

Biogeografía

Diversidad y divergencia de 10 especies de anfibios de la Cuenca del Río Santiago como resultado del vulcanismo en el Cinturón Volcánico Transmexicano

Diversity and divergence of 10 amphibian species from the Santiago River Basin as a result of vulcanism in the Trans-Mexican Volcanic Belt

Jorge Quezada-Hipolito ^a, Eric N. Smith ^{b, *}, Ileri Suazo-Ortuño ^a, Javier Alvarado-Díaz ^a,
Clementina González ^c, Panupong Thammachoti ^b y Utpal Smart ^b

^a Laboratorio de Herpetología, Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, San Juanito Itzicuaro s/n Col. Nueva Esperanza, 58337 Morelia, Michoacán, México

^b Amphibian and Reptile Diversity Research Center, Department of Biology, The University of Texas at Arlington, Arlington TX 76019, EUA

^c Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, San Juanito Itzicuaro s/n Col. Nueva Esperanza, 58337 Morelia, Michoacán, México

*Autor para correspondencia: e.smith@uta.edu (E.N. Smith)

Recibido: 25 agosto 2017; aceptado: 11 febrero 2019

Resumen

Durante la historia del Cinturón Volcánico Transmexicano, diversos eventos geológicos relacionados con su formación han producido barreras para especies de tierras altas, propiciando aislamiento y diversificación de sus poblaciones. En este estudio investigamos las relaciones filogenéticas entre poblaciones de anfibios en zonas altas de la Cuenca del Río Santiago de Jalisco y Nayarit, México. Se utilizaron 33 ejemplares pertenecientes a 10 especies encontrados entre 1,400 y 2,915 m snm, provenientes de 10 cerros y volcanes. Adicionalmente, se incluyeron 55 muestras de poblaciones externas al área de estudio. Amplificamos un fragmento del gen *cytb* y usando calibraciones con fósiles y dataciones secundarias, estimamos tiempos de divergencia entre poblaciones. Las estimaciones indican divergencias entre especies que ocurrieron durante el Neógeno debido probablemente a episodios geológicos, mientras que las divergencias intraespecíficas sucedieron principalmente durante el Cuaternario. Se dan a conocer nuevos patrones que ayudan a comprender la historia evolutiva de especies de tierras altas.

Palabras clave: Divergencia; Historia evolutiva; Episodios geológicos

Abstract

During the Trans-Mexican Volcanic Belt history, geological events related to its formation have produced barriers for highland species, favoring isolation and population diversification. In this study, we investigated the phylogenetic relationships between amphibian populations from the highlands of the Santiago River Basin in Jalisco and Nayarit, Mexico. We sampled 33 individuals belonging to 10 species, from 10 volcanoes and mountains, and along altitudinal

gradients from 1,400 to 2,915 m asl. Additionally, 55 samples from populations outside of the study area were included. We amplified a fragment of the *cytb* gene and using fossils and secondary calibrations we estimated divergence times between species and their populations, using a Bayesian approach. Divergence estimates suggest that separations between species occurred during the Neogene, probably due to geological episodes in the region, while intraspecific divergences occurred mainly during the Quaternary. Our results reveal new patterns that can help the understanding of evolutionary history in highland species.

Keywords: Divergence; Evolutionary history; Geological episodes

Introducción

México ocupa el quinto lugar en diversidad de anfibios (Alvarado-Díaz et al., 2013; González-Hernández et al., 2014; Parra-Olea et al., 2014), siendo alrededor de 60% de las especies endémicas. Sin embargo, el endemismo no es homogéneo, éste se concentra principalmente en las islas del golfo de California, la Sierra Madre del Sur (SMS) de Guerrero y Oaxaca y en el Cinturón Volcánico Transmexicano (Grismer, 2002). La gran complejidad topográfica de México ha creado 2 importantes centros de diversificación donde se forma una gran cantidad de especies endémicas: el Cinturón Volcánico Transmexicano (CVT) y la Depresión del Balsas-Tepalcatepec (Flores-Villela, 1991; Luna-Vega, 2008). El CVT está constituido por alrededor de 8,000 estructuras volcánicas (Demant, 1978) a lo largo de aproximadamente 1,000 km de longitud, y de acuerdo a fechamientos isotópicos, esta región se formó durante el Mioceno medio y tardío (Ferrari et al., 1999). El CVT está dividido en 3 sectores con respecto a su geología y características tectónicas: occidental, central y oriental (Demant, 1978; Pasquaré et al., 1988). Particularmente, el sector occidental está localizado entre la costa del Pacífico y la triple conjunción formada por la intersección de los graben Zacoalco, Chapala y Colima (Allan, 1986 en Gómez-Tuena et al., 2007). Gómez-Tuena et al. (2007) dividieron el CVT en 4 episodios evolutivos: 1) la instauración de un arco de composición intermedia en el Mioceno medio y tardío, 2) un episodio máfico del Mioceno tardío, 3) un episodio silíceo de finales de Mioceno que llega a ser bimodal en el Plioceno temprano, y 4) la reinstauración de un arco con gran variabilidad composicional a partir del Plioceno tardío. Durante este último episodio se formaron algunas de las montañas y conos volcánicos de la Cuenca del Río Santiago (CRS) en el centro de Jalisco, siendo estos de reciente formación geológica (1.8-3 Ma; Ferrari et al., 1999, 2012; Gómez-Tuena et al., 2007).

Del mismo modo que los episodios geológicos, los eventos climáticos que han ocurrido en la historia de esta región han ocasionado la diferenciación y radiación de una gran cantidad de especies (Flores-Villela, 1991). Dichos eventos han producido cambios en la demografía y diversificación de las especies de montaña en diferentes

regiones (Hewitt, 1996; Castoe et al., 2009; Ornelas et al., 2013; Shepard y Burbrink, 2008). Se han propuesto diferentes teorías para explicar la historia evolutiva de los taxones de zonas altas de México. Por ejemplo, Bryson (2011) y Bryson et al. (2011) consideran que el desplazamiento y expansión de la vegetación de las tierras altas a través de México durante los ciclos glaciales del Pleistoceno pudieron haber permitido la dispersión de taxones de los sitios altos, lo cual resultó en el contacto entre taxones previamente aislados y la colonización de nuevos hábitats. Se ha probado que las poblaciones de distintos grupos taxonómicos restringidas a hábitats montañosos presentan mayores niveles de divergencia genética en relación con otras poblaciones (Guarnizo y Cannatella, 2013; McCormack et al., 2008; Shepard y Burbrink, 2008, 2009), lo que sugiere que las tierras bajas que se encuentran entre los sistemas montañosos, funcionan como barreras de aislamiento que impiden el flujo génico (Shepard y Burbrink, 2008, 2009). A pesar del alto nivel de endemismo y divergencia genética potencial, en ciertos grupos se han realizado pocos trabajos explorando la diversificación histórica en taxones de zonas montañosas en México (Bryson et al., 2011; O'Neill et al., 2013; Velo-Antón et al., 2013; Wiens et al., 2007).

Los anfibios presentan un conjunto de características biológicas como son: baja vagilidad, vulnerabilidad ante cambios ambientales y baja tolerancia a factores climáticos extremos (Flores-Villela, 1993), que junto con la topografía accidentada de México, en particular del CVT, hacen un modelo ideal para esclarecer patrones históricos de diversificación. Particularmente, es posible investigar eventos de colonización y plantear hipótesis biogeográficas en especies codistribuidas sobre posibles eventos comunes de vicarianza y dispersión. En zonas con poca información geológica, los resultados de estudios filogeográficos son muy importantes para esclarecer procesos, aunque es complicado obtener un resultado robusto (Castoe et al., 2009; Riddle y Hafner, 2006). Sin embargo, en zonas donde la información geológica se encuentra disponible, como es el caso de la región oeste del CVT, es posible encontrar concordancia entre la historia de la tierra y la historia de los taxones.

Las estimaciones de tiempos de divergencia en conjunto con la inferencia filogenética son métodos

ampliamente utilizados y tienen un importante uso al proveer información relevante para esclarecer los patrones de diversificación entre los grupos (Castoe et al., 2009; Ho y Phillips, 2009). Las estimaciones de tiempos de divergencia se han utilizado como una herramienta de la filogeografía para investigar la evolución de las especies, proponiendo teorías de vicarianza y dispersión, e identificando procesos geológicos y climáticos que han influido en los procesos evolutivos de diferentes grupos biológicos (Lanteri y Confalonieri, 2003), como por ejemplo anfibios, aves, insectos, mamíferos, reptiles, peces, plantas, etc. (de Sá et al., 2012; Ericson et al., 2014; Glazko y Nei, 2003; Li et al., 2012; Morris et al., 2007; Reznick et al., 2017; Ruiz-Sánchez y Specht, 2013; Townsend et al., 2011; Zakharov et al., 2004). Es por esto que los resultados obtenidos de las estimaciones de tiempos de divergencia han colaborado en gran medida a tener un mejor entendimiento de cómo y porqué se han diversificado distintos grupos. Originalmente, las estimaciones de tiempos de divergencia se hacían para poblaciones de una sola especie, sin embargo, un enfoque superior a esto es comparar escenarios filogeográficos con especies codistribuidas que proporcione más información y provea un mayor sustento de hipótesis para esclarecer patrones filogeográficos (Avise, 2009; Castoe et al.,

2009; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2011). El presente estudio explora las relaciones filogenéticas entre los individuos de distintas poblaciones de 10 especies de anfibios de las zonas altas de la CRS, en los estados de Jalisco y Nayarit. Las especies estudiadas son: *Isthmura belli*, *Spea multiplicata*, *Hypopachus variolosus*, *Dryophytes eximius*, *D. arenicolor*, *Incilius occidentalis*, *Eleutherodactylus nitidus*, *Craugastor occidentalis*, *C. augusti* y *Lithobates neovolcanicus*. Específicamente, se estiman los tiempos de divergencia entre poblaciones y se infieren procesos geológicos que pudieron haber influido en la historia evolutiva de los taxones estudiados.

