsal pattern observed in a number of species and subspecies in the *A. sexlineatus* group (*sensu* Burt 1931; Lowe et al. 1970; Duellman and Zweifel 1962; Degenhardt et al. 1996) including *A. burti* (*sensu* Walker and Cordes 2011), *A. gularis* (*sensu* Walker 1981a,b; Walker et al. 2001), *A. septemvittatus* (*sensu* Walker 1981a,b), *A. scalaris* (*sensu* Walker 1981a,b), and *A. alpinus* (*sensu* Walker 1980). From a basic dorsal pattern of pale-hued stripes, intervening dark-hued fields, and absence of distinct spots, there develops a myriad of dorsal patterns that are diagnostic of an as yet undetermined number of species and subspecies (see Barley et al. 2019).

The hatchling bearing the museum number UCM 8660 that we used in our study was among specimens of *A. c. costatus* (UCM 8649–8660) collected 18 August 1956 from Morelos. Although the sample was initially catalogued as *Cnemidophorus sackii gigas* based on a

misinterpretation of color pattern (*sensu* Smith 1949), it was re-identified by Walker (1980) to *C. c. costatus* (= *A. costata costata* based on Reeder et al. 2002 and *A. c. costatus* based on Tucker et al. 2016) following reinterpretation of color pattern coupled with analyses of meristic characters. Color pattern ontogenetic variation must be considered in lizard diagnosis to avoid species determination errors. Our work provides all metamorphic stages in color pattern of *A. c. costatus* that could be used in species determination. Nevertheless, we suggest to always include meristic traits in diagnosis due to all the sources of color pattern variation present in the genus.

Color pattern variation in *A. c. costatus* from Ixtapan de la Sal derives from individual, ontogenetic, and sexual sources. As noted by Hawlena et al. (2006), non-reproductive related changes in color pattern has been received very little attention. Hernández-Gallegos and Domínguez-Vega (2012) have recorded the first known instance of a correlation between seasonal changes in habitat and the dorsal coloration of *A. c. costatus* based on 95 individuals from the city and municipality of Tonatico (18°45'N, 99°13'W; WGS84; elevation 1,500–1,600 m). Lizards were collected at Tonatico from February to October 2007 during the rainy season (n =

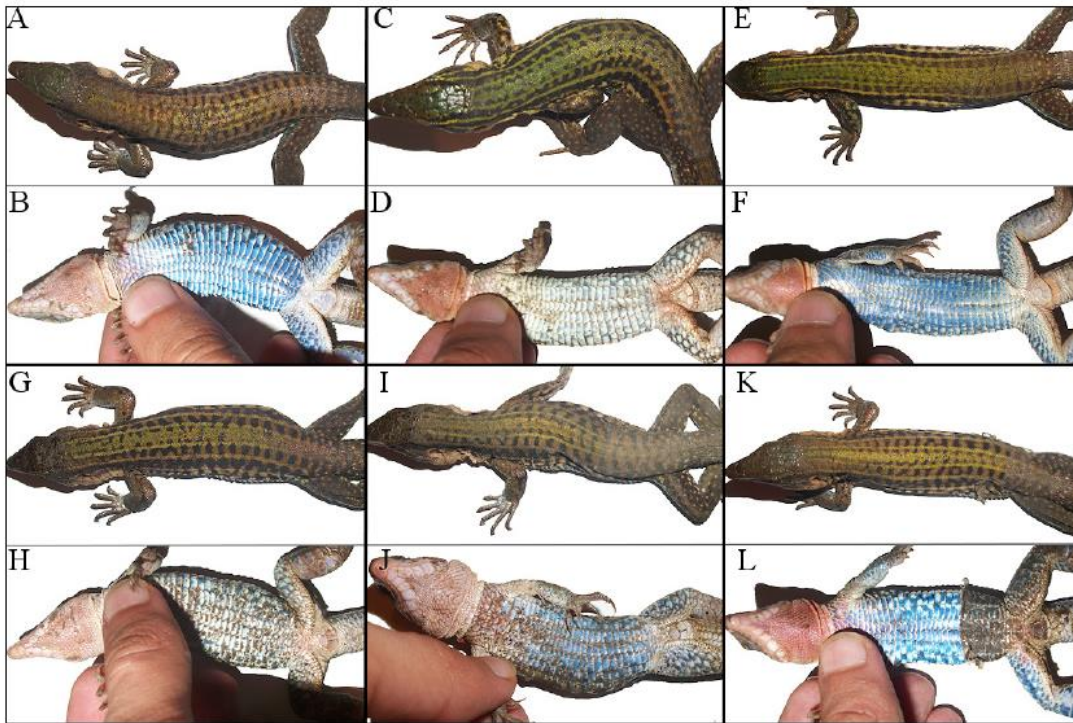


FIGURE 7. Dorsal and ventral view and pattern class (PC; dorsal, Roman numeral; ventral, Arabic numeral) of six live adult males of Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) captured and released 29 June 2018 from municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. (A-B) PC IV-4, 95 mm SVL. (C-D) PC IV-4, 96 mm SVL. (E-F) PC IV-4, 99 mm SVL. (G-H) PC IV-4, 105 mm SVL. (I-J) PC IV-4, 105 mm SVL. (K-L) PC IV-4, 106 mm SVL. (Photographed by Aldo Gómez-Benitez).

42), which typically extended from mid-June to mid-September, and the other lizards were collected during the dry season ($n = 53$), which typically included other parts of the year. They observed that survivorship in *A. c. costatus* at Tonatico was likely enhanced in the dry season by a habitat-matching brownish dorsal coloration and in the rainy season by development of a vegetation-matching greenish dorsal coloration.

Complex ontogenetic variation in the dorsal pattern of *A. c. costatus* is typical for all populations of this polytypic species (Zweifel 1959; Duellman and Zweifel 1962), as well as in many other species in the *A. sexlineatus* group (Duellman and Zweifel 1962; Walker 1980; 1981a,b; Walker and Cordes 2011). We found that ontogenetic change in color pattern occurs in the urban studied population just as in wild populations (based on Zweifel 1959), denoting no relationship between ontogenetic change in dorsal color pattern and the habitat conditions. We suggest that the myriad of dorsal pattern variants in populations of *A. c. costatus* may not be discernable per se to either predators or potential mates because a population always contains males and females representing all stages of color patterns, thus the adaptive value of the general pattern type is not compromised by individual variation. Some authors,

however, suggest that the striped body is correlated with foraging strategies and movements; striped lizards being active foragers and more mobile than lizards with cryptic patterns (Ortolan 1999; Hawlena et al. 2006; Halperin et al. 2016). Nevertheless, the adaptive significance of ontogenetic variation in the dorsal and ventral color patterns of *A. c. costatus* remains somewhat enigmatic.

Acknowledgments.—We thank the Delgado family for permission to capture and release individuals of *Aspidoscelis c. costatus* on their property (i.e., the study site). Accolades are due to Justin L. Rheubert for useful comments on a first draft of our manuscript, and J. E. Cordes for assistance of many categories. Students at the Universidad Autónoma del Estado de México, Daniel Sánchez-Manjarrez, Edgar Vásquez-Alcántara, Orlando Suárez-Rodríguez, Ailed Pérez-Pérez, and Ana E. López-Moreno, helped us during sampling. Heather Bateman and Brian Sullivan of Arizona State University, Phoenix, USA, kindly responded to our requests for assistance during this project. We also acknowledge the following curators and individuals who facilitated examinations of comparative material in the previously identified collections: Julio Alberto Lemos-Espinal (LEUBIPRO); Hobart M. Smith (UCM,

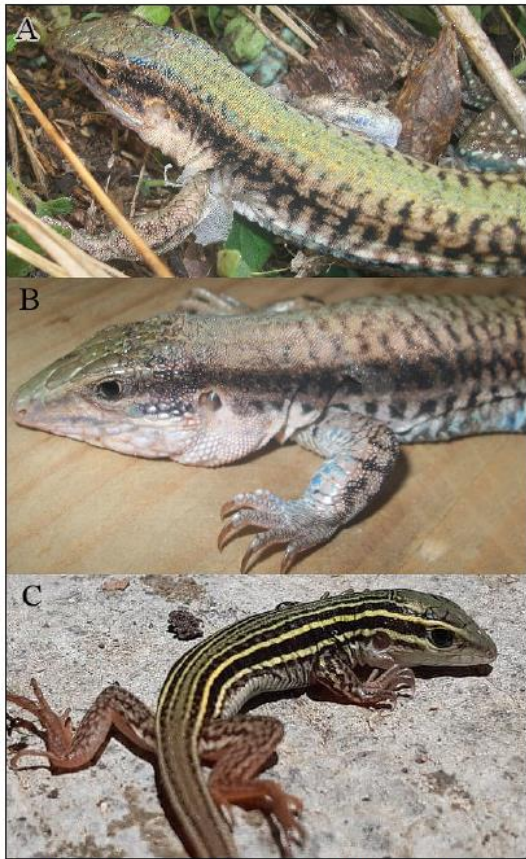


FIGURE 8. Two male Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) with complete ontogenetic development of dorsal patterns from the 2016 sample and a hatchling sighted in 2019 from the municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. (A) PC V-4, 106 mm SVL. (B) PC V-4, 110 mm SVL. (C) PC I-1, 31 mm SVL. (Photographed by Aldo Gómez-Benitez).

deceased); Laurie J. Vitt (OMNH); Paul T. Maslin (UCM, deceased); James R. Dixon (TCWC, deceased); Robert C. Drewes (CAS); Christopher J. Raxworthy (AMNH); Greg Pauly (LACM), and Gerald G. Raun (TNHC). The Mexican government provided Scientific Collector Permit SEMANART FAUT-0186.

