

**UTILIZANDO BIOGEOGRAFÍA HISTÓRICA Y MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS PARA  
ANALIZAR LA DIVERSIFICACIÓN DEL GRUPO DE ESPECIES *Craugastor fitzingeri***



**CESIA NELA BRACHO ALTAMIRANDA**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
MONTERÍA - CÓRDOBA**

**2022**

**UTILIZANDO BIOGEOGRAFÍA HISTÓRICA Y MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS PARA  
ANALIZAR LA DIVERSIFICACIÓN DEL GRUPO DE ESPECIES *Craugastor fitzingeri***

**CESIA NELA BRACHO ALTAMIRANDA**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Bióloga**

**DIRECTORA:**

**FAIDITH BRACHO ALTAMIRANDA, MSc.**

**Docente, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia**

**ÁNGELA MARÍA ORTEGA LEÓN, Ph.D.**

**Docente, Programa de Biología, Universidad de Córdoba**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
MONTERÍA - CÓRDOBA**

**2022**

La responsabilidad ética, legal y científica de las ideas, conceptos y resultados del trabajo será solo de los autores (Artículo 61 del estatuto de investigación y extensión de la universidad de Córdoba, acuerdo No 093 del 26 de noviembre de 2002).

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

**FAIDITH BRACHO ALTAMIRANDA, MSc.**

Directora de trabajo de grado

Universidad de Antioquia

---

**ÁNGELA MARÍA ORTEGA LEÓN, Ph.D.**

Directora de trabajo de grado

Universidad de Córdoba

---

**NELSY PINTO SÁNCHEZ, Ph.D.**

Jurado Evaluador

Universidad de Militar Nueva Granada

---

**JORGE ALEXANDER QUIRÓS RODRIGUEZ, MSc.**

Jurado Evaluador

Universidad de Córdoba

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis más sinceros agradecimientos a la profesora Faidith Bracho Altamiranda, MSc. por ser una excelente mentora, por guiarme pacientemente y asesorarme no solo para producir una buena investigación, sino para ser una excelente profesional.

A la profesora Ángela Ortega León por acompañarme durante la carrera y ser un buen ejemplo de lo que es ser Biólogo.

A mi familia por ser mi soporte

A mis jurados, Nelsy Pinto, Ph.D., Jorge Alexander Quirós, Ph.D. y Leidy Barragán, MSc. por tomarse el tiempo de leer este trabajo y por sus valiosas sugerencias.

Al Semillero de Investigación Fauno por ser mi casa durante más de tres años, a mis compañeros por ser como una segunda familia y por ser un gran apoyo emocional.

## DEDICATORIA

*“A mi papá quien ya no vive, pero cuya huella perdurará para siempre.”*

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1 OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>21</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....</b>	<b>22</b>
3.1 Sobre el grupo de estudio .....	22
3.2 Biogeografía .....	16
3.2.1 Biogeografía histórica.....	23
3.3 Biogeografía histórica aplicada a anfibios en el neotrópico.....	24
3.4 El nicho ecológico.....	25
3.4.1 Conservadurismo de nicho ecológico.....	25
3.4.2 Similitud y equivalencia de nicho .....	26
<b>4. DISEÑO METODOLOGICO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 GRUPO DE ESTUDIO.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 AREA DE ESTUDIO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.3 METODOLOGÍA.....</b>	<b>28</b>
4.3.1 Obtención de secuencias.....	28
4.3.2 Reconstrucción filogenética y estimación de tiempos de divergencia ...	30
4.3.3 Reconstrucción de áreas ancestrales.....	30
4.3.4 Análisis filogeográfico preliminar de especies de amplia distribución en el grupo de especies <i>C. fitzingeri</i> : <i>Craugastor longirostris</i> un estudio de caso....	32
4.3.5 Modelos de nicho.....	33
4.3.5.1 Registros de presencia y variables ambientales.....	33
4.3.5.2 Test de similitud y equivalencia de nicho.....	33
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>5.1 Análisis filogenético y tiempos de divergencia .....</b>	<b>35</b>
<b>5.2 Biogeografía histórica.....</b>	<b>37</b>
<b>5.3 <i>Craugastor longirostris</i>: un estudio de caso .....</b>	<b>41</b>
<b>5.4 Test de similitud y equivalencia de nicho.....</b>	<b>44</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>7. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>49</b>
<b>8. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>50</b>

## LISTA DE FIGURAS

**FIGURA 1.** Localidades de colecta de los diferentes especímenes del grupo de especies *C. fitzingeri* de los que se obtuvieron secuencias de ADN del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I. Estas secuencias fueron usadas en el análisis de biogeografía histórica, sistemática filogenética y en el análisis preliminar filogeográfico de *C. longirostris* .....**29**

**FIGURA 2.** Áreas biogeográficas seleccionadas para el análisis en RASP V. 4.3. Modificado de Löwenberg-Neto, 2014. Basándose en Morrone, 2014.....**31**

**FIGURA 3.** Árbol construido bajo inferencia Bayesiana con tiempos de divergencia para el grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. La barra horizontal representa la escala temporal en millones de años durante la que ocurrieron divergencias dentro del grupo. Se suma un esquema de épocas geológicas, correspondiente a la escala temporal. Q= Período Cuaternario (Épocas: Pleistoceno y Holoceno), P= Plioceno.....**36**

**FIGURA 4.** Reconstrucción de áreas ancestrales para el grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. Las ramas sombreadas en rojo, presentaron eventos de dispersión desde Centroamérica hacia Suramérica. Las ramas sombreadas en verde, presentaron eventos de dispersión desde Suramérica hacia Centroamérica. Se señala con una flecha los eventos de vicarianza y sus respectivas rutas, con un círculo punteado rojo a los eventos de dispersión que ocurrieron anterior al evento de vicarianza y con un círculo punteado fucsia los eventos de extinción. Los números indican el estimado de eventos de dispersión para cada rama de la especie señalada.....**40**

**FIGURA 5.** Arbol filogenético bajo inferencia bayesiana, se observan los estimados de las probabilidades posteriores para cada nodo, la mayoría de grupos presentaron altos soportes. Se soporta el grupo de especies *C. fitzingeri* como monofilético, aunque no quedan claras las relaciones de las especies que lo

conforman.....46

**FIGURA 6.** Arbol filogenético de la especie *Craugastor longirostris*. Los individuos de Santander y Antioquia forman un grupo altamente soportado ( $P_p = 1$ ), concordando con lo observado en la filogenia completa del grupo *C. fitzingeri*, donde estas secuencias corresponden a la especie *C. metriosistus*.....47

## LISTA DE TABLAS

- TABLA 1.** Distribución geográfica, biogeográfica y altitudinal del grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. La descripción de las siglas utilizadas para la distribución biogeográfica se encuentra en la sección “Reconstrucción de áreas ancestrales”.  
.....**28**
- TABLA 2.** Distancias genéticas interpopulacionales para *Craugastor longirostris*. \*: Grupo externo, Verde: Valores de divergencia bajos, Azul: comparaciones con el grupo externo (*C. metriosistus*), morado: Comparación entre grupos externos, Amarillo: Comparaciones entre poblaciones del Chocó, Rojo: Comparaciones significativas de Chocó\_Pb2 y Chocó\_Pb3 .....**43**
- TABLA 3.** Número de haplotipos por población (h), Hd= diversidad haplotípica interpopulacional.....**43**
- TABLA 4.** Valores de Fst para la especie *Craugastor longirostris*. \*= grupo externo  
.....**43**
- TABLA 5.** Resultados de las comparaciones en el espacio ambiental para siete especies del grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. Se presentan los valores de solapamiento (D de Schoener), y los valores P para el test de equivalencia y el test de similaridad de nicho. ....**44**

## RESUMEN

La biogeografía histórica en esencia es el estudio de la distribución geográfica de los organismos en términos de su historia evolutiva. Estudiar la relación que existe entre el espacio geográfico y la diversidad de especies proporciona una herramienta importante para comprender al menos en parte el proceso de especiación, sobre todo en grupos muy diversos y ampliamente distribuidos como son las especies del género *Craugastor*, que no solo presentan características particulares de historia de vida, sino también de historia evolutiva; lo cual, introduce gran tensión al intentar entender cómo ocurrieron los eventos de recolonización norte-sur por encima de las aguas oceánicas. El grupo de especies *Craugastor fitzingeri*, que comprende ocho especies distribuidas desde el norte de América Central hasta el norte de América del Sur es de origen Centroamericano; por lo cual, se pusieron a prueba seis hipótesis relacionadas con la historia biogeográfica de este (I,II,III,IV), un análisis filogeográfico (V) y comparaciones ambientales del nicho de dichas especies (VI). Para analizar las relaciones filogenéticas y los tiempos de divergencia de las especies del grupo se realizó una filogenia bajo inferencia Bayesiana con tiempos de divergencia estimados. Para identificar los eventos más importantes en la diversificación del este y su relación con la historia geológica y/o biogeográfica del continente, se realizó una reconstrucción de áreas ancestrales utilizando el método S-DIVA, y las regiones biogeográficas establecidas por Morrone (2014). Una vez analizados estos dos puntos, se observaron diferentes grupos parafiléticos aun cuando el clado *C. fitzingeri* fue monofilético ( $Pp=1$ ); por lo cual, se tomó a *C. longirostris* como caso de estudio para revisar cuánta variación molecular, podría registrarse en una especie de amplia distribución. Para esto se realizó el cálculo de distancias genéticas (Tamura-Nei), un árbol filogenético bajo inferencia Bayesiana para la especie y un análisis de estructura genética (Fst). Finalmente se compararon los nichos ambientales de las especies del grupo, utilizando un test de equivalencia de nicho y un test de similaridad de nicho. Las hipótesis I y II se cumplieron, ya que la dispersión fue el evento más importante para explicar la diversificación del grupo, además de que tuvo correspondencia con los eventos geológicos del continente. Las relaciones filogenéticas del grupo no fueron muy claras, pero se pudieron diferenciar tres linajes independientes en el Chocó Colombiano para *C. longirostris*, por lo que es posible que se estén dando adaptaciones a nivel local. Los valores de Fst fueron cercanos a 1, por lo que confirmaron que es posible se esté presentando un caso de selección direccional, por lo menos

para las poblaciones de *C. longirostris* colombianas. Las comparaciones en el espacio ambiental, si bien no fueron concluyentes, permiten inferir que no se deben desligar los estudios ecológicos de los procesos genéticos y los patrones filogeográficos de las especies. Se recomienda, además, incluir más información genética que cubra un mayor rango de distribución para cada especie, sumado a una mayor diversidad de genes.

**Palabras claves:** Diversificación, biogeografía, filogenia, anfibios, nicho

## ABSTRACT

Historical biogeography in essence is the study of the geographic distribution of organisms in terms of their evolutionary history. Studying the relationship between geographic space and species diversity provides an important tool to understand at least in part the speciation process, especially in very diverse and widely distributed groups, such as the species of the genus *Craugastor*, which, not only present particular characteristics of life history, but also of evolutionary history. This introduces great tension when trying to understand how the north-south recolonization events occurred above oceanic waters. The group of species *Craugastor fitzingeri*, which includes eight species distributed from northern Central America to northern South America, is of Central American origin; Therefore, six hypotheses related to the biogeographic history of this species (I,II,III,IV), a phylogeographic analysis (V) and environmental comparisons of the niche of said species (VI) were tested. To analyze the phylogenetic relationships and the divergence times of the species of the group, a phylogeny was carried out under Bayesian inference with estimated divergence times. In order to identify the most important events in the diversification of the east and its relationship with the geological and/or biogeographical history of the continent, an ancestral ranges reconstruction was carried out using the S-DIVA method, and the biogeographical regions established by Morrone (2014). Once these two points were analyzed, different paraphyletic groups were observed even though the *C. fitzingeri* clade was monophyletic ( $P_p=1$ ); therefore, *C. longirostris* was taken as a case study to review how much molecular variation could be recorded in a widely distributed species. For this, the calculation of genetic distances (Tamura-Nei), a phylogenetic tree under Bayesian inference for the species and an analysis of genetic structure (Fst) were performed. Finally, the environmental niches of the species of the group were compared, using a niche equivalence test and a niche similarity test. Hypotheses I and II were fulfilled, since the dispersion was the most important event to explain the diversification of the group, in addition to having correspondence with the geological events of the continent. The phylogenetic relationships of the group were not very clear, but three independent lineages could be distinguished in the Colombian Chocó for *C. longirostris*, so it is possible that adaptations are taking place at the local level. The Fst values were close to 1, thus confirming that a case of directional selection may be occurring, at least for the Colombian *C. longirostris* populations. The comparisons in the environmental space, although they were not conclusive, allow us to infer that ecological

studies should not be separated from the genetic processes and the phylogeographic patterns of the species. It is also recommended to include more genetic information that covers a greater range of distribution for each species, added to a greater diversity of genes.

Key words: Diversification, biogeography, phylogeny, amphibians, nich

## 1. INTRODUCCIÓN

Entender la diversificación de las especies es esencial en el contexto evolutivo. Las especies responden a diversos factores, muchos de los cuales están relacionados intrínsecamente con las condiciones ambientales y su factor promotor primario: el espacio; quienes, en conjunto, le dan forma a la composición y configuración del paisaje. Por consiguiente, éste último se convierte en una variable importante a considerar para entender cómo las especies evolucionan. El espacio es dinámico y a medida que cambia, éstas cambian con él, sea latitudinal, longitudinal o altitudinalmente (e.g. Navas, 2006; Cardena et al., 2011). En consecuencia, estudiar la relación que existe entre el espacio geográfico y la diversidad de especies proporciona una herramienta importante para comprender al menos en parte el proceso de especiación.

Centroamérica y el norte de Suramérica se consideran como regiones con una compleja historia geológica y biogeográfica, debido a que su paisaje ha sufrido frecuentes cambios importantes durante los últimos 15 m.a. (e.g. Montes et al., 2012; Montes et al., 2015; Mendoza et al., 2019), como la emergencia del Arco de Panamá (Montes et al., 2015), el cierre del Istmo de Panamá (que conectó Norteamérica y Suramérica; Montes et al., 2012), el levantamiento de las Cordilleras, el establecimiento del Valle del Magdalena (Kar & Madden, 1997; Gregory-Wodzicki, 2000; Horton et al., 2010; Rodríguez-Muñoz et al., 2020) y las subsecuentes fluctuaciones climáticas durante el Plio-Pleistoceno (Leyden et al., 1993; Matínez-Botí et al., 2015), que modificaron las condiciones del hábitat e impulsaron procesos de extinción, especiación y colonización. Abordar preguntas sobre “¿cómo se relaciona la diversificación de las especies con la historia biogeográfica del continente?” es difícil, y se complejiza aún más en vertebrados no-mamíferos, cuyas relaciones de modo y tiempo de ramificación son confusas dada la carencia de registros fósiles; por lo cual, la utilización de recursos moleculares es la opción más acertada (Pinto-Sánchez et al., 2012). En el Neotrópico el estudio de la diversificación se ha centrado en tres temas: el tiempo, el modo y la influencia del hábitat (estando los dos primeros relacionados con la historia evolutiva y el último, con las restricciones en el espacio y los recursos) (Castroviejo-Fisher et al., 2014); por esta razón, uno de los tópicos claves dentro de la ecología

evolutiva es entender cuáles son los factores, procesos y/o eventos relacionados con la diversificación de las especies; por lo que, zonas geológicas y biogeográficamente tan complejas en términos históricos, como lo son Centro y Suramérica, representan áreas de confluencia importantes para estudios de tipo evolutivo. Crawford & Smith (2005) utilizaron como modelo de estudio a las ranas del, en su momento, género centroamericano *Eleutherodactylus*, e identificaron tres eventos que explican dicho origen: (1) un antepasado del género *Craugastor* de origen Suramericano, llegó al norte de Centroamérica en el Paleoceno temprano, (2) un antepasado del subgénero *Syrrhophus* entró en el norte de Centroamérica desde el Caribe al final del Eoceno, y (3) durante el Plioceno, múltiples eventos de dispersión hacia Suramérica coincidirían en su momento con el modelo tradicional del Gran Intercambio Biótico Americano (GABI ~ 3.5 m.a.; Stehli & Webb, 1985); no obstante, actualmente este modelo ha sido descartado y reemplazado por el propuesto por Montes et al. (2012), quienes encontraron que el Istmo de Panamá debió surgir mucho antes que esto. Para mediados del Mioceno, la vía Intermarítima Pacífico-Caribe debía estar cerrada, por lo que el GABI en realidad debió iniciar más temprano de lo que se pensaba (~10 m.a.).