Materiales y métodos

Se recolectaron muestras de 33 individuos pertenecientes a 10 especies de anfibios (siguiendo la taxonomía presentada por Frost, 2018; tabla 1) entre el 10 de septiembre y el 10 de octubre del 2015 en un gradiente altitudinal desde los 1,400 hasta los 1,915 m snm en zonas altas de 10 cerros y volcanes de la Cuenca del Río Santiago en los estados de Jalisco y Nayarit, México (fig. 1). Los ejemplares recolectados fueron preservados en alcohol al 70% mientras que los tejidos provenientes de falanges se preservaron en alcohol anhidro.

Tabla 1

Ejemplares recolectados y utilizados en el análisis para el cálculo de las estimaciones de tiempos de divergencia (señalados con un asterisco) depositados en la Colección Herpetológica de la Universidad Michoacana (CHUM). También se incluyen los individuos tomados de Herpetological Collections at the University of Texas at Arlington (ARDRC) y las secuencias tomadas del GenBank.

Taxón	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank	Base de datos
<i>Aneides lugubris</i>	Tapanatepec, Oaxaca			L75820	GenBank
<i>Dryophytes eximius</i>	El Tejacate, Oaxaca	MZFC 4814	17°13.80'N, 097°0.00'O	AY843856	GenBank
<i>Incilius marmoreus</i>	El Mezquital, Durango	UTA: A-13032	23°36'59.832" N, 04°21'26.208" O	HM563957	GenBank
<i>Incilius mazatlanensis</i>	Catemaco, Veracruz	MZVZ 132967	NA	HM563958	GenBank
<i>Incilius occidentalis</i>	Alamos, Sonora	UTA: A-13543	NA	HM563962	GenBank
<i>Incilius occidentalis</i>	Norte de Sonora	JAC 24762	NA	JQ947893	GenBank
<i>Incilius valliceps</i>	Baja California	MZFC JRM 3868	NA	HM563971	GenBank
<i>Lithobates catesbeiana</i>	USA	NA	NA	AY210399	GenBank
<i>Lithobates chiricahuensis</i>	NA	NA	NA	KM523313	GenBank
<i>Lithobates forreri</i>	Virginia, USA	NA	38°41'36" N, 79°05'44" O	KU194581	GenBank
<i>Lithobates neovolcanica</i>	Virginia, USA	KU 194536	39°11'48" N, 78°47'30" O	KX269310	GenBank
<i>Plethodon dunni</i>	El Paisano Veracruz	pdun5	NA	AY183763	GenBank

Tabla 1
 Continuación.

Taxón	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank	Base de datos
<i>Plethodon punctatus</i>	Edo de México	67638	NA	AY378078	GenBank
<i>Plethodon virginia</i>	Apizaco-Chignahuapan, Puebla	75901	NA	AY378049	GenBank
<i>Isthmura bellii</i>	Atoyac, Guerrero	MVZ 143784	17°42'12.463" N, 100°4'16.3524" O	AY864689	GenBank
<i>Isthmura bellii</i>	Ciudad Guzman, Jalisco	MVZ 143795	NA	AY864691	GenBank
<i>Isthmura bellii</i>	Raices, Edo de México	MVZ 143803	NA	AY864687	GenBank
<i>Isthmura bellii</i>	Charo, Michoacán	GP 048	NA	AF451194	GenBank
<i>Aquiloerycea cephalica</i>	Zurumbueno, Michoacán	IBH 22603	NA	AF451195	GenBank
<i>Pseudoerycea leprosa</i>	Sinaloa	IBH 22406	NA	KP900069	GenBank
<i>Pseudoerycea longicauda</i>	Carolina del Sur, USA	IBH 22247	NA	KP900053	GenBank
<i>Scaphiopus couchii</i>	NA	MVZ161886	NA	JX564894	GenBank
<i>Spea multiplicata</i>	Chignahuapan, Puebla	NA	NA	EU285643	GenBank
* <i>Craugastor augusti</i>	Cerro Cuautepetl, Jalisco	JQH 192	20°37'49.7" N, 104°1'44.2" O	MF535935	CHUM
* <i>Craugastor augusti</i>	Volcán Tequila, Jalisco	JQH 285	20°48'45.5" N, 103°50'53.7" O	MF535936	CHUM
* <i>Craugastor augusti</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 320	21°27'32" N, 104°44'24.3" O	MF535937	CHUM
* <i>Craugastor augusti</i>	Cerro Alto, Nayarit	JQH 385	21°27'15.4" N, 104°58'25.6" O	MF535938	CHUM
* <i>Craugastor augusti</i>	Volcán Ceboruco, Nayarit	JQH 504	21°7'5.3" N, 104°30'3.3" O	MF535939	CHUM
* <i>Craugastor occidentalis</i>	Bosque la Primavera, Jalisco	JQH 166	20°35'34.3" N, 103°31'43.9" O	MF535940	CHUM
* <i>Craugastor occidentalis</i>	Cerro Cuautepetl, Jalisco	JQH 202	20°37'51.55" N, 104°1'42.96" O	MF535941	CHUM
* <i>Craugastor occidentalis</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 322	21°27'24.12" N, 104°44'20.97" O	MF535942	CHUM
* <i>Craugastor occidentalis</i>	Cerro Alto, Nayarit	JQH 337	21°27'0" N, 104°58'4.3" O	MF535943	CHUM
* <i>Craugastor occidentalis</i>	Volcán Tepetiltic, Nayarit	JQH 420	21°15'11.6" N, 104°42'57.41" O	MF535944	CHUM
* <i>Craugastor occidentalis</i>	Cerro Grande, Nayarit	JQH 443	21°10'16.4" N, 104°44'22.1" O	MF535945	CHUM
* <i>Craugastor occidentalis</i>	Volcán Ceboruco, Nayarit	JQH 451	21°8'0.41" N, 104°30'9.09" O	MF535946	CHUM
* <i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Cerro Alto, Nayarit	JQH 378	21°27'16.7" N, 104°58'27.6" O	MF535947	CHUM
* <i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Volcán Tepetiltic, Nayarit	JQH 397	21°15'10.2" N, 104°42'51.1" O	MF535948	CHUM
* <i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Cerro Grande, Nayarit	JQH 445	21°10'5.1" N, 104°44'32.2" O	MF535949	CHUM
* <i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Volcán Ceboruco, Nayarit	JQH 481	21°7'5.3" N, 104°30'3.3" O	MF535950	CHUM

Tabla 1
 Continuación.

