



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOBRE LOS RECURSOS**  
**NATURALES**

---

**Filogeografía de los anfibios y reptiles presentes en los  
cerros volcánicos de la cuenca del Río Santiago**

Tesis que presenta  
**Biólogo Jorge Quezada Hipólito**

Como requisito para obtener el título de  
**Maestro en Ciencias en Ecología Integrativa**

**Asesora: Doctora en Ciencias Ileri Suazo Ortuño**

**Co-asesor: Doctor en Ciencias Eric Nelson Smith**

**Morelia, Michoacán México Agosto de 2017**





UNIVERSIDAD MICHUACANA  
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
*Cuna de héroes, crisol de pensadores*

---

## DEDICATORIA

*A mis padres quienes siempre me han apoyado durante toda mi vida sin importar que tan buenas o malas sean mis decisiones, por ser mi fuerza para poder seguir adelante en mi formación. A mis hermanos con quienes he compartido siempre buenos momentos de vida y también por sentir su apoyo incondicional. Este trabajo también va dedicado a mis abuelos a quienes considero como mis segundos padres y a quienes quiero y respeto. A todas estas personas especiales en mi vida dedico todos mis logros.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Este estudio fue parte del proyecto "La Biodiversidad y su Resiliencia en Paisajes Modificados por Actividades Humanas" (PRODEP-SEP). También contó con financiamiento de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH. A la Maestría en Ciencias en Ecología Integrativa (MCEI) por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca asignada número 574167 durante 2 años para realizar este trabajo (305243) sin la cual no hubiese sido posible terminar exitosamente. Así como el apoyo adicional en modalidad beca mixta (291062) recibido para mi estancia en el extranjero.

Al Programa Integral de Fortalecimiento Institucional (PIFI) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) por el apoyo otorgado para realizar mi estancia en el extranjero.

Al Departamento de Biología de la Universidad de Texas en Arlington, al Laboratorio Amphibian and Reptile Diversity Research Center, por recibirme en sus instalaciones y darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio así como facilitarme los materiales y resolverme las dudas e inquietudes que me surgían. Del mismo modo agradezco a Lynda Taylor quien me orientó con todos los trámites para poder realizar mis estancias en Arlington.

A los miembros de mi comité revisor, Dra. Ileri Suazo Ortuño, Dra. Clementina González Zaragoza, Dra. Maria Luisa García Zepeda, M. C. Javier Alvarado Díaz y Dr. Eric N. Smith por las revisiones hechas a mi trabajo.

A mis padres por brindarme siempre y en todo momento su apoyo incondicional en mis decisiones, por estar conmigo en los buenos y malos momentos, por confiar en mí, por darme un techo donde vivir. De igual modo agradezco a mis hermanos quienes de uno u otro modo me han apoyado y por estar ahí cuando más lo he necesitado.

Agradezco profundamente a mi directora de tesis la Dra. Ileri Suazo Ortuño por darme de nuevo la oportunidad de trabajar bajo su tutela, por guiarme en la elaboración de este trabajo

y por los consejos que me ha brindado desde la licenciatura, para ella además de mis agradecimientos quiero ofrecer una disculpa por mi desempeño durante la maestría, lamento las preocupaciones que pasó por mí y por mi trabajo.

A mi co-asesor el Dr. Eric N. Smith a quien le agradezco profundamente por aceptarme como parte de sus estudiantes y por darme la oportunidad de hacer estancias en su laboratorio, por la paciencia que me ha tenido desde el inicio ya que yo no tenía experiencia con este tipo de metodologías y paso por paso estuvo enseñándome y ayudándome a resolver todas las dudas que me surgían, por permitirme vivir en su casa y por la hospitalidad recibida de su parte le quiero agradecer de una manera muy sincera y especial.

A la Dra. Clementina quien me ha hecho grandes observaciones y críticas constructivas en mi trabajo, le agradezco por esto y por las revisiones hechas en este trabajo para que pudiese mejorar.

Al M. C. Javier Alvarado por las revisiones que hizo a mi trabajo así como los cuestionamientos que hizo en su momento para poder mejorar este trabajo, también por el apoyo brindado antes de salir a campo.

A la Dra. Maria Luisa García Zepeda por las revisiones hechas a mi trabajo así como sus consejos para poder redactar un buen artículo.

A los biólogos Jonatan Torres Pérez Coeto, Damian Berra Alanis, Jerónimo Hernández, Armando Cruz Calderón por su valiosa ayuda en campo para coleccionar los organismos, sin su ayuda este trabajo no hubiese sido posible, les agradezco mucho por su apoyo y por aguantar las grandes caminatas que tuvimos que hacer para llegar a los sitios. De igual modo agradezco a quienes me ayudaron en el laboratorio durante mi estancia quienes siempre de una manera muy amable resolvían mis dudas e incluso me mostraban como hacer los procedimientos, gracias a Utpal, Goutam, David, Kyle quienes fueron un gran apoyo durante mis estancias. De manera especial, agradezco a Arm quien me dio hospedaje en su departamento y además fue mi mentor en todo momento en el laboratorio, esta persona destaca de todos los demás por apoyarme absolutamente en todo lo que necesité en Arlington y a quien considero una gran persona y ahora mi amigo.

A mis mejores amigos con quienes he pasado tanto buenos como malos momentos, Yehimy, Irving, Diego les agradezco por su valiosa amistad, ustedes también son parte de lo que soy.

A mis compañeros de la maestría con quienes pasé momentos muy divertidos, la mayoría de ustedes son personas muy agradables y me siento contento de haber coincidido con ustedes durante esta etapa de mi vida. Fercho, Coral, Puc, Oscar, Angy, Charly, Agus, con todos fue un placer convivir. Sin embargo agradecimientos especiales para Angeles por apoyarme emocionalmente cuando lo necesité y por todos los bellos momentos que pude pasar a su lado.

**PALABRAS CLAVE:**

**VOLCANES, DIVERGENCIA, GENÉTICA, CLADOS, ANFIBIOS.**

# ÍNDICE

<b>I. RESUMEN GENERAL</b> .....	Pág. 1
Abstract.....	Pág. 1
<b>II. INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	Pág. 3
<b>III. ANTECEDENTES</b> .....	Pág. 5
<b>IV. HIPÓTESIS</b> .....	Pág. 10
<b>V. OBJETIVOS</b> .....	Pág. 10
Objetivo general.....	Pág. 10
Objetivos particulares.....	Pág. 10
<b>VI. CAPÍTULO I</b> .....	Pág. 11
Resumen.....	Pág. 11
Abstract.....	Pág. 12
Introducción.....	Pág. 12
Materiales y Métodos.....	Pág. 15
Dataciones de divergencia y calibraciones.....	Pág. 18
Resultados.....	Pág. 19
Discusión.....	Pág. 23
Agradecimientos.....	Pág. 27
Literatura citada.....	Pág. 28
<b>VII. CAPÍTULO II</b> .....	Pág. 36
<b>VIII. INTRODUCCIÓN</b> .....	Pág. 36