Es claro que el rango de diversificación ecológica dentro de un linaje es una consecuencia de varios procesos que podrían ser interactuantes, incluida “la heterogeneidad ambiental, la historia climática regional y las limitaciones fisiológicas de las especies” (Hernandez et al., 2018); por lo que, recurrir a la utilización de análisis de tipo ecológico, como lo son los modelos de nicho (MNE), proporcionan una ventana más amplia para complementar las reconstrucciones históricas a partir de datos genéticos. A pesar de esto, no hay trabajos publicados que incorporen las comparaciones en el espacio ambiental, como una forma de entender la diversificación del grupo de especies *C. fitzingeri*. En términos del nicho, si bien utilizarlo como evidencia de separación de especies puede ser problemático (sobre todo en especiación dirigida por selección disruptiva), es una excelente herramienta para entender la diversificación de las especies; ya que, teóricamente este tiende a conservarse entre especies cercanamente emparentadas (Harvey & Pagel, 1991, Peterson et al, 1999); sin embargo, las diferencias en las distribuciones actuales de las especies, que se encuentran intrínsecamente relacionadas con la historia biogeográfica de las mismas, funcionan como indicativo de las condiciones

ambientales específicas e idóneas; las cuales, a su vez, pueden representar divergencias importantes en el nicho de un clado (e.g. Posso-Terranova & Andrés, 2016).

Las ranas son terrestres, no tienen la capacidad de volar, tienen alta dependencia por el agua y no soportan la salinidad de los océanos, por lo que son un grupo de interés para intentar entender los procesos biogeográficos en Centro y Suramérica. A lo largo del tiempo ha existido mucha controversia sobre los métodos utilizados para la clasificación de las especies de ranas del clado Terrarana, sumado a esto, la vaga comprensión sobre cómo la relación existente entre los eventos geológicos y los eventos biogeográficos dieron forma a la gran diversidad de especies que constituyen este clado, dificulta la separación y clasificación de las mismas. Específicamente, el grupo de especies *Craugastor fitzingeri* contiene ocho especies (*C. raniformis*, *C. fitzingeri*, *C. metriosistus*, *C. longirostris*, *C. crassidigitus*, *C. tabasarae*, *C. talamancae* y *C. chingopetaca*), y aunque en general este grupo se considera uno de los más ampliamente estudiados dentro del clado Terrarana, la visible similitud morfológica externa interespecífica combinada con una alta variación intraespecífica y, aunada la similitud ambiental entre las zonas geográficas en las que se distribuyen, se convierte en un reto para su identificación (Ospina-Sarria et al., 2015). Desde finales de los 70s, el estudio de la diversificación de este clado se ha visto limitado por la falta de claridad en las relaciones evolutivas de sus integrantes. Estas especies, *sensu lato* abarcan desde Costa Rica hasta Ecuador; sin embargo, sus relaciones filogenéticas aún no han sido claramente resueltas; ya que, aunque Savage y Lynch (en colaboración con otros investigadores) jugaron un papel fundamental en la descripción de lo que en su momento se consideraba como el género *Eleutherodactylus*, contrastaban ampliamente en el tipo de caracteres que debían utilizarse para realizar la jerarquización. Savage & DeWeese (1979) creían que los caracteres *sensu* Lynch para clasificar al grupo *fitzingeri*, al ser estrictamente morfológicos y osteológicos podrían considerarse “de dudosa contundencia evolutiva”, por lo cual decidieron utilizar el cariotipo, proteínas serum y la musculatura de la mandíbula como evidencias para proponer su propia clasificación, mencionando que utilizar sólo caracteres morfológicos no sería suficiente para esclarecer las relaciones del género. Estos resultados fueron debatidos por Lynch & Myers (1983), donde continúan utilizando caracteres taxonómicos tradicionales para tratar de resolver

el problema. Actualmente se utilizan características descritas por ambos autores para clasificar a las especies (Hedges et al., 2008), con todo, estas mismas inconsistencias taxonómicas se pueden evidenciar en los dos acercamientos filogenéticos más completos realizados hasta la fecha, en los cuales se observa un alto soporte en las topologías, aunque no incluyen a todos los representantes del género (Crawford & Smith, 2005; Hedges et al., 2008). A consecuencia de esto, las descripciones de nuevas especies (e.g. Ospina-Sarria et al., 2015) y la redescrición de otras (e.g. Savage & Myers, 2002) siendo primariamente a través de datos taxonómicos tradicionales, con líneas de evidencia agregadas como datos acústicos y en pocos casos genéticos.

El grupo de especies *Craugastor fitzingeri* (clado Terrarana) es un excelente modelo de estudio para responder preguntas de corte evolutivo, usando un enfoque multiespecies en el marco de las pruebas de hipótesis, ya que cumplen con las siguientes características: está conformado por especies de amplia distribución ya que se encuentran desde el norte de Centroamérica hasta el norte de Suramérica (Frost, 2021; Duellman, 2001), se encuentran en simpatria (Duellman, 2001; Ospina-Sarria et al., 2015), tienen especies endémicas (*C. metriosistus*, Colombia; Ospina-Sarria et al., 2015; *C. chingopetaca*, Nicaragua; Köhler & Sunyer, 2006; *C. tabasarae*, Panamá; Savage et al., 2004), están en gran parte restringidos a hábitats húmedos y boscosos y tienen un ancestro Suramericano aunque el clado se haya originado en Centroamérica (Crawford & Smith, 2005; Pinto-Sánchez et al., 2012) y, dado que no se tienen registros fósiles de este grupo al igual que para la mayoría de vertebrados (Pinto-Sánchez et al., 2012), es necesario utilizar el enfoque de la biogeografía histórica como una aproximación clave para proponer una hipótesis sobre las relaciones filogenéticas del grupo de especies *C. fitzingeri* e identificar cuáles son los eventos más importantes en promover la diversificación del clado. Entender cómo se relacionan las áreas accesibles para las especies, los eventos biogeográficos históricos que permitieron la ocupación de esas áreas específicas y las características ecológicas intrínsecas de estas, permitirá verificar las recientes redescriciones en las distribuciones de este grupo en Colombia (i.e. Ospina-Sarria et al., 2015); Por lo tanto, la necesidad de esclarecer las relaciones filogenéticas de este clado, sumado a lo que se conoce

de su historia evolutiva y la actual distribución de sus especies, abre la puerta a preguntas clave como: ¿Cuáles eventos (vicarianza, dispersión, extinción) promovieron la diversificación del grupo de especies *Craugastor fitzingeri*?, ¿Existe variación molecular intraespecífica significativa en las especies de amplia distribución del grupo *C. fitzingeri*? y ¿Existe conservadurismo de nicho entre las especies del grupo *C. fitzingeri*? Para responderlas, se plantearon seis hipótesis, relacionadas con la historia biogeográfica del grupo (I,II,III,IV), con un análisis filogeográfico (V) y con comparaciones ambientales del nicho de las especies (VI). Estas se describen a continuación:

**Hipótesis I: Los eventos de dispersión fueron los principales promotores de la diversificación del grupo de especies *Craugastor fitzingeri***

PI: Se esperaría encontrar en la historia biogeográfica de las especies, mayores eventos de dispersión que de vicarianza y extinción

**Hipótesis II: Existe relación entre los eventos de dispersión y los eventos geológicos**

PI: La dispersión de *C. longirostris*, *C. raniformis*, *C. metriosistus* y *C. fitzingeri* ocurrió después del cierre del Istmo de Panamá

**Hipótesis III: Los eventos de vicarianza fueron los principales promotores de la diversificación del grupo de especies *Craugastor fitzingeri***

PI: Se esperaría encontrar en la historia biogeográfica de las especies, mayores eventos de vicarianza que de dispersión y extinción

**Hipótesis IV: Los eventos de extinción tuvieron un efecto en la diversificación del grupo de especies *Craugastor fitzingeri***

PI: *Craugastor l. longirostris* y *C. fitzingeri* se distribuían en el Valle del Magdalena, pero

se extinguieron

PII: *C. longirostris* y *C. tabasarae* se distribuían hasta la parte norte de Centroamérica (Honduras), pero se extinguieron

**Hipótesis V: La distribución geográfica de las especies del grupo de especies *Craugastor fitzingeri* está relacionada con la variación molecular.**

PI: Se esperaría que en especies de amplia distribución como *C. longirostris*, *C. raniformis* y *C. fitzingeri* se encuentren haplotipos intraespecíficos claramente diferenciados.

**Hipótesis VI: La distribución geográfica de las especies del grupo de especies *C. fitzingeri* y la historia biogeográfica del clado están relacionadas con la similaridad del nicho**

PI: Las especies con distribuciones más amplias tendrán nichos más similares entre ellas

PII: Las especies más cercanamente emparentadas tendrán nichos más similares entre ellas

## 2. OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la diversificación del grupo de especies *Craugastor fitzingeri* desde la biogeografía histórica y los modelos de nicho ecológico (MNE)

### 2. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar las relaciones filogenéticas y los tiempos de divergencia de las especies del grupo *C. fitzingeri*
- Identificar los eventos más importantes en la diversificación del grupo de especies *C. fitzingeri*
- Relacionar los eventos con la historia geológica y/o biogeográfica del continente
- Analizar la variación genética Inter poblacional para una especie de amplia distribución del grupo de especies *C. fitzingeri*
- Comparar el nicho ambiental de las especies del grupo *C. fitzingeri*
- Relacionar el nicho ambiental de las especies del grupo *C. fitzingeri* con sus distribuciones y su historia biogeográfica

### 3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

#### 3.1 Sobre el grupo de estudio

El clado Terrarana contiene un gran número de especies de anuros de desarrollo directo, que en su mayoría se encuentran restringidos a bosques húmedos (Pinto-Sánchez et al., 2012). Estas características, sumado a una amplia distribución, ofrecen un buen potencial para resolver preguntas evolutivas, ecológicas, biogeográficas y de conservación; sin embargo, hay muchas especies por estudiar y pocas investigaciones que permitan entender sus complejas relaciones evolutivas. Como resultado, la mayoría de las especies fueron clasificadas dentro de un único género: *Eleutherodactylus*, que fue considerado como el más diversificado entre los vertebrados (Heinicke et al., 2007). Hedges et al. (2008) realizaron la, hasta la fecha, más completa filogenia que se conoce para este clado. Separaron *Eleutherodactylus* en series, grupos de especies y subgrupos de especies. El género *Craugastor* fue dividido en dos subgéneros: *Campbellius* y *Craugastor*. El subgénero *Craugastor* fue dividido en seis series: *laticeps*, *gulosus*, *mexicanus*, *rhodopis*, *punctariolus* y *fitzingeri*, de los cuales este último se encuentra dividido en dos grupos de especies: *fitzingeri* y *melanostictus*.

#### 3.2 Biogeografía

La Biogeografía es el estudio de la distribución de la diversidad biológica a través de patrones espacio-temporales y los procesos que influyen en estas dinámicas (Wiley, 1981; Sanmartín, 2012) ¿Por qué las especies se distribuyen de cierta manera en el presente? ¿Cómo han cambiado esas distribuciones a lo largo del tiempo? O ¿Por qué han cambiado? Desde la época en que los primeros exploradores naturalistas como Alexander von Humboldt (1805) se interesaron por, cómo zonas geográficamente cercanas y ambientalmente análogas, presentaban formas de vida similares, aunque las especies fueran muy diferentes (i.e. la cuenca del Mediterráneo y Chile en América del Sur); mientras que masas de tierra como Suramérica y África, que se encontraban separadas por un gran océano, presentan faunas de composición similar (Cox & Moore 2010), se comenzó a utilizar esta disciplina para intentar explicar dichos patrones. Hacia los años 90s, con el boom de

los Sistema de Información Geográfico, el estudio de la fauna y flora desde una perspectiva geográfica comenzó a tomar fuerza, trabajando de forma interdisciplinar con el desarrollo de teorías evolutivas, la tectónica de placas y el desarrollo de modelos cuantitativos para explicar relaciones de modo y tiempo entre las especies y su distribución (Lamm & Redelings, 2009). En fechas más recientes, el interés por trabajar la biogeografía desde análisis basados en modelos no paramétricos ha impulsado la divergencia de una nueva rama que aún se encuentra en una etapa temprana (Lamm & Redelings, 2009) y de la cual se hablará a continuación.

### 3.2.1 Biogeografía histórica

La biogeografía histórica en esencia es el estudio de la distribución geográfica de los organismos en términos de su historia evolutiva (Sanmartín, 2012). En general, los patrones biogeográficos son el producto de procesos ecológicos que influyen en la dispersión a diferentes escalas espacio-temporales. En muchos casos, la relación entre las conexiones entre áreas y la historia de las conexiones entre hábitats adecuados difiere (Donoghue & Moore, 2004) (i.e. el género *Craugastor* que se originó en Centroamérica tiene un ancestro Suramericano, aunque Norteamérica siempre ha estado unido a este); por lo cual, a lo largo del tiempo, se han considerado principalmente tres procesos que explican los patrones biogeográficos: (1) vicarianza, (2) dispersión y (3) extinción (Wiley, 1988; Brooks & McLennan, 1991; Page, 1994; Morrone & Crisci, 1995; Humphries & Parenti, 1999; van Veller et al., 2002; Donoghue, 2003; Sanmartín, 2012), los cuales están directamente relacionados con procesos ecológicos (Donoghue & Moore, 2004). Existen diversos métodos para realizar reconstrucciones de áreas ancestrales, unos más complejos que otros. A continuación, se presentan el método base para realizar del que parte la variante utilizada en este trabajo:

- Análisis de dispersión-vicarianza (DIVA): DIVA (Ronquist, 1996, 1997) utiliza parsimonia para modelar los procesos de evolución del rango. Los eventos de dispersión tienen un costo de uno por cada área agregada a un rango, los eventos de extinción cuestan uno por cada área eliminada de un rango y los eventos de especiación no cuestan nada. Se supone que la especiación ocurre de dos formas: (1) la vicarianza puede separar una amplia gama

ancestral en exactamente dos conjuntos de áreas mutuamente excluyentes, cada uno de los cuales es heredado por uno de los dos taxones hijos. (2) Si el rango ancestral está restringido a una sola área, la especiación dentro del área puede dar lugar a exactamente dos taxones hijos que comparten la misma área.