LITERATURE CITED

Ashton, K.G. 2003. Sexing *Cnemidophorus* lizards using a postanal scale character. *Herpetological Review* 34:109–111.

Barley, A.J., A. Nieto-Montes de Oca, T.W. Reeder, N.L. Manríquez-Morán, J.C. Arroyo Monroy, O. Hernández-Gallegos, and R.C. Thomson. 2019. Complex patterns of hybridization and introgression across evolutionary timescales in Mexican whiptail lizards (*Aspidoscelis*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 132:284–295.

Burger, W.L. 1950. New, revived, and reallocated names for North American whiptail lizards, genus *Cnemidophorus*. *Natural History Miscellanea, Chicago Academy Sciences* 65:1–9.

Burt, C.E. 1931. A study of the teiid lizards of the genus *Cnemidophorus* with special reference to their phylogenetic relationships. *Bulletin of the United States National Museum* 154:1–286.

Cordes, J.E., and J.M. Walker. 2006. Evolutionary and systematic implications of skin histocompatibility among parthenogenetic teiid lizards: three color pattern classes of *Aspidoscelis dixonii* and one of *Aspidoscelis tessellata*. *Copeia* 2006:14–26.

Degenhardt, W.G., C.W. Painter, and A.H. Price. 1996. *Amphibians and Reptiles of New México*. University of New México Press, Albuquerque, New Mexico, USA.

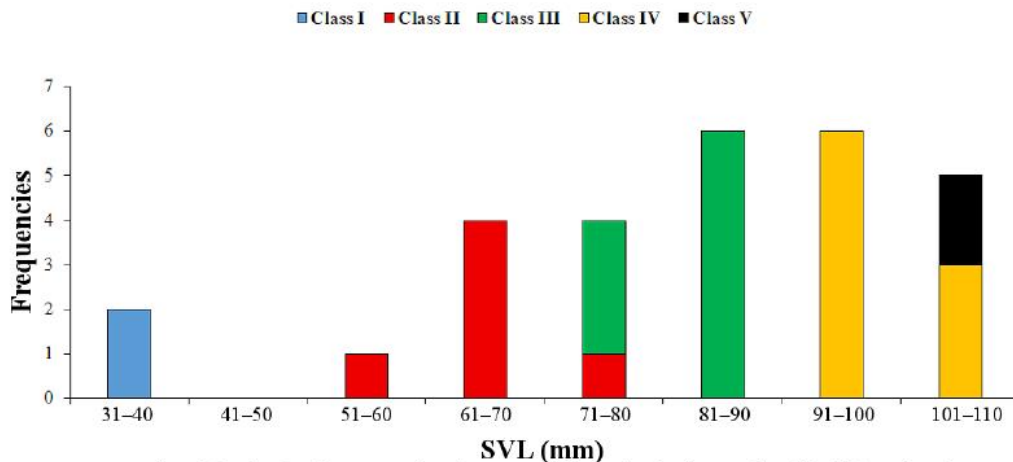
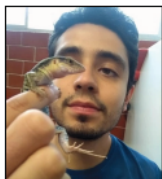


FIGURE 9. Frequencies of the dorsal color pattern class (*sensu* Zweifel 1959) of Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) individuals from Ixtapan de la Sal, Estado de México, México captured on June 2018 and two males from May 2016 and a hatchling from Estado de Morelos. Relative frequencies within the dorsal color pattern classes are: I (0.07), II (0.21), III (0.32), IV (0.32), and V (0.07).

- Duellman, W.E. 1960. A new subspecies of lizard, *Cnemidophorus sacki*, from Michoacán, México. University of Kansas Publication, Museum of Natural History 10:587–598.
- Duellman, W.E., and J. Wellman. 1960. A systematic study of the lizards of the *depei* group (genus *Cnemidophorus*) in México and Guatemala. Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan 111:1–81.
- Duellman, W.E., and R.G. Zweifel. 1962. A synopsis of the lizards of the *sexlineatus* group (genus *Cnemidophorus*). Bulletin of American Museum of Natural History 123:159–210.
- Fritts, T.H. 1969. The systematics of the parthenogenetic lizards of the *Cnemidophorus cozumelae* complex. Copeia 1969:519–535.
- Granados-González, G., J.L. Rheubert, M. Villagrán-SantaCruz, M.E. González-Herrera, J.V. Dávila-Cedillo, K.M. Gribbins, and O. Hernández-Gallegos. 2013. Male reproductive cycle in *Aspidoscelis costata costata* (Squamata: Teiidae) from Tonatico, Estado de México, México. Acta Zoologica 96:108–116.
- Grismer, L.L. 1999. Phylogeny, taxonomy, and biogeography of *Cnemidophorus hyperythrus* and *C. ceraltensis* (Squamata: Teiidae) in Baja California, México. Herpetologica 55:28–42.
- Halperin, T., L. Carmel, and D. Hawlena. 2016. Movement correlates of lizards' dorsal pigmentation patterns. Functional Ecology 31:370–376.
- Harvey, M.B., G.N. Ugueto, and R.L. Gutberlet, Jr. 2012. Review of teiid morphology with a revised taxonomy and phylogeny of the Teiidae (Lepidosauria: Squamata). Zootaxa 3459:1–156.
- Hawlena, D., R. Boochnik, Z. Abramsky, and A. Bouskila. 2006. Blue tail and striped body: why do lizards change their infant costume when growing up? Behavioral Ecology 17:889–896.
- Hendricks, F.S., and J.R. Dixon. 1986. Systematics and biogeography of *Cnemidophorus marmoratus* (Sauria: Teiidae). Texas Journal of Science 38:327–402.
- Hernández-Gallegos, O., and H. Domínguez-Vega. 2012. Cambio estacional en la coloración dorsal de la lagartija *Aspidoscelis costata costata* (Squamata: Teiidae). Revista de Biología Tropical 60:405–412.
- Lowe, C.H., J.W. Wright, C.J. Cole, and R.L. Bezy. 1970. Chromosomes and evolution of the species groups of *Cnemidophorus* (Reptilia: Teiidae). Systematic Zoology 19:128–141.
- Maslin, T.P., and D.M. Secoy. 1986. A checklist of the lizard genus *Cnemidophorus* (Teiidae). University of Colorado Museum, Contributions in Zoology 1:1–60.
- McCranie, J.R., and S.B. Hedges. 2013. A review of the *Cnemidophorus lemniscatus* group in Central America (Squamata: Teiidae), with comments on other species in the group. Zootaxa 3722:301–316.
- Ortolan, A. 1999. Spots, stripes, tail tips and dark eyes: predicting the function of carnivore colour patterns using the comparative method. Biological Journal of the Linnean Society 67:433–476.
- Reeder, T.W., C.J. Cole, and H.C. Dessauer. 2002. Phylogenetic relationships of whiptail lizards of the genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae): a test of monophyly, reevaluation of karyotypic evolution, and review of hybrid origins. American Museum Novitates 3365:1–61.
- Rubio-Blanco, T. 2007. Sobrevivencia, crecimiento y termorregulación de *Aspidoscelis costata* en Toluca, Estado de México. Bachelor Thesis, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México. 46 p.
- Smith, H.M. 1949. Miscellaneous notes on Mexican lizards. Journal of the Washington Academy of Sciences 39:34–43.
- Steyskal, G.C. 1971. On the grammar of names formed with *-scelus*, *-sceles*, *-scelis*, etc. Proceedings Biological Society of Washington 84:7–11.
- Taylor, H.L., and C.R. Cooley. 1995. Patterns of meristic variation among parthenogenetic teiid lizards (genus *Cnemidophorus*) of the Yucatan Peninsula and their progenitor species *C. angusticeps* and *C. depei*. Journal of Herpetology 29:583–592.
- Taylor, H.L., and J.M. Walker. 2014a. Pan-peninsular pattern of morphological variation in *Aspidoscelis hyperythra* (Squamata: Teiidae), Baja California, México. Southwestern Naturalist 59:221–227.
- Taylor, H.L., and J.M. Walker. 2014b. Pattern of differential divergence among five insular species of the *Aspidoscelis hyperythra* complex (Squamata: Teiidae), Baja California Sur, México. Journal of Herpetology 48:355–362.
- Taylor, H.L., C.J. Cole, and C.R. Cooley. 2014. Origins and evolution in the *Aspidoscelis cozumela* complex of parthenogenetic teiid lizards: morphological and karyotypic evidence and paradoxes. Journal of Herpetology 48:343–354.
- Tucker, D.B., G.R. Colli, L.G. Giugliano, S.B. Hedges, C.R. Hendry, E.M. Lemmon, A.R. Lemmon, J.W. Sites, Jr., and R.A. Pyron. 2016. Methodological congruence in phylogenomic analyses with morphological support for teiid lizards (Sauria: Teiidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 103:75–84.
- Walker, J.M. 1980. *Cnemidophorus alpinus*: observations on distribution and variation. Journal of Herpetology 14:353–359.
- Walker, J.M. 1981a. Systematics of *Cnemidophorus gularis*. I. Reallocation of populations currently