Taxón	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank	Base de datos
<i>Eleutherodactylus</i> sp.	Cerro Cuautepetl, Jalisco	JQH 249	20°37'45.69" N, 104°1'37.44" O	MF535951	CHUM
* <i>Dryophytes arenicolor</i>	Sierra de San Juan, Jalisco	JQH 7	20°19'45.98" N, 103°13'26.32" O	MF535952	CHUM
* <i>Dryophytes arenicolor</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 110	20°23'54.5" N, 103°25'2.6" O	MF535953	CHUM
* <i>Dryophytes arenicolor</i>	Cerro Cuautepetl, Jalisco	JQH 227	20°37'44.04" N, 104°1'27.8" O	MF535954	CHUM
* <i>Dryophytes arenicolor</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 305	21°27'23.08" N, 104°44'24.99" O	MF535955	CHUM
* <i>Dryophytes arenicolor</i>	Volcán Tepetiltic, Nayarit	JQH 441	21°15'11.34" N, 104°42'57.68" O	MF535956	CHUM
* <i>Dryophytes arenicolor</i>	Volcán Ceboruco, Nayarit	JQH 484	21°7'8.1" N, 104°29'51.5" O	MF535957	CHUM
* <i>Dryophytes eximius</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 53	20°23'47.2" N, 103°25'47.2" O	MF535958	CHUM
* <i>Dryophytes eximius</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 303	21°27'34.6" N, 104°44'35.76" O	MF535959	CHUM
* <i>Dryophytes eximius</i>	Volcán Tepetiltic, Nayarit	JQH 437	21°15'10.26" N, 104°42'57.03" O	MF535960	CHUM
* <i>Hypopachus variolosus</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 118	20°23'59.1" N, 103°24'45.9" O	MF535961	CHUM
* <i>Incilius occidentalis</i>	Cerro Cuautepetl, Jalisco	JQH 180	20°39'12" N, 104°3'1.6" O	MF535962	CHUM
* <i>Lithobates neovolcanicus</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 34	20°23'47.2" N, 103°25'21.2" O	MF535963	CHUM
* <i>Lithobates neovolcanicus</i>	Cerro Cuautepetl, Jalisco	JQH 183	20°39'12" N, 104°3'6" O	MF535964	CHUM
* <i>Isthmura bellii</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 83	20°21'47.1" N, 103°25'57.2" O	MF535965	CHUM
* <i>Spea multiplicata</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 100	20°23'47" N, 103°25'6.7" O	MF535966	CHUM
<i>Craugastor</i> sp.	Carretera a Ixtlahuacan, Colima	JAC 28321	19°14'45.6" N, 103°46'48.36" O	MF535967	ARDRC
<i>Craugastor</i> sp.	Villa Union-Concordia, Sinaloa	JAC 30595	23°16'23.16" N, 106°7'12" O	MF535968	ARDRC
<i>Craugastor augusti</i>	2.2 km N Cartagenas, Jalisco	JAC 23346	21°59'7.152" N, 103°20'49.56" O	MF535969	ARDRC
<i>Craugastor augusti</i>	Tepalcatepec- Coalcoman, Michoacán	JAC 24786	18°47'41.028" N, 103°8'46.5" O	MF535970	ARDRC
<i>Craugastor augusti</i>	Agua Fria, Colima	JAC 28298	19°18'44.388" N, 104°40'14.772" O	MF535971	ARDRC
<i>Craugastor occidentalis</i>	9.4 km S de Autlán, Jalisco	JAC 23910	19°41'18.312" N, 104°23'43.872" O	MF535972	ARDRC
<i>Craugastor occidentalis</i>	Tecolapa, Colima	JAC 30503	19°3'7.92" N, 103°47'2.65" O	MF535973	ARDRC
<i>Eleutherodactylus</i> sp.	Tapalpa, Jalisco	JAC 28612	20°17'25.296" N, 103°36'17.64" O	MF535974	ARDRC

Tabla 1
 Continuación.

Taxón	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank	Base de datos
<i>Eleutherodactylus</i> sp.	9.5 km S de Autlán, Jalisco	JAC 23947	19°41'18.672" N, 104°23'31.02" O	MF535975	ARDRC
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	7.3 km E La Estancia, Jalisco	JAC 23704	20°44'45.528" N, 104°50'36.24" O	MF535976	ARDRC
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Uruapan, Michoacán	JAC 26947	19°26'22.884" N, 102°40'17.4" O	MF535977	ARDRC
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Colima a Minatitlan, Colima	JAC 29107	19°25'9.0948" N, 103°59'40.362" O	MF535978	ARDRC
<i>Eleutherodactylus</i> sp.	7.7 km SE La Estancia, Jalisco	JAC 23670	20°41'52.26" N, 104°52'53.8932" O	MF535979	ARDRC
<i>Eleutherodactylus</i> sp.	Playitas-Torre de Microondas, Mich.	JAC 25412	18°25'46.416" N, 102°34'15.96" O	MF535980	ARDRC
<i>Eleutherodactylus teretistes</i>	Mazatlan-Tepic, Nayarit	JAC 25880	21°33'16.668" N, 104°56'49.56" O	MF535981	ARDRC
<i>Dryophytes arenicolor</i>	8.5 km S de Autlán, Jalisco	JAC 23937	19°41'43.872" N, 104°23'25.26" O	MF535982	ARDRC
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Atemajac de Brizuela-Tapalpa, Jalisco	JAC 26924	19°34'21.828" N, 103°27'27.072" O	MF535983	ARDRC
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Uruapan-Tancitaro, Michoacán	JAC 26961	19°19'25.889" N, 102°20'51.216" O	MF535984	ARDRC
<i>Dryophytes eximius</i>	2.2 km N Cartagenas, Jalisco	JAC 23332	21°59'24" N, 103°20'27.816" O	MF535985	ARDRC
<i>Dryophytes eximius</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 28645	19°57'51.48" N, 103°39'18.252" O	MF535986	ARDRC
<i>Hypopachus variolosus</i>	Apatzingan-Tepalcatepec, Michoacán	JAC 24734	19°9'23.868" N, 102°28'43.896" O	MF535987	ARDRC
<i>Hypopachus variolosus</i>	Minatitlan-Manzanillo, Colima	JAC 27994	19°18'19.44" N, 104°8'52.764" O	MF535988	ARDRC
<i>Hypopachus variolosus</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 28607	20°17'25.296" N, 103°36'17.64" O	MF535989	ARDRC
<i>Incilius cf. occidentalis</i>	Jilotlán Jalisco	JAC 24117	19°18'28.404" N, 102°56'24" O	MF535990	ARDRC
<i>Incilius occidentalis</i>	Playitas, Michoacán	JAC 25387	20°17'25.29" N, 103°36'17.64" O	MF535991	ARDRC
<i>Incilius occidentalis</i>	Norte de Sonora	JAC 24762	NA	MF535998	ARDRC
<i>Lithobates cf. neovolcanicus</i>	4.7 km E El Jacal, Jalisco	JAC 23785	20°22'11.064" N, 104°36'7.2" O	MF535992	ARDRC
<i>Lithobates forreri</i>	4.5 km E La Huerta, Jalisco	JAC 23860	19°27'43.776" N, 104°36'24.192" O	MF535993	ARDRC
<i>Isthmura bellii</i>	Talpa de Allende-El Cuale, Jalisco	JAC 30695	20°21'35.928" N, 105°34'26.4" O	MF535994	ARDRC
<i>Spea multiplicata</i>	3 km NE Cartagenas, Jalisco	JAC 23352	21°59'6.36" N, 103°19'50.52" O	MF535995	ARDRC
<i>Spea multiplicata</i>	Casimiro Castillo, Jalisco	JAC 23957	19°36'28.44" N, 103°29'33.396" O	MF535996	ARDRC
<i>Spea multiplicata</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 26909	20°11'24.36" N, 103°43'12.936" O	MF535997	ARDRC

Los ejemplares se depositaron en la Colección Herpetológica de la Universidad Michoacana (CHUM; Permiso SGPA/DGVS/00655/1). Adicionalmente, se utilizaron 32 muestras de las mismas especies provenientes de poblaciones externas al área de estudio. Dichas muestras provienen de los estados de Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa y Sonora de la Sierra Madre Occidental (SMOc), Planicie Costera (PC) y Sierra Madre del Sur tomadas de la colección de tejidos del Amphibian and Reptile Diversity Research Center (ARDRC), University of Texas at Arlington. También se utilizaron 23 secuencias tomadas de GenBank para fortalecer el análisis (tabla 1). Basándonos en múltiples filogenias, incluimos algunos grupos hermanos de las especies encontradas en los volcanes (de Sá et al., 2012; García-París et al., 2003; Mendelson et al., 2011; Pyron y Wiens, 2011; Wiens et al., 2009).2015

El ADN fue extraído del tejido muscular usando el protocolo de perlas magnéticas de Rohland y Reich (2012). A los tejidos se les agregó 100 µl de Lysis buffer y 5 µl de proteinasa K (al tejido difícil de disolver se adicionó 10 µl de proteinasa K extra), después fueron incubados a 55 °C por 2 horas; sin embargo, el periodo de incubación, en algunos casos, requirió de 24 horas adicionales. La purificación del ADN se hizo con Serapure (160 ml), las muestras fueron limpiadas usando 2 enjuagues de alcohol

(25 ml) y dejándolas en una solución de Tris pH 8 (50 ml). Amplificamos un fragmento del gen *cytb* con una longitud de 385 pb con el forward primer, MVZ15 (Moritz et al., 1992) y el reverse primer H15149 (Irwin et al., 1991) mediante PCR. Se eligió un gen mitocondrial por ser ADN no recombinante, por su origen matrilineal y debido a su relativamente rápida tasa de evolución factor adecuado para esclarecer procesos de especiación recientes (Antonelli et al., 2009; Dirienzo y Wilson, 1991). Las reacciones de PCR se hicieron en volúmenes de 25 µl (12.5 µl de green taq, 1 µl de forward primer, 1 µl de reverse primer, 2 µl de ADN y 8.5 µl de agua ultrapura). El perfil de ciclo térmico que se utilizó para los anfibios incluye 39 ciclos de 94 °C de desnaturalización, 48 °C de hibridación y 72 °C de elongación. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa y secuenciados con protocolos estándar asociados con química de terminación BigDye® (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), en las instalaciones de genómica de UTA (University of Texas at Arlington, EUA; gcf.uta.edu). Las secuencias se ensamblaron y se limpiaron en el programa Sequencher 5.4.1 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, EUA). Una vez limpias, las secuencias fueron alineadas de forma automática en el programa MEGA versión 7 (Kumar et al., 2016) y de manera manual para verificar el alineamiento y hacer correcciones.