### 3.3 Biogeografía histórica aplicada a anfibios en el Neotrópico

El Neotrópico, por su posicionamiento con respecto al ecuador presenta características ambientales que le permiten exhibir un alto grado de diversidad, tanto en abundancias como en riquezas (e.g. Dobzhansky, 1950; Pianka, 1966, 1988, 1989; Pielou, 1975; Rohde, 1992), por lo que es ampliamente utilizado para la realización de estudios de este tipo. La gran mayoría de los artículos publicados bajo este tema fueron realizados incluyendo uno o varios géneros del clado Terrarana, destacándose *Eleutherodactylus* en los trabajos más antiguos y *Pristimantis* en los más recientes (Crawford & Smith, 2005; Heinicke et al., 2007; Pinto-Sánchez et al., 2012; Pinto-Sánchez et al., 2014; Mendoza et al., 2015). Crawford & Smith (2005) utilizaron al género *Eleutherodactylus*, con el que identificaron que el antepasado del género *Craugastor* es de origen Suramericano y se movilizó a Centroamérica durante el Paleoceno temprano. Además de que existieron múltiples eventos de dispersión hacia Suramérica, durante el plioceno, los cuales coincidieron con el surgimiento y cierre del Istmo de Panamá. Heinicke et al. (2007) analizaron el origen y distribución de los géneros *Eleutherodactylus*, *Craugastor* y *Pristimantis*, rechazando la hipótesis predominante de que estas ranas surgieron de conexiones terrestres con Norte y Suramérica y su posterior fragmentación en el Cretácico Superior (80-70 m.a.). Proponiendo también el origen por dispersión, probablemente sobre el agua de América del Sur en el Cenozoico temprano (hace 47–29 millones de años, m.a.). Pinto-Sánchez et al. (2012) pusieron a prueba el modelo GABI utilizando ranas del género *Pristimantis*, encontrando que, la colonización de Centroamérica por *Pristimantis* de Suramérica involucró al menos 11 eventos independientes. Por otro lado, los tiempos de divergencia mostraron que al menos ocho de estas invasiones en América Central tuvieron lugar principalmente en el Mioceno (hace 24-4 m.a., e incluso anterior a esto). Datos que presentan aparentes conflictos temporales con el modelo GABI tradicional, que indica que existió un intercambio masivo de biota entre Norte y Suramérica hace aproximadamente 3.5 m.a., una vez se cerró el Istmo de Panamá

(Marshall et al., 1982; Marshall, 1988). Pinto-Sánchez et al. (2014) utilizaron biogeografía histórica para probar saturación de comunidades usando 363 especies del clado Terrarana. Sus resultados mostraron que no hay saturación y que el intercambio biótico aumentó drásticamente la riqueza local en la región de intercambio. Mendoza et al. (2015) utilizaron una inferencia de probabilidad de la biogeografía histórica para el género *Pristimantis*, encontrando que la banda de elevación media (entre 1000 y 3000 m) en la región de los Andes Noroccidentales de Colombia y Ecuador son el punto focal para el origen y radiación de las especies del género. A partir de esto sugirieron que los cambios paleogeológicos en el Noroeste de los Andes fueron el principal promotor de la especiación en *Pristimantis* y pueden haber servido como corredor para la dispersión de especies de tierras bajas.

### **3.4 El nicho ecológico**

“La mayoría de los ecologistas estarían de acuerdo en que el nicho es un concepto central de la ecología, aunque no sabemos exactamente lo que significa.” (Real & Levin, 1991). Existen diversos conceptos de nicho ecológico, los cuáles pueden dividirse en dos clases: El nicho Grinneliano (no interactivo, condiciones abióticas y no-dependientes de la especie) y el nicho Eltoniano (interactivo, condiciones bióticas dependientes de las interacciones de la especie) (Soberón, 2007). Por otro lado, Hutchinson (1957) integró estos dos conceptos, definiendo al nicho como un hipervolumen de variables bióticas y abióticas en las que una especie puede existir. Renombró el nicho de Grinnel como nicho fundamental y la intersección de los dos anteriores, nicho realizado. Posteriormente, Soberón & Peterson (2005) crearon el diagrama BAM como una mejor forma de entender el nicho de Hutchinson, teniendo en cuenta las zonas históricamente accesibles para la especie y convirtiéndose en la base bajo la cual se construyen los modelos de nicho y distribución actualmente.

#### **3.4.1 Conservadurismo de nicho ecológico**

El término conservadurismo de nicho fue acuñado por primera vez en 1991 por Harvey & Pagel, siendo popularizado por autores subsiguientes (e.g. Holt & Gaines, 1992; Peterson et al., 1999; entre otros). El conservadurismo de nicho se puede definir de diversas maneras; sin embargo, todas apuntan a la misma dirección, donde los rasgos

ecológicos relacionados con el nicho de un grupo de especies tienden a retenerse o conservarse en el tiempo (Wiens et al., 2010); es decir, a través de procesos evolutivos, las especies que compartan ancestría tenderán a tener nichos más similares entre ellas (Peterson et al., 1999).

### 3.4.2 Similaridad y equivalencia de nicho

Tradicionalmente el conservadurismo de nicho se ha medido de dos formas: el test de similaridad de nicho (Peterson et al., 1999) y el test de equivalencia de nicho (Graham et al., 2004). El primero pregunta si los nichos ambientales de dos especies hermanas pueden predecirse entre ellas mejor que lo esperado bajo el azar (basado en la tasa finita de divergencia evolutiva y el arrastre filogenético), mientras que el segundo pregunta si los nichos ambientales de dos especies cercanamente emparentadas son efectivamente indistinguibles el uno del otro. El conservadurismo de nicho normalmente se ve como un continuo en cuyos extremos se encuentran ambas pruebas; ya que, por definición, se espera que los dos nichos comparados sean idénticos (equivalencia de nicho), o más similares que lo esperado bajo el azar (similaridad de nicho), por lo cual utilizar solo una inferencia podría llevar a interpretaciones erróneas (Warren et al., 2008).

## 4. DISEÑO METODOLÓGICO

### 4.1 GRUPO DE ESTUDIO

El clado Terrarana contiene cerca del 15% de las especies de anfibios del mundo, que en común presentan cría terrestre y desarrollo directo. Según Hedges et al. (2008) el grupo de especies centroamericano *C. fitzingeri* está ubicado dentro de la serie de especies *C. fitzingeri*, que a su vez pertenece al subgénero Craugastor (Anura: Craugastoridae), y que al igual que todas las especies del clado Terrarana se restringe principalmente a hábitats húmedos y boscosos. En este actualmente se encuentran ocho especies descritas: *C. raniformis*, *C. fitzingeri*, *C. metriosistus*, *C. longirostris*, *C. crassidigitus*, *C. tabasarae*, *C. talamancae* y *C. chingopetaca* distribuidas desde Honduras en Centroamérica hasta Ecuador en Suramérica (Tabla 1).

En general, (*sensu lato*, Lynch, 1994; Lynch and Duellman, 1997; Savage, 2002; Savage et al., 2004; Hedges et al. 2008) las especies de este grupo suelen presentar tímpanos prominentes, discos presentes en todos los dedos, hocicos largos y estrechos. El dedo I generalmente más largo que el dedo II. Machos con saco vocal subglotal interno presente y almohadillas nupciales presentes o ausentes en adultos. Dedos de los pies generalmente palmeados, con membranas moderadas en *C. chingopetaca*, *C. crassidigitus*, *C. fitzingeri*, *C. longirostris*, *C. raniformis*, *C. talamancae* y *C. metriosistus* y basales en *C. tabasarae*. Tubérculos supernumerarios bajos y restringidos a los segmentos proximales de los dedos, ausente en las palmas y solo presentes en la base del dedo I y II en *C. chingopetaca*. El dedo III usualmente más largo que el V cuando se comparan con el dedo IV, y vientre liso o granuloso. Los patrones de coloración en los muslos pueden variar desde café o gris hasta marcas claras, bronceadas o amarillentas (barras verticales oscuras superpuestas en un color claro para *C. tabasarae*; Savage et al., 2004) y la garganta es blanca o amarilla con sufusión de melanóforos al azar u organizados en patrones (Lynch & Myers, 1983).

### 4.2 ÁREA DE ESTUDIO

Según Morrone (2001; 2014) América Latina y El Caribe se encuentran ubicadas en su gran mayoría dentro de la Región Neotropical, que a su vez incluye a la Subregión Andina en Suramérica. El área de estudio para este trabajo se enmarca en gran parte de Centroamérica

y la zona norte de Suramérica, la cual fue definida a partir de la distribución del grupo de especies *Craugastor fitzingeri* (Tabla 1) y utilizando las provincias biogeográficas descritas por Morrone en 2014 (para mayor detalle en cómo y cuáles fueron escogidas, remitirse a la sección *Reconstrucción de áreas ancestrales*, Fig. 2). Dentro del grupo se tienen especies de amplia distribución como: (1) *C. fitzingeri* que va desde Honduras hasta Colombia y desde los 0 hasta los 1200 msnm. (2) *C. longirostris*, desde Costa Rica hasta Ecuador y por debajo de los 1200 msnm. (3) *C. crassidigitus*, desde Costa Rica hasta Colombia, entre 10 y 2000 msnm. (4) *C. talamancae*, desde Nicaragua hasta Panamá, desde los 15 hasta los 646 msnm, y (5) *C. raniformis* cuya distribución incluye Panamá y Colombia y se encuentra por debajo de los 1500 msnm. También se tienen especies endémicas como: (6) *C. tabasarae* que solo se encuentra en Panamá, en la provincia de Veraguas, en la Serranía de Tabasará (Localidad tipo), la provincia de Colón y la provincia de Panamá, desde los 600-910 msnm. (7) *C. metriosistus* que solo se encuentra en Colombia restringido al Valle del Magdalena medio, que comprende los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Cesar, Santander, Norte de Santander y Tolima, desde los 115 hasta los 1150 msnm, y (8) *C. chingopetaca* que se distribuye en Nicaragua y solo se conoce para la localidad tipo Chingo Petaca, Río San Juan, departamento de Rio San Juan. .

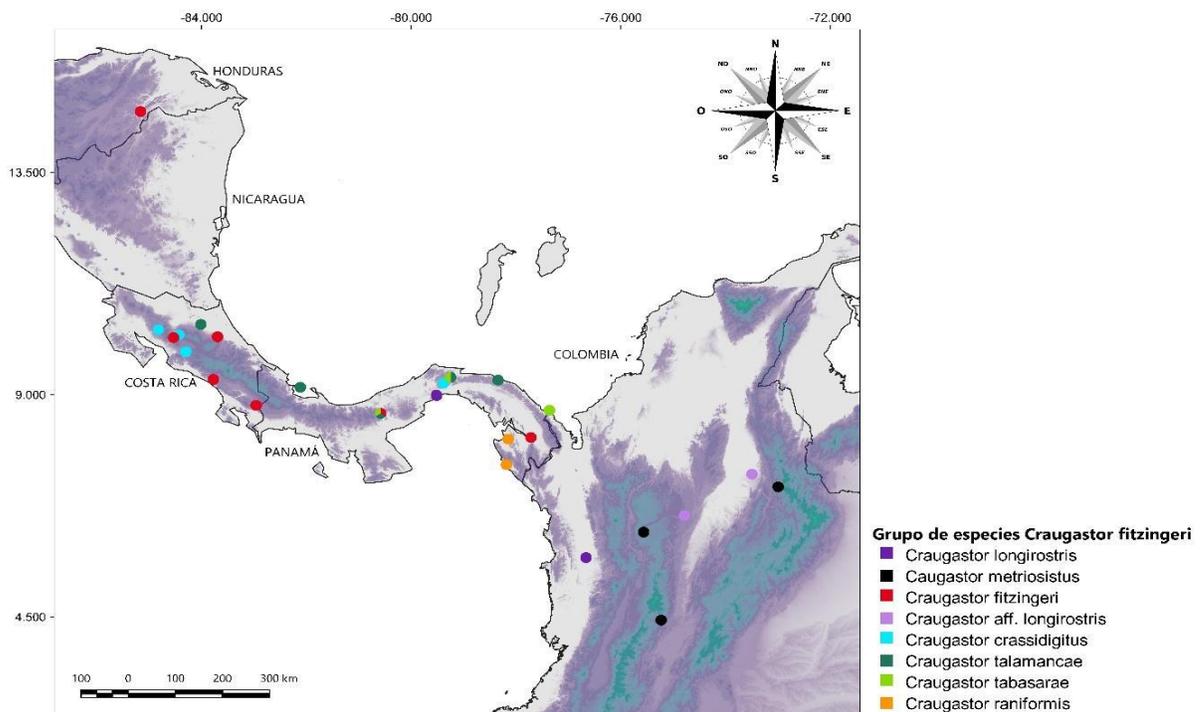
**Tabla 1.** Distribución geográfica, biogeográfica y altitudinal del grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. La descripción de las siglas utilizadas para la distribución biogeográfica se encuentra en la sección “Reconstrucción de áreas ancestrales”.

Especie	Distribución geográfica	Distribución biogeográfica	Distribución altitudinal (msnm)
<i>Craugastor raniformis</i>	Colombia, Panamá	G-TM, CHC-D, C, MG	0-1500
<i>Craugastor fitzingeri</i>	Colombia, Costa Rica, Honduras, Nicaragua, Panamá	TBP, MQ, TAC, G-TM, PT-CQ, CHC-D, C	0-1200
<i>Craugastor longirostris</i>	Colombia, Ecuador, Panamá, Costa Rica	PT-CQ, G-TM, CHC-D, C, OC-E	0-1200
<i>Craugastor tabasarae</i>	Panamá	PT-CQ, G-TM	600-910
<i>Craugastor crassidigitus</i>	Colombia, Costa Rica, Panamá	PT-CQ, G-TM, CHC-D	10-2000
<i>Craugastor talamancae</i>	Nicaragua, Costa Rica, Panamá	PT-CQ, G-TM	15-646
<i>Craugastor metriosistus</i>	Colombia	MG	115-1150
<i>Craugastor chingopetaca</i>	Nicaragua (localidad tipo Chingo Petaca)	G-TM	No registrada

## 4.3 METODOLOGÍA

### 4.3.1 Obtención de secuencias

Se obtuvieron un total de 61 secuencias del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI). 27 de la base de datos GeneBank del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), 5 de la base de datos BOLD (Barcode of Life Data Systems) y 29 en colaboración con el laboratorio Biomjics de la Universidad de los Andes (Anexo 1). El muestreo de secuencias comprendió, Colombia, Panamá, Costa Rica y Honduras (Fig. 1) y siete de las ocho especies del grupo. *Craugastor chingopetaca* no fue incluida en los análisis, ya que no existen datos genéticos publicados para la especie.



**Figura 1.** Localidades de colecta de los diferentes especímenes del grupo de especies *C. fitzingeri* de los que se obtuvieron secuencias de ADN del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I. Estas secuencias fueron usadas en el análisis de biogeografía histórica, sistemática filogenética y en el análisis preliminar filogeográfico de *C. longirostris*.