<b>IX. METODOLOGÍA</b> .....	Pág. 37
8.1. Descripción del área de estudio.....	Pág. 37
8.2. Materiales y Métodos.....	Pág. 40
8.2.1. Trabajo de campo.....	Pág. 40
8.2.2. Extracción de ADN, amplificación de PCR y secuenciación.....	Pág. 41
8.2.3. Amplificación por PCR.....	Pág. 42
8.2.4. Secuenciación.....	Pág. 43
8.3. Dataciones de divergencia y calibraciones.....	Pág. 44
<b>X. RESULTADOS</b> .....	Pág. 45
<b>XI. DISCUSIÓN</b> .....	Pág. 49
<b>XII. CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	Pág. 52
<b>XIII. ANEXOS</b> .....	Pág. 53
<b>XIII. LITERATURA CITADA</b> .....	Pág. 56



## I. RESUMEN GENERAL

Durante la historia del Cinturón Volcánico Transmexicano han ocurrido numerosos eventos geológicos relacionados con su formación, estos han producido barreras para especies de tierras altas propiciando el aislamiento y diversificación entre especies y sus poblaciones. Investigamos las relaciones filogenéticas entre individuos de poblaciones de anfibios en zonas altas de la Cuenca del Río Santiago en Jalisco y Nayarit. Se colectaron tejidos de 33 ejemplares pertenecientes a 10 especies en gradiente altitudinal de 1400 a 2915 msnm provenientes de 10 cerros y volcanes, adicionalmente se incluyeron 55 muestras de poblaciones externas. Amplificamos un fragmento del gen *cytb* y usando dataciones secundarias y calibraciones con fósiles estimamos los tiempos de divergencia entre especies y sus poblaciones utilizando un método bayesiano. Las estimaciones indican que todas las divergencias entre especies ocurrieron durante el Neógeno posiblemente debido a los episodios geológicos que ocurrieron en la zona, mientras que las divergencias intraespecie sucedieron principalmente durante el Cuaternario. Además se obtuvo un patrón; las poblaciones más antiguas de la mayoría de las especies provienen del sur, lo que sugiere múltiples orígenes sureños con dispersiones al norte. Se dan a conocer nuevos patrones que ayudan a comprender la historia evolutiva de algunas especies de tierras altas.

### **Abstract**

During history of Trans-Mexican Volcanic Belt have been happened a large of geological events related to their formation, these have produced barriers for highland species favoring isolation and diversification between species and their populations. We investigated phylogenetic relationships between individuals of populations of amphibians from highlands of the Santiago River Basin in Jalisco and Nayarit. We collected tissues of 33 specimens belonging to 10 species in an altitudinal gradient of 1400 to 2915 msnm coming from 10 volcanoes and mountains, additionally was included 55 samples from external populations. We amplified a fragment of the *cytb* gen and using secondary and fossils calibrations we estimated divergences times between species and their populations using a Bayesian method. Estimates of divergence suggest that all divergences between species happened during the Neogene, probably due to geological episodes that occurred in the

area, while intraspecies divergences occurred mainly during the Quaternary. Furthermore a pattern was obtained; oldest populations of most species come from the south that suggests multiple southern origins with dispersions to the north. New patterns are being introduced to help understand the evolutionary history of some highland species.

## II. INTRODUCCIÓN GENERAL

México es considerado un país “megadiverso”, ya que forma parte del selecto grupo de naciones poseedoras de la mayor cantidad y diversidad de animales y plantas. En conjunto los 17 países megadiversos albergan casi el 75% de la diversidad mundial de especies (Mittermeier, 1988). Así mismo, México es el país que ocupa el 5to lugar en diversidad de anfibios después de Brasil, Colombia, Ecuador y Perú, con 377 especies, y el segundo lugar en reptiles después de Australia, con 866 especies (Alvarado et al., 2013; Flores-Villela y García-Vázquez, 2014; González-Hernández et al., 2014; Parra-Olea et al., 2014). De las 1243 especies de anfibios y reptiles que habitan en el país, alrededor del 60% de las especies son endémicas a México. El endemismo se concentra principalmente en las islas del Golfo de California, la Sierra Madre del Sur de Guerrero y Oaxaca y el Eje Volcánico Transversal (Grismer, 2002).

Existen dos importantes centros de evolución en México donde se forma una gran cantidad de especies, en su mayoría endémicas: El Eje Neovolcánico Transversal y la Depresión del Balsas-Tepalcatepec (Flores-Villela, 1991; Luna-Vega, 2008). El eje Neovolcánico está constituido por alrededor de 8000 estructuras volcánicas (Demant, 1978), esta provincia tiene aproximadamente 1000 km de longitud, y de acuerdo a fechamientos isotópicos esta región fisiográfica se formó durante el Mioceno medio y tardío (Ferrari *et al.*, 1999). De acuerdo con Gómez-Tuena et al. (2007) el Eje Neovolcánico se puede dividir en cuatro episodios evolutivos: (1) la instauración de un arco de composición intermedia en el Mioceno medio y tardío, (2) un episodio máfico del Mioceno tardío, (3) Un episodio silícico de finales de Mioceno que llega a ser bimodal en el Plioceno temprano, y (4) la reinstauración de un arco con gran variabilidad composicional a partir del Plioceno tardío. En este último episodio se formaron las montañas y conos volcánicos de la Cuenca del Río Santiago, Jalisco siendo estos de reciente formación geológica (1.8-3 Ma), pero colindando con el bloque de Jalisco el cual presenta edad del cretácico (75-100 Ma) (Ferrari et al., 1999 y Gómez-Tuena et al., 2005). Estos episodios geológicos y los cambios climáticos han ocasionado la diferenciación y radiación de una gran cantidad de especies (Flores-Villela, 1991). Por ejemplo, se ha corroborado que poblaciones restringidas en hábitats montañosos

presentan mayores niveles de divergencia genética en relación con otras poblaciones, asumiendo que los sistemas montañosos funcionan como barreras de aislamiento que impiden el flujo génico (Shepard y Burbrink, 2008, 2009), así mismo hay evidencia de que los cambios climáticos que ocurrieron durante el pleistoceno tuvieron un efecto en la diversificación y demografía de las especies de montaña (Haffer, 1969; Hewitt, 1996; Shepard y Burbrink, 2008). El desplazamiento y expansión de la vegetación de las tierras altas a través de México durante los ciclos fríos glaciales del Pleistoceno pudo haber permitido la dispersión de taxa de los sitios altos, lo cual resultó en el contacto entre los taxa previamente aislados y la colonización de nuevos hábitats (Bryson et al., 2011a).