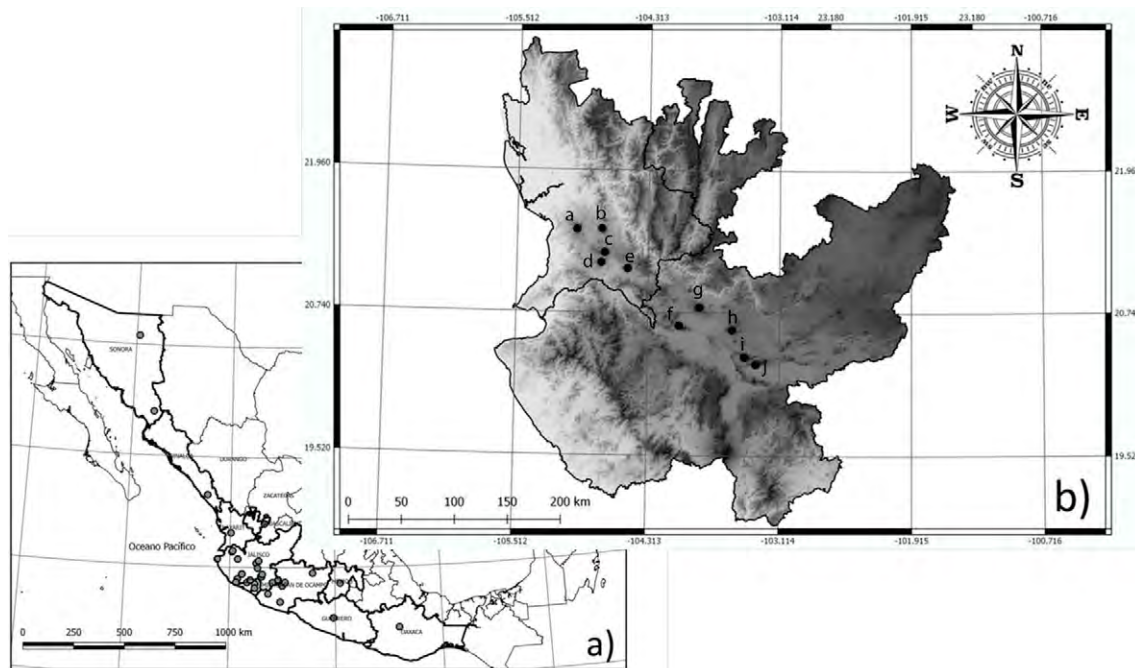


Figura 1. Localización del área de estudio. a) En círculos grises se muestran las localidades externas a los sitios de colecta; b) en círculos negros se muestran los 10 cerros y volcanes pertenecientes a la Cuenca del Río Santiago en Jalisco y Nayarit, donde se realizaron las recolectas: a = cerro Alto; b = Sangangüey; c = volcán Tepetitlic; d = cerro Grande; e = volcán Ceboruco, Nayarit; f = cerro Cuauhtépetl; g = volcán de Tequila; h = bosque La Primavera; i = cerro Vielo; j = San Juan Cosala, Jalisco.

Tabla 2

Estimaciones de tiempos de divergencia obtenidas por inferencia bayesiana. Se muestra la media, los límites inferior y superior de los intervalos de credibilidad del 95% en unidades de millones de años.

Nodo	Inferior	Media	Superior
Origen de <i>Isthmura belli</i>	9.59	20.23	34.3
Origen de <i>Spea multiplicata</i>	20.42	21.47	25.96
Origen de <i>Incilius occidentalis</i>	10.37	17.23	28.2
Origen de <i>Hypopachus variolosus</i>	15.15	17.14	19.1
Origen de <i>Eleutherodactylus nitidus</i>	13.76	19.6	31.36
Origen de <i>Craugastor occidentalis</i>	22.82	25.59	39.23
Origen de <i>Craugastor augusti</i>	22.82	25.59	39.23
Origen de <i>Lithobates neovolcanicus</i>	6.25	12.27	20.44
Origen de <i>Dryophytes eximius</i>	13.63	14.3	16.4
Origen de <i>Dryophytes arenicolor</i>	13.63	14.3	16.4
Origen de <i>Craugastor</i>	26.53	41.31	61.19
Origen de <i>Eleutherodactylus</i>	26.53	41.31	61.19

Las estimaciones de tiempos de divergencia se realizaron en el programa BEAST v.1.8.4 (Drummond et al., 2006) usando un reloj molecular relajado no correlacionado lognormal, con el modelo de Yule y constriñendo nodos de los órdenes y de las familias, basándonos en filogenias previas (de Sá et al., 2012; García-París et al., 2003; Hillis y Wilcox, 2005; Marjanovic y Laurin, 2014; Mendelson et al., 2011; Parra-Olea, 2002; Pyron y Wiens, 2011; Wiens et al., 2009) e incluimos como grupos externos a *Aquiloeruycea cephalica*, *Plethodon dunni*, *P. punctatus*, *P. virginia*, *Pseudoeruycea leprosa*, *P. longicauda*, *Eleutherodactylus teretistes*, *Incilius marmoreus*, *I. mazatlanensis*, *I. valliceps*, *Lithobates catesbeiana*, *L. chiricahuensis*, *L. forreri* y *Scaphiopus couchii*. La selección del mejor modelo de evolución molecular fue a través del programa jModel Test v.2.1.9 (Darriba et al., 2012). El análisis se corrió con 20 millones de generaciones, almacenando muestras cada 1,000 generaciones. Los resultados se visualizaron en TRACER v.1.6 para verificar que el tamaño de muestra efectivo (ESS) fuese adecuado. Una vez obtenidos los árboles se eliminó el 10% con un límite de probabilidad posterior de 0.5 y para obtener un árbol consenso se usó el programa TreeAnnotator v.1.8.4 (Drummond et al., 2012). Se utilizaron edades mínimas de 7 fósiles para calibrar: 1) *Rhinella marina* (Wilson, 1968) fechado en 10.3-13.6 Ma durante el Mioceno, utilizado para calibrar el nodo de *Incilius*; 2) *Craugastor* sp. fechado en 22.8-23 Ma (Serrano-Sánchez et al., 2015) el cual es el ancestro más reciente y cercano del que se tiene registro dentro de México; 3) *Eleutherodactylus* sp. (Poinar y Canatella,

1987) fechado en 13.7-20.4 Ma durante el Mioceno, utilizado para calibrar a las especies de este género debido a la carencia de un fósil más cercano a México; 4) *Hyla miocenica* (Tedford et al., 1987) fechado en 13.6-16 Ma durante el Mioceno, utilizado para calibrar las especies del género *Hyla*; 5) *Amphiuma jepseni* (Rose, 1981) fechado en 56.8-61.7 Ma durante el Paleoceno, utilizado para el nodo de la familia Plethodontidae, ya que esta especie es del grupo hermano de esa familia; 6) *Rana* sp. (White, 1942) fechado en 16-20.4 Ma durante el Mioceno utilizado para el nodo de *Lithobates* ya que es el fósil más antiguo para el género; 7) *Spea neuter* (Kluge, 1966) fechado en 20.4-24.8 durante el Mioceno, utilizado para el género *Spea*, ya que es un ancestro común de dicho género. Además de los fósiles, se incluyeron calibraciones secundarias para algunos nodos. Específicamente, se incluyeron 2 dataciones secundarias para calibrar el nodo de los anuros (155 Ma) y de *Hypopachus* (17.4 Ma; de Sá et al., 2012; Pyron y Wiens, 2011). Para todas las calibraciones con fósiles se utilizaron parámetros de distribución lognormal, mientras que para todas las calibraciones secundarias se usaron parámetros de distribución normal.