### 4.3.2 Reconstrucción filogenética y estimación de tiempos de divergencia

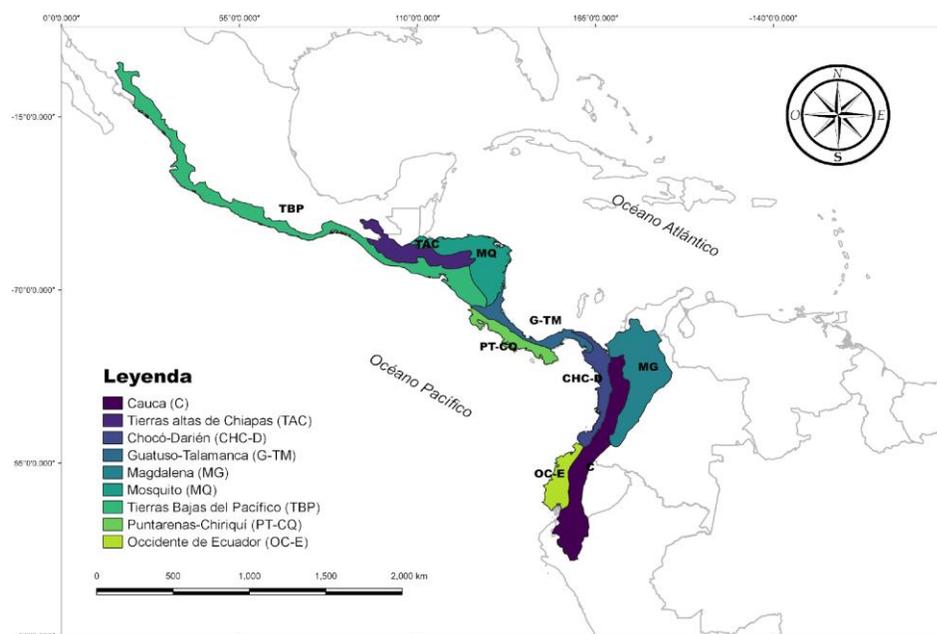
Con el fin de analizar las relaciones filogenéticas y los tiempos de divergencia de las especies del grupo *C. fitzingeri* se usaron 61 secuencias del gen Citocromo Oxidasa I, las cuales fueron editadas y alineadas en el software Mega v. 11 (Tamura et al., 2021). Se utilizó el modelo de evolución nucleotídica TN93+G+I (Tamura-Nei, 1993), escogido a través del programa JModelTest 2.1.10 (Darriba et al., 2012). El árbol fue construido bajo la inferencia Bayesiana usando el software Beast 1.10.4 (Bouckaert et al., 2014). Para este se establecieron tres puntos de calibración sobre el ancestro común más reciente, ~22.5 m.a. para el clado *C. fitzingeri* (Pinto-Sánchez et al., 2014), ~46.5 m.a. para el grupo externo *Pristimantis achatinus*, teniendo en cuenta que este es el tiempo de divergencia estimado para las familias Craugastoridae y Strabomantidae y ~63 m.a. como punto de separación entre Craugastoridae, Strabomantidae y Leptodactylidae (Hedges & Kumar, 2009), asumiendo una distribución normal como prior para cada punto de calibración con desviación estándar de 2.5 millones de años (basado en los extremos del intervalo de confianza fijado para los ancestros). Se utilizó un reloj relajado lognormal no correlacionado (Drummond et al., 2006), con una tasa de especiación constante de Yule como tree prior; se usaron cuatro cadenas de Markov de 30 millones de generaciones cada una y guardando los árboles cada 1000 corridas. Estos resultados fueron verificados en el software TRACER V. 1.7.1 (Rambaut et al., 2018), donde, con el fin de saber si se hizo un buen muestreo se utilizó el ESS > 200 (Effective Sample Size), lo cual indica que la cadena de Markov estimó bien los parámetros (tiempos de divergencia) y alcanzó la convergencia. Finalmente, el resumen de los resultados con el estimado de las probabilidades posteriores (Pp) se verificó en el software TreeAnnotator (Helfrich et al., 2018), estableciendo un burn-in del 10%+1 especificado como número de árboles (3001), buscando eliminar los árboles iniciales hasta alcanzar la convergencia. Los árboles restantes se utilizaron para generar el consenso de mayoría del 50% (Wilcox et al. 2002).

### 4.3.3 Reconstrucción de áreas ancestrales

Para realizar la reconstrucción de áreas ancestrales se utilizaron las provincias biogeográficas propuestas por Morrone (2014), seleccionadas con base en la distribución del grupo de especies *C. fitzingeri*. El muestreo de unidades biogeográficas se realizó a

partir de datos de distribución de cada especie descargados de la base de datos GBIF ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)). Estos puntos fueron filtrados eliminando coordenadas duplicadas y por fuera del rango de distribución registrado en la literatura (Frost, 2021; AmphibiaWeb, 2021; Ospina-Sarria et al., 2015); posteriormente, se superpusieron sobre una capa vectorial de coberturas de provincias biogeográficas de América Latina y el Caribe (Löwenberg-Neto, 2014) en el software QGIS 3.16, seleccionándose así: Tierras Bajas del Pacífico (TBP), Tierras Altas de Chiapas (TAC), Mosquito (MQ), Puntarenas-Chiriquí (PT-CQ), Chocó-Darién (CHC-D), Guatuso-Talamanca (G-TM), Cauca (C), Magdalena (MG) y Occidente de Ecuador (OC-E) (Fig. 2).

Se utilizó el análisis estadístico de dispersión-vicarianza (S-DIVA; Yu et al., 2010) en el software RASP V. 4.3 (Yu et al., 2015) dado que el interés está puesto sobre la diversificación del grupo de especies, por lo cual es necesario incluir los eventos de vicarianza en el análisis. S-DIVA funciona a partir de análisis bayesianos, los cuáles incluyen la incertidumbre en la inferencia filogenética y en las reconstrucciones biogeográficas que su modelo base: DIVA (Ronquist, 1997), excluye. Este realiza el proceso en una filogenia mediante la optimización de una matriz de costos tridimensional, que entonces utiliza la frecuencia de reconstrucciones alternativas generadas para cada árbol en un conjunto de datos para calcular la ocurrencia de un rango ancestral en un nodo (Ronquist, 1997; Yu et al., 2010; Yu et al., 2015).



**Figura 2.** Áreas biogeográficas seleccionadas para el análisis en RASP V. 4.3. Modificado de Löwenberg-Neto, 2014. Basándose en Morrone, 2014.

#### **4.3.4 Análisis filogeográfico preliminar de especies de amplia distribución en el grupo de especies *C. fitzingeri*: *Craugastor longirostris* un estudio de caso**

En el árbol bayesiano (Fig. 5) se observa que la especie *C. longirostris* es parafilética, por ello se realizó una reconstrucción filogenética con las secuencias disponibles de esta especie, ya que para esta se tuvo acceso a una mayor cantidad de información genética. Para esto, se utilizaron las 3 secuencias del gen Citocromo Oxidasa I (COI) disponibles en el GeneBank del NCBI y Bold y 23 adicionales proporcionadas por el laboratorio Biomjics de la Universidad de los Andes. Una vez las secuencias fueron editadas y alineadas en el software Mega v. 11 (Tamura et al., 2021), se calculó la divergencia genética (Tamura-Nei) para cada individuo en la matriz de datos genéticos. Se identificaron tres posibles grupos genéticos claramente diferenciados en el Chocó (Colombia), los cuales fueron tratados como unidades poblacionales diferentes en la comparación interpoblacional (Anexo 2); además, se confirmó que las poblaciones de *C. aff. longirostris* de Antioquia y Santander, corresponden a un mismo grupo con *C. metriosistus*, por lo que se conservaron como grupo externo. Para ambos análisis (por individuos y por pares de poblaciones), se utilizaron 1000 réplicas de Bootstrap como método de estimación de varianza.

Para obtener información sobre la estructura genética interpoblacional se usó el estadístico  $F_{st}$  (Hudson et al., 1992) en el software DnaSP v. 6 (Rozas et al., 2017).  $F_{st}$  es una medida de la variación del componente genético intra vs. interpoblacional, de modo que un  $F_{st}$  de 0 indica que todas las secuencias incluidas en el análisis corresponden a la misma población y un  $F_{st}$  de 1, indica que son poblaciones completamente diferentes, por lo que se consideran especies distintas (Wright, 1951). Se corrió un test de probabilidad de 1000 permutaciones para esta medida de diferenciación. Para calcular la diversidad dentro de las poblaciones, se utilizó la diversidad de haplotipos ( $H_d$ ). No fue posible incluir las poblaciones Choco\_Pb3 y Panamá (Tabla. 2), ya que cada una contenía una sola secuencia.

### 4.3.5 Modelos de nicho

#### 4.3.5.1 Registros de presencia y variables ambientales

Los registros de presencia para las especies fueron descargados de la base de datos en línea GBIF en formato CSV (<https://www.gbif.org/>). Se eliminaron duplicados correspondientes a coordenadas (longitud, latitud) exactamente iguales para dos o más registros y se recuperaron coordenadas con ayuda de Google Earth pro, para los registros que presentaban las localidades de colecta, pero que carecían de coordenadas. Todos los puntos que se encontraban por fuera del rango de distribución registrado en la literatura (Ospina-Sarria et al., 2015; Frost, 2021; AmphibiaWeb, 2022), fueron eliminados. En cuanto a los datos ambientales, se descargaron de worldclim las 19 variables bioclimáticas en formato raster a 30 arcseg de resolución ( $\sim 1\text{km}^2$ ). Dado que el interés está puesto en comparaciones en el espacio ambiental, ambas unidades deben ser, por consiguiente, comparables entre sí. Conformer un set de variables que representaran bien a todas las especies del grupo *C. fitzingeri* por lo cual, no se discriminó entre variables y se utilizaron todas en el análisis.

#### 4.3.5.2 Test de similaridad y equivalencia de nicho

Medir el solapamiento del nicho ambiental de las especies de este grupo permite cuantificar cuánto del nicho se encuentra compartido entre ellas. Para ello se calculó el solapamiento de nicho, a partir de comparaciones por pares para las siete especies del grupo *Craugastor fitzingeri* utilizadas en la reconstrucción filogenética. El estadístico utilizado para representar dichos valores fue la *D* de Schoener (Schoener 1968; Warren et al., 2008), la cual varía entre 0 y 1, donde 0 significa que ambas especies no presentan solapamiento y 1 que el solapamiento de ambos nichos es total.

Se realizaron el test de equivalencia (o identidad de nicho) y el test de similaridad de nicho (Warren et al., 2008) con el paquete ENMtools (Warren et al., 2010) en el programa R Project V 4.1.3. El test de identidad de nichos crea una distribución nula para cada par de especies a partir de la aleatorización de las identidades de las mismas, esto, agrupando los puntos de ocurrencias de ambas y seleccionando al azar para construir

una nueva muestra del mismo tamaño que la muestra original. Luego de obtenidos los modelos nulos de 100 pseudo-réplicas para cada par de especies, se compararon con el valor de solapamiento de  $D$ , el cual fue sobrepuesto a las simulaciones para obtener los  $P$ -valores; en un escenario de conservadurismo de nicho, se esperaba obtener  $P > 0.05$ ; ya que, la hipótesis nula de esta prueba asume que ambos nichos son indistinguibles el uno del otro. Por otro lado, el test de similaridad (background test) es menos conservador, ya que, no aplica la aleatorización sobre los registros unitarios de cada especie, sino que busca probar cuánto el nicho de una especie puede predecir el nicho de otra y viceversa, siempre y cuando se aplique el análisis en ambos sentidos. Este test comparó el nicho ambiental de una especie A, con una distribución nula creada a partir de 100 puntos aleatorios escogidos dentro del rango geográfico de la especie B. En este caso la prueba se aplicó en un solo sentido, ya que, aunque los  $P$ -valores pueden cambiar en ambos casos, la significancia no cambia drásticamente (e.g. Fačkovcová et al., 2017). Bajo similaridad, se esperaba rechazar la hipótesis nula de que los nichos son diferentes ( $P$ -valor  $< 0.05$ ). Se consideraba que existía conservadurismo de nicho bajo dos situaciones: (1) cuando el valor observado de identidad no caía en el 5% de significancia y el test de similaridad era significativo (situación poco probable) y, (2) cuando ambos observados eran significativos, ya que, si bien indicaría que los nichos no son idénticos, sí son más similares que lo esperado bajo el azar. En el caso en el que ambos tests no fueran significativo, se consideraba prioritario el test de similaridad por ser menos conservador, ya que es poco probable que dos nichos sean idénticos y a la vez no sean más similares que lo esperado bajo el azar. Cuando esto ocurría, se asumía que el espacio ambiental total presente en uno o ambos paisajes era idéntico a uno o ambos nichos ocupados por una o ambas especies, en cuyo caso el poder del estadístico de equivalencia es limitado para detectar diferencias significativas, aún si éstas existen (Brown & Carnaval, 2019).

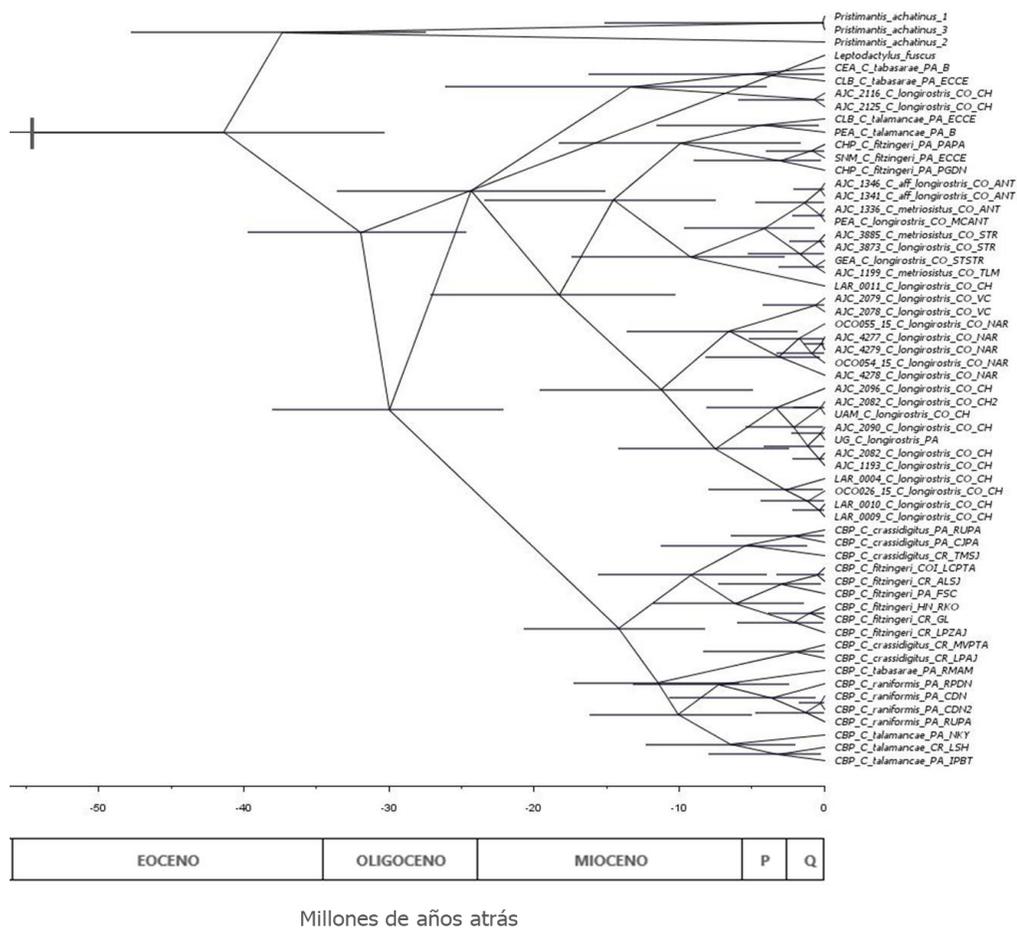
## 5. RESULTADOS

### 5.1. Análisis filogenético y tiempos de divergencia

La matriz de datos genéticos está compuesta de 61 individuos y un fragmento del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I para un total de 756 sitios. El grupo de especies *Craugastor fitzingeri* está altamente soportado como monofilético, cuyo ancestro común más reciente se estima vivió hace ~29.9 m.a. entre el Oligoceno tardío y el Mioceno temprano (Fig. 3). Esto concuerda con Pinto-Sánchez et al. (2014), quienes incluyeron seis de las siete especies utilizadas en este trabajo y estimaron dicho ancestro a ~22.5 m.a., y Crawford & Smith (2005) quienes estimaron que los grupos de especies *gollmeri*, *bransfordii*, *mexicanus* y *fitzingeri* comparten un ancestro común que vivió durante el Oligoceno (34-23 m.a.). Sin embargo, las relaciones dentro del clado aún no son claras (Fig. 5); se observan dos grupos, el primero presenta bajo soporte y un ancestro común más antiguo (Pp = 0.79, ~24.34 m.a.; Fig. 5, Fig. 3), e incluye principalmente a *C. metriosistus*, *C. fitzingeri* de Panamá y *C. longirostris* del Chocó; mientras que el grupo más reciente (Pp= 1. ~10.7 m.a.; Fig. 5, Fig. 3) relaciona principalmente a *C. raniformis*, *C. fitzingeri* de Costa Rica y Honduras y *C. crassidigitus*. A través de esta reconstrucción, se puede concluir que todas las especies, a excepción de *C. raniformis* son parafileticas.