- allocated to *Cnemidophorus gularis* and *Cnemidophorus scalaris* in Coahuila, México. *Copeia* 1981:826–849.
- Walker, J.M. 1981b. Systematics of *Cnemidophorus gularis*. II. Specific and subspecific identity of the Zacatecas Whiptail (*Cnemidophorus gularis semiannulatus*). *Copeia* 1981:850–868.
- Walker, J.M., and J.E. Cordes. 2011. Taxonomic implications of color pattern and meristic variation in *Aspidoscelis burti burti*, a Mexican whiptail lizard. *Herpetological Review* 42:33–39.
- Walker, J.M., and T.P. Maslin. 1981. Systematics of the Santa Catalina Whiptail (*Cnemidophorus catalinensis*) with reference to the superspecies *Cnemidophorus tigris*. *American Midland Naturalist* 105:84–92.
- Walker, J.M., J.E. Cordes, and H.L. Taylor. 1997. Parthenogenetic *Cnemidophorus tessellatus* complex (Sauria: Teiidae): a neotype for diploid *C. tessellatus* (Say, 1823), redescription of the taxon, and description of a new triploid species. *Herpetologica* 53:233–259.
- Walker, J.M., J.A. Lemos-Espinal, J.E. Cordes, and H.M. Smith. 2018. Abundance, color pattern variation, life cycle, and reproduction of the triploid parthenogenetic lizard *Aspidoscelis uniparens* (Squamata: Teiidae) in Chihuahua, México. *Phyllomedusa* 17:83–99.
- Walker, J.M., J.A. Lemos-Espinal, J.E. Cordes, H.L. Taylor, and H.M. Smith. 2001. Allocation of population of whiptail lizards to *septemvittatus* Cope, 1892 (genus *Cnemidophorus*) in Chihuahua, México, and the *scalaris* problem. *Copeia* 2001:747–765.
- Walker, J.M., H.L. Taylor, and J.E. Cordes. 1995. Parthenogenetic *Cnemidophorus tessellatus* complex at Higbee, Colorado: resolution of 30 years of controversy. *Copeia* 1995:650–658.
- Wilson, L.D., V. Mata-Silva, and J.D. Johnson. 2013. A conservation reassessment of the reptiles of Mexico based on the EVS measure. *Amphibian & Reptile Conservation* 7:1–47.
- Wright, J.W. 1993. Evolution of the lizards of the genus *Cnemidophorus*. Pp. 27–81 *In* *Biology of Whiptail Lizards* (genus *Cnemidophorus*). Wright, J.W., and L.J. Vitt (Eds.). Oklahoma Museum of Natural History, Norman, Oklahoma, USA.
- Zweifel, R.G. 1959. Variation in and distribution of lizards of western México related to *Cnemidophorus sackii*. *Bulletin of the American Museum Natural History* 117:57–116.



ALDO GÓMEZ-BENITEZ graduated from the Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca city, in 2017 with a Biology degree, focused on herpetology. He earned a M.S. in Science in 2020 from the same university. The research he carried out had a focus on ecology and conservation in reptiles, mainly using innovative computational tools. (Photographed by Erika A. Reyes-Velázquez).



OSWALDO HERNÁNDEZ-GALLEGOS is a full-time Professor and researcher at the Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca city, and he earned his Ph.D. at the Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico city. His research since 1995 has focused on the ecology and evolution of parthenogenesis and reproductive cycles of lizards. Recently, he has been interested in the ecology and conservation of threatened amphibians and reptiles in México. (Photographed by Kevin M. Gribbins).



BRITTANY LOVELL majored in Biology and graduated from the University of Arkansas, Fayetteville, USA, in May 2018. In January 2018, she enrolled in a research course conducted in James Walker's lab, during which she contributed to the conception and completion of parts of the present study. (Photographed by Brittany Lovell).



PELAGIE KADIA majored in Biology and graduated from the University of Arkansas, Fayetteville, USA, in May 2019 with a concentration in pre-medical sciences. In January 2018 she enrolled in a research course conducted in James Walker's laboratory, during which she contributed to the conception and completion of parts of the present study. (Photographed by Pelagie Kadia).



JAMES M. WALKER is Professor of Biological Sciences, University of Arkansas, Fayetteville, USA. Since earning B.S. and M.S. degrees from Louisiana Tech University, Ruston, USA, and a Ph.D. from the University of Colorado, Boulder, USA, he has taught and conducted research at the University of Arkansas (1965 to present) and collaborated with numerous scientists on the biology and systematics of whiptail lizards (genera *Aspidoscelis* and *Cnemidophorus*: Family Teiidae). His graduate students have completed theses and dissertations on a variety of amphibian and reptile species. (Photographed by Shilpa Iyer).

Herpetological Conservation and Biology

APPENDIX 1. Aspects of dorsal and ventral color pattern, size, and scutellation analyzed in specimens of gonochoristic Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) from the municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México.

Structure as Referenced	Description of Structure
Pale-Hued Paired Primary Laterals	Essentially straight stripe on each side dorsal to the lateral row of ventral scales
Pale-Hued Paired Primary Dorsolaterals	Essentially straight stripe on each side dorsal to the lateral stripe
Pale-Hued Paired Primary Paravertebrals	Essentially irregular stripe on each side dorsal to the dorsolateral stripe
Pale-Hued Vertebral Configuration	Single or double-lined configuration, band like or not, with lateral extensions
Dark-Hued Paired Lower Lateral Fields	Dusky black field on each side ventral to the lateral stripe
Dark-Hued Paired Upper Lateral Fields	Black field on each side dorsal to the lateral stripe
Dark-Hued Paired Dorsolateral Fields	Black field on each side dorsal to the dorsolateral stripe
Dark-Hued Single Vertebral Field	Black field between the paravertebral stripes from occiput to base of tail
Pale-Hued Spots	Rounded areas in either fields or encroaching onto stripes and on limbs
Pale-Hued Bars	Narrow elongate rectangles in fields, in contact with stripes or not
Pale-hued irregular configurations	Endlessly variable areas surrounded by ground color
Suffusion of coloration	Stain-like shading of color overlying ground color
SPV = Scales Between Paravertebrals	Granular scales between paravertebral stripes at midbody
CVC = Contacts of Vertebral Configuration	Contacts of vertebral configuration extensions with paravertebral stripes
Throat = Gular Coloration	Subject to sexual dimorphism and ontogenetic variation
Chest = Thoracic Coloration	Subject to sexual dimorphism and ontogenetic variation
Abdominal = Belly Coloration	Subject to sexual dimorphism and ontogenetic variation
Tail = Ventral Caudal Coloration	Subject to sexual dimorphism and ontogenetic variation
SVL = Snout to Vent Length to mm	Snout to vent length to nearest mm from tip of snout to cloacal slit
Dorsal Pattern Class I modified; Zweifel (1959)	Lines (= stripes), dark fields, no spots
Dorsal Pattern Class II modified; Zweifel (1959)	Stripes, incipient spots (pale-hued areas) in upper lateral and dorsolateral fields
Dorsal Pattern Class III modified; Zweifel (1959)	Stripes, distinct pale-hued spots in upper lateral and dorsolateral fields
Dorsal Pattern Class IV modified; Zweifel (1959)	Stripes and pale-hued spots and bars equally obvious
Dorsal Pattern Class V modified; Zweifel (1959)	Stripes absent or only remnants present, replaced by a variety of configurations
Ventral Pattern Class 1 here proposed	Cream gular, thoracic, abdominal, and pelvic regions
Ventral Pattern Class 2 here proposed	As above except pink to red gular region which is also present in classes 3 and 4
Ventral Pattern Class 3 here proposed	Light to medium blue thoracic to abdominal regions; red and blue pelvic region
Ventral Pattern Class 4 here proposed	Increased intensity of coloration of gular, thoracic, abdominal, and pelvic regions

APPENDIX 2. Data for females and males of Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) captured 29 June 2018 from municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México. Abbreviations are S-CPC = sex-color pattern class; SVL = snout vent length to 1 mm; TL = tail length to 1 mm; WT = weight to 0.5 g; SPV = count of scales between paravertebral stripes at midbody; CVC = count of contacts of vertebral configuration with paravertebral stripes; GSVVC = general structure of vertebral configuration; TVC (single or double even partly) = type of vertebral configurations; coloration (C = cream, P = Pink, R = red, B = blue); TH = throat; CH = chest; AB = abdominal; VC = ventral caudal; PV = paravertebral stripes normal and relatively straight (N), stripes very irregular (I), or stripes fragmented (F); DC = either green (G) or brown coloration of pale-hued dorsal components subject to seasonal variation .