Resultados

En general, la probabilidad posterior inferida para las divergencias entre las especies fue alta (fig. 2). Los resultados de las estimaciones de tiempos de divergencia que se reportan a continuación están basados en intervalos de credibilidad del 95%. Todas las divergencias entre

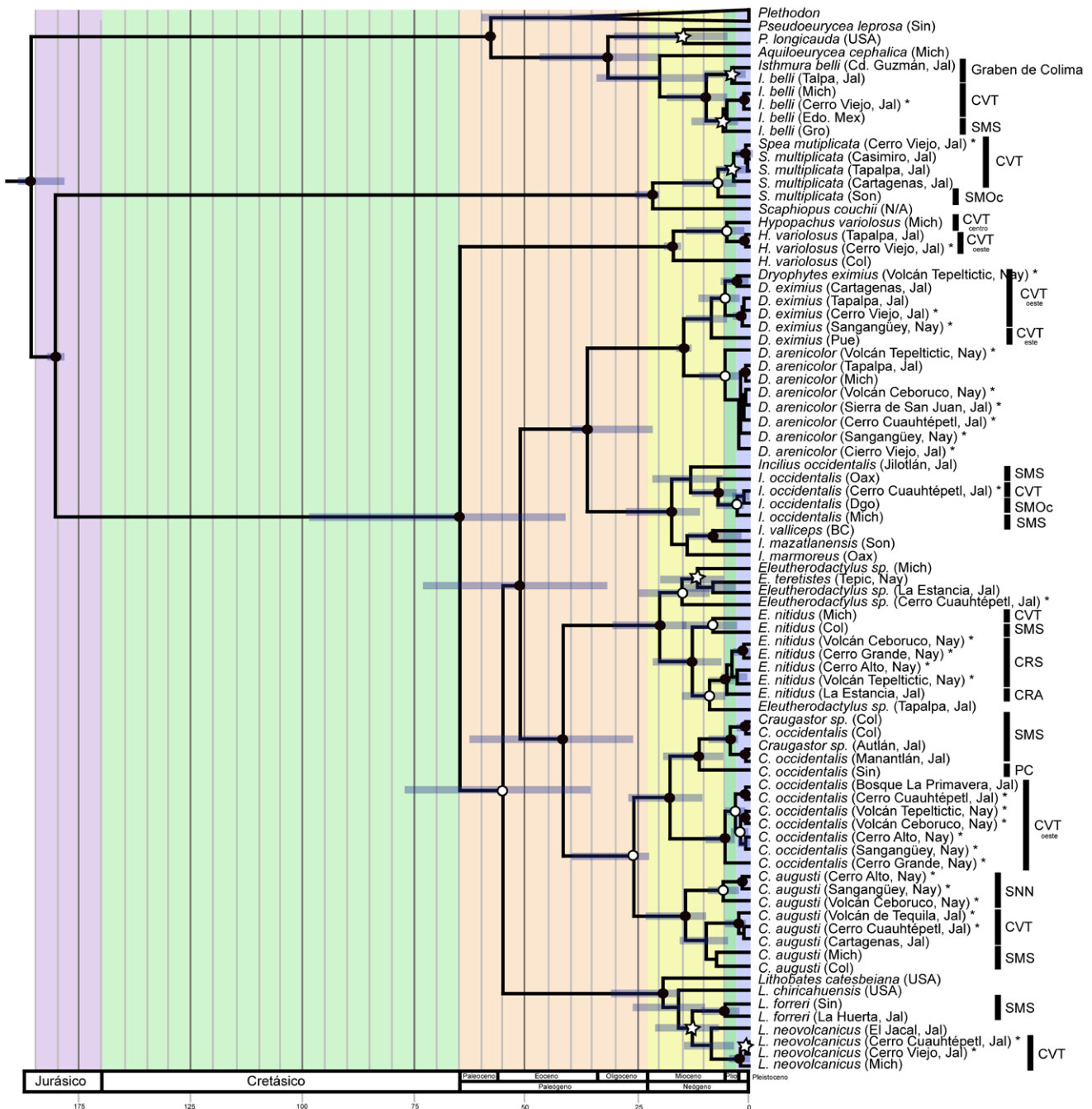


Figura 2. Estimación de los tiempos de divergencia (Ma) inferidos para las especies de anfibios de las zonas montañosas en la zona oeste del Eje Neovolcánico, usando un análisis filogenético bayesiano con reloj molecular relajado. Los nodos representan la media estimada, mientras que las barras azules representan los intervalos de credibilidad del 95% de los tiempos de divergencia. La probabilidad posterior está representada por círculos negros ≥ 0.99 , círculos blancos $\geq 90\% \leq 98$ y estrellas $\geq 70 \leq 89$. BC = Baja California, Col = Colima, Dgo = Durango, Edo. Mex = Estado de México, Gro = Guerrero, Jal = Jalisco, Mich = Michoacán, Nay = Nayarit, Oax = Oaxaca, Pue = Puebla, Sin = Sinaloa, Son = Sonora, Ver = Veracruz, CVT = Cinturón Volcánico Transmexicano, SMS = Sierra Madre del Sur, SMOc = Sierra Madre Occidental, CRS = Cuenca de Río Santiago, CRA = Cuenca del Río Ameca, PC = Planicie Costera, SNN = Sierras Neovolcánicas Nayaritas. Las especies recolectadas en los cerros y volcanes de la Cuenca del Río Santiago están marcadas con un asterisco.

especies, exceptuando a *Craugastor*, ocurrieron antes del Mioceno y la mayoría de las divergencias intraespecíficas ocurrieron durante el Mioceno, Plioceno y Pleistoceno. De las 10 especies de anfibios en las que se basa este trabajo, 9 presentan tiempos de divergencia intraespecíficos muy grandes, la mayoría durante el Mioceno. Sin embargo, esto debe tomarse con precaución debido a que los intervalos de credibilidad del 95% en muchos casos son grandes, debido probablemente a que solo se utilizó un marcador y a que el muestreo no está completo. La divergencia dentro de *Isthmura bellii* fue hace aproximadamente 9.7 (3.9-18.1 Ma; fig. 2) en donde se originaron 2 clados, el primero compuesto por las poblaciones del sur de Jalisco en la zona geológica conocida como el Graben de Colima y el segundo grupo compuesto por las poblaciones del CVT y de la SMS. Por otro lado, dentro de *Spea multiplicata*, la primera divergencia ocurrió hace 6.9 (1.7-14.9) Ma entre poblaciones de Sonora y del CVT, mientras que para *Incilius occidentalis* la divergencia calculada entre clados del CVT, SMOc y SMS fue de 2.8 (0.78-6.23) Ma. Dentro del clado de *H. variolosus*, la primera divergencia ocurrió hace 17.1 (15.1-19.1) Ma entre un individuo de Colima y un clado compuesto por los individuos del CVT del centro y del oeste. El tiempo de divergencia estimado entre *Dryophyte eximius* y *Dryophyte arenicolor* fue calculado en 14.3 (13.6-16.4) Ma. Dentro de las ranas de desarrollo directo, *Eleutherodactylus nitidus* forma 2 clados con divergencia durante el Mioceno, hace 12.4 (6.6-21) Ma. El primer clado está conformado por el CVT y la SMS mientras que el segundo clado por la CRS y la Cuenca del Río Ameca (CRA). Dentro del clado de *Eleutherodactylus* la divergencia entre las diferentes especies comenzó en el Mioceno hace 14.9 (7.8-25) Ma. Por los tiempos de divergencia obtenidos podemos sugerir que los 4 individuos incluyendo al del cerro Cuauhtépetl pertenecen a especies diferentes. El clado de *Craugastor occidentalis* presenta 2 grupos con un periodo de divergencia de 17.7 (9-27) Ma, durante el Mioceno. El primero es del oeste del CVT, dentro del cual comienza su divergencia entre los 4.9 (1.5-15.1) Ma en el Plioceno. El segundo grupo de *C. occidentalis* está formado por las poblaciones de la SMS y de la PC con tiempos de divergencia hace 11 (4.7-18.6) Ma. El segundo grupo de *Craugastor* está constituido por *C. augusti*, quien presenta una primera divergencia hace 14 (7.5-22) Ma en el Mioceno donde se separaron 2 clados, uno de ellos involucra a todos los de las SNN con divergencia hace 5 (1-12) Ma durante el Plioceno. El segundo grupo de *C. augusti* está conformado por 2 subgrupos, el del CVT y el de la SMS. Dentro de *Lithobates neovolcanicus* obtuvimos una divergencia en el Mioceno hace 8.4 (3.2-15) Ma entre el clado de la SMS y el CVT.

Discusión

Los patrones encontrados en las especies de anfibios estudiadas sugieren que los eventos de diversificación ocurrieron principalmente durante el Neógeno, probablemente influenciados por los eventos volcánicos de la región, inferido por los tiempos estimados y la concordancia geográfica. Estos mismos patrones filogeográficos se han encontrado en otras especies donde la formación del CVT (Castoe et al., 2009; Crawford et al., 2007; Devitt, 2006), así como otras regiones montañosas y eventos geológicos (Castoe et al., 2003; Crawford y Smith, 2005; Parra-Olea et al., 2004) han jugado un papel sumamente importante en la historia evolutiva de los taxones. En diferentes regiones fisiográficas encontramos estructura entre clados de especies, lo que sugiere que regiones como el CVT, la SMS y la SMOc presentan zonas bajas que los separan entre sí y que funcionan como barreras.