El nodo que contiene a los individuos de *C. longirostris* de Antioquia y Santander y *C. metriosistus*, presenta un alto soporte (Pp=1), lo cual concuerda con, y confirma que, lo que anteriormente se consideraba como *C. longirostris* en el Valle del Magdalena, actualmente corresponde a *C. metriosistus* (Ospina-Sarria et al., 2015). Estas muestras fueron publicadas como *C. longirostris* por Crawford et al. (2007), antes de que se cambiara su distribución y se describiera la nueva especie. *C. metriosistus* presenta un ancestro en común con un individuo de *C. longirostris* del Chocó (Pp=1, ~9.17 m.a.; Fig. 5; Fig. 3). Este a su vez, no presentó relación en la filogenia con otros individuos de la misma especie, ni en Chocó, ni en ninguna otra localidad. Solo se obtuvo una secuencia para *C. longirostris* de Panamá, y se observó que presenta mayor cercanía con los individuos Chocoanos, que con individuos de otras zonas (Fig. 5); sin embargo, los estimados de las probabilidades posteriores para

estos nodos fueron bajos, por lo que incluir un mayor número de secuencias de este gen y de otros marcadores mitocondriales y nucleares para distintas localidades de centroamérica permitiría esclarecer las relaciones dentro del grupo. Para aves, Brumfield & Capparella (1996) mencionan que al comparar distancias genéticas de las especies trans-Andinas (occidente de los Andes), en promedio estas eran dos veces más similares con las especies Centroamericanas que con las especies Cis-Andinas (este de los Andes), y si bien *C. metriosistus* no es una especie trans-Andina, se encuentra restringida al Valle del Magdalena, que aunque durante el Mioceno ya se encontraba separado del Pacífico Colombiano por la cordillera Occidental, se mantuvieron conectados a través de las tierras bajas del noroeste del país antes del Pleistoceno (Hoorn et al., 2010), época en la que se separarían totalmente, por efectos climáticos (Haffer, 1967; 1969; 1982).



**Figura 3.** Árbol construido bajo inferencia Bayesiana con tiempos de divergencia para el grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. La barra horizontal representa la escala temporal en millones de años durante la que ocurrieron divergencias dentro del grupo. Se suma un esquema de épocas geológicas, correspondiente a la escala temporal. Q= Período Cuaternario (Épocas: Pleistoceno y Holoceno), P= Plioceno.

## 5.2 Biogeografía histórica.

Se obtuvieron dos salidas para la reconstrucción de áreas ancestrales, ambas utilizando S-DIVA. En la primera no se consideraron los *C. longirostris* de Santander y Chocó como *C. metriosistus*, mientras que en el otro, se le asignó a estas dos muestras el área de distribución que le corresponde según los resultados obtenidos en el análisis bayesiano y la redescipción realizada por Ospina-Sarria et al. (2015), las discusiones se realizarán a partir del segundo, ya que los rangos ancestrales más probables presentan menor incertidumbre para la mayoría de los nodos.

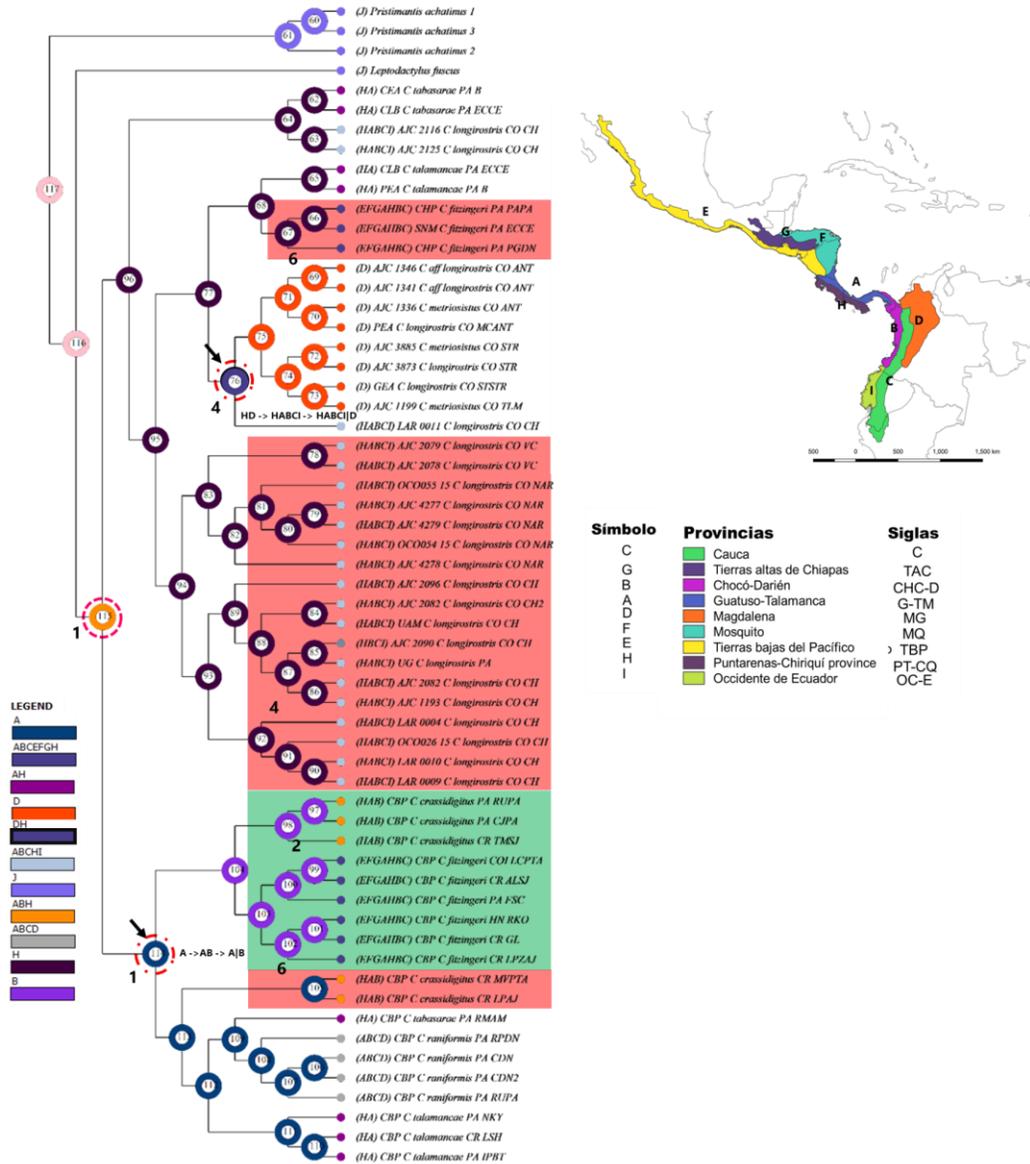
Los resultados de biogeografía histórica sugieren que se cumple la hipótesis I (dispersión como evento principal de diversificación) y II (relación entre la dispersión y eventos geológicos), ya que la dispersión fue el evento más importante durante la diversificación del grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. En total se identificaron 171 posibles eventos de dispersión desde Centroamérica hasta Suramérica en su mayoría desde H y A (PT-CQ y G-TM, Fig. 4) y, desde Suramérica hasta Centroamérica, desde B (CHC-D) hacia otras zonas. Si se utiliza a *C. fitzingeri* como ejemplo, bajo la cercanía temporal en las dispersiones ocurridas por esta especie en ambos sentidos (centro-sur, sur-centro) (entre 3 y 1.5 m.a.), se pueden asumir dos escenarios: (1) el rango real del ancestro de *C. fitzingeri* se encontraba en A y B (centro y suramérica), pero como consecuencia de la falta de secuencias de *C. fitzingeri* para Colombia, se observa una aparente parafilia para el grupo; por lo cual, no se pudo establecer un ancestro común con dicho rango. O (2) ambos grupos son dos linajes evolutivos independientes no descritos. Montes et al. (2015) mencionan que hacia la mitad del Mioceno (13-15 m.a.) ya existía transporte de sedimentos hacia las cuencas Suramericanas a través de ríos Panameños, por lo que debían haber emergido por lo menos algunas partes del arco de Panamá, proporcionando el cierre de la vía marítima e

impulsando el GABI antes de los que se creía (~10 m.a.); dos eventos de vicarianza precedidos por dispersiones de Centro a Suramérica observados a través del análisis, apoyan estas propuestas, cumpliendo parcialmente la hipótesis 3 (vicarianza como el evento promotor más importante). El primer evento pudo ocurrir en cualquier momento a lo largo del Mioceno (Fig. 4, Fig. 3), e involucran una dispersión desde A (Istmo de Panamá), hasta B (Chocó), antes del evento vicariante. Dada la ventana temporal en la que se estima ocurrió y la ubicación del rango ancestral, pudo darse una disrupción alopátrica a partir de la fragmentación del Istmo de Panamá durante las primeras colisiones de este contra el litoral Caribe (23-25 m.a.; Farris et al., 2011). El segundo evento de vicarianza involucró al ancestro común de *C. metriosistus* y el individuo de *C. longirostris* del Chocó mencionado anteriormente, el cuál pudo darse entre el Mioceno medio y el Pleistoceno (2.2-14.1 m.a.). Durante estas épocas estaban ocurriendo diversos eventos geológicos, como el mismo cierre del Istmo de Panamá (Montes et al., 2012), las fluctuaciones climáticas del Plio-Pleistoceno (Leyden et al., 1993; Martínez-Botí et al., 2015) y el cierre total de las conexiones cis y trans andinas (Crampton, 2006; Albert et al., 2006), las cuales podrían haber impulsado este posible evento de vicarianza. Con la evidencia actual, es claro que centroamérica y el Magdalena estuvieron conectados durante ésta época por un corredor de condiciones húmedas en las tierras bajas del Caribe Colombiano, al noroeste de los Andes (Hoorn et al., 2010); por lo que el evento vicariante podría asociarse a barreras ambientales producto de los periodos de glaciaciones y calentamientos rápidos ocurridos durante el Pleistoceno, que modificaron de manera importante las características de los ecosistemas en todo el continente. Apoyando la hipótesis del refugio forestal propuesta por Haffer (1967, 1969, 1982), que contempla una interrupción o fragmentación temporal de este corredor inducida por el ambiente, produciendo una divergencia alopátrica. Por otro lado, el levantamiento total de la cordillera oriental, que puede no haber afectado directamente la conexión entre norte y suramérica, sí se considera como una barrera importante que pudo impedir la dispersión de especies de diferentes grupos taxonómicos hacia la Selva Amazónica (e.g. Weir & Price, 2011; Escobar et al., 2020).

Los nodos que contienen a *C. fitzingeri* y *C. raniformis* (ambas especies de amplia distribución) presentaron eventos de dispersión en mayor proporción que las demás especies del grupo. Se observa que el ancestro común más reciente de este se encontraba probablemente en HAB

(PT-CQ, G-TM, CHC-D, respectivamente; Fig. 2), en cualquiera de estas tres zonas, o en todas a la vez y debió vivir entre el Eoceno tardío y el Mioceno temprano (22.1-38 m.a; Fig. 3). No obstante, se sabe que el arco de Panamá es de origen volcánico, y se estima que desde el Eoceno tardío se encontraba enfriándose, emergiendo, y erosionando (Woordring, 1957; Farris et al., 2008; Montes et al., 2012;), habiendo algunas zonas disponibles para establecerse después del Mioceno medio (Montes et al., 2015); por lo cual, antes de esta época, la presencia de dicho ancestro en el área B es cuestionable. Las reconstrucciones de biogeografía histórica se realizan basadas en los rangos actuales de las especies, por lo cual, el ancestro puede predecirse estar en zonas que geológicamente aún no estaban configuradas como lo están en la actualidad. Es imposible saber al 100% qué rangos se encontraban ocupados por los ancestros, pero se puede hipotetizar con base en los eventos geológicos y ecológicos asociados a esas zonas y las mismas restricciones fisiológicas de las especies.

El área que presentó el mayor número de eventos de especiación dentro de sí misma fue G-TM (A); aunque, fue en Puntarenas-Chiriquí, donde se encuentra la mayoría del rango ancestral de las especies del grupo. La mayoría de linajes presentaron este rango en al menos uno de sus ancestros (Fig. 4). Un posible evento de extinción (ABH → A) habría ocurrido entre el Oligoceno medio y el Mioceno temprano (19.2-28.84 m.a), esto significa que se cumple la hipótesis IV y los eventos de extinción tuvieron un efecto en la diversificación del grupo de especies *C. fitzingeri*; pero subsiguientemente y por las mismas desconexiones temporales y geológicas, no se puede asegurar que el ancestro en principio se encontrara distribuido en el área B y, por consiguiente, que se haya extinguido localmente en la misma. La ubicación de los eventos de dispersión dentro de la filogenia permite concluir que la mayoría de las especies del grupo, a excepción de *C. metriosistus* se encontraban diferenciadas en Centroamérica, antes de dispersarse hacia el sur; mientras que el noroeste de los Andes pudo tener un impacto importante en los procesos de especiación de esta. Es importante considerar los aspectos fisiológicos de las especies en la actualidad, para tener un proxy de las restricciones de los ancestros, ya que estas limitantes asociadas a fluctuaciones del clima y la geografía ayudarán a entender bajo diferentes líneas de evidencia la historia evolutiva de las especies.



**Figura 4.** Reconstrucción de áreas ancestrales para el grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. Las ramas sombreadas en rojo, presentaron eventos de dispersión desde Centroamérica hacia Suramérica. Las ramas sombreadas en verde, presentaron eventos de dispersión desde Suramérica hacia Centroamérica. Se señala con una flecha los eventos de vicarianza y sus respectivas rutas, con un círculo punteado rojo a los eventos de dispersión que ocurrieron anterior al evento de vicarianza y con un círculo punteado fucsia los eventos de extinción. Los números indican el estimado de eventos de dispersión para cada rama de la especie señalada.

### 5.3 *Craugastor longirostris*: un estudio de caso

A raíz de la necesidad de discriminar entre especies de forma rápida, fácil y útil se implementó el uso de secuencias de ADN, ya que estas no solo proveen una idea de la riqueza de especies, sino de su historia y relaciones evolutivas, tanto intra como interespecíficas. Por esta razón, existen una gran variedad de trabajos que cubren diferentes grupos taxonómico y demuestran la eficiencia de este tipo de análisis para, por ejemplo, reconocer umbrales para la delimitación de especies (e.g. las aves, en las que solo un 2% de divergencia delimita la posibilidad de reconocer una especie; Herbert et al., 2003; Herbert et al., 2004); o reconocer procesos de especiación incipientes aun cuando existe poca o nula variación fenotípica, tal como se ha observado en los camaleones del complejo *Calumma nasutum* (11.3–18.9%), los geckos del complejo *Phelsuma lineata* (4.2–18.6%), el scinco *Trachylepis gravenhorstii* (6.2–14.0%) o la serpiente *Pseudoxyrhopus tritaeniatus* con 7.8–9.9% de divergencia (Nagy et al., 2012). D'angiolella et al. (2011) en su trabajo sobre filogenia molecular y taxonomía del grupo *Anolis chrysolepys* encontraron divergencias de 5.9 - 27.4% concluyendo que se recuperan seis taxa a nivel de especies pertenecientes a este grupo. La divergencia genética observada en el Chocó biogeográfico permite identificar 3 grupos claramente diferenciados de lo que podrían ser 3 taxones no descritos (Chocó\_Pb1 vs. Chocó\_Pb2 =>25%; Chocó\_Pb1 vs. Chocó\_Pb3 => 17% y Chocó\_Pb2 vs. Chocó\_Pb3 => 23%; Tabla 2), si se considera que son valores iguales o mayores a los que se observan con el grupo externo (*C. metriosistus* vs. Chocó\_Pb1 =>19%, *C. metriosistus* vs. Chocó\_Pb2 =>25% y *C. metriosistus* vs. Chocó\_Pb3 =>11%). Los porcentajes de divergencia genética oscilan entre 2.6% y 26.6%, siendo la más baja la encontrada entre Panamá y Chocó\_Pb1 y la más alta la registrada entre Panamá y Chocó\_Pb2. Los valores de divergencia observada son similares a los obtenidos en trabajos realizados en otros grupos de vertebrados, con los que se utilizaron marcadores mitocondriales para medir diferenciación entre grupos poblacionales (Nicholson et al., 2006; Nagy et al., 2011); por lo tanto, la hipótesis V (relación entre la distribución y la variación genética), se cumple. Normalmente se espera que cuanto mayor sea la distancia geográfica, mayor sea la divergencia genética entre las poblaciones; sin embargo no se observa este mismo patrón con las poblaciones de *C. longirostris*, ya que en cortas distancias (dentro del Chocó) se distinguen grupos con altos valores de divergencia; esto es similar a los observado en ranas de la especie *Allobates*

*femoralis* en el Amazonas (Amezquita et al., 2009), lo cuál indica que estas poblaciones podrían estar respondiendo a presiones de selección local. Tanto en el árbol completo del grupo *C. fitzingeri*, como en la filogenia exclusiva de *C. longirostris*, el único individuo disponible correspondiente a Chocó\_Pb3, parece ser el grupo hermano de *C. metriosistus* (Pp= 1 y Pp=0.99, respectivamente; Fig. 5, Fig. 6); siendo Chocó\_Pb2 el linaje basal en ambas reconstrucciones.