Los estudios filogeográficos permiten plantear hipótesis sobre vicarianza o dispersión e identificar las causas que pudieron haber influido en ellos (Lanteri y Confalonieri, 2003). La filogeografía también permite inferir procesos como la diversificación, el flujo génico y procesos de colonización con fines de conservación (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009). Los anfibios y reptiles presentan características biológicas (por ejemplo, poca vagilidad, alta vulnerabilidad a cambios ambientales y tolerancia restringida a factores climáticos y ecológicos extremos) que los hacen más propensos al aislamiento de sus poblaciones. Estas características sumadas a la topografía accidentada de México, en particular del Eje Neovolcánico Transversal los hace un modelo ideal para esclarecer patrones históricos y evolutivos, para conocer secuencias de colonización, así como para plantear hipótesis en especies co-distribuidas sobre posibles eventos comunes (e.g. vicarianza y dispersión). Como lo han planteado algunos autores, los resultados de estudios filogeográficos son importantes para esclarecer procesos en áreas con poca información geológica (Castoe et al., 2009; Riddle y Hafner, 2006). En zonas donde la información geológica se encuentra disponible, como es el caso de la región oeste del Eje Neovolcánico Transversal, es posible encontrar concordancias entre la historia de la tierra y la historia de los taxa. En este sentido el presente estudio plantea explorar la relación entre las poblaciones de anfibios y reptiles con los conos volcánicos de las zonas altas de la cuenca del río Santiago de los estados de Nayarit y Jalisco que tienen distintas edades geológicas de formación y cuya historia geológica pudo haber afectado los patrones de distribución y la historia evolutiva de las especies que los habitan.

### III. ANTECEDENTES

Bajo la premisa de Croizat (1958) quien menciona que “la vida y la tierra evolucionan juntas”. Surge una nueva disciplina gracias al progreso en la tecnología para poder secuenciar el ADN, conocida como Filogeografía y propuesta por Avise et al. (1987). Ellos definen la filogeografía como el análisis espacial de los linajes génicos, utilizada para investigar y conocer las relaciones entre la historia de la tierra y la diversificación de la biota.

Haffer (1969) encuentra que durante el periodo del Pleistoceno el bosque amazónico se dividió en pequeños fragmentos debido a cambios climáticos, dentro de estos fragmentos quedaron aisladas las aves de Sudamérica. Estas áreas remanentes que quedaron sirvieron como refugio para las poblaciones de aves que coexistían antes del periodo de sequía, entonces una vez que el clima cambió a un periodo húmedo, los fragmentos que habían quedado aislados unos con otros pudieron extenderse en su rango y unirse nuevamente con los otros fragmentos. Estos episodios de aislamiento, de acuerdo con Haffer, propiciaron una rápida diferenciación de las especies de aves. A partir de esto, Haffer propone una explicación histórica de la distribución actual de las aves de Sudamérica por medio de cambios climáticos en el Pleistoceno, así mismo se puede inferir que este mismo evento influyó en las demás poblaciones animales y vegetales.

Basados en el trabajo de Haffer se han realizado muchos trabajos tratando de explicar la diversidad biológica de ciertas regiones por los cambios climáticos del Pleistoceno. El origen de la herpetofauna mexicana es explicado por Savage (1982) por cuatro unidades de origen; el elemento antiguo del norte, formado por géneros extra tropicales que tuvieron una distribución circumpolar continua que al ser forzados hacia el sur, dichos géneros fueron divididos quedando aislados por barreras geográficas por el descenso de la temperatura y la aridez que se presentó en el Cenozoico; el elemento sudamericano, que indica la proveniencia de algunos grupos de Sudamérica desde el Cenozoico; el elemento reciente del norte y; el elemento mesoamericano. Dentro de este último elemento, Savage formó cuatro grupos: ampliamente tropical, sudamericano, tropical mesoamericano y extra tropical norteamericano.

Estos eventos ocurrieron de acuerdo con Savage primero en el Paleoceno al formarse un puente entre Norte y Sudamérica que propició que los grupos en Sudamérica pudieran dispersarse hacia Centroamérica, luego en el Eoceno dicho puente desapareció, entonces los organismos quedaron aislados en Centro y Sudamérica para luego diferenciarse. Después, otro evento de dispersión en el norte llevó al establecimiento de grupos del norte en la región centro-norte de México. En el Eoceno-Plioceno, con la formación de las montañas y los cambios climáticos, se aislaron más los grupos (vicarianza). Estos eventos de formación de las montañas fragmentaron la herpetofauna en tres grupos: los de las tierras bajas del este, los de las tierras bajas del oeste y los de las tierras altas. De acuerdo con Savage (1982), una vez ocurridos estos eventos, los cambios climáticos y la vegetación influyeron fuertemente en la distribución de la herpetofauna mexicana desde finales del Plioceno y Pleistoceno. En 1982, Toledo fortalece lo dicho por Savage al realizar un trabajo sobre los cambios en la vegetación durante el Pleistoceno, concluyendo que los cambios climáticos que ocurrieron durante este periodo tuvieron un efecto en la vegetación de las tierras bajas, cambiando la vegetación de acuerdo al clima, lo que influyó en la distribución actual que se observa de la herpetofauna (Flores-Villela, 1998). En estas regiones en donde ocurrieron los cambios climáticos durante el pleistoceno se pudo haber restringido la distribución de algunas especies paleoendémicas (Flores-Villela, 1998). Flores-Villela y Martínez-Salazar (2009) mencionan que es posible que las fluctuaciones del clima llevaran a la extinción de muchas especies, pero también a eventos de aislamiento en las zonas altas del centro de México.

Escalante y Llorente (1985) dentro del esquema de archipiélago continental reconocen algunas islas, una de ellas es la que denominan Nueva Galicia ubicada en los estados de Nayarit, Jalisco y Colima y que incluye la Sierra de San Juan en el estado de Nayarit, que sobresale por un alto número de endemismos y fisionomía abrupta. Así mismo, Torres-Miranda y Vega (2006) en su análisis de trazos realizado para el Eje Neovolcánico Transversal señalan algunos sitios prioritarios para la conservación por ser biológica y geológicamente complejos y por ende de gran importancia histórica en la evolución de los organismos. Entre los sitios prioritarios señalados por estos autores, se encuentran la sierra

de San Juan en el estado de Jalisco, el volcán de Colima, la sierra de Autlán en Jalisco y el volcán Tequila en Jalisco.

En el Eje Neovolcánico, los volcanes Popocatepetl e Iztaccíhuatl, espacialmente cercanos y sin barreras geográficas que impidan el intercambio de especies, presentan mayor similitud en especies de anfibios y reptiles. La similitud en la herpetofauna de estos volcanes comparada con otros volcanes también podría indicar la posibilidad de que un aislamiento posterior al pleistoceno haya derivado en estas diferencias (Vega-López y Álvarez, 1992). El ejemplo de estos dos volcanes, indican que tanto el aislamiento por distancia como el aislamiento climático pueden ser promotores de especiación y divergencia.