Los tiempos de divergencia entre poblaciones de algunas de las especies coinciden en algún momento con episodios volcánicos que ocurrieron en el CVT, sin embargo la mayoría de los tiempos de divergencia inferidos tienen intervalos de credibilidad muy amplios y se necesitarían más datos (otros marcadores y/o más especies o muestras) para tener resultados más robustos. Entre estos episodios, destacan los del episodio máfico del Mioceno tardío, que para *Isthmura bellii* probablemente afectó a Cerro Viejo hace 9-10.5 Ma, lo cual puede explicar la separación entre los individuos de Jalisco a pesar de su cercanía. Después, al norte de Colima y alrededor del lago de Chapala hubo actividad volcánica alrededor de 3.5-6 Ma lo cual puede explicar la divergencia dentro del clado del Graben de Colima, mientras que en la zona centro del CVT, hubo actividad volcánica hace aproximadamente 3.4-6 Ma, lo que podría explicar la divergencia del clado del CVT. Al igual que en *I. bellii*, la primera divergencia del grupo SMOc de CVT en *S. multiplicata* pudo deberse al vulcanismo silícico que ocurrió en el Mioceno tardío, aunque también pudo deberse a la formación de algunas cuencas como la de los ríos Mezquital y Santiago, que interrumpieron la conexión entre la SMOc y la zona oeste del CVT. Esta interrupción geográfica resultó en el aislamiento entre poblaciones de diferentes grupos (abejas, Anducho-Reyes et al., 2008; escarabajos, Salinas-Moreno et al., 2004; serpientes, Bryson et al., 2011). Los patrones biogeográficos de Coleoptera encontrados en trabajos como el de Corona et al. (2007) sugieren que la SMOc y la zona oeste del CVT están estrechamente relacionadas. Greenbaum et al. (2011) encontraron el mismo patrón que nosotros para *H. variolosus*. Ellos señalan que hubo

divisiones entre los clados de la costa del Pacífico durante el Mioceno, con subsecuentes divergencias en el Plioceno y Pleistoceno. Los resultados de *Incilius* concuerdan con trabajos anteriores, donde para especies de sapos de tierras bajas en México (Mulcahy y Mendelson, 2000; Mulcahy et al., 2006), al igual que en otros anfibios, reptiles y mamíferos (Castoe et al., 2003; Pérez-Higareda y Navarro, 1980; Zaldívar-Riverón et al., 2004), se proponen eventos de vicarianza durante el periodo Mioceno-Plioceno, asociado con la formación de sistemas montañosos como el CVT sugiriendo que los sistemas montañosos funcionan como barreras efectivas que promueven la diversificación de los taxones.

Nuestros resultados sobre *C. occidentalis* concuerdan con los de Streicher (2012) quienes encontraron un patrón biogeográfico similar para dicha especie. La formación de 2 clados dentro de *C. occidentalis* sugiere la posibilidad de que esta especie pudiese haber quedado aislada en la zona oeste del CVT debido a los procesos de formación dentro de esta cadena montañosa. El arco volcánico andesítico que ocurrió en la zona norte de la sierra de Manantlán del CVT durante el Plioceno tardío, explica la separación dentro de ramas de la SMS, mientras que la separación del individuo de Sinaloa, posiblemente se deba a la barrera entre ambas regiones fisiográficas. El mismo patrón filogeográfico entre clados del CVT y de la SMS encontrado para *C. augusti* y *L. neovolcanicus*, corresponde al encontrado en otros trabajos con distintos taxones (Devitt, 2006; Mateos, 2005; Mateos et al., 2002; Mulcahy y Mendelson, 2000; Pauly et al., 2004; Zaldívar-Riverón et al., 2004). Las divergencias estimadas entre clados de la zona sur-oeste del CVT son muy similares entre grupos taxonómicos. Dichas divergencias entre los clados son atribuidas al efecto que causan el CVT y la SMS, ya que entre ambas regiones existe una zona de baja altitud que funciona como barrera ecológica para esta especie. Sin embargo, el clado de SNN de *C. augusti* indica tener otra historia, donde las poblaciones pudieron haber quedado aisladas debido probablemente al vulcanismo silícico que ocurrió en esta zona, conduciendo al aislamiento entre las 2 poblaciones cercanas donde no hubo vulcanismo.

En la zona oeste del CVT se han encontrado muchos endemismos en diferentes grupos (aves, García-Trejo y Navarro, 2004; mamíferos, Arroyo-Cabrales et al., 2015; mariposas, Escalante y Llorente, 1985; plantas, Steinmann, 2002) aunque solo una serpiente endémica del volcán Ceboruco (Canseco-Márquez et al., 2007). Las estimaciones de tiempos de divergencia en *Lithobates* son similares a las obtenidas por Wiens et al. (2009), sin embargo, estos autores no incluyeron a *L. neovolcanicus* dentro de su trabajo.

Así como Castoe et al. (2003) encuentran una alta diversidad en *Atropoides nummifer* de diferentes zonas fisiográficas, nosotros también lo hicimos contemplando otros taxones. Castoe et al. (2009) consideraron evaluar poblaciones de *Cerrophidion godmani* de zonas altas por presentar un periodo de divergencia mayor a 5 Ma, nosotros concordamos con esta acción. Del mismo modo y basándonos en Parra-Olea et al. (2005), *I. bellii* tiene un patrón geográfico complicado donde las interacciones entre poblaciones es desconocida y no fueron resueltas debido al bajo soporte y a la alta divergencia entre poblaciones de diferentes regiones fisiográficas. Con esos hallazgos, sumados a las divergencias estimadas en este trabajo, podríamos sugerir una revisión más detallada de la especie ya que algunas poblaciones podrían considerarse como especies diferentes. Del mismo modo, ejemplares recolectados en sistemas montañosos diferentes como son el CVT, SMS y SMOc, presentan una diversificación mayor a 5 Ma, tales son los casos de *S. multiplicata*, *I. occidentalis*, *E. nitidus*, *C. augusti* y *L. neovolcanicus*, por lo que sugerimos estudios filogeográficos detallados de estas especies. El caso del clado de SNN de *C. augusti*, indica tener una historia diferente donde las poblaciones pudieron haber quedado aisladas, lo cual pudo deberse al vulcanismo silícico que ocurrió en esta zona; debido a este evento particular, *C. augusti* del volcán Ceboruco pudo haberse diferenciado desde entonces. Por otro lado, la divergencia entre *Gastrophryne* e *Hypopachus* fue hace 17 Ma, durante el Mioceno (de Sá et al., 2012; Van der Meijden et al., 2007), por lo que el individuo de Colima debe pertenecer al género *Gastrophryne*, esta evidencia sugiere un error en la determinación de dicho individuo posiblemente al momento de su recolecta.

Contrario a lo que sucedió con la mayoría de las especies, *Dryophytes eximius* y *D. arenicolor* no se vieron afectadas en gran medida por los episodios geológicos del Mioceno y Plioceno debido, probablemente, a que son especies generalistas que se pueden encontrar en un amplio rango altitudinal. La divergencia calculada entre estas 2 especies corresponde a la obtenida por Bryson et al. (2014), quienes la estimaron en 15.8 Ma (8-24.3) y gran parte de las divergencias de ambas especies ocurrieron durante el Pleistoceno. A pesar de que la mayoría de divergencias entre especies ocurrieron en el Mioceno y Plioceno, pensamos que las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno pudieron tener influencia en la diversificación de todas las especies de este trabajo, pero únicamente a nivel poblacional, ya que dichas poblaciones presentan un tiempo de divergencia muy corto dentro del CVT. Los resultados obtenidos concuerdan con trabajos anteriores resaltando la importancia de las tierras altas y su función como sitios promotores de diversificación.

Agradecimientos

Este estudio fue parte del proyecto “La biodiversidad y su resiliencia en paisajes modificados por actividades humanas” (PRODEP-SEP). También contó con financiamiento de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH. Los resultados de este estudio son parte de la tesis de maestría del autor principal, bajo la dirección de Ireri Suazo Ortuño en colaboración con Eric N. Smith. El autor principal agradece el apoyo del programa nacional de becas del Conacyt por la beca asignada y a la Maestría en Ciencias en Ecología Integrativa (MCEI), por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo. Al Programa Integral de Fortalecimiento Institucional (PIFI) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) y a la Red temática: Biología, manejo y conservación de la fauna nativa en ambientes antropizados (REFAMA), por el apoyo otorgado para la realización de la estancia en el extranjero del primer autor. Los autores agradecen el apoyo durante el trabajo de campo de Jonatan Arturo Torres Pérez Coeto. Las recolectas se hicieron bajo el permiso de la Dirección de Vida Silvestre, Semarnat, SGPA/DGVS/00655/1.