S-CPC	SVL	TL	WT	PVS	CVC	GSVC	TVC	TH	CH	AB	VC	PV	DC
1 F-II-1	59	135	7.0	14	44	Serrate	Double	C	C	C	C	N	G
2 F-II-1	65	139	8.0	15	35	Serrate	Double	CB	CB	C	P	N	G
3 F-II-1	67	141	10.5	13	33	Serrate	Double	C	CB	C	P	N	G
4 F-II-1	69	157	10.5	14	50	Band	Double	C	CB	CO	P	I	G
5 F-II-1	70	154	11.0	16	27	Serrate	Double	CP	CB	CO	P	N	G
6 F-III-3	80	185	19.0	16	50	Band	Single	R	B	B	CP	I	G
7 F-III-2	84	170	21.0	17	38	Band	Double	R	C	CB	P	I	G
8 F-III-3	85	163	22.5	14	46	Zigzag	Single	R	CB	CB	P	F	G
9 F-III-2	86	160	21.0	18	50	Band	Double	C	C	CO	O	F	G
10 F-IV-4	91	123R	25.0	16	50	Band	Double	R	RB	RB	B	F	G
11 F-IV-3	97	161	26.0	16	36	Serrate	Double	R	B	B	RB	F	G
12 F-IV-3	98	170	31.0	17	44	Serrate	Double	R	B	B	CB	F	G
1 M-II-2	72	151	12.0	13	44	Serrate	Double	R	CB	CO	C	F	G
2 M-II-2	80	198	19.5	15	45	Band	Double	CR	CB	CB	C	F	G
3 M-II-2	80	140R	18.0	15	16	Zigzag	Double	R	CB	CB	CP	I	G
4 M-II-2	81	152R	17.0	14	50	Zigzag	Double	R	CB	CB	CB	F	G
5 M-III-2	83	185	18.0	15	30	Zigzag	Double	R	CB	CB	CP	F	G
6 M-III-4	88	224	21.5	14	35	Zigzag	Double	R	RB	RB	RB	F	G
7 M-IV-4	95	197	33.5	14	44	Zigzag	Double	R	CB	CB	CB	F	G
8 M-IV-4	96	190	28.5	14	44	Zigzag	Double	R	RB	RB	RB	F	G
9 M-IV-4	99	178R	23.0	14	45	Serrate	Double	R	CB	CB	RB	F	G
10 M-IV-4	105	233RR	41.0	14	40	Serrate	Single	R	CP	RB	RB	F	G
11 M-IV-4	105	252	37.0	14	40	Serrate	Double	R	RB	B	RB	F	G
12 M-IV-4	106	231	39.5	13	40	Serrate	Single	R	CB	B	B	F	G

APPENDIX 3. Sources of variation contributing to the color pattern of Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis c. costatus*) captured from municipality and city of Ixtapan de la Sal, Estado de México, México (unless otherwise noted observations based entirely on this study). The abbreviation SVL = snout-vent length.

-
1. Individual Variation in Juveniles of < 67 mm SVL in males and < 73 mm SVL in females
 2. Striping pattern on sides of head
 3. Secondary configuration in vertebral field between primary paravertebral stripes
 4. Individual Variation in Adults of > 67 mm SVL in males and > 73 mm SVL in females
 - 4.1. Distribution of spots and bars
 5. Configuration of pattern elements surrounded by black ground color
 6. Ontogenetic Variation
 7. Juveniles striped and entirely lack spots
 8. Young adults with patterns of stripes and incipient spots
 - 8.1. Mid-range adults have patterns of stripes and spots/bars of approximately equal intensity
 - 8.2. Large adults have patterns dominated by spots and other shaped dorsal configurations
 9. Seasonal Variation Primarily in Adults (Hernández-Gallegos and Domínguez-Vega 2012)
 - 9.1. Development of green-hued dorsal coloration corresponding with rainy season
 - 9.2. Development of brownish-hued coloration corresponding with dry season
 10. Sexual dimorphism
 - 10.1. Stripes completely replaced by spots and other configurations in large adult males
 - 10.2. Parts of stripes retained in large adult females
-

APPENDIX 4. Studied samples of relevant taxa with complicated color schemes (in the indicated museum collections) to contextualize the uniqueness of color pattern variation in *Aspidoscelis c. costatus*.

-
- Aspidoscelis alpinus* (University of Colorado Museum = UCM)
- A. burti* [sensu Walker and Cordes 2011 (UCM and University of Arkansas Department of Zoology = UADZ)]
- A. gularis* [including *A. scalaris* and *A. septemvittatus* (UCM, UADZ, and Texas Natural History Collection = TNHC; Texas Cooperative Wildlife Collection = TCWC)]
- A. costatus barrancarum* (Laboratorio de Ecología, Unidad de Biotecnología y Prototipos = LEUBIPRO; American Museum of Natural History = AMNH)
- A. costatus griseocephalus* (California Academy of Sciences = CAS; Los Angeles County Museum = LACM)
- A. costatus huico* (CAS)
- A. costatus nigrigularis* (CAS)
- A. costatus occidentalis* (CAS, UCM)
- A. stictogrammus* (sensu Burger 1950; UADZ, LEUBIPRO, University of Oklahoma Museum of Natural History = OMNH).
-

Asimetría fluctuante: ¿Qué nos puede decir este indicador sobre la conservación de anfibios y reptiles?

Aldo Gómez-Benitez¹, Carlos Alberto Mastachi-Loza², Jose Fernando Méndez-Sánchez³,
Oswaldo Hernández-Gallegos^{1*}

¹Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado México

²Instituto Interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua, Universidad Autónoma del Estado de México

³Laboratorio de Ecofisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado México

*Autor de correspondencia: gobeal940814@gmail.com

En años recientes, el campo de estudio conocido como bioindicación, ha adquirido especial importancia como respuesta frente a la creciente necesidad de poder evaluar el estrés ambiental en etapas tempranas, antes de que los daños sean irreversibles (Fränzle, 2003). En el estudio de la herpetofauna este campo es especialmente importante ya que los anfibios y reptiles son organismos ectotermos, es decir, aunque su metabolismo libera calor, este no es suficiente para cubrir los requerimientos fisiológicos de las especies, y tampoco pueden evitar perderlo rápidamente (Vitt & Caldwell, 2014), aunado a esto, los reptiles tienen una baja vagilidad fisiológica en comparación con otros vertebrados (Hillman et al., 2014). Por lo tanto, la herpetofauna es especialmente susceptible a cambios ambientales abruptos, tan es así, que ya se ha documentado un declive preocupante a nivel global en este grupo (Gibbon et al., 2000; Araújo et al., 2006). Expuesto lo anterior, se vuelve necesario desarrollar y estudiar bioindicadores para detectar las afectaciones ocasionadas por el estrés ambiental antes de que ocurran cambios

fisiológicos, conductuales o ecológicos negativos, que puedan llevar a la desaparición de las poblaciones o de las especies. Se ha planteado usar a la estabilidad en el desarrollo, o su contraparte la inestabilidad en el desarrollo, como un indicador de estrés ambiental o genético, esta se define como la capacidad de un organismo de amortiguar todo el ruido en el desarrollo, dando como resultado un fenotipo específico (Zelditch et al., 2012), frente a condiciones adversas, esta capacidad se ve reducida generando un fenotipo modificado. Una manera confiable de medir la inestabilidad en el desarrollo es la asimetría fluctuante (AF), una ligera desviación azarosa de la simetría perfecta bilateral (el tipo de asimetría más común en el clado Bilateria; Figura 1), dado que ambos lados de un organismo con simetría bilateral están sujetos a las mismas condiciones ambientales y se formaron a partir del mismo genotipo, deberán ser idénticos, a menos que algún factor ambiental o genético ocasione anomalías (Palmer & Strobeck, 1986). Utilizar la AF como bioindicador ofrece múltiples ventajas, su evaluación es rápida y barata (Coda et al., 2017), desde un inicio conocemos el resultado que obtendremos de una población en buen estado (Palmer & Strobeck, 1986) y no tiene un componente hereditario (Palmer & Strobeck, 1986), sin embargo, a través de la epistasis, algunas especies sujetas a eventos de cuello de botella o hibridación podrían presentar una baja heredabilidad de la AF (Leamy & Klingenberg, 2005). Sin embargo, es importante poder identificar a la AF de los otros dos tipos de asimetría que resultan ser de carácter evolutivo y no producto de condiciones ambientales adversas, estos son la asimetría direccional y la antisimetría. La asimetría direccional se refiere a las diferencias que hay entre el lado derecho y el izquierdo en un organismo con simetría bilateral que se dan en una sola dirección en todos los individuos, como en la mayoría de las serpientes en las que solo el pulmón derecho es funcional, o la asimetría que existe en el carapacho de algunos quelonios del género *Testudo* que facilita el dar la vuelta con

menor esfuerzo hacía el lado derecho al estar ventralmente expuestos (Werner et al., 1991; Vitt & Caldwell, 2014; Parés-Casanova et al., 2022). La antisimetría se presenta cuando existen diferencias entre ambos lados de un organismo con simetría bilateral, estas diferencias son constantes en todos los individuos, pero pueden aparecer en igual proporción en el lado izquierdo o en el derecho, el único caso conocido en el que se corrobora la presencia de este tipo de asimetría en reptiles ocurre en la lagartija *Sceloporus grammicus*, en la que las escamas circumorbitales varían en igual magnitud entre los dos lados, pero no parece haber una explicación adaptativa al respecto (Werner et al., 1991; Dosselman et al., 1998). A diferencia de la asimetría direccional y la antisimetría, la AF no está presente en todos los organismos de una misma población de forma homogénea, haciéndose presente solo en algunos individuos y, en aquellos que existe asimetría, esta varía en magnitud y se puede hacer presente en cualquiera de los dos lados (Leary & Allendorf, 1989). Desde una perspectiva estadística, se puede diferenciar a los tres tipos de asimetría de acuerdo con la distribución de los datos, que para este fin se utilizará la diferencia de valores entre el lado derecho y el izquierdo, restando el valor obtenido de la característica medida del lado izquierdo al valor del lado derecho, si la distribución de los datos es normal, leptocurtica y la media es cero, existe la presencia de asimetría fluctuante, si la distribución de los datos se encuentra sesgada hacia alguno de los lados, se trata de asimetría direccional, y finalmente, si la distribución es bimodal, existe antisimetría (Figura 2; Van Valen, 1962; Palmer & Strobeck, 1986). Lo anterior es cierto cuando se trabaja con medidas de morfometría lineal o características merísticas, en lo que respecta a la morfometría geométrica, la forma de discriminar entre los tipos de asimetría es mediante los resultados de un ANOVA mixto de dos vías (Zelditch et al., 2012), este procedimiento se detalla en la sección sobre las metodologías aplicadas.