La variación de condiciones climáticas pueden propiciar cambios demográficos en especies de anfibios, reptiles y aves a través del tiempo, así lo demostraron Pounds et al. (1999). Estos investigadores descubrieron, cambios asociados con el incremento de temperatura, provocado distintos patrones de distribución y haciendo que las especies se muevan hacia lugares óptimos, como lugares más altos. Con base en la hipótesis de que las regiones altas son zonas adecuadas para comprender los cambios del Pleistoceno, Shepard y Burbrink (2008) evaluaron algunas hipótesis de divergencia utilizando una salamandra (*Plethodon ouachitae*) que habita exclusivamente las regiones altas de las montañas de Ouachita en Estados Unidos. Estas salamandras se encuentran separadas por un tipo de vegetación seco que funciona como barrera. Shepard y Burbrink utilizaron secuencias de ADN del gen cytb, ND4 y tRNA-His e hicieron modelamiento de nicho ecológico para evaluar sus hipótesis. Ellos encontraron evidencia de que los cambios climáticos del pleistoceno tuvieron efecto sobre la diversificación y demografía. Estos mismos autores en 2009 realizaron un trabajo similar en otra salamandra (*Plethodon fourchensis*) también de las montañas de Ouachita, que al igual a *P. ouachitae* solo habita regiones altas. Reafirmando que los cambios climáticos que ocurrieron durante el pleistoceno influyó la distribución actual en las montañas. Similarmente Bryson et al. (2011b) evaluaron como los cambios climáticos del Pleistoceno influyeron en la diversificación de las especies del complejo *Crotalus intermedius* en las tierras altas de México, utilizando ADN mitocondrial (12S, 16S, ND4). Ellos concluyen que la fragmentación de este grupo se debe a un proceso de vicarianza en

el Neógeno y a la fragmentación del hábitat ocurrido debido los ciclos climáticos del Pleistoceno.

Así mismo Castoe et al., (2009) al estudiar la historia evolutiva de un grupo de víboras de foseta en las tierras altas de Centroamérica encontraron que la diversidad de este grupo está ligada con los eventos tectónicos que ocurrieron en el Mioceno y Plioceno independientemente de las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno, sin embargo estas fluctuaciones climáticas si tuvieron impacto a nivel de especie.

Crawford y Smith (2005) investigaron los tiempos de origen del grupo *Eleutherodactylus* en Centroamérica utilizando el gen mitocondrial ND2 y el gen nuclear c-myc. Este grupo comprendía nueve grupos, utilizando 55 muestras que representaron a 45 especies realizaron reconstrucciones filogenéticas para inferir las relaciones de los grupos, además estimaron tiempos de divergencia de los grupos al calibrar con fechamientos publicados. Con los resultados de su trabajo los autores proponen cambios taxonómicos en el grupo.

Los estudios a gran escala en México son la base de referencia para conceptualizar lo que ocurre en las zonas de montaña, como es el caso de los conos volcánicos de la Cuenca del Río Santiago, Bryson (2011a) estudió la diversificación histórica de la herpetofauna de montaña para las sierras de México, encontrando que las historias evolutivas de las tierras altas han sido moldeadas por diferentes eventos geológicos y climáticos, sin embargo los impactos de estos eventos sobre la diversificación de los taxa de montaña han sido explorados en pocos grupos. Bryson demostró el efecto que tuvo el Neógeno en la formación de montañas, así como el de los cambios climáticos del Pleistoceno sobre el tiempo y ritmo de diversificación en las regiones montañosas de México. El encontró una fuerte división geográfica en variación genética para un grupo de lagartijas que tomó como modelo, y sugiere que sus resultados pueden ser generalizados para el Eje Neovolcánico. Por lo que es importante tratar de responder la misma pregunta utilizando otros grupos taxonómicos, para corroborar o contrastar resultados diferentes, ya que no es posible generalizar que estos eventos afectaron igualmente a todos los taxa, debido a las distintas características de historia de vida para cada grupo. Bryson también concluyó que el desplazamiento y expansión de la vegetación de las tierras altas a través de México durante



los ciclos fríos glaciales del Pleistoceno pudieron haber permitido la dispersión de taxa de los sitios altos, lo cual resultó en el contacto entre los taxa previamente aislados y la colonización de nuevos hábitats.

Entonces, para poder entender los procesos que moldean la estructura genética es prioritario estudiar la distribución espacial de la diversidad genética entre las poblaciones naturales (Höglund et al., 2015). Así mismo Peterman et al. (2013), evaluaron los patrones de diversidad genética y flujo de genes entre poblaciones de la rana *Rana sylvatica*, con poblaciones aisladas por fragmentación de hábitat y difícil flujo de genes debido a una baja vagilidad. Como en este y gran parte de los trabajos publicados se sugiere que es importante mantener la conectividad de fragmentos de hábitat remanentes con el mismo tipo de vegetación, para que el flujo genético pueda facilitarse. En algunos casos se han encontrado dispersiones diferentes a las esperadas de acuerdo con el tipo de hábitat, como ejemplo Wang et al. (2009) demostraron la importancia que tienen diferentes hábitats para mantener la conectividad de poblaciones. Ellos estimaron el flujo de genes que existe entre las poblaciones de la salamandra *Ambystoma californiense* utilizando microsatélites. Con su análisis de camino menos costoso sorprendentemente encontraron que para esta especie es mejor utilizar otro tipo de vegetación de la que habita para su dispersión. Un resultado similar fue el de Spear et al. (2005) con otra salamandra (*Ambystoma tigrinum*), quienes encontraron que los hábitats de matorral abierto están correlacionados con el flujo de genes entre poblaciones, mientras que la cobertura cerrada del bosque disminuye el flujo genético. Este resultado es inverso a lo que esperaríamos considerando retención de humedad y protección ante los depredadores. Adicionalmente encontraron que la elevación es una variable que influye de manera significativa en el flujo de genes para esta especie.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Las poblaciones de anfibios y reptiles que habitan los conos volcánicos dentro de la Cuenca del Río Santiago, estarán genéticamente más relacionadas entre menor sea el tiempo de divergencia y estas divergencias serán atribuidas principalmente a los episodios volcánicos del Neógeno.

#### **V. OBJETIVOS**

##### Objetivo general

Explorar la relación entre las poblaciones de anfibios y reptiles de los conos volcánicos de la cuenca del río Santiago, en Jalisco y Nayarit, estimar las divergencias de las especies e inferir los procesos históricos que determinaron sus diversificaciones y distribuciones actuales.

##### Objetivos particulares

- 1) Evaluar las relaciones genéticas entre las especies de anfibios y reptiles de los conos volcánicos de la Cuenca del Río Santiago.
- 2) Evaluar las relaciones entre las especies de anfibios y reptiles de la Cuenca del Río Santiago con los episodios geológicos que ocurrieron en el Cinturón Volcánico Transmexicano.
- 3) Estimar tiempos de divergencia de los linajes y averiguar las zonas de origen así como sus eventuales dispersiones dentro y fuera del Cinturón Volcánico Transmexicano.