Referencias

- Allan, F. J. (1986). Geology of the Colima and Zacoalco grabens, SW Mexico: late Cenozoic rifting in the Mexican Volcanic Belt. *Geological Society of America Bulletin*, 97, 473–485.
- Alvarado-Díaz, J., Suazo-Ortuño, I., Wilson, D. L. y Medina-Aguilar, O. (2013). Patterns of physiographic distribution and conservation status of the herpetofauna of Michoacán, Mexico. *Amphibian and Reptile Conservation*, 7, 128–170.
- Anducho-Reyes, M. A., Cognato, A. I., Hayes, J. L. y Zúñiga, G. (2008). Phylogeography of the bark beetle *Dendroctonus mexicanus* Hopkins (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49, 930–940.
- Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A. J., Bates, J. M., Velazco, P. M. y Wüster, W. (2009). Molecular studies and phylogeography of amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models. En C. Hoorn y F. P. Wesselingh (Eds.), *Amazonia: landscape and species evolution. A look into the past*. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing Ltd.
- Arroyo-Cabrales, J., León-Paniagua, L., Ríos-Muñoz, C. A., Espinoza-Martínez, D. V. y Medrano-González, L. (2015). Mamíferos de Nayarit. *Revista Mexicana de Mastozoología Nueva Época*, 5, 33–62.
- Avice, J. C. (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36, 3–15.
- Bryson, R. W. (2011). *Historical diversification of montane herpetofauna within and between the sierras of Mexico (Tesis doctoral)*. University of Nevada, Las Vegas. EUA.
- Bryson, R. W., Murphy, R. W., Lathrop, A. y 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. *Journal of Biogeography*, 38, 697–710.
- Bryson, R. W., Smith, B. T., Nieto-Montes de Oca, A., García-Vázquez, U. O. y Riddle, B. R. (2014). The role of mitochondrial introgression in illuminating the evolutionary history of Nearctic treefrogs. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 172, 103–116.
- Canseco-Márquez, L., Smith, E. N., Ponce-Campos, P., Flores-Villela, O. y Campbell, J. A. (2007). A new species of *Tantilla* (Squamata: Colubridae) of the calamarina group from volcán Ceboruco, Nayarit, Mexico. *Journal of Herpetology*, 41, 220–224.
- Castoe, T. A., Chippindale, P., Campbell, J. A., Ammerman, L. K. y Parkinson, C. L. (2003). Evolutionary relationships of the Middle American Jumping Pitvipers (genus *Atropoides*) and phylogeography of the *Atropoides nummifer* complex. *Herpetologica*, 49, 421–432.
- Castoe, T. A., Daza, J. M., Smith, E. N., Sasa, M. M., Kuch, U., Campbell, J. A. et al. (2009). Comparative phylogeography of pitvipers suggests a consensus of ancient Middle American highland biogeography. *Journal of Biogeography*, 36, 88–103.
- Corona, A. M., Toledo, V. H. y Morrone, J. J. (2007). Does the Trans-Mexican Volcanic Belt represent a natural biogeographical unit? An analysis of the distributional patterns of the Coleoptera. *Journal of Biogeography*, 34, 1008–1015.
- Crawford, A. J., Bermingham, E. y Polanía, C. S. (2007). The role of tropical dry forest as a long-term barrier to dispersal: a comparative phylogeographical analysis of dry forest tolerant and intolerant frogs. *Molecular Ecology*, 16, 4789–4807.
- Crawford, A. J. y Smith, E. N. (2005). Cenozoic biogeography and evolution in direct-developing frogs of Central America (Leptodactylidae: *Eleutherodactylus*) as inferred from a phylogenetic analysis of nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35, 536–555.
- Darriba, D. G. L., Taboada, R. D. y Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, 772.
- de Sá, R., Streicher, J. W., Sekonyela, R., Forlani, M. C., Loader, S. P., Greenbaum, E. et al. (2012). Molecular phylogeny of microhylid frogs (Anura: Microhylidae) with emphasis on relationships among New World genera. *BMC Evolutionary Biology*, 12, 241.
- Demant, A. (1978). Características del Eje Neovolcánico Transmexicano y sus problemas de interpretación. *Instituto de Geología*, 2, 172–187.
- Devitt, J. T. (2006). Phylogeography of the Western Lyresnake (*Trimorphodon biscutatus*): testing aridland biogeographical hypotheses across the Nearctic–Neotropical transition. *Molecular Ecology*, 15, 4387–4407.
- Dirienzo, A. y Wilson, C. (1991). Branching pattern in the evolutionary tree for human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88, 1597–1601.

- Drummond, A. J., Ho, S. Y., Phillips, M. J. y Rambaut, A. (2006). Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biology*, 4, eBB. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040088.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D. y Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29, 1969–1973.
- Ericson, G. P., Klopstein, S., Irestedt, M., Nguyen, J. M. y Nylander, J. A. (2014). Dating the diversification of the major lineages of Passeriformes (Aves). *BMC Evolutionary Biology*, 14, 8.
- Escalante, P. P. y Llorente, J. B. (1985). Riqueza y endemismo de aves y mariposas como criterio para determinar áreas de conservación. Datos del estado de Nayarit, México. *Primer Simposio Internacional de fauna silvestre*. The Wildlife Society of Mexico, mayo/1985, México D.F.
- Ferrari, L., López-Martínez, M., Aguirre-Díaz, G. y Carrasco-Núñez, G. (1999). Space-time patterns of Cenozoic arc volcanism in central Mexico: from the Sierra Madre Occidental to the Mexican volcanic belt. *Geology*, 27, 303–306.
- Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V. y Manea, M. (2012). The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522, 122–149.
- Flores-Villela, O. (1991). *Análisis de la distribución de la herpetofauna de México (Tesis doctoral)*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Flores-Villela, O. (1993). Herpetofauna of Mexico: distribution and endemism. En T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (Eds.), *Biological diversity of Mexico: origins and distributions* (pp. 253–280). New York: Oxford University Press.
- Frost, D. R. (2018). Amphibian species of the world: an online reference. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. Recuperado el 20 Marzo 2018, de: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>
- García-París, M., Buchholz, D. R. y Parra-Olea, G. (2003). Phylogenetic relationships of Pelobatoidea re-examined using mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28, 12–23.
- García-Trejo, E. A. y Navarro, S. A. G. (2004). Patrones biogeográficos de la riqueza de especies y el endemismo de la avifauna en el oeste de México. *Acta Zoologica Mexicana*, 20, 167–185.
- Glazko, V. G. y Nei, M. (2003). Estimation of divergence times for major lineages of Primate species. *Molecular Biology and Evolution*, 20, 424–434.
- Gómez-Tuena, A., Orozco-Esquivel, M. T. y Ferrari, L. (2007). Igneous petrogenesis of the Trans-Mexican Volcanic Belt. En Alaniz-Álvarez, S. A. y Nieto-Samaniego, A. F. (Eds.), *Geology of México: celebrating the Centenary of the Geological Society of México: Geological Society of America special paper* (pp. 129–181). doi: 10.1130/2007.2422(05).
- González-Hernández, A. J., Hernández-Ordóñez, O., Cervantes-López, M. y Reynoso, V. H. (2014). Primer registro de la cecilia de montaña *Gymnopsis syntrema* (Amphibia: Gymnophiona: Dermophiidae) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 645–649.
- Greenbaum, E., Smith E. N. y de Sá, R. (2011). Molecular systematics of the Middle American genus *Hypopachus* (Anura: Microhylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 265–277.
- Grismer, L. L. (2002). *Amphibians and reptiles of Baja California in Pacific Island and the islands in the Sea of Cortes*. Berkeley: University of California.
- Guarnizo, E. C. y Cannatella, D. C. (2013). Genetic divergence within frog species is greater in topographically more complex regions. *Journal of Zoological Systematics Evolutionary Research*, 51, 333–340.
- Gutiérrez-García, T. A. y Vázquez-Domínguez, E. (2011). Comparative phylogeography: designing studies while surviving the process. *BioScience*, 61, 857–868.
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58, 247–276.
- Hillis, M. D. y Wilcox, T. P. (2005). Phylogeny of the New World truefrogs (*Rana*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34, 299–314.
- Ho, Y. W. S. y Phillips, M. J. (2009). Accounting for calibration uncertainty in phylogenetic estimation of evolutionary divergence times. *Systematic Biology*, 58, 367–380.
- Irwin, D. M., Kocher, T. D. y Wilson, A. C. (1991). Evolution of the Cytochrome-B gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32, 128–144.
- Kluge, A. G. (1966). A new pelobatine frog from the lower Miocene of South Dakota with a discussion of the evolution of the *Scaphiopus-Spea* complex. *Los Angeles County Museum Contributions in Science*, 113, 1–26.
- Kumar, S., Stecher, G. y Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, versión 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870–1874.
- Lanteri, A. y Confalonieri, V. (2003). Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. En J. J. Morrone y J. Llorente (Eds.), *Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía* (pp. 185–194). Conabio, México D.F.
- Li, M., Tian, Y., Zhao, Y. y Bu, W. (2012). Higher level phylogeny and the first divergence time estimation of Heteroptera (Insecta: Hemiptera) based on multiple genes. *PLoS One*, 7, e32152.
- Luna-Vega, I. (2008). Aplicaciones de la biogeografía histórica a la distribución de las plantas mexicanas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 79, 217–241.
- Marjanovic, D. y Laurin, M. (2014). An updated paleontological timetree of lissamphibians, with comments on the anatomy of Jurassic crown-group salamanders (Urodela). *Historical Biology*, 26, 535–550.
- Mateos, M. (2005). Comparative phylogeography of livebearing fishes in the genera *Poeciliopsis* and *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes) in central Mexico. *Journal of Biogeography*, 32, 775–780.
- Mateos, M., Sanjur, O. I. y Vrijenhoek, R. C. (2002). Historical biogeography of the fish genus *Poeciliopsis*