Aplicaciones de la asimetría fluctuante para el estudio de la herpetofauna ¿qué nos ha enseñado?

La AF ha sido ampliamente utilizada para evaluar el estrés ambiental, los cambios abruptos en el ambiente exigen un costo energético a los organismos y al mismo tiempo reducen la adquisición de esta, forzando a las especies a destinar recursos que, en ambientes en que el estrés ambiental no genera distrés, serían utilizados para llevar a cabo su ciclo de vida de manera óptima, incluyendo el mantenimiento de la precisión en el desarrollo (Koehn & Bayne, 1989, Sommer, 1996, en Leung et al., 2000). En cuanto a la herpetofauna, la AF se ha utilizado para medir tanto el efecto de factores naturales como el de actividades antropogénicas. Entre los factores naturales estudiados uno que ha recibido especial atención es la insularidad. Crnobrnja-Isailovic et al. (2005) describen que, independientemente de si las poblaciones de la lagartija *Podarcis muralis* habitan en islas o en el continente, estas no presentan asimetría fluctuante, ni el grado de AF varía en función del tamaño de la isla. Garrido & Pérez-Mellado (2014) también llegarían a esta última conclusión estudiando poblaciones de *Podarcis lilfordi* en cuatro diferentes islas. Contrario a los estudios anteriores, en *Podarcis bocagei* y *Podarcis hispanica* se demostró que la AF aumenta con la distancia que existe desde la isla en que habitan las especies al continente y que la especie con más tiempo aislada presentaba una mayor AF (Băncilă et al., 2010). Las interacciones bióticas pueden ser otra fuente de estrés en la herpetofauna, por lo cual es necesario evaluar el grado de afectación mediante asimetría fluctuante. Respecto al parasitismo, parece haber una tendencia relacionada con la presencia de los parásitos, pero no con la carga parasitaria. En el caso de la salamandra *Notophthalmus viridescens* presenta un aumento en AF cuando es parasitada por el protozoario *Ichthyophonus sp.*, al igual que ocurre en la lagartija *P.*

lilfordi cuando es parasitada por ácaros y hemogregarinas, no obstante, el grado de asimetría no aumenta a medida que la carga parasitaria incrementa en ninguno de los dos casos (Sherman et al., 2009; Garrido & Pérez-Mellado, 2014). Contrario a esta tendencia, Sacchi et al. (2018) registraron que existe una correlación entre la carga parasitaria por hemogregarinas y la AF en la lagartija *P. muralis*. Otros posibles factores bióticos que pudieran ocasionar AF son la elevación y las interacciones de competencia, una población de determinada especie que se encuentra en los límites altitudinales de su distribución podría verse sujeta a mayor estrés que sus conespecíficos en elevaciones óptimas y se espera que ocurran patrones similares con poblaciones sujetas a una mayor presión por competencia. Conociendo lo importante que podrían ser los estresores bióticos para las especies, Alagić et al. (2021) estudiaron el efecto de la elevación y la competencia en las lagartijas *Iberolacerta horvathi* y *P. muralis*, la primera presentó un aumento de la asimetría en elevaciones medias, mientras que la segunda lo hizo en elevaciones altas, interesantemente, las poblaciones alotópicas (aquellas que no ocupan el mismo macrohábitat; de acuerdo con Rivas, 1964) presentaban una mayor asimetría que las poblaciones sintópicas (aquéllas que ocupan el mismo macrohábitat; de acuerdo con Rivas, 1964). Lo anterior, puede deberse a que las presiones por una mayor competencia intraespecífica generan más estrés que una moderada competencia interespecífica.

En un sentido evolutivo, se plantea la hipótesis de que características morfológicas de gran importancia serán más conservadoras en su simetría que aquellas menos funcionales (Palmer & Strobeck, 1986). El único trabajo conocido que pone a prueba esta hipótesis en herpetofauna es el de Rivera & Neely (2020). Ambos autores trabajaron con 11 especies de tortugas de la familia Emydidae, y descubrieron que los miembros de la subfamilia Deirochelyinae que son mayormente acuáticos y utilizan principalmente las extremidades posteriores para la locomoción,

conservan mejor la asimetría en estas patas, mientras que los miembros de la subfamilia Emydinae que son mayormente terrestres y en los que ambos pares de patas tienen la misma importancia para la locomoción, la asimetría se conserva de igual forma en las extremidades anteriores que en las posteriores. La hibridación demostró también tener como consecuencia un aumento de la AF en razas cromosómicas del complejo *Sceloporus grammicus*, pues la AF de los híbridos resultantes del cruce entre razas fue mayor que la presente en las clases parentales (Dosselman et al., 1998)

A pesar de que los efectos de factores naturales han demostrado influir en el grado de AF de las especies de anfibios y reptiles, su principal uso como bioindicador de la inestabilidad en el desarrollo es el de predecir los efectos de las actividades antropogénicas sobre las especies herpetofaunísticas. Los estudios sobre la urbanización como factor de la inestabilidad en el desarrollo medidos mediante AF han presentado resultados contrariados. Diversos estudios han evaluado la presencia de AF frente a la urbanización en la lagartija *P. muralis*, algunos concuerdan en que las poblaciones de las ciudades tienen un mayor grado de asimetría que sus conespecíficos silvestres (Lazić et al., 2013; Mirč et al., 2019). Sacchi et al. (2018) registraron que la urbanización no es suficiente para promover la AF en esta especie y finalmente Vukov et al. (2019) encontraron que, de hecho, las poblaciones silvestres son las que presentan una mayor asimetría. Winchell et al. (2019) también sorprendieron a los estudiosos de la AF como bioindicador cuando registraron que los niveles de asimetría eran mayores en poblaciones silvestres que en urbanas, aunque los autores atribuyen este hallazgo a que las presiones de selección en ambientes urbanizados eliminan a los individuos asimétricos. Los anfibios suelen ser más susceptibles a cambios en el ambiente que el resto de los tetrápodos y, sin embargo, la

ocupación humana en diferentes hábitats de la rana *Bokermannohyla saxicola* no ocasionó AF en la especie (Eterovick et al., 2016).

Otros tipos de modificaciones del hábitat producto de las actividades antropogénicas también han demostrado ser factores causantes de AF en la herpetofauna. Por ejemplo, los caminos para vehículos todo terreno, ocasionaron AF en *Sceloporus occidentalis* (Tull & Brussard, 2010), la creación de un campo de golf aumentó la asimetría en *Ambystoma maculatum* (Wright & Zamudio, 2002), y el despejado de áreas boscosas promovió la AF en dos especies de geckos, *Oedura reticulata* y *Gehyra variegata* (Sarre, 1996).

Finalmente, otra fuente de AF bien estudiada es la presencia de contaminantes de origen antropogénico, incluyendo pesticidas o desechos. Al medir la AF en la lagartija *Podarcis sicula*, Simbula et al. (2021) registraron que el nivel de asimetría en los poros femorales de la especie eran diferentes entre una población sujeta a un uso convencional de pesticidas y otra en un agroecosistema en el que no se usaban pesticidas, siendo la AF menor en esta última. En otro caso, habitar en un relleno sanitario demostró generar un aumento en la AF del sapo *Rhinella marina* respecto a sus conespecíficos que habitan en bosques, pese a que esta especie es poco susceptible a los cambios antropogénicos e inclusive es considerada invasora (Maldonado-López et al., 2022).

Metodologías para el estudio de la asimetría fluctuante en anfibios y reptiles

Para poder evaluar la asimetría fluctuante en organismos con simetría bilateral como los son los anfibios y reptiles, es necesario identificar estructuras bilaterales que se puedan usar como referencia. Algunas características morfológicas como el pliegue gular de lagartijas del género *Anolis*, las crestas de los coritofánidos, o la aleta dorsal de ajolotes, no pueden ser usadas para el

análisis de la AF ya que son estructuras que, si bien se desarrollan bilateralmente, se presentan sobre el plano sagital como una estructura única y no poseen una división lateral visible. Existen tres tipos de mediciones que se pueden utilizar en el estudio de la AF, las medidas de morfometría lineal son distancias tomadas de un punto a otro que generalmente abarcan una estructura de interés, de esta se obtienen variables continuas, un ejemplo de esto sería medir las extremidades de un organismo. Algunas modificaciones de este tipo de medición implican calcular el área de determinadas características, principalmente de elementos del patrón de coloración. La evaluación merística, por su parte, se obtiene de características contables, de esta se obtienen variables discretas, el ejemplo más común de este tipo de medición es la escutelación en reptiles; en anfibios el conteo de los pliegues costales o del número de manchas en el patrón de coloración dorsal se pueden utilizar para evaluar la AF. El tercer tipo de medición, y tal vez el más complejo, es la morfometría geométrica. Bookstein (1982) la definió como una fusión empírica entre la geometría y la biología, y es un conjunto de herramientas de estadística multivariada aplicada al estudio de coordenadas en un plano cartesiano (conocidas como landmarks) que comúnmente representan un punto anatómico de interés (Slice, 2007). También se puede estudiar una serie de puntos continuos que describan la curvatura de una estructura anatómica, el utilizar coordenadas continuas permite trazar una “línea” que se adapte a la curva de la estructura de interés, estos son conocidos como semilandmarks (Zelditch et al., 2012).