## VI. Capítulo I

### **Diversidad y divergencia de los anfibios de la Cuenca del Río Santiago como resultado del vulcanismo en el Cinturón Volcánico Transmexicano.**

Jorge Quezada-Hipolito<sup>a</sup>, Eric N. Smith<sup>b\*</sup>, Ileri Suazo-Ortuño<sup>a</sup>, Javier Alvarado-Díaz<sup>a</sup>, Clementina González<sup>c</sup>, Arm Panupong Thammachoti<sup>b</sup> y Utpal Smart<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Herpetología, Instituto de Investigaciones Sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, San Juanito Itzicuaró s/n Col. Nva. Esperanza 58337, Morelia, Michoacán, México. Email: quezada.hipo@gmail.com, ireri.suazo@gmail.com, jvr.alvarado@gmail.com, cynclus@yahoo.com.mx

<sup>b</sup>Amphibian and Reptile Diversity Research Center, Department of Biology, The University of Texas at Arlington, Arlington TX 76019, USA. Email: e.smith@uta.edu\*, panupong@uta.edu, utpalsmart@gmail.com

<sup>c</sup>CONACYT- Instituto de Investigaciones Sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, San Juanito Itzicuaró s/n Col. Nva. Esperanza 58337, Morelia, Michoacán, México. Email: cynclus@yahoo.com.mx

#### **Resumen**

Durante la historia del Cinturón Volcánico Transmexicano han ocurrido numerosos eventos geológicos relacionados con su formación, estos han producido barreras para especies de tierras altas propiciando el aislamiento y diversificación entre especies y sus poblaciones. Investigamos las relaciones filogenéticas entre individuos de poblaciones de anfibios en zonas altas de la Cuenca del Río Santiago en Jalisco y Nayarit. Se colectaron tejidos de 33 ejemplares pertenecientes a 10 especies en gradiente altitudinal de 1400 a 2915 msnm provenientes de 10 cerros y volcanes, adicionalmente se incluyeron 55 muestras de poblaciones externas. Amplificamos un fragmento del gen *cytb* y usando dataciones secundarias y calibraciones con fósiles estimamos los tiempos de divergencia entre especies y sus poblaciones utilizando un método bayesiano. Las estimaciones indican que todas las divergencias entre especies ocurrieron durante el Neógeno posiblemente debido a los episodios geológicos que ocurrieron en la zona, mientras que las divergencias intraespecie sucedieron principalmente durante el Cuaternario. Además se obtuvo un patrón; las

poblaciones más antiguas de la mayoría de las especies provienen del sur, lo que sugiere múltiples orígenes sureños con dispersiones al norte. Se dan a conocer nuevos patrones que ayudan a comprender la historia evolutiva de algunas especies de tierras altas.

## **Abstract**

During history of Trans-Mexican Volcanic Belt have been happened a large of geological events related to their formation, these have produced barriers for highland species favoring isolation and diversification between species and their populations. We investigated phylogenetic relationships between individuals of populations of amphibians from highlands of the Santiago River Basin in Jalisco and Nayarit. We collected tissues of 33 specimens belonging to 10 species in an altitudinal gradient of 1400 to 2915 msnm coming from 10 volcanoes and mountains, additionally was included 55 samples from external populations. We amplified a fragment of the cytb gen and using secondary and fossils calibrations we estimated divergences times between species and their populations using a Bayesian method. Estimates of divergence suggest that all divergences between species happened during the Neogene, probably due to geological episodes that occurred in the area, while intraspecies divergences occurred mainly during the Quaternary. Furthermore a pattern was obtained; oldest populations of most species come from the south that suggests multiple southern origins with dispersiones to the north. New patterns are being introduced to help understand the evolutionary history of some highland species.

## **Introducción**

México ocupa el 5to lugar en diversidad de anfibios (Alvarado-Díaz et al., 2013; González-Hernández et al., 2014; Parra-Olea et al., 2014;), siendo alrededor del 60% de las especies endémicas. Sin embargo, el endemismo no es homogéneo, éste se concentra principalmente en las islas del Golfo de California, la Sierra Madre del Sur (SMS) de Guerrero y Oaxaca y en el Cinturón Volcánico Transmexicano (Grismer, 2002). La gran complejidad topográfica de México ha creado dos importantes centros de diversificación donde se forman una gran cantidad de especies endémicas: El Cinturón Volcánico Transmexicano (CVT) y la Depresión del Balsas-Tepalcatepec (Flores-Villela, 1991; Luna-Vega, 2008). El CVT está constituido por alrededor de 8000 estructuras volcánicas (Demant, 1978), a lo largo de

aproximadamente 1000 km de longitud y de acuerdo a fechamientos isotópicos esta región se formó durante el Mioceno medio y tardío (Ferrari et al., 1999). El CVT está dividido en tres sectores con respecto a su geología y características tectónicas: el sector occidental, central y oriental (Demant, 1978; Pasquaré et al., 1988). El sector occidental está localizado entre la costa del Pacífico y la triple conjunción formada por la intersección de los rifts Zacoalco, Chapala y Colima (Allan, 1986 en Gómez-Tuena et al., 2007). Gómez-Tuena et al. (2007) dividieron el CVT en cuatro episodios evolutivos: (1) la instauración de un arco de composición intermedia en el Mioceno medio y tardío, (2) un episodio máfico del Mioceno tardío, (3) un episodio silícico de finales de Mioceno que llega a ser bimodal en el Plioceno temprano, y (4) la reinstauración de un arco con gran variabilidad composicional a partir del Plioceno tardío. Durante este último episodio se formaron algunas de las montañas y conos volcánicos de la Cuenca del Río Santiago (CRS) en el centro de Jalisco, siendo estos de reciente formación geológica (1.8–3 Ma; Ferrari et al., 1999, 2012; Gómez-Tuena et al., 2007).

Del mismo modo que los episodios geológicos, los eventos climáticos que han ocurrido en la historia de esta región han ocasionado la diferenciación y radiación de una gran cantidad de especies (Flores-Villela, 1991). Los eventos climáticos han producido cambios en la demografía y diversificación de las especies de montaña en diferentes regiones (Haffer, 1969; Hewitt, 1996; Shepard y Burbrink, 2008). Se han propuesto diferentes teorías para explicar la historia evolutiva de los taxa de zonas altas de México. Por ejemplo, Bryson et al. (2011a, 2011b) consideran que el desplazamiento y expansión de la vegetación de las tierras altas a través de México durante los ciclos glaciales del Pleistoceno pudo haber permitido la dispersión de taxa de los sitios altos, lo cual resultó en el contacto entre los taxa previamente aislados y la colonización de nuevos hábitats. Se ha probado que las poblaciones de distintos grupos taxonómicos restringidas a hábitats montañosos presentan mayores niveles de divergencia genética en relación con otras poblaciones (Guarnizo y Cannatella, 2013; McCormack et al., 2008; Shepard y Burbrink, 2008, 2009), lo que sugiere que los sistemas montañosos funcionan como barreras de aislamiento que impiden el flujo génico (Shepard y Burbrink, 2008, 2009). A pesar del alto nivel de endemismo y

divergencia genética potencial se han realizado pocos trabajos explorando la diversificación histórica en taxa de zonas montañosas en México (Bryson et al., 2011b).