Se encontraron un total de 10 haplotipos. Nariño (Hd=0.9) y Chocó (Hd=0.75) presentaron la mayor diversidad haplotípica, mientras que los valores para Valle del Cauca y Chocó\_Pb2 fueron iguales a cero (Tabla 3); esto puede ser consecuencia de un número bajo de individuos en las comparaciones (dos para cada una), por lo que no necesariamente el valor real de diversidad haplotípica para ambas poblaciones sea igual a cero. El valor de Fst (Tabla 4) fue alto para todas las comparaciones, incluso para los pares de poblaciones que presentaron bajos porcentajes de divergencia (e.g. Valle del Cauca vs. Nariño: % divergencia=7.183. Fst= 0.986) en comparación con el grupo externo (e.g. Valle del Cauca vs. *C. metriosistus*: % divergencia= 18 Fst= 1). Estos datos permiten concluir que existe estructura genética en la especie *C. longirostris*, ya que, aunque los porcentajes de divergencia para las poblaciones Chocó\_Pb1, Valle del Cauca y Nariño no superaron el 7.5% (Tabla 2), sí tuvieron valores de Fst altos (Tabla 4). Sin embargo, debido a que algunas de las poblaciones se encuentran submustradas, no se puede asegurar si están ocurriendo especiaciones incipientes, entre las poblaciones con divergencias más bajas y Fst alto, o si estos valores de Fst están soportando a una estructura no continua en términos geográficos y genéticos. Un muestreo exhaustivo que incluya más localidades y más genes para cada especie del grupo de especies *Craugastor fitzingeri* son necesarios para discriminar correctamente si, la poca claridad en las relaciones filogenéticas de grupo se deben a que la mayoría de sus especies son parafiléticas, o a que son unidades evolutivas diferentes o en proceso de diferenciación.

**Tabla 2.** Distancias genéticas interpoblacionales para *Craugastor longirostris*. \*: Grupo externo, Verde: Valores de divergencia bajos, Azul: comparaciones con el grupo externo (*C. metriosistus*), morado: Comparación entre grupos externos, Amarillo: Comparaciones entre poblaciones del Chocó, Rojo: Comparaciones significativas de Chocó\_Pb2 y Chocó\_Pb3

	Chocó_Pb1	Panama	<i>C. metriosistus</i> *	Valle	Chocó_Pb2	Chocó_Pb3	Narino
Chocó_Pb1	-	ns	*	ns	*	*	ns
Panama	0.02685	-	*	ns	*	*	ns
<i>C. metriosistus</i> *	0.19452	0.19820	-	*	*	*	*
Valle	0.08179	0.08251	0.18337	-	*	*	ns
Chocó_Pb2	0.25191	0.26390	0.25790	0.25926	-	*	*
Chocó_Pb3	0.17554	0.18977	0.11419	0.17536	0.23101	-	*
Narino	0.07183	0.07523	0.18614	0.06806	0.25498	0.16793	-

**Tabla 3.** Número de haplotipos por población ( $h$ ),  $Hd$ = diversidad haplotípica interpoblacional.

Poblaciones	$h$	$Hd$
Chocó, Pb 1	4	0.75
Chocó, Pb2	1	0
Nariño	4	0.9
Valle del Cauca	1	0

**Tabla 4.** Valores de  $F_{st}$  para la especie *Craugastor longirostris*. \*= grupo externo

Poblaciones	$F_{st}$
Chocó, Pb 1 vs. <i>C. metriosistus</i> *	0.834
Chocó, Pb 1 vs. Valle del Cauca	0.719
Chocó, Pb 1 vs. Nariño	0.652
Chocó, Pb2 vs. Chocó, Pb 1	0.422
Chocó, Pb 2 vs. <i>C. metriosistus</i> *	0.569
Chocó, Pb 2 vs. Nariño	0.525
Chocó, Pb 2 vs. Valle del Cauca	0.539
Nariño vs. Valle del Cauca	0.973
Nariño vs. <i>C. metriosistus</i> *	0.986
Valle del Cauca vs. <i>C. metriosistus</i> *	1

## 5.4 Test de similaridad y equivalencia de nicho

Se obtuvieron un total de 21 comparaciones, para las siete especies incluidas en el trabajo. Los modelos de nicho son computados a partir del rango total de la especie de interés, que se asume cubre el rango de condiciones idóneas para que una especie esté presente (Soberón et al., 2017); sin embargo, se ignora si este rango representa una entidad evolutiva independiente o un conjunto de linajes evolutivos que resultan clasificados como una unidad taxonómica (Pearman et al., 2010). Aunque los análisis filogenéticos y biogeográficos expuestos arriba no son concluyentes, se puede considerar que hay diversidad críptica dentro del grupo de especies *C. fitzingeri*; específicamente *C. longirostris*, para la cuál parecen haber tres linajes diferentes en el Chocó, los cuales podrían estar localmente adaptados bajo selección direccional ( $F_{st} \text{ Chocó\_Pb1 vs Chocó\_Pb2} = 0.91$ ; Cavalli-Sforza, 1966; Lewontin & Krakauer, 1973), aún cuando el número de secuencia disponibles fue bajo. No se puede asegurar que exista conservadurismo de nicho dentro del grupo, pero sería importante comparar estos posibles linajes independientes, contrastados con un test de divergencia de nicho.

**Tabla 5.** Resultados de las comparaciones en el espacio ambiental para siete especies del grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. Se presentan los valores de sobrelapamiento (D de Schoener), y los valores *P* para el test de equivalencia y el test de similaridad de nicho.

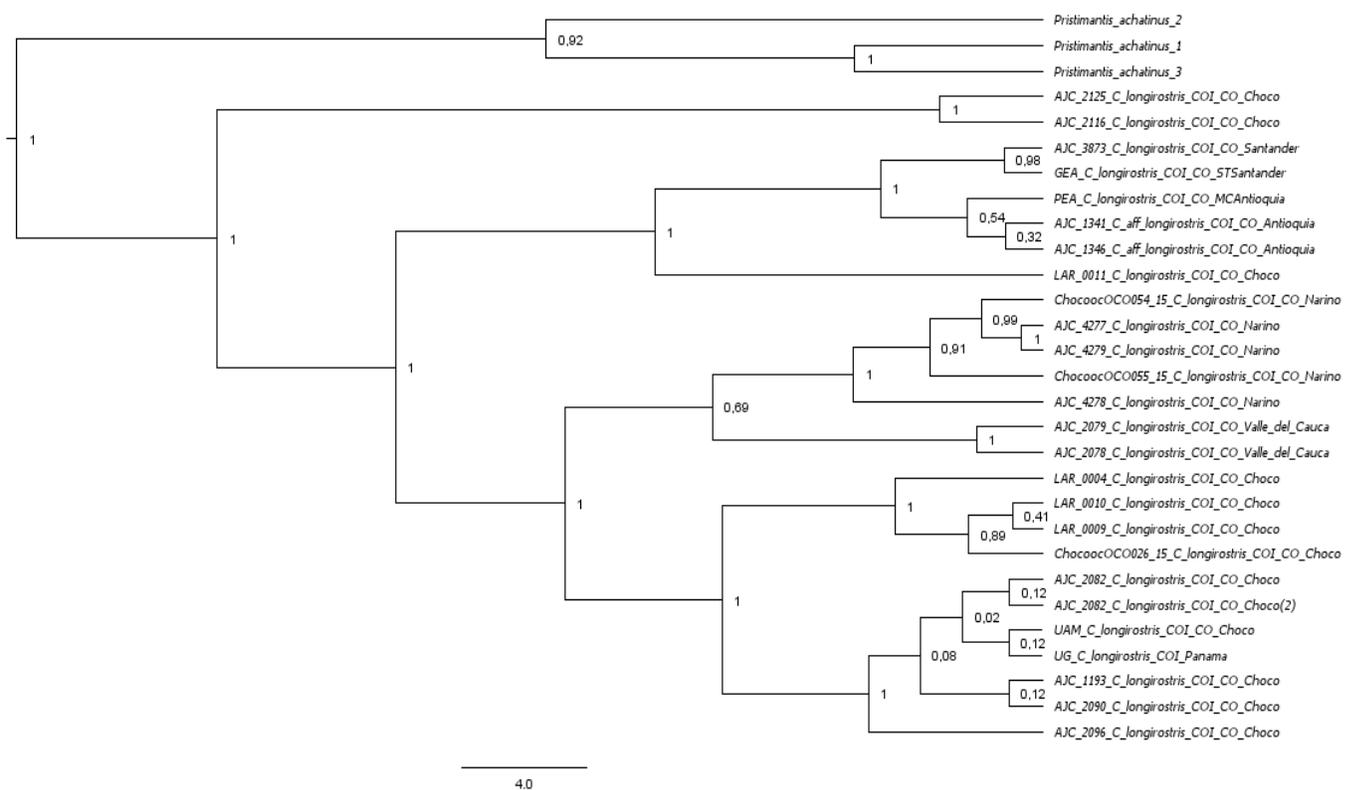
Especie 1	Especie 2	Sobrelapamiento (D)	Similaridad		Equivalencia	
			P-valor	interpretación	P-valor	Interpretación
<i>Craugastor longirostris</i>	<i>Craugastor fitzingeri</i>	0.3638275	0.07921	ns	1	Equivalente
	<i>Craugastor metriosistus</i>	0.006345771	0.31683	ns	1	Equivalente
	<i>Craugastor talamancae</i>	0.009968152	0.35644	ns	1	Equivalente
	<i>Craugastor tabasarae</i>	0.002211901	0.27723	ns	0.90909	Equivalente
	<i>Craugastor raniformis</i>	0.5182676	0.0495	*	0.81818	Equivalente
	<i>Craugastor crassidigitus</i>	0.09120408	0.28713	ns	1	Equivalente
<i>Craugastor fitzingeri</i>	<i>Craugastor metriosistus</i>	0.1159122	0.06931	ns	0.09091	Equivalente
	<i>Craugastor talamancae</i>	0.08004405	0.24752	ns	1	Equivalente
	<i>Craugastor tabasarae</i>	0.02749395	0.13861	ns	1	Equivalente

	Craugastor raniformis	0.378181	0.06931	ns	1	Equivalente
	Craugastor crassidigitus	0.3327919	0.07921	ns	1	Equivalente
Craugastor metriosistus	Craugastor talamancae	0.4613229	0.0198	*	0.63636	Equivalente
	Craugastor tabasarae	0.2574323	0.0198	*	0.90909	Equivalente
	Craugastor raniformis	0.01928657	0.14851	ns	1	Equivalente
	Craugastor crassidigitus	0.1365821	0.05941	ns	1	Equivalente
Craugastor talamancae	Craugastor tabasarae	0.3049507	0.0099	*	0.45455	Equivalente
	Craugastor crassidigitus	0.09292745	0.20792	ns	1	Equivalente
	Craugastor raniformis	0.01961481	0.34653	ns	1	Equivalente
Craugastor tabasarae	Craugastor crassidigitus	0.006178057	0.25743	ns	1	Equivalente
	Craugastor raniformis	0.006740034	0.06931	ns	1	Equivalente
Craugastor raniformis	Craugastor crassidigitus	0.06470631	0.25743	ns	1	Equivalente

No hay relación aparente entre la reconstrucción filogenética del grupo, la reconstrucción de áreas ancestrales y las comparaciones ambientales estadísticamente significativas, por lo cual no se cumplió la Predicción II de la Hipótesis VI (especies más cercanamente emparentadas = nichos más similares). La similitud ambiental se centra en el área compartida o idónea para ambas especies, más que en las zonas ambientales disponibles y diferentes entre ambos rangos; por lo cual, se tiene que ver como una función de la selección de hábitat (idoneidad) más que un artefacto de las diferencias subyacentes a los hábitats disponibles en ambos rangos, no ocupados por la especie comparada (Rödger & Lötters, 2009). A partir de esto surge la hipótesis de que ignorar la estructura filogeográfica de las especies de este grupo, al momento de realizar las comparaciones, pudo haber afectado el poder de esta, fallando en rechazar la  $H_0$  (nichos diferentes), aun cuando los valores de solapamiento fueron altos; esto se ve reflejado en que las especies con las distribuciones más restringidas del grupo y que comparten gran parte de las áreas biogeográficas fueron las que presentaron comparaciones significativas. Por otro lado *C. raniformis*, que también se observa es monofilético ( $P_p=0.99$ ; Fig. 5), presentó resultados estadísticamente significativos al ser comparada con *C. longirostris* y exhibió el valor más alto de solapamiento ( $D=0.51$ ).

Se cumplió parcialmente la predicción I de la Hipótesis VI (especies con amplia distribución = nichos más similares), ya que se esperaba que *C. longirostris*, *C. fitzingeri* y *C.*





**Figura 6.** Arbol filogenético de la especie *Craugastor longirostris*. Los individuos de Santander y Antioquia forman un grupo altamente soportado ( $P_p = 1$ ), concordando con lo observado en la filogenia completa del grupo *C. fitzingeri*, donde estas secuencias corresponden a la especie *C. metriosistus*.

## 6. CONCLUSIONES

Este estudio que integró biogeografía histórica con modelos de nicho ecológicos sugiere la existencia de diversidad críptica en el grupo de especies *Craugastor fitzingeri*. Los análisis filogenéticos y tiempos de divergencia basados en el gen Citocromo Oxidasa I (COI), sugieren que el ancestro común más reciente del grupo de especies *Craugastor fitzingeri* vivió entre el Oligoceno tardío y el Mioceno temprano (~29.9 m.a). Todas las especies del grupo son aparentemente parafiléticas, aun cuando el grupo es monofilético. Se logró identificar la dispersión como el mecanismo que mejor explica los patrones de distribución actuales de las especies del grupo; 171 dispersiones fueron estimadas, las cuales, en su mayoría, ocurrieron desde Centroamérica hacia Suramérica. Se presentaron dos eventos importantes de vicarianza, precedido de dispersiones, que pudieron influir de manera directa con los procesos de especiación y apoyan la hipótesis del cierre del Istmo de Panamá entre 13 y 15 m.a. atrás. Estos resultados se unen a la lista de trabajos que presentan aparentes discordancias temporales con el modelo GABI tradicional (~3.5 m.a.), ratificando una vez más que los intercambios de biota entre América del Norte y América del sur pudieron iniciar por lo menos 7 m.a. antes de lo esperado. *C. longirostris* como caso de estudio, abre la puerta a preguntas relacionadas con los procesos adaptativos locales que en la actualidad están impulsando la diferenciación genética de las especies del grupo *C. fitzingeri*; se encontraron tres grupos claramente diferenciados de lo que podrían ser 3 taxones no descritos para el Chocó (Colombia), el cálculo de distancias genéticas y el árbol filogenético realizados para la especie, ratifica que las poblaciones de Antioquia y Santander que antes se atribuían a *C. longirostris*, en realidad pertenecen a *C. metriosistus*. Los altos valores de  $F_{st}$  indicaron que existe estructura genética en la especie, sin embargo, no se puede asegurar si están ocurriendo procesos de especiación incipiente, o sí, a excepción de Chocó\_Pb2 y Chocó\_Pb3, *C. longirostris* representa una población con una estructura discontinua geográfica y genéticamente. Con los datos obtenidos en este trabajo es posible decir que no hay conservadurismo de nicho entre las especies del grupo de especies *C. fitzingeri*; pero es importante no desligar los patrones filogeográficos al momento de realizar comparaciones en el espacio ambiental, para evitar afectar el poder de los test de similaridad y equivalencia.