- (Cyprinodontiformes). *Evolution*, 56, 972–984.
- McCormack, E. J., Peterson, A. T., Bonaccors, E. y Smith, B. (2008). Speciation in the highlands of Mexico: genetic and phenotypic divergence in the Mexican jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology*, 17, 2505–2521.
- Mendelson, R. J., Mulcahy, D. G., Williams, T. S. y Sites Jr., J. W. (2011). A phylogeny and evolutionary natural history of mesoamerican toads (Anura: Bufonidae: *Incilius*) based on morphology, life history, and molecular data. *Zootaxa*, 3138, 1–34.
- Moritz, C., Schneider, C. J. y Wake, D. B. (1992). Evolutionary relationships within the *Ensatina eschscholtzii* complex confirm the ring species interpretation. *Systematic Biology*, 41, 273–291.
- Morris, B. A., Bell, C. D., Clayton, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E. y Soltis, P. S. (2007). Phylogeny and divergence time estimation in *Illicium* with implications for New World. *Biogeography*, 32, 236–249.
- Mulcahy, G. D. y Mendelson, J. R. (2000). Phylogeography and speciation of the morphologically variable, widespread species *Bufo valliceps*, based on molecular evidence from mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17, 173–189.
- Mulcahy, G. D., Morrill, B. H. y Mendelson, J. R. (2006). Historical biogeography of lowland species of toads (*Bufo*) across the Trans-Mexican Neovolcanic Belt and the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of Biogeography*, 33, 1889–1904.
- O’Neill, E. M., Schwartz, R., Bullock, C. T., Williams, J. S., Shaffer, H. B., Aguilar-Miguel, X. et al. (2013). Parallel tagged amplicon sequencing reveals major lineages and phylogenetic structure in the North American tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*) species complex. *Molecular Ecology*, 22, 111–129.
- Ornelas, J. F., Sosa, V., Soltis, D. E., Daza, J. M., González, C., Soltis, P. S. et al. (2013). Comparative phylogeographic analyses illustrate the complex evolutionary history of threatened cloud forests of northern Mesoamerica. *Plos One*, 8, e56283.
- Parra-Olea, G. (2002). Phylogenetic relationships of the salamander of the genus *Pseudoeurycea* (Caudata: Plethodontidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22, 234–246.
- Parra-Olea, G., Flores-Villela, O. y Mendoza-Almeralla, C. (2014). Biodiversidad de anfibios en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 460–466.
- Parra-Olea, G., García-París, M., Papenfuss, T. J. y Wake, D. B. (2005). Systematics of the *Isthmura bellii* (Caudata: Plethodontidae) species complex. *Herpetologica*, 61, 145–158.
- Parra-Olea, G., García-París, M. y Wake, D. B. (2004). Molecular diversification of salamanders of the tropical American genus *Bolitoglossa* (Caudata: Plethodontidae) and its evolutionary and biogeographical implications. *Biological Journal of the Linnean Society*, 81, 325–346.
- Pasquaré, G., Garduño, V., Tibaldi, A. y Ferrari, M. (1988). Stress pattern evolution in the central sector of the Mexican Volcanic Belt. *Tectonophysics*, 14, 353–364.
- Pauly, B. G., Hillins, D. M. y Cannatella, D. C. (2004). The history of a nearctic colonization: molecular phylogenetics and biogeography of the nearctic toads (*Bufo*). *Evolution*, 58, 2517–2535.
- Pérez-Higareda, G. y Navarro, D. L. (1980). The faunistic districts of the low plains of Veracruz, Mexico, based on reptilian and mammalian data. *Bulletin Maryland Herpetological Society*, 16, 54–69.
- Poinar, O. G. y Canatella, D. C. (1987). An upper Eocene frog from the Dominican Republic and its implication for Caribbean biogeography. *Science*, 237, 1215–1216.
- Pyron, R. A. y Wiens, J. J. (2011). A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 543–583.
- Reznick, N. D., Furness, A. I., Meredith, R. W. y Springer, M. S. (2017). The origin and biogeographic diversification of fishes in the family Poeciliidae. *Plos One*, 12, e0172546.
- Riddle, B. R. y Hafner, D. J. (2006). A step-wise approach to integrating phylogeographic and phylogenetic biogeographic perspectives on the history of a core North American warm deserts biota. *Journal of Arid Environments*, 66, 435–461.
- Rohland, N. y Reich, D. (2012). Cost-effective, high-throughput DNA sequencing libraries for multiplexed target capture. *Genome Research*, 22, 939–946.
- Rose, D. K. (1981). The Clarkforkian Land-Mammal Age and Mammalian Faunal Composition Across the Paleocene-Eocene Boundary. *University of Michigan Papers on Paleontology*, 26, 1–197.
- Ruiz-Sánchez, E. y Specht, C. D. (2013). Influence of the geological history of the Trans-Mexican Volcanic Belt on the diversification of *Nolina parviflora* (Asparagaceae: Nolinoideae). *Journal of Biogeography*, 40, 1336–1347.
- Salinas-Moreno, Y., Mendoza, M. G., Barrios, M. A., Cisneros, R., Macías-Sámamo, J. y Zúñiga, G. (2004). Areography of the genus *Dendroctonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Mexico. *Journal of Biogeography*, 31, 1163–1177.
- Serrano-Sánchez, M. L., Hegna, T. A., Schaaf, P., Pérez, L., Centeno-García, E. y Vega, F. J. (2015). The aquatic and semiaquatic biota in Miocene amber from the Campo La Granja mine (Chiapas, Mexico): Paleoenvironmental implications. *Journal of South American Earth Sciences*, 62, 243–256.
- Shepard, D. B. y Burbrink, F. T. (2008). Lineage diversification and historical demography of a sky island salamander, *Plethodon ouachitae*, from the Interior Highlands. *Molecular Ecology*, 17, 5315–5335.
- Shepard, D. B. y Burbrink, F. T. (2009). Phylogeographic and demographic effects of Pleistocene climatic fluctuations in a montane salamander, *Plethodon ouachitae*. *Molecular Ecology*, 18, 2243–2262.
- Steinmann, W. V. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botanica Mexicana*, 61, 61–93.

- Streicher, J. W. (2012). *Evolutionary relationships among some northern groups of the direct-developing frog genus Craugastor (Anura: Craugastoridae) (Tesis doctoral)*. The University of Texas at Arlington, Arlington, Texas, EUA.
- Tedford, H. R., Galusha, T., Skinner, M. F., Taylor, B. E., Fields, R. W., Macdonald, J. R. et al. (1987). Faunal succession and biochronology of the Arikareean through Hemphillian interval (late Oligocene through earliest Pliocene epochs) in North America. En M. O. Woodburne (Ed.), *Cenozoic mammals of North America: geochronology and biostratigraphy* (pp. 153–210). New York: Columbia University Press.
- Townsend, T. M., Mulcahy, D. G., Noonan, B. P., Sites, J. W., Kuczynski, C. A., Wiens, J. J. et al. (2011). Phylogeny of iguanian lizards inferred from 29 nuclear loci, and a comparison of concatenated and species-tree approaches for an ancient, rapid radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 363–380.
- Van der Meijden, A., Vences, M., Hoegg, S., Boistel, R., Channing, A. y Meyer, A. (2007). Nuclear gene phylogeny of narrow-mouthed toads (Family: Microhylidae) and a discussion of competing hypotheses concerning their biogeographic origins. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 1017–1030.
- Velo-Antón, G., Parra, J. L., Parra-Olea, G. y Zamudio, K. R. (2013). Tracking climate change in a dispersal-limited species: reduced spatial and genetic connectivity in a montane salamander. *Molecular Ecology*, 22, 3261–3278.
- White, E. T. (1942). The Lower Miocene mammal fauna of Florida. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 92, 1–49.
- Wiens, J. J., Parra-Olea, G., García-París, M. y Wake, D. B. (2007). Phylogenetic history underlies elevational biodiversity patterns in tropical salamanders. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274, 919–928.
- Wiens, J. J., Sukumaran, J., Pyron, R. A. y Brown, R. M. (2009). Evolutionary and biogeographic origins of high tropical diversity in old world frogs (Ranidae). *Evolution*, 63, 1217–1231.
- Wilson, L. R. (1968). Systematics and faunal analysis of a Lower Pliocene vertebrate assemblage from Trego County, Kansas. *Contributions from the Museum of Paleontology, University of Michigan*, 22, 75–126.
- Zakharov, E. V., Caterino, M. S. y Sperling, F. A. H. (2004). Molecular phylogeny, historical biogeography, and divergence time estimates for swallowtail butterflies of the genus *Papilio* (Lepidoptera: Papilionidae). *Systematic Biology*, 53, 193–215.
- Zaldívar-Riverón, A., León-Regagnon, V. y Nieto-Montes de Oca, A. (2004). Phylogeny of the Mexican coastal leopard frogs of the *Rana berlandieri* group based on mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30, 38–49.