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

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

filogeográficos (Avice, 2009; Castoe et al., 2009; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2011). El presente estudio explora las relaciones filogenéticas entre los individuos de las distintas poblaciones de anfibios de las zonas altas de la Cuenca del Río Santiago, en los estados de Jalisco y Nayarit. Se estiman los tiempos de divergencia entre poblaciones y se infieren procesos geológicos que pudieron haber influido en la historia evolutiva de los taxa estudiados.

## **Materiales y métodos**

### **Muestreo de individuos y métodos de laboratorio**

Se colectaron muestras de 33 individuos pertenecientes a 10 especies de anfibios (Tabla 1) entre el 10 de septiembre y el 10 de octubre del 2015 en un gradiente altitudinal desde los 1400 hasta los 2915 msnm en zonas altas de 10 cerros y volcanes de la cuenca del Río Santiago en los estados de Jalisco y Nayarit, México (Fig. 1). Los ejemplares colectados fueron preservados en alcohol al 70% mientras que los tejidos provenientes de falanges se preservaron en alcohol anhidro. Los ejemplares colectados se depositaron en la Colección Herpetológica de la Universidad Michoacana (CHUM; Permiso SGPA/DGVS/00655/1). Adicionalmente se utilizaron 32 muestras de las mismas especies provenientes de poblaciones externas al área de estudio. Dichas muestras provienen de los estados de Colima, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa y Sonora de la Sierra Madre Occidental (SMOc), Planicie Costera (PC) y Sierra Madre del Sur tomadas de la colección de tejidos del Amphibian and Reptile Diversity Research Center (ARDRC), University of Texas at Arlington, así como 23 muestras tomadas de GenBank para fortalecer el análisis. Basándonos en múltiples filogenias incluimos algunos grupos hermanos de las especies encontradas en los volcánes (García-París et al., 2003; Mendelson et al., 2011; O de Sá et al., 2012; Pyron y Wiens, 2011; Wiens et al., 2009).

Tabla 1. Ejemplares colectados y utilizados en el análisis para el cálculo de las estimaciones de tiempos de divergencia. También se incluyen los individuos tomados del Herpetological Collections at the University of Texas at Arlington y las secuencias del GenBank.