## 7. RECOMENDACIONES

- Incluir un mayor número de secuencias, de individuos que cubran el rango de distribución de las especies, además de una mayor cantidad de genes (mitocondriales y nucleares), para así poder recoger la mayor cantidad de variación y discriminar con mayor seguridad, si la poca claridad en las relaciones del grupo se debe a una falta de información, o a que existen taxa no descritas y/o clasificadas de forma incorrecta.
- Tener en cuenta los patrones filogeográficos de las especies a comparar en futuras investigaciones, para evitar afectar el poder de los test de similitud y equivalencia.
- Incluir a *Craugastor chingopetaca* en futuros análisis filogenéticos.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Albert, JS, Lovejoy, TR , Crampton, WGR. "Miocene Tectonism and the Separation of Cis- and Trans-Andean River Basins: Evidence from Neotropical Fishes. *J. S. Am. Earth Sci.* . 2006; 21(1):14- 27.

AmphibiaWeb. (2021). <<https://amphibiaweb.org>> University of California, Berkeley, CA, USA. Accessed 27 Apr 2021.

Amezquita A, Lima AP, Jehle R, Castellanos L, Ramos O, Crawford AJ, Hoedl W. Calls, colours, shape, and genes: a multi-trait approach to the study of geographic variation in the Amazonian frog *Allobates femoralis*. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 2009; 98(4): 826-838.

Beaumont MA. Adaptation and speciation: what can *Fst* tell us?. *Trends Ecol. Evol.* 2005; 20(8): 435-440.

Beaulieu JM, Tank DC, Donoghue M. A Southern Hemisphere origin for campanulid angiosperms, with traces of the break-up of Gondwana. *BMC Evol Biol.* 2013; 13: 80.

Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, Suchard M, Rambaut A, Drummond AJ, Prlic A. BEAST2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Computational Biology.* 2014; 10(4): e1003537.

Brooks DR. and McLennan DA. *Phylogeny, Ecology, and Behavior: A Research Program in Comparative Biology.* University of Chicago Press. 1991.

Brown J L, Carnaval AC. A tale of two niches: methods, concepts, and evolution. *Frontiers of Biogeography.* 2019; 11(4): e44158.

Brumfield RT, Capparella AP. Historical diversification of birds in northwestern South America: a molecular perspective on the role of vicariant events. *Evolution.* 1996; 50(4), 1607-1624.

Castroviejo-Fisher S, Guayasamin J, González-Voyer A, Vilá C. Neotropical diversification seen through glassfrogs. *J. Biogeogr.* 2013; 41(1): 66-80.

Cavalli-Sforza LL. Population structure and human evolution. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences.* 1966; 164(995): 362-379.

Cox CB, Moore PD. *Biogeography: an ecological and evolutionary approach.* 8th ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2010.

Crawford AJ, Bermingham E, Carolina PS. 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.* 2007; 16(22): 4789-4807.

Crawford A, Smith E. 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.* 2005; 35(3): 536–555.

Dobzhansky T. Evolution in the tropics. *Am. Sci.* 1950; 38: 208-22.

D'Angiolella AB, Gamble T, Avila-Pires TCS, Colli GC, Noonan BP, Vitt L. *Anolis chrysolepis dumeril* and *bibron*, 1837 (Squamata: Iguanidae), revisited: molecular phylogeny and taxonomy of the *Anolis chrysolepis* species group. *Bulletin Museum Comparative Zoology.* 2011; 160(2): 35-63.

Donoghue MJ, Moore BR. Toward an integrative historical biogeography. *Integrative and comparative biology.* 2003; 43(2), 261-270.

Duellman WE. The hylid frogs of Middle America, vol. 2. *Contrib. Herp.* 2001; 18(2): 695–1158.  
Frost D. *Amphibian Species of the World: an Online Reference.* Version 6.1. at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. 2021. American Museum of Natural History, New York, USA.

Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ, Rambaut A. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biol.* 2006; 4: e88.

Farris DW, Jaramillo C, Bayona G, Restrepo-Moreno SA, Montes C, Cardona A, Valencia V. Fracturing of the Panamanian Isthmus during initial collision with South America. *Geology.* 2011; 39(11): 1007-1010.

Graham CH, Ron SR, Santos JC, Schneider CJ, Moritz C. Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution.* 2004; 58:1781– 1793.

Gregory-Wodzicki KM. Uplift history of the Central and Northern Andes: a review. *Geol. Soc. Am. Bull.* 2000; 112(7): 1091-1105.

Haffer J. Some allopatric species pairs of birds in north-western Colombia. *The Auk.* 1967; 84(3): 343-365.

Haffer J. Speciation in Amazonian Forest Birds: Most species probably originated in forest refuges during dry climatic periods. *Science.* 1969; 165(3889): 131-137.

Haffer J. General aspects of the refuge theory. *Biological diversification in the tropics.* 1982; 6-24.

Hernandez A, Escoriza D, Hou M. Patterns of niche diversification in south-east Asian crocodile newts. *Zool. Anz.* 2018; 276: 86-93.

Harvey PH, Pagel MD. The comparative method in evolutionary biology. Vol. 239. Oxford: Oxford university press; 1991.

Hedges B. Caribbean Biogeography: Implications of Recent Plate Tectonic Studies. *Systematic Zoology.* 1982; 31(4): 518–522.

Hedges B, Duellman W, Heinicke M. New World direct-developing frogs (Anura: Terrarana): Molecular phylogeny, classification, biogeography, and conservation. *Zootaxa*. 2008; 1737(1): 1-182.

Helfrich P, Rieb E, Abrami G, Lücking A, & Mehler A. TreeAnnotator: versatile visual annotation of hierarchical text relations. In Proceedings of the eleventh international conference on language resources and evaluation. LREC. 2018.

Hedges SB, Kumar S. The timetree of life. Ed. 1. Oxford: OUP Oxford; 2009.

Heinicke MP, Duellman WE, Hedges SB. Major Caribbean and Central American frog faunas originated by ancient oceanic dispersal. *PNAS*. 2007; 104(24): 10092-10097.

Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS biology*. 2004; 2(10): e312.

Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc R Soc Lond B*. 2003; 270:S96–S99.

Hoon C, van der Hammer R, de la Parra F, Salamanca S, ter Steege H, Banks H, Lagomarsino LP. Going north and south: The biogeographic history of two Malvaceae in the wake of Neogene Andean uplift and connectivity between the Americas. *Review of Palaeobotany and Palynology*. 2019; 264, 90-109.

Horton BK, Parra M, Saylor JE, Nie J, Mora A, Torres V, Strecker MR. Resolving uplift of the northern Andes using detrital zircon age signatures. *GSA today*. 2010; 20(7): 4-10.

Humphries CJ, Parenti LR. *Cladistic Biogeography: Interpreting Patterns of Plant and Animal Distributions*. Ed. 2. Oxford: Oxford University Press; 1999.

Lamm KS, Redelings BD. Reconstructing ancestral ranges in historical biogeography: properties and prospects. *JSE*. 2009; 47(5): 369-382.

Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*. 1992; 132(2): 583-589.

Hutchinson GE. Concluding remarks. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1957; 22: 415–427.

Köhler G, Sunyer J. A new species of rain frog (genus *Craugastor*) of the *fitzingeri* group from Rio San Juan, southeastern Nicaragua (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Senckenb. Biol.* 2006; 86: 261–266.

Lamm KS, Redelings BD. Reconstructing ancestral ranges in historical biogeography: properties and prospects. *J Syst Evol.* 2009; 47(5): 369-382.

Lewontin RC, Krakauer J. Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms. *Genetics*. 1973; 74(1): 175-195.

Leyden BW, Brenner M, Hodell DA, Curtis JH. Late Pleistocene climate in the Central American lowlands. *Climate change in continental isotopic records*. 1993; 78: 165-178.

Löwenberg-Neto P. Neotropical region: a shapefile of Morrone's (2014) biogeographical regionalisation. *Zootaxa*. 2014; 3802(2): 300-300.

Lynch J.D. Two new species of the *Eleutherodactylus conspicillatus* group (Amphibia: Leptodactylidae) from the Cordillera de Oriental of Colombia. *ACCEFYN*. 1994; 19:187–193.

Lynch JD, Duellman WE. Frogs of the genus *Eleutherodactylus* (Leptodactylidae) in western Ecuador: systematics, ecology, and biogeography. The University of Kansas, Natural History Museum, Special Publication. 1997; 23:1–236.

Lynch JD, Myers CW. Frogs of the *fitzingeri* group of *Eleutherodactylus* in eastern Panama and Chocóan South America (Leptodactylidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 1983; 175:481–572.

Martínez-Botí MA, Foster GL, Chalk TB, Rohling EJ, Sexton PF, Lunt DJ, Schmidt DN. Plio-Pleistocene climate sensitivity evaluated using high-resolution CO<sub>2</sub> records. *Nature*. 2015; 518(7537): 49-54.

Mendoza ÁM, Ospina OE, Cárdenas-Henao H, García-R JC. A likelihood inference of historical biogeography in the world's most diverse terrestrial vertebrate genus: Diversification of direct-developing frogs (Craugastoridae: Pristimantis) across the Neotropics. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2015; 85: 50-58.

Mendoza AM, Bolívar-García W, Vázquez-Domínguez E, Ibáñez R, Parra-Olea G. The role of Central American barriers in shaping the evolutionary history of the northernmost glassfrog, *Hyalinobatrachium fleischmanni* (Anura: Centrolenidae). 2019; *PeerJ* 7:e6115.

Montes C, Cardona A, Jaramillo C, Pardo A, Silva JC, Valencia V, Ayala C, Pérez-Angel LC, Rodríguez-Parra LA, Ramírez V. Middle Miocene closure of the Central American seaway. *Science*. 2015; 348(6231):226-229.

Montes C, Cardona A, McFadden R, Morón SE, Silva CA, Restrepo-Moreno S, Ramírez DA, Hoyos N, Wilson J, Farris D. Evidence for middle Eocene and younger land emergence in central Panama: implications for Isthmus closure. *Bulletin*. 2012; 124(5–6):780-799.

Morrone JJ. Biogeografía de América Latina y el Caribe. M&T–Manuales & Tesis SEA. vol. 3. Zaragoza, 148 pp; 2001.

Morrone JJ, Crisci JV. Historical biogeography: introduction to methods. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1995; 36: 373–401.

Navas CA. Patterns of distribution of anurans in high Andean tropical elevations: insights from integrating biogeography and evolutionary physiology. *ICB*. 2006; 46(1): 82-91.

Nagy ZT, Sonet G, Glaw F, Vences M. First large-scale DNA barcoding assessment of reptiles in the biodiversity hotspot of Madagascar, based on newly designed COI primers. *Plos one*. 2012. 7(3): e34506.

Nicholson KE, Mijares-Urrutia A, Larson A. Molecular phylogenetics of the *Anolis onca* serie. A case history in retrograde evolution revisited. *Journal of Experimental Zoology. Mol. Dev. Evol.* 2006; 306B: 450-459.

Page RDM. Maps between trees and cladistic analysis of historical associations among genes, organisms, and areas. *Syst. Biol.* 1994; 43: 58–77.

Pearman PB, D'Amen M, Graham CH, Thuiller W, Zimmermann NE. Within-taxon niche structure: niche conservatism, divergence and predicted effects of climate change. *Ecography*. 2010; 33(6): 990-1003.

Peterson AT, Soberón J, Sánchez-Cordero V. Conservatism of ecological niches in evolutionary time. *Science*. 1999; 285(5431): 1265-1267.

Pianka ER. Latitudinal gradients in species diversity: a review of concepts. *Am. Nat.* 1966; 100: 33-46.

Pianka E. R. *Evolutionary ecology*. 4th ed. New York: Harper & Row; 1988.

Pianka ER. Latitudinal gradients in species diversity. *Trends Ecol. Evol.* 1989; 4: 223.

Pielou EC. *Ecological diversity*. Wiley, New York: Biogeography; 1975.

Pinto-Sánchez N, Ibáñez R, Madriñán S, Sanjur O, Bermingham E, Crawford A. The Great American Biotic Interchange in frogs: Multiple and early colonization of Central America by the South American genus *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 2012; 62(3): 954–972.

Posso-Terranova A, Andrés JA. Complex niche divergence underlies lineage diversification in Oophaga poison frogs. *Journal of Biogeography*. 2016; 43(10): 2002-2015.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>; 2022.

Real LA, Levin SA. Theoretical advances: the role of theory in the rise of modern ecology. Pages 177-191 in L. A. Real and J. H. Brown, editors. *Foundations of ecology: classic papers with commentaries*. Chicago, Illinois, USA: University of Chicago Press; 1991.

Ree RH, Moore BR, Webb CO, Donoghue MJ. A likelihood framework for inferring the evolution of geographic range of phylogenetic trees. *Evolution*. 2005; 59: 2299–2311.

Ree RH, Smith SA. Maximum likelihood inference of geographic range evolution by dispersal local extinction and cladogenesis. *Syst. Biol.* 2008; 57: 4–14.

Richard FK, Richard HM. *Mammals and rainfall: paleoecology of the middle Miocene at La Venta (Colombia, South America)*. *J. Hum. Evol.* 1997; 32(2-3): 161-199.

Rödger D, Lötters S. Niche shift versus niche conservatism? Climatic characteristics of the native and invasive ranges of the Mediterranean house gecko (*Hemidactylus turcicus*). *Global Ecology and Biogeography*. 2009; 18(6): 674-687.

Rodríguez-Muñoz E, Montes C, Crawford AJ. Synthesis of geological and comparative phylogeographic data point to climate, not mountain uplift, as driver of divergence across the Eastern Andean Cordillera. *bioRxiv*. 2020.

Rohde K. Latitudinal Gradients in Species Diversity: The Search for the Primary Cause. *Oikos*. 1992; 65(3): 514.

Ronquist F. DIVA version 1.1. Computer program and manual available by anonymous FTP from Uppsala University Available from: <ftp://ftp.uu.se/> or <ftp://ftp.systbot.uu.se/> [Accessed 23 May 2008]; 1996.

Ronquist F. Dispersal-vicariance analysis: a new approach to the quantification of historical biogeography. *Syst. Biol.* 1997; 46: 195-203.

Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Mol. Biol. Evol.* 2017; 34(12): 3299-3302.

Savage JM. *The Amphibians and Reptiles of Costa Rica*. Chicago: University of Chicago Press; 2002.

Savage JM, DeWeese JE. A new species of Leptodactylidae frog, genus *Eleutherodactylus*, from the Cordillera de Talamanca, Costa Rica. *Bull. S. Calif. Acad. Sci.* 1979; 78: 107-115.

Savage J, Hollingsworth B, Lips K, Jaslow A. A new species of rainfrog (genus *Eleutherodactylus*) from the Serranía de Tabasará, West-Central Panamá and reanalysis of the Fitzingeri species group. *Herpetologica*. 2004; 60(4): 519–529.

Savage JM, Myers CW. Frogs of the *Eleutherodactylus biporcatus* group (Leptodactylidae) of Central America and northern South America, including rediscovered, resurrected, and new taxa. *Am. Mus. Novit.* 2002; 2002(3357): 1-48.