En el caso tanto de las medidas de morfometría lineal como de los conteos merísticos, se suele emplear el cálculo de índices de asimetría (IA), siempre basados en las diferencias de los valores obtenidos en cada lado. Como se mencionó anteriormente, uno de estos índices, y el más simple, se obtiene restando el valor del lado izquierdo al del lado derecho ($IA = D - I$), sin embargo, es recomendable utilizar este índice con valores absolutos ($IA = |D - I|$) o la tasa $IA = D/I$ (Palmer

& Strobeck, 1986). Estos índices miden la asimetría en cada individuo y se utilizan a su vez para obtener valores poblacionales (ver Palmer & Strobeck, 1986). Para realizar comparaciones de los niveles de AF se debe emplear el valor absoluto, ya que, al utilizar estos valores para la bioindicación, no es importante saber la dirección hacia la que está sesgada la asimetría, solo lo es la magnitud de esta. Diferentes métodos se han utilizado para medir las diferencias en los valores absolutos de la asimetría, Crnobrnja-Isailovic et al. (2005) utilizaron un ANOVA de dos vías para medir las diferencias en AF entre poblaciones y sexos, además, emplearon el promedio de la característica métrica evaluada como covariable para eliminar el efecto que pudiera tener la cantidad de escamas presente en cada organismo. Otro método utilizado fue propuesto por Palmer & Strobeck (1986) y utilizado por Dosselman et al. (1998), este consiste en evaluar la asimetría fluctuante comparando los valores absolutos de $D - I$ mediante una prueba de Levene, esto solo una vez que se haya corroborado que no existe asimetría direccional o antisimetría en los caracteres evaluados, mediante la observación de la distribución de los datos del IA (Van Valen, 1962; Palmer & Strobeck, 1986), si no existe otro tipo de asimetría, toda la dispersión en los datos del IA corresponderán a desviaciones lejos de la media (que en teoría será cero), mientras mayor sea la dispersión, existirá un mayor grado de AF. El que es considerado por muchos autores como el método definitivo y ha sido utilizado en estudios sobre herpetofauna (Lazić et al., 2013; Garrido & Pérez-Mellado, 2014), es el también propuesto por Palmer & Strobeck (1986) basado en un ANOVA de dos vías en el que se emplean el individuo como factor fijo y el lado como factor al azar, la interacción de ambos factores revela la presencia de AF y la significancia estadística del factor lado indica asimetría direccional.

El uso de técnicas de morfometría geométrica ofrece múltiples ventajas sobre la morfometría tradicional: la descripción de las estructuras es más precisa, permite el uso de métodos

estadísticos robustos, y los métodos de visualización facilitan la comunicación de los resultados (Zelditch et al., 2012). En cuanto al estudio de la herpetofauna, las técnicas de morfometría geométrica se han empleado para el estudio de la AF en la forma de la cabeza de lagartijas utilizando escamas cefálicas (Vukov et al., 2019; Alagić et al. 2021) o el cráneo (Urošević et al., 2015), el plastrón de tortugas (Parés-Casanova et al., 2020) y la silueta de un sapo (Maldonado-López et al., 2022). De la estructura que se someterá a estudio debemos tener imágenes obtenidas mediante un método estandarizado, si se tomarán fotos, los parámetros y las condiciones del sitio en que se tomó la foto deben ser siempre las mismas, si se usará alguna técnica de imagenología para observar estructuras internas, el método deberá llevarse a cabo siempre de la misma manera y por la misma persona. Es de suma importancia que la estructura a estudiar sea biológicamente representativa para poner a prueba las hipótesis del investigador, y bloquear cualquier posible fuente de variación, intrínseca o extrínseca, que pudiera modificar la forma de la característica estudiada. La forma de la cabeza, tanto empleando escamas como observaciones directas del cráneo, y el plastrón o carapacho de tortugas, son estructuras que se ven poco o nulamente influenciadas por la condición del animal al realizar la foto, únicamente la rotación del organismo sobre su eje longitudinal podría influenciar estas características. Por otro lado, utilizar escamas en las extremidades o sobre el dorso, la propia forma o silueta del cuerpo, o incluso el patrón de coloración dorsal, podría sesgar los datos por efecto de la tensión de los músculos del organismo o por la respiración de este, por lo tanto, al utilizar este tipo de características, el investigador debe considerar utilizar organismos fijados, anestesiados o expuestos a bajas temperaturas. Las estructuras a estudiar se pueden clasificar en dos grupos, si se estudian estructuras pares presentes a ambos lados del organismo se trata de asimetría de coincidencia, si por otro lado se estudia una estructura única que se divide en izquierda y derecha sobre un plano,

se trata de asimetría de objeto, La principal diferencia metodológica al trabajar con los dos tipos de estructuras es que en el caso de la asimetría de coincidencia se va a reflejar una de las configuraciones (por ejemplo reflejar la extremidad posterior derecha sobre la izquierda) para que los landmarks coincidan en su posición en ambas estructuras, para la asimetría de objeto se reflejará la mitad izquierda de la estructura sobre el lado derecho y viceversa para tener dos configuraciones que se compararán representando cada uno al lado que se reflejó. Una vez que se seleccionó la estructura a estudiar, toca elegir los landmarks o semilandmarks que van a describir dicha estructura. De acuerdo con Zelditch et al. (2012) existen cinco aspectos que se deben cuidar al escoger los landmarks: 1) los landmarks deben ser homólogos en todos los organismos estudiados, 2) deben cubrir adecuadamente la forma de la característica anatómica de interés, 3) la región anatómica a la que el landmark representará debe ser fácilmente identificable, 4) los landmarks no deben cambiar su posición unos respecto a otros, y 5) los landmarks deben encontrarse sobre el mismo plano anatómico. El siguiente paso será eliminar toda fuente de variación que no dependa de la forma, para ello se debe escalar, rotar y trasladar a todas las configuraciones de landmarks de los diferentes organismos, la superimposición de Procrustes es el método más extensamente utilizado para este fin (Zelditch et al., 2012). En la mitología griega, Procusto o Procrustes era hijo de Poseidón y encargado de una posada en Ática. Ofrecía resguardo a los viajeros demostrando una inmensa amabilidad poniendo a su disposición un lecho sobre el cual pudieran recostarse. Mientras los viajeros dormían en el lecho, Procusto los amordazaba, pues éste en realidad era un bandido, para ver si el cuerpo de su ahora víctima se ajustaba al lecho, si el viajero prisionero era más alto que el lecho largo, Procusto cortaba sus extremidades, si por el contrario este era más chico que el lecho, lo estiraba hasta que tuviera el mismo largo. Es por esto por lo que la superimposición recibe el nombre del bandido pues busca

minimizar las diferencias entre las configuraciones de landmarks (Zelditch et al., 2012), ajustándolas al “lecho de Procasto”. Tras haber eliminado toda fuente de variación que no dependa de la forma. Las nuevas coordenadas Procrustes obtenidas de la superimposición que lleva el mismo nombre, se someterán a un ANOVA mixto de dos vías que emplea como factor fijo al individuo y como factor fijo el lado, tal como ocurre con el análisis propuesto para morfometría clásica, en morfometría geométrica recibe el nombre de ANOVA de Procrustes, la interacción significativa de ambos factores revela la presencia de asimetría fluctuante, ya que implica que el factor individual no posee el mismo efecto sobre ambos niveles del factor lado (Klingenberg & McIntyre, 1998). Finalmente, es posible calcular dos tipos de distancia que cumplirían la función de un índice de asimetría con datos de morfometría geométrica, estos son la distancia de Procrustes (la raíz cuadrada de la distancia al cuadrado sumada entre landmarks homólogos en dos configuraciones de landmarks después de la superposición de Procrustes) y la distancia de Mahalanobis (la distancia al cuadrado entre las medias de dos grupos dividida por las matrices de varianza-covarianza agrupadas; Mitteroecker y Gunz, 2009; Klingenberg y Monteiro, 2014).

Asimetría fluctuante de la herpetofauna en Latinoamérica

Son escasos los trabajos que utilizan la asimetría fluctuante en América Latina para evaluar el estrés ambiental o genético en poblaciones de anfibios y reptiles. Gómez-Benitez (2017) registró la ausencia de asimetría fluctuante en dos características de escutelación de la lagartija

Aspidoscelis costatus costatus, cuando esta habitaba en sitios urbanizados. Reyes-Velázquez (2021) probó que no existen diferencias significativas en la asimetría fluctuante en el patrón de escutelación entre las especies partenogenéticas del complejo *Aspidoscelis cozumela* y sus especies gonocóricas relacionadas. Para la lagartija *Sceloporus aeneus*, se registró que el grado

de AF en características merísticas y de morfometría lineal, en tres morfotipos de machos, es similar (Andrade-Soto, 2021). Sarmiento Bravo (2004) demostró que el grado de asimetría fluctuante en medidas de morfometría lineal en la rana *Hyla labialis* aumenta a medida que disminuye la temperatura, aumenta la concentración de CO₂, disminuye la concentración de calcio, disminuye la alcalinidad, y aumentan la diversidad y riqueza de las comunidades bacterianas en los cuerpos de agua en que se colectaron a las ranas. Otro aporte de América Latina es el estudio previamente mencionado de Maldonado-López et al. (2022), en el que se registra la presencia de AF en la silueta de *Rhinella marina* como consecuencia de habitar en un relleno sanitario. De estos estudios sobre la asimetría fluctuante en la herpetofauna podemos observar que cuatro de ellos son tesis, concretamente de licenciatura y solo uno es un artículo publicado. Cuatro de estos trabajos se realizaron en México, tres en el Estado de México (aunque uno de ellos con especies de la Península de Yucatán) y el cuarto en Jalisco. El único trabajo no realizado en México se llevó a cabo de Bogotá, Colombia, revelando que solo dos de los 20 países que conforman América Latina, solo dos han utilizado a la asimetría fluctuante como bioindicador en anfibios y reptiles. Recapitulando, la ciencia en América Latina ha aportado información de suma importancia al estudio de la AF en la herpetofauna: aumentando el conocimiento que se tiene sobre la interacción entre la urbanización y la AF, revelando la relación de la AF con la partenogénesis, revelando la relación de la AF con la variación en la coloración de machos, revelando como las condiciones de los ambientes acuáticos producen un incremento en la AF y probando que las condiciones en un relleno sanitario pueden generar estrés ambiental y por ende ocasionar AF.