Taxon	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank	Base de datos
<i>Aneides lugubris</i>	Tapanatepec, Oaxaca			L75820	GenBank
<i>Dryophytes eximius</i>	El Tejacate, Oaxaca	MZFC 4814	17°13.80'N 097°0.00'W	AY843856	GenBank
<i>Inclius marmoratus</i>	El Mezquital, Durango	UTA: A-13032	23°36'59.832"N 104°21'26.208"W	HMS63957	GenBank
<i>Inclius mazatlanensis</i>	Catemaco, Veracruz	MZV2 132967	NA	HMS63958	GenBank
<i>Inclius occidentalis</i>	Alamos, Sonora	UTA: A-13543	NA	HMS63962	GenBank
<i>Inclius occidentalis</i>	Norte de Sonora	JAC 24762	NA	JQ947893	GenBank
<i>Inclius volliceps</i>	Baja California	MZFC JRM 3868	NA	HMS63971	GenBank
<i>Lithobates catesbeiana</i>	USA	NA	NA	AY210399	GenBank
<i>Lithobates chiricahuensis</i>	NA	NA	NA	KM523313	GenBank
<i>Lithobates forreri</i>	Virginia, USA	NA	38°41'36" 79°05'44"	KU194581	GenBank
<i>Lithobates neovolcanica</i>	Virginia, USA	KU 194536	39°11'48" 78°47'30"	KX269310	GenBank
<i>Plethodon dunni</i>	El Paisano Veracruz	pduN5	NA	AY183763	GenBank
<i>Plethodon punctatus</i>	Edo de México	67638	NA	AY378078	GenBank
<i>Plethodon virginia</i>	Apizaco-Chignahuapan, Puebla	75901	NA	AY378049	GenBank
<i>Isthmura belli</i>	Atoyac, Guerrero	MVZ 143784	17°42'12.463"N, 100°4'16.3524"W	AY864689	GenBank
<i>Isthmura belli</i>	Ciudad Guzman, Jalisco	MVZ 143795	NA	AY864691	GenBank
<i>Isthmura belli</i>	Raices, Edo de México	MVZ 143803	NA	AY864687	GenBank
<i>Isthmura belli</i>	Charo, Michoacán	GP 048	NA	AF451194	GenBank
<i>Aquiloerycea cephalica</i>	Zurumbueno, Michoacán	IBH 22603	NA	AF451195	GenBank
<i>Pseudoeurycea leprosa</i>	Sinaloa	IBH 22406	NA	KP900069	GenBank
<i>Pseudoeurycea langicauda</i>	Carolina del Sur, USA	IBH 22247	NA	KP900053	GenBank
<i>Scaphiopus couchii</i>	NA	MV2161886	NA	JX564894	GenBank
<i>Spea multiplicata</i>	Chignahuapan, Puebla	NA	NA	EU258563	GenBank
<i>Craugastor augusti</i>	Cerro Cuatpetetl, Jalisco	JQH 192	20°37'49.7"N, 104°1'44.2"W	MF535935	CHUM
<i>Craugastor augusti</i>	Volcán Tequila, Jalisco	JQH 285	20°48'45.5"N, 103°50'53.7"W	MF535936	CHUM
<i>Craugastor augusti</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 320	21°27'32"N, 104°14'24.3"W	MF535937	CHUM
<i>Craugastor augusti</i>	Cerro Alto, Nayarit	JQH 385	21°27'15.4"N, 104°58'25.6"W	MF535938	CHUM
<i>Craugastor augusti</i>	Volcán Ceboruco, Nayarit	JQH 504	21°7'5.3"N, 104°30'3.3"W	MF535939	CHUM
<i>Craugastor occidentalis</i>	Bosque la Primavera, Jalisco	JQH 166	20°35'34.3"N, 103°31'43.9"W	MF535940	CHUM
<i>Craugastor occidentalis</i>	Cerro Cuatpetetl, Jalisco	JQH 202	20°37'51.55"N, 104°1'42.96"W	MF535941	CHUM
<i>Craugastor occidentalis</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 322	21°27'24.12"N, 104°44'20.97"W	MF535942	CHUM
<i>Craugastor occidentalis</i>	Cerro Alto, Nayarit	JQH 337	21°27'0"N, 104°58'4.3"W	MF535943	CHUM
<i>Craugastor occidentalis</i>	Volcán Tepetitlic, Nayarit	JQH 420	21°15'11.6"N, 104°42'57.41"W	MF535944	CHUM
<i>Craugastor occidentalis</i>	Cerro Grande, Nayarit	JQH 443	21°10'16.4"N, 104°44'22.1"W	MF535945	CHUM
<i>Craugastor occidentalis</i>	Volcán Ceboruco, Nayarit	JQH 451	21°8'0.41"N, 104°30'9.09"W	MF535946	CHUM
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Cerro Alto, Nayarit	JQH 378	21°27'16.7"N, 104°58'27.6"W	MF535947	CHUM
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Volcán Tepetitlic, Nayarit	JQH 397	21°15'10.2"N, 104°42'51.1"W	MF535948	CHUM
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Cerro Grande, Nayarit	JQH 445	21°10'5.1"N, 104°44'32.2"W	MF535949	CHUM
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Cerro Ceboruco, Nayarit	JQH 481	21°7'5.3"N, 104°30'3.3"W	MF535950	CHUM
<i>Eleutherodactylus sp</i>	Cerro Cuatpetetl, Jalisco	JQH 249	20°37'45.69"N, 104°1'37.44"W	MF535951	CHUM
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Sierra de San Juan, Jalisco	JQH 7	20°19'45.98"N, 103°13'26.32"W	MF535952	CHUM
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 110	20°23'54.5"N, 103°25'2.6"W	MF535953	CHUM
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Cerro Cuatpetetl, Jalisco	JQH 227	20°37'44.04"N, 104°1'27.8"W	MF535954	CHUM
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 305	21°27'23.08"N, 104°44'24.99"W	MF535955	CHUM
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Volcán Tepetitlic, Nayarit	JQH 441	21°15'11.34"N, 104°42'57.68"W	MF535956	CHUM
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Volcán Ceboruco, Nayarit	JQH 484	21°7'8.1"N, 104°29'51.5"W	MF535957	CHUM
<i>Dryophytes eximius</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 53	20°23'47.2"N, 103°25'47.2"W	MF535958	CHUM
<i>Dryophytes eximius</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 303	21°27'34.6"N, 104°44'35.76"W	MF535959	CHUM
<i>Dryophytes eximius</i>	Volcán Tepetitlic, Nayarit	JQH 437	21°15'10.26"N, 104°42'57.03"W	MF535960	CHUM
<i>Hypopachus variolosus</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 118	20°23'59.1"N, 103°24'45.9"W	MF535961	CHUM
<i>Inclius occidentalis</i>	Cerro Cuatpetetl, Jalisco	JQH 180	20°39'12"N, 104°3'1.6"W	MF535962	CHUM
<i>Lithobates neovolcanicus</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 34	20°23'47.2"N, 103°25'21.2"W	MF535963	CHUM
<i>Lithobates neovolcanicus</i>	Cerro Cuatpetetl, Jalisco	JQH 183	20°39'12"N, 104°3'6"W	MF535964	CHUM
<i>Isthmura belli</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 83	20°21'47.1"N, 103°25'57.2"W	MF535965	CHUM
<i>Spea multiplicata</i>	Cerro Viejo, Jalisco	JQH 100	20°23'47"N, 103°25'6.7"W	MF535966	CHUM
<i>Craugastor</i>	Carretera a Ixtlahuacan, Colima	JAC 28321	19°14'45.6"N, 103°46'48.36"W	MF535967	ARDRC
<i>Craugastor</i>	Villa Union-Concordia, Sinaloa	JAC 30595	23°16'23.16"N, 106°7'12"W	MF535968	ARDRC
<i>Craugastor augusti</i>	2.2 km N Cartagenas, Jalisco	JAC 23346	21°59'7.152"N, 103°20'49.56"W	MF535969	ARDRC
<i>Craugastor augusti</i>	Tepalcatepec-Coalcoman, Mich.	JAC 24786	18°47'41.028"N, 103°8'46.5"W	MF535970	ARDRC
<i>Craugastor augusti</i>	Agua Fria, Colima	JAC 28298	19°18'44.388"N, 104°04'14.772"W	MF535971	ARDRC
<i>Craugastor occidentalis</i>	9.4 km S de Autlán, Jalisco	JAC 23910	19°41'18.312"N, 104°23'43.872"W	MF535972	ARDRC
<i>Craugastor occidentalis</i>	Tecolapa, Colima	JAC 30503	19°37'9.2"N, 103°47'2.65"W	MF535973	ARDRC
<i>Eleutherodactylus</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 28612	20°17'25.296"N, 103°36'17.64"W	MF535974	ARDRC
<i>Eleutherodactylus</i>	9.5 km S de Autlán, Jalisco	JAC 23947	19°41'18.672"N, 104°23'31.02"W	MF535975	ARDRC
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	7.3 km E La Estancia, Jalisco	JAC 23704	20°44'45.528"N, 104°50'36.24"W	MF535976	ARDRC
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Uruapan, Michoacán	JAC 26947	19°26'22.884"N, 102°40'17.4"W	MF535977	ARDRC
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	Colima a Minatitlán, Colima	JAC 29107	19°25'9.0948"N, 103°59'40.362"W	MF535978	ARDRC
<i>Eleutherodactylus sp</i>	7.7 km SE La Estancia, Jalisco	JAC 23670	20°41'52.26"N, 104°52'53.8932"W	MF535979	ARDRC
<i>Eleutherodactylus sp.</i>	Playitas-Torre de Microondas, Mich.	JAC 25412	18°25'46.416"N, 102°34'15.96"W	MF535980	ARDRC
<i>Eleutherodactylus teretistes</i>	Mazatlán-Tepic, Nayarit	JAC 25880	21°33'16.668"N, 104°56'49.56"W	MF535981	ARDRC
<i>Dryophytes arenicolor</i>	8.5 km S de Autlán, Jalisco	JAC 23937	19°41'43.872"N, 104°23'25.26"W	MF535982	ARDRC
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Atemajac de Brizuela-Tapalpa, Jalisco	JAC 26924	19°34'21.828"N, 103°27'27.072"W	MF535983	ARDRC
<i>Dryophytes arenicolor</i>	Uruapan-Tancitaro, Michoacán	JAC 26961	19°19'25.889"N, 102°20'51.216"W	MF535984	ARDRC
<i>Dryophytes eximius</i>	2.2 km N Cartagenas, Jalisco	JAC 23332	21°59'24"N, 103°20'27.816"W	MF535985	ARDRC
<i>Dryophytes eximius</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 28645	19°57'51.48"N, 103°39'18.252"W	MF535986	ARDRC
<i>Hypopachus variolosus</i>	Apatzingán-Tepalcatepec, Mich.	JAC 24734	19°9'23.868"N, 102°28'43.896"W	MF535987	ARDRC
<i>Hypopachus variolosus</i>	Minatitlán-Manzanillo, Colima	JAC 27994	19°18'19.44"N, 104°8'52.764"W	MF535988	ARDRC
<i>Hypopachus variolosus</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 28607	20°17'25.296"N, 103°36'17.64"W	MF535989	ARDRC
<i>Inclius cf occidentalis</i>	Jilotlán Jalisco	JAC 24117	19°18'28.404"N, 102°56'24"W	MF535990	ARDRC
<i>Inclius occidentalis</i>	Playitas, Michoacán	JAC 25387	20°17'25.29"N, 103°36'17.64"W	MF535991	ARDRC
<i>Inclius occidentalis</i>	Norte de Sonora	JAC 24762	NA	MF535998	ARDRC
<i>Lithobates cf neovolcanicus</i>	4.7 km E El Jacal, Jalisco	JAC 23785	20°22'11.064"N, 104°36'7.2"W	MF535992	ARDRC
<i>Lithobates forreri</i>	JAC 23860	19°27'43.776"N, 104°36'24.192"W	MF535993	ARDRC	
<i>Isthmura belli</i>	Talpa de Allende-El Cuale, Jalisco	JAC 30695	20°21'35.928"N, 105°34'26.4"W	MF535994	ARDRC
<i>Spea multiplicata</i>	3 km NE Cartagenas, Jalisco	JAC 23352	21°59'6.36"N, 103°19'50.52"W	MF535995	ARDRC
<i>Spea multiplicata</i>	Casimiro Castillo, Jalisco	JAC 23957	19°36'28.44"N, 103°29'33.396"W	MF535996	ARDRC
<i>Spea multiplicata</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 26909	20°11'24.36"N, 103°43'12.936"W	MF535997	ARDRC