Soberón J, Osorio-Olvera L, Peterson T. Diferencias conceptuales entre modelación de nichos y modelación de áreas de distribución. *Rev. Mex. Biodivers.* 2017; 88(2): 437-441.

Schoener TW. The *Anolis* lizards of Bimini: Resource partitioning in a complex fauna. *Ecology*, 1968; 49: 704-726.

Soberón J. Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecol. Lett.* 2007; 10(12): 1115-1123.

Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 2014; 30(9): 1312–1313.

Stephen S. Taking into account phylogenetic and divergence-time uncertainty in a parametric biogeographical analysis of the Northern Hemisphere plant clade Caprifoliae. *J. Biogeogr.* 2009; 36(12): 2324–2337.

Stuart BL, Schoen SN, Nelson EE, Maher H, Neang T, Rowley JJ, McLeod DS. A new fanged frog in the *Limnonectes kuhlii* complex (Anura: Dicroglossidae) from northeastern Cambodia. *Zootaxa.* 2020; 4894(3): 4894.

Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 1993; 10(3): 512-526.

Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 38:3022-3027.

Van Veller MG, Kornet DJ, Zandee M. A posteriori and a priori methodologies for testing hypotheses of causal processes in vicariance biogeography. *Cladistics.* 2002; 18(2): 207-217.

Warren DL, Glor RE, Turelli M. Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evol.; int. j. org. evol.* 2008; 62(11): 2868-2883.

Warren DL, Glor RE, Turelli M. ENMTools: a toolbox for comparative studies of environmental niche models. *Ecography.* 2010; 33(3), 607-611.

Webb S. The Great American Biotic Interchange: patterns and processes. *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 2006; 93(2): 245-257.

Wiens JJ, Ackerly DD, Allen AP, Anacker BL, Buckley LB, Cornell HV, Stephens PR. Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecol. Lett.* 2010; 13(10): 1310-1324.

Weir J, Bermingham E, Schluter D. The great American biotic interchange in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2009; 106(51): 21737-21742.

Wiley EO. Vicariance biogeography. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1988; 19: 513–542.

Yu Y, Harris AJ, He XJ. S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. 2010; 56(2), 848–850.

Yu Y, Harris AJ, Blair C, He X. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): A tool for historical biogeography. *Mol. Phyl. Evol.* 2015; 87: 46–49.

# ANEXOS

**Anexo 1.** Listado de secuencias utilizadas en el análisis filogenético

<i>Especie</i>	<i>Gen</i>	<i>N° de acceso</i>	<i>Repositorio</i>	<i>Autores</i>	<i>Localidad</i>	<i>Coordenadas (lon, lat)</i>
<i>Craugastor raniformis</i>	COI	DQ350202	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Río Piña, Bahía Piña, Darién, PA	-78.1833333; 7.5833333
		DQ350201	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Cana, PN Darién, Darién, PA	-78.15; 8.1
		EF629426	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Río Urtí, Majé, PA	-79.5166667; 8.9833333
		DQ350200	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Cana, PN Darién, Darién, PA	-79.5166667; 8.9833333
<i>Craugastor fitzingeri</i>	COI	DQ350191	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	EB las cruces, San Vito, Puntarenas, CR	-82.96; 8.7841667
		DQ350186	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Alfombra, Fila Costeña, San José, CR	-83.776619; 9.308614
		EF629423	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Fort Sherman, Gatún, Colón, PA	-79.5197306; 8.9936
		CH 6355[museumid]	BOLD	---	Darién, Distrito de Pinogana, PA	-77.7166667; 8.1333333
		USNM 572255[museumid]	BOLD	---	Coclé, El Copé, PA	-80.584; 8.62
		CH 6840[museumid]	BOLD	---	Panamá, Distrito de Panamá, PA	-79.5166667; 8.9833333
		DQ350178	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Río Kosmaco, Olancho, HN	-85.1667; 14.7333
		DQ350180	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Guásimo, Limón, CR	-83.697841; 10.1711652
		DQ350182	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	MHN La Paz, Alajuela, CR	-84.5358333; 10.1561111
		<i>Craugastor longirostris</i>	COI	ANDES-A 636[museumid]	BOLD	---
JN991346	GeneBank			Pinto-Sánchez, Ibáñez, Madriñán, Sanjur, Bermingham & Crawford	Maceo, Antioquia, CO	-74.7872222; 6.5533333
KP149119	GeneBank			Guarnizo, Paz, Munoz-Ortiz, Flechas, Méndez-Narváez & Crawford	Sabana de Torres, Santander, CO	-73.5002778; 7.3902778
DQ350199[fieldid]	BOLD			---	PA	-79.5166667; 8.9833333
AJC 1193	Biom ics			---	Choco	5.57; -77.5
AJC 2078	Biom ics			---	Valle del Cauca	3.839166; -77.196911
AJC 2079	Biom ics			---	Valle del Cauca	3.839166; -77.196911
AJC 2082	Biom ics			---	Choco	5.5705; -77.5026
AJC 2090	Biom ics			---	Choco	5.5705; -77.5026
AJC 2116	Biom ics			---	Choco	8.1593; -77.24
AJC 2125	Biom ics			---	Choco	8.1593; -77.24
LAR 0004	Biom ics			---	Choco	5.679; -76.594
LAR 0009	Biom ics			---	Choco	5.687; -76.594

*Si usted ha accedido a este formato a través de un medio diferente al sitio <http://web.www3.unicordoba.edu.co/es/calidad/documentos> asegúrese que ésta es la versión vigente*

		LAR 0010	Biom ics	---	Choco	5.684; -76.596
		LAR 0011	Biom ics	---	Choco	5.681; -76.595
		SWAB 1	Biom ics	---	Choco	1.419; -78.377
		AJC 4277	Biom ics	---	Narino	1.417; -78.386
		AJC 4278	Biom ics	---	Narino	1.422; -78.37
		AJC 4279	Biom ics	---	Narino	1.421; -78.37
		SWAB 23	Biom ics	---	Narino	1.421; -78.37
		SWAB 24	Biom ics	---	Narino	5.571; -77.503
		AJC 2082_ARod	Biom ics	---	Choco	5.571; -77.503
		AJC 2096	Biom ics	---	Choco	5.57; -77.5
		AJC 1341			Antioquia	3.839166-77.196911
		AJC 1346	Biom ics	---	Antioquia	6.54413; -74.6403
		AJC 3873				7.3962; -73.4955
<i>Craugastor tabasarae</i>	COI	FJ766684	GeneBank	Crawford, Lips & Bermingham	El Copé, Coclé, PA	-80.584; 8.62
		EF629427	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Río María, Altos de María, PA	-77.3641389; 8.6853611
		KC129223	GeneBank	Crawford, Cruz, Griffith, Ross, Ibáñez, Lips, Driskell, Bermingham & Crump	Brewster, PA	-79.25; 9.35
<i>Craugastor crassidigitus</i>	COI	EF629409	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	La Peña, Álvaro Ruíz, Alajuela, CR	-84.4365; 10.2101
		EF629410	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Río Urtí, Majé, Panama, PA	-79.5166667; 8.9833333
		DQ350174	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Cerro Jefe, Panamá, PA	-79.3841667; 9.2308333
		EF629415	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Monteverde, Puntarenas, CR	-84.8238889; 10.3172222
		EF629412	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Tinamaste, Fila Costeña, San José, CR	-84.3029; 9.87076
<i>Craugastor talamancae</i>	COI	EF629430	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Isla Popa, Bocad del Toro, PA	-82.1166667; 9.15
		EF629429	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	EB La Selva, Sarapiquí, Heredia, CR	-84.015; 10.4219444
		EF629436	GeneBank	Crawford, Bermingham & Carolina	Nusagandi, Kuna Yala, PA	-78.3441667; 9.2961111
		FJ766696	GeneBank	Crawford, Lips & Bermingham	El Copé, Coclé, PA	-80.584; 8.62
		KR862955		Paz, Ibáñez, Lips & Crawford	Brewster, PA	-79.25; 9.35
<i>Craugastor metriosistus</i>	COI	AJC_1336	Biom ics	----	Antioquia, CO	-75.5666667; 6.2166667
		AJC_3885	Biom ics	----	Santander, CO	-73; 7.1333333
		AJC_1199	Biom ics	----	Tolima, CO	-75.2333333; 4.4333333
<i>Pristimantis achatinus</i>	COI	JN371121	GeneBank	Garcia, Crawford, Mendoza, Ospina, Cardenas and Castro	---	---



## Anexo 2. Tabla de distancias genéticas por pares de individuos

Individual	UAM CO Chocó	UG Panama	*PEA CO Antioquia	*GEA CO Santander	AJC 1193 CO Chocó	*AJC 3873 CO Santander	*AJC 1341 CO Antioquia	*AJC 1346 CO Antioquia	AJC 2078 CO Valle del Cauca	AJC 2078 CO Valle del Cauca	AJC 2082 CO Chocó	AJC 2090 CO Chocó	AJC 2116 CO Chocó	AJC 2125 CO Chocó	LAR 0004 CO Chocó	LAR 0009 CO Chocó	LAR 0010 CO Chocó	LAR 0011 CO Chocó	ChococxOC0026 15 CO Chocó
UAM CO Chocó	0.00000000																		
UG Panama	0.200752019	0.200752019																	
*PEA CO Antioquia	0.1913491758	0.1913491758	0.001819347																
*GEA CO Santander	0.1913491758	0.1913491758	0.001819347	0.000000000															
AJC 1193 CO Chocó	0.1913491758	0.1913491758	0.001819347	0.000000000	0.1913491758														
*AJC 3873 CO Santander	0.1913491758	0.1913491758	0.001819347	0.000000000	0.1913491758	0.000642056													
*AJC 1341 CO Antioquia	0.1913491758	0.1913491758	0.001819347	0.000000000	0.1913491758	0.000642056	0.000000000												
*AJC 1346 CO Antioquia	0.1913491758	0.1913491758	0.001819347	0.000000000	0.1913491758	0.000642056	0.000000000	0.000000000											
AJC 2078 CO Valle del Cauca	0.1817695728	0.1817695728	0.1833064529	0.1811754057	0.1817695728	0.1811754057	0.1772789272	0.1772789272											
AJC 2078 CO Valle del Cauca	0.1817695728	0.1817695728	0.1833064529	0.1811754057	0.1817695728	0.1811754057	0.1772789272	0.1772789272	0.000000000										
AJC 2082 CO Chocó	0.000000000	0.000000000	0.200752019	0.1961614739	0.000000000	0.1961614739	0.1961614739	0.1961614739	0.0796010566	0.0796010566									
AJC 2090 CO Chocó	0.000000000	0.000000000	0.200752019	0.1961614739	0.000000000	0.1961614739	0.1961614739	0.1961614739	0.0796010566	0.0796010566	0.000000000								
AJC 2116 CO Chocó	0.2730444940	0.2730444940	0.2003487720	0.2744748790	0.2730444940	0.2744748790	0.2722369898	0.2722369898	0.2673136962	0.2673136962	0.2677889508	0.2677889508							
AJC 2125 CO Chocó	0.2730444940	0.2730444940	0.2003487720	0.2744748790	0.2730444940	0.2744748790	0.2722369898	0.2722369898	0.2673136962	0.2673136962	0.2677889508	0.2677889508	0.000000000						
LAR 0004 CO Chocó	0.0633434144	0.0633434144	0.1814667636	0.1878971770	0.0633434144	0.1878971770	0.1838471207	0.1838471207	0.0815419407	0.0815419407	0.0624471358	0.0624471358	0.2477944324	0.2477944324					
LAR 0009 CO Chocó	0.0651233903	0.0651233903	0.1814667636	0.1878971770	0.0651233903	0.1878971770	0.1838471207	0.1838471207	0.0815419407	0.0815419407	0.0641109331	0.0641109331	0.2500057422	0.2500057422	0.0015308605				
LAR 0010 CO Chocó	0.0678622962	0.0678622962	0.1814667636	0.1919315896	0.0678622962	0.1919315896	0.1868031111	0.1868031111	0.0638309189	0.0638309189	0.0668629215	0.0668629215	0.2490648876	0.2490648876	0.0016368314	0.000000000			
LAR 0011 CO Chocó	0.1911097572	0.1911097572	0.1129531382	0.1137442977	0.1911097572	0.1137442977	0.1137442977	0.1137442977	0.1717522968	0.1717522968	0.1834279202	0.1834279202	0.2382166018	0.2382166018	0.1617882014	0.1637368564	0.1702480944		
ChococxOC0026 15 CO Chocó	0.0670047468	0.0670047468	0.1789180440	0.1856274164	0.0670047468	0.1856274164	0.1916932595	0.1916932595	0.0797320419	0.0797320419	0.0859677252	0.0859677252	0.2473819877	0.2473819877	0.003681101	0.0191526281	0.0016380361	0.1634827563	
AJC 4278 CO Nariño	0.0706475361	0.0706475361	0.1819418045	0.1800724454	0.0706475361	0.1800724454	0.1800724454	0.1800724454	0.0641412288	0.0641412288	0.0675525631	0.0675525631	0.2616007022	0.2616007022	0.0643545126	0.0660203133	0.0708188239	0.1674264625	0.0660900696
AJC 4277 CO Nariño	0.0783333952	0.0783333952	0.1899040679	0.1889040679	0.0783333952	0.1889040679	0.1889111320	0.1889111320	0.0695191816	0.0695191816	0.0749154516	0.0749154516	0.2712101372	0.2712101372	0.0697347269	0.0715096336	0.0726225341	0.1733584323	0.0715911527
AJC 4279 CO Nariño	0.0781056993	0.0781056993	0.1899040679	0.1891009005	0.0781056993	0.1891009005	0.1891009005	0.1891009005	0.0691959922	0.0691959922	0.0730349946	0.0730349946	0.2695023445	0.2695023445	0.0693281133	0.0677054103	0.0726225341	0.1693779770	0.0677910338
ChococxOC0054 15 CO Nariño	0.0742738001	0.0742738001	0.1866765656	0.1840682419	0.0742738001	0.1840682419	0.1840682419	0.1840682419	0.0673002950	0.0673002950	0.0730628004	0.0730628004	0.2681928617	0.2681928617	0.0717255720	0.0694900204	0.0744545479	0.1713863204	0.0694811736
ChococxOC0055 15 CO Nariño	0.0724489303	0.0724489303	0.1842718940	0.1820374106	0.0724489303	0.1820374106	0.1820374106	0.1820374106	0.0690931942	0.0690931942	0.0692298911	0.0692298911	0.2639488040	0.2639488040	0.0692813133	0.0677054103	0.0726225341	0.1693779770	0.0677910338
AJC 2082 CO Chocó	0.000000000	0.000000000	0.200752019	0.1961614739	0.000000000	0.1961614739	0.1961614739	0.1961614739	0.0796010566	0.0796010566	0.000000000	0.000000000	0.2677889508	0.2677889508	0.0624471358	0.0641109331	0.0668629215	0.1634279202	0.0668677252
AJC 2096 CO Chocó	0.0016380361	0.0016380361	0.200752019	0.1995542773	0.0016380361	0.1995542773	0.1995542773	0.1995542773	0.0819192987	0.0819192987	0.0015307095	0.0015307095	0.2698413075	0.2698413075	0.0640588855	0.0691887259	0.0688188202	0.1687123541	0.0679812286

- Rojo: Chocó AJC 2125 y AJC 2116 con otras localidades except chocó, Pb1 y LAR 0011
- Amarillo: Chocó AJC 2125 y AJC 2116 con Chocó, Pb1
- Azul claro: metriosistis con todas las demás
- Morado: Chocó, Pb1 con Chocó AJC 2125 y AJC 2116
- Naranja: LAR 0011 con Chocó AJC 2125 y AJC 2116
- lila: LAR 0011 con Chocó normal
- Azul oscuro: LAR 0011 con todas