Conclusiones

El uso de la AF como potencial bioindicador de diversos factores causantes de estrés ambiental en la herpetofauna es innegable, pese a las discordancias que puedan existir en los resultados ha demostrado confiabilidad para detectar distrés, principalmente debido a actividades antropogénicas. Sin embargo, es necesario que futuros estudios aborden el uso de la AF con cautela y busquen llegar a la causa última de estrés ambiental. Los ambientes urbanizados, por ejemplo, presentan una cantidad exuberante de modificaciones respecto a los ambientes silvestres que pudieran causar estrés ambiental en los anfibios y reptiles, algunos en mayor medida que otros, causando así AF. Además, desconocemos el efecto que el cambio climático acelerado tenga en la AF de estos organismos ectotérmicos, o si esta actúa concomitantemente junto con otras fuentes de distrés naturales o de origen antrópico. Al estudiar diferentes poblaciones que estén sujetas a diferentes niveles de un posible factor causante de estrés, subestimamos todas las demás variables antropogénicas o naturales que pudieran variar entre los sitios estudiados, atribuyendo el distrés a una causa única. Por lo anterior, se debe tratar a la AF como una respuesta multifactorial teniendo en cuenta que, entre distintas ciudades, distintos agroecosistemas o distintos ambientes perturbados, los factores determinantes del estrés ambiental varían en diversos sentidos. Las características de historia natural de las especies también pueden jugar un papel importante en la resistencia a cambios abruptos en el ambiente, por esto, nace la necesidad de usar diversos modelos para determinar el grado de afectación por un mismo factor ambiental.

Para el correcto estudio de la AF es necesario corroborar que la asimetría presente en la estructura sometida a estudio es, en efecto, AF, esto mediante la observación de la distribución de los datos o la aplicación del ANOVA de Procrustes, este último se puede aplicar incluso en medidas de morfometría clásica. Aplicar morfometría clásica o morfometría geométrica

dependerá de los objetivos del estudio, comprender la asimetría en el largo de una extremidad y su significado adaptativo requerirá de análisis completamente diferentes a los que utilizaríamos para tratar de entender el efecto del estrés ambiental en etapas tempranas de un cambio abrupto en el ambiente. En ambos casos existen índices de asimetría que podemos utilizar para comparaciones subsecuentes, pero el valor de estos como bioindicadores dependerá de si se comprobó la presencia de AF previamente, de lo contrario, solo se estaría comparando el grado de simetría direccional o antisimetría, que tienen un significado evolutivo.

Agradecimientos

A CONACyT por la beca de doctorado para AGB, así como a Erika Adriana Reyes Velázquez y Gabriel Suárez Varón por haber revisado la versión final del manuscrito.

Literatura citada

Alagić A., M. Krofel, M. Lazić, & A. Žagar. 2021. Effects of biotic and abiotic stressors on asymmetries and head size in two sympatric lizard species. *Animal Biology* 71: 329–347.

Andrade-Soto, G. 2021. Polimorfismo en una lagartija de alta montaña: el caso de los machos de *Sceloporus aeneus* (Squamata: Phrynosomatidae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. México.

Araújo, M.B., W. Thuiller & R.G. Pearson. 2006. Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe. *Journal of Biogeography* 33:1712-1728.

Băncilă, R., I. Van Gelder, E. Rotteveel, J. Loman & J.W. Arntzen. 2010. Fluctuating asymmetry is a function of population isolation in island lizards. *Journal of Zoology* 282:266-275

- Bookstein, F.L. 1982. Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 451-470.
- Coda, J.A., J.J. Martínez, A.R. Steinmann, J. Priotto & M.D. Gomez. 2017. Fluctuating Asymmetry as an Indicator of Environmental Stress in Small Mammals. *Mastozoología Neotropical* 24:313-321.
- Crnobrnja-Isailovic, J., I. Aleksic & D. Bejakovic. 2005. Fluctuating asymmetry in *Podarcis muralis* populations from Southern Montenegro: detection of environmental stress in insular populations. *Amphibia-Reptilia* 26:149-158.
- Dosselman, D.J., G.B. Schaalje & J.W. Sites Jr. 1998. An analysis of fluctuating asymmetry in a hybrid zone between two chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Squamata: Phrynosomatidae) in Central Mexico. *Herpetologica* 54:434-447.
- Eterovick, P.C., B.L. Sloss, J.A.M. Scalzo, & R.A. Alford. 2016. Isolated frogs in a crowded world: Effects of human-caused habitat loss on frog heterozygosity and fluctuating asymmetry. *Biological Conservation* 195:52–59.
- Fernández, R. & T. Gabaldón. 2020. Gene gain and loss across the metazoan tree of life. *Nature Ecology & Evolution* 4:524-533.
- Fränzle, O. 2003. Bioindicators and environmental stress assesment. Pp. 41-84. En B. A. Market, A. M. Breure & H. G. Zechmeister (Eds.), *Bioindicators and biomonitors*. Pergamon Press, Oxford, England, United Kingdom.

Garrido, M. & V. Pérez-Mellado. 2014. Assessing factors involved in determining fluctuating asymmetry in four insular populations of the Balearic lizard *Podarcis lilfordi*. *Salamandra* 50: 147-154.

Gibbon, J.W., D.E. Scott, T.J. Ryan, K.A. Buhlmann, T.D. Tuberville, B.S. Metts, J.L. Greene, T. Mills, Y. Leyden, S. Poopy & C.T. Winne. 2000. The Global Decline of Reptiles, Déjà Vu Amphibians. *Bioscience* 50:653-666.

Hillman S.S., Drewes, R.C., Hedrick, M.S., Hancock T.V. 2014. Physiological vagility and its relationship to dispersal and neutral genetic heterogeneity in vertebrates. *Journal of Experimental Biology* 217: 3356–3364.

Gómez-Benitez, A. 2017. Efecto de la urbanización en *Aspidoscelis costata costata*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. México.

Klingenberg, C.P. & G.S. McIntyre. 1998. Geometric Morphometrics of Developmental Instability: Analyzing Patterns of Fluctuating Asymmetry with Procrustes Methods. *Evolution* 52: 1363-1375.

Klingenberg, C.P. & L.R. Monteiro. 2005. Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Systematic Biology* 54:678–688.

Koehn, R.K., & B.L. Bayne. 1989. Towards a physiological and genetical understanding of the energetics of the stress response. *Biological Journal of the Linnean Society* 37:157–171.

Lazić M.M., A. Kaliontzopoulou, M.A. Carretero, J. Crnobrnja-Isailović. 2013. Lizards from Urban Areas Are More Asymmetric: Using Fluctuating Asymmetry to Evaluate Environmental Disturbance. *Plos One* 8:e84190.

- Leamy L.J. & C.P. Klingenberg. 2005. The Genetics and Evolution of Fluctuating Asymmetry. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36:1-21.
- Leary, R.F. & F.W. Allendorf. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* 4:214-217.
- Leung, B., M.R. Forbes, D. Houle. 2000. Fluctuating Asymmetry as a Bioindicator of Stress: Comparing Efficacy of Analyses Involving Multiple Traits. *The American Naturalist* 155:101-115.
- Maldonado-López Y., I.S. Prieto-Dueñas, Y. Tapia-Torres, M.A.Z. Borges, I. Suazo-Ortuño & P. Cuevas-Reyes. 2022. Fluctuating asymmetry and oxidative stress indicate environmental stress of Cane toads *Rhinella marina*. *Zoologischer Anzeiger* 299:234-242.
- Manuel, M. 2009. Early evolution of symmetry and polarity in metazoan body plans. *Comptes Rendus Biologies* 332:184-209.
- Mirč, M., N. Tomašević Kolarov, S. Stamenković & T. D. Vukov. 2019. Asymmetry in the common wall lizard *Podarcis muralis* under different levels of urbanization: the effect of trait and FA index selection. *Archives of Biological Sciences* 71:501-508.
- Mitteroecker, P. & P. Gunz. 2009. Advances in geometric morphometrics. *Evolutionary Biology* 36:235–247.
- Nosenko, T., F. Schreiber, M. Adamska, M. Adamski, M. Eitel, J. Hammel, M. Maldonado, W.E.G. Müller, M. Nickel, B. Schierwater, J. Vacelet, M. Wiens & G. Wörheide. 2013. Deep metazoan phylogeny: When different genes tell different stories. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 67:223-233.