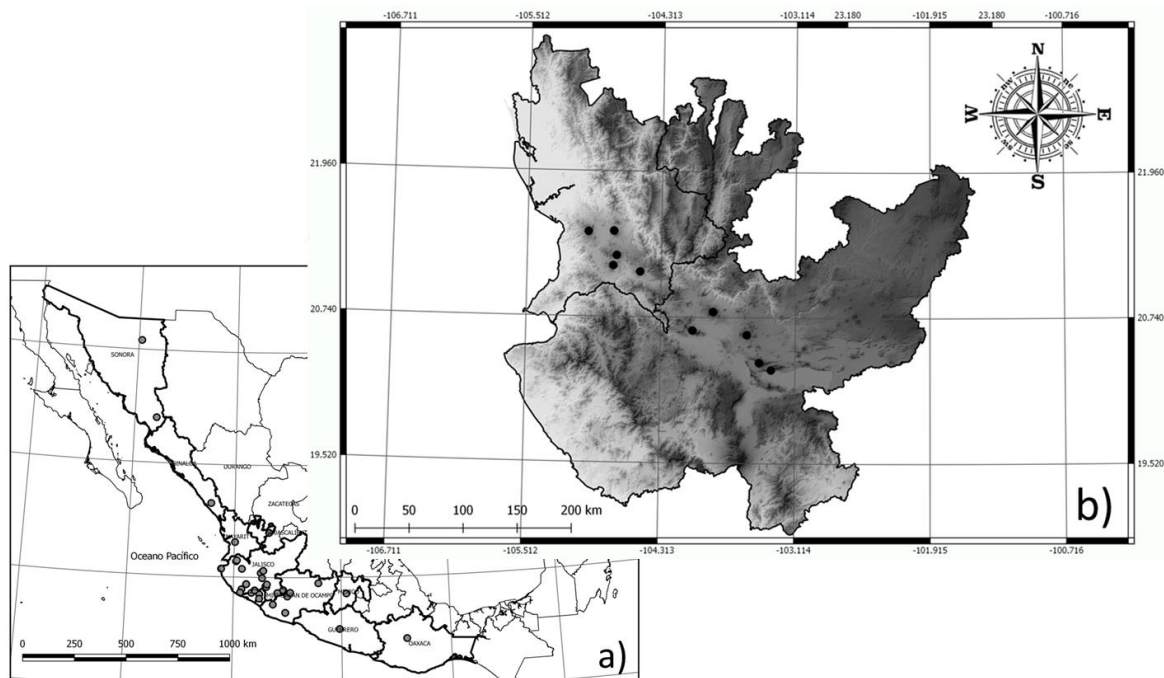


Figura 1. Localización del área de estudio. a) En círculos grises se muestran las localidades externas a los sitios de colecta. b) En círculos negros se muestran los 10 cerros y volcanes pertenecientes a la Cuenca del Río Santiago en Jalisco y Nayarit donde se realizaron las colectas.

El ADN fue extraído del tejido muscular usando el protocolo de perlas magnéticas de Rohland y Reich (2012). A los tejidos se les agregó 100  $\mu$ l de Lysis Buffer y 5  $\mu$ l de Proteinasa K (al tejido difícil de disolver se adicionó 10  $\mu$ l de Proteinasa K extra), después fueron incubados a 55  $^{\circ}$ C por dos horas, sin embargo, el periodo de incubación en algunos casos requirió de 24 horas adicionales. La purificación del ADN se hizo con Serapure (160 ml) y fueron limpiadas usando dos enjuagues de alcohol (25 ml) y dejándolo en una solución de Tris pH 8 (50 ml). Amplificamos un fragmento del gen *cytb* con una longitud de 385 pb con el forward primer, MVZ15 (GAACTAATGGCCCACACWWTACGNAA) y el reverse primer H15149(H) (AAACTGCAGCCCCTCAGAAATGATATTTGTCCTCA) mediante PCR. Se eligió un gen mitocondrial por ser ADN no recombinante, por su origen matrilineal y debido a su relativamente rápida tasa de evolución factor adecuado para esclarecer procesos de especiación recientes, (Dirienzo y Wilson, 1991; Antonelli et al., 2009). Para cada muestra

las reacciones de PCR se hicieron en volúmenes de 25 µl (12.5 µl de Green Taq, 1 µl de forward primer, 1 µl de reverse primer, 2 µl de ADN y 8.5µl de agua ultrapura). El perfil de ciclo térmico que se utilizó para los anfibios incluye 3 ciclos de desnaturalización inicial a 94°C, 39 ciclos de 94°C de desnaturalización, 48°C de hibridación, 72°C de elongación y 72°C de extensión final. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa y secuenciados con protocolos estándar asociados con química de terminación BigDye® (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.), en la instalación de genómica de UTA (University of Texas at Arlington, EE.UU.; gcf.uta.edu). Las secuencias se ensamblaron y se limpiaron en el programa Sequencher 5.4.1 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, EE.UU.). Una vez limpiadas, las secuencias fueron alineadas de forma automática en el programa MEGA versión 7 (Kumar et al., 2016) con Clustal W y de manera manual para verificar el alineamiento y hacer correcciones.

#### **Dataciones de divergencia y calibraciones**

Las estimaciones de tiempos de divergencia se realizaron en el programa BEAST v.1.8.4 (Drummond et al., 2006) usando un reloj molecular relajado no correlacionado lognormal, con el modelo de Yule y construyendo nodos de los órdenes y de las familias, basándonos en filogenias previas (García-París et al., 2003; Hillis y Wilcox, 2005; Marjanovic y Laurin, 2014; Mendelson et al., 2011; O de Sá et al., 2012; Parra-Olea, 2002; Pyron y Wiens, 2011; Wiens et al., 2009) e incluimos como grupos externos a *Aneides lugubris*, *Plethodon*, *Pseudoeurycea leprosa*, *Pseudoeurycea cephalica*, *Pseudoeurycea longicauda*, *Incilius marmoreus