- Palmer, A.R. & C. Strobeck. 1986. Fluctuating asymmetry: Measurement, analysis, pattern. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:391-421.
- Parés-Casanova, P.M., J. Soler, T. Buisán & A. Martínez-Silvestre. 2022. Symmetry-Breaking Stabilities in Carapace Curvature on *Testudo* (Reptilia, Testudinidae). *Animals* 12:471.
- Reyes-Velázquez, E. A. 2021. Patrones de escutelación en el complejo *Aspidozelis cozumela*: variación y asimetría fluctuante. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. México.
- Rivas, L.R. 1964. A reinterpretation of the concepts “sympatric” and “allopatric” with proposal of the additional terms “syntopic” and “allotopic”. *Systematic Zoology* 13:42-43.
- Rivera, G. & Nelly C. M. D. 2020. Patterns of fluctuating asymmetry in the limbs of freshwater turtles: Are more functionally important limbs more symmetrical? *Evolution* 74:660-670.
- Sacchi, R., M.S. Polo, A.J. Coladonato, M. Mangiacotti, S. Scali, & M.A. Zuffi. 2018. The exposition to urban habitat is not enough to cause developmental instability in the common wall lizards (*Podarcis muralis*). *Ecological Indicators*, 93:856-863.
- Sarmiento-Bravo, C. 2004. Efecto ambiental sobre la asimetría en tres poblaciones de *Hyla labialis* (Anura: Hylidae). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes. Colombia.
- Sarre, S. 1996. Habitat fragmentation promotes fluctuating asymmetry but not morphological divergence in two geckos. *Researches on Population Ecology* 38:57–64.

- Simbula, G., L. Vignoli, M.A. Carretero & A. Kaliontzopoulou. 2021. Fluctuating asymmetry as biomarker of pesticides exposure in the Italian wall lizards (*Podarcis siculus*). *Zoology* 147:125928.
- Slice, D.E. 2007. Geometric morphometrics. *Annual Review of Anthropology* 36:261-281.
- Sommer, C. 1996. Ecotoxicology and developmental stability as an in situ monitor of adaptation. *Ambio* 25:374–376.
- Urošević, A., K. Ljubisavljević & A. Ivanovic. 2015. Fluctuating asymmetry and individual variation in the skull shape of the common wall lizard (*Podarcis muralis* Laurenti, 1768) estimated by geometric morphometrics. *Herpetological Journal* 25:177-186.
- Van Valen, L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16:125-142.
- Vitt, L.J. & J.P. Caldwell. 2014. *Herpetology an introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Vukov, T., M. Mirč, N. Tomašević Kolarov & S. Stamenković. 2020. Urbanization and the common wall lizard (*Podarcis muralis*) in the Pannonian basin, Serbia: nowhere safe? *Journal of Zoology* 310:158-169.
- Werner, Y.L., D. Rothenstein & N. Sivan. 1991. Directional asymmetry in reptiles (Sauria: Gekkonidae: *Ptyodactylus*) and its possible evolutionary role, with implications for biometrical methodology. *Journal of Zoology* 225:647-658.
- Winchell K.M., D. Briggs & L.J. Revell. 2019. The perils of city life: patterns of injury and fluctuating asymmetry in urban lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* 126:276–288.

Zelditch, M.L., D.L. Swiderski. & H.D. Sheets. 2012. Geometric morphometrics for biologists: a primer. Academic Press, Cambridge, Massachusetts, USA.

Figura 1. La simetría bilateral se presenta en organismos que tienen un solo plano de simetría, a cada lado de este se desarrollan dos mitades idénticas que son el reflejo una de la otra. Este tipo de simetría se presenta de manera constante en los grupos más derivados de los metazoarios (incluyendo a los anfibios y reptiles), sin embargo, otros tipos de simetría también son comunes en dicho grupo como la simetría radial en la cual se desarrollan n planos de simetría sobre un eje central, la simetría cilíndrica que consiste en un solo eje central alrededor del cual existe un número infinito de planos de reflexión, y finalmente existen organismos en los que la asimetría es la regla. Si bien la AF ha sido mayormente estudiada en organismos bilateralmente simétricos, es posible estudiarla en organismos con otros tipos de simetría, aunque los métodos serán específicos de cada uno. Imagen construida con información de Manuel (2009), Nosenko et al. (2013) y Fernández & Gabaldón (2020).

Figura 2. Tipos de asimetría de acuerdo con la distribución que presentan los datos de la diferencia entre el lado izquierdo y derecho en cada uno de estos.

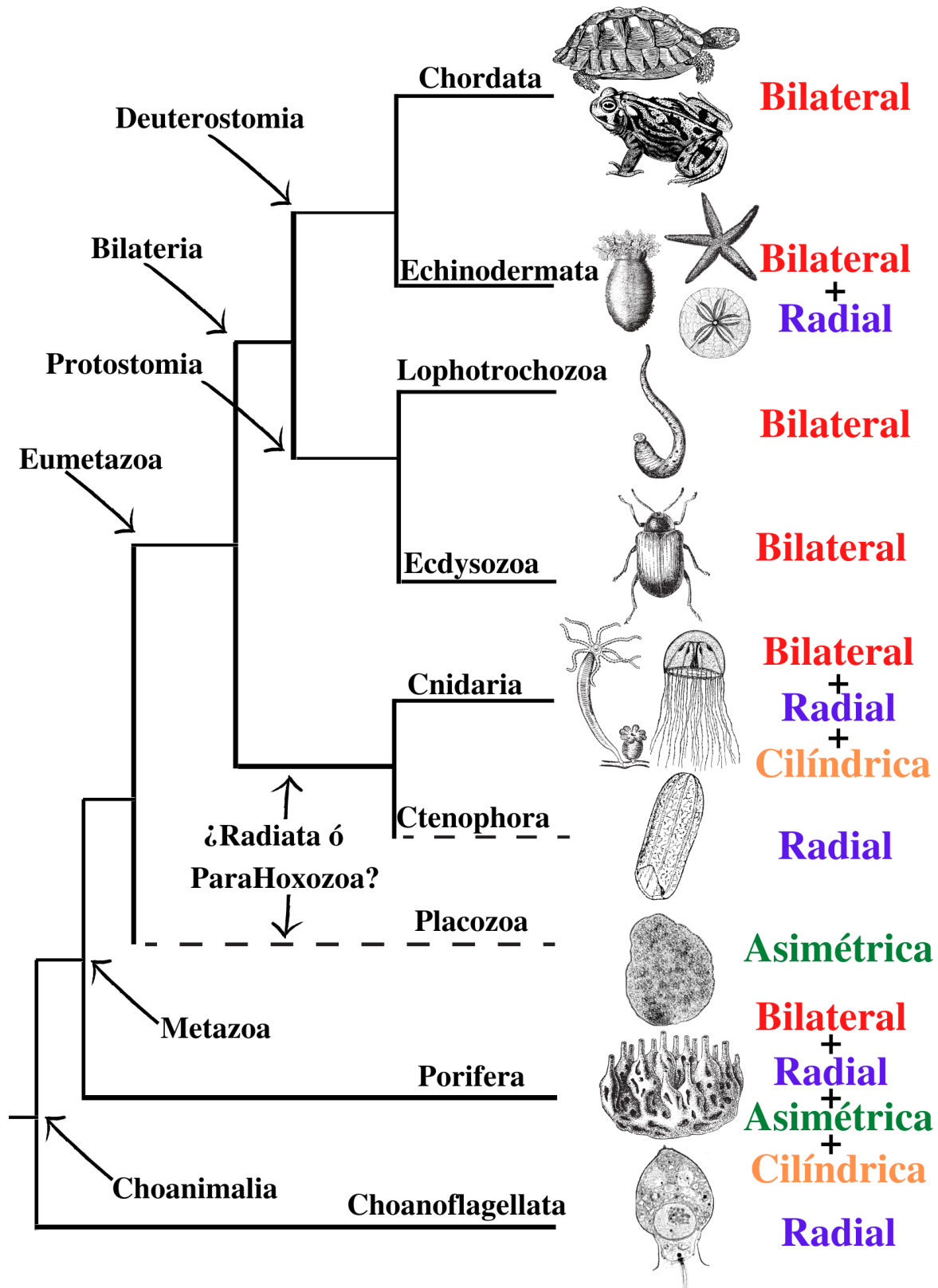


Figura 1

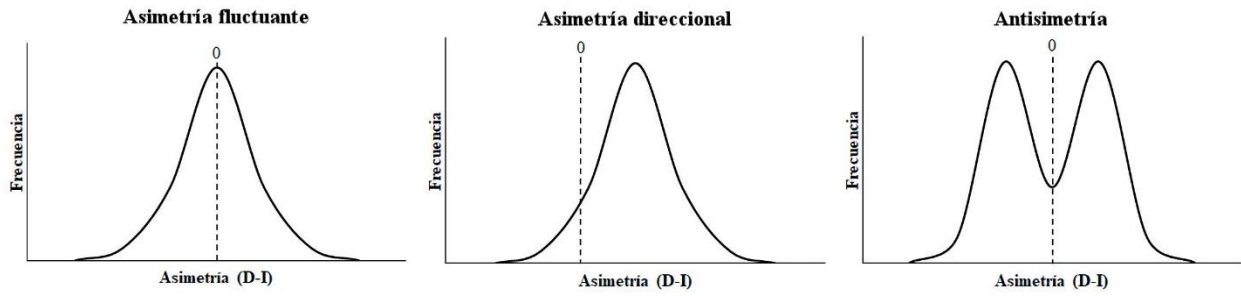


Figura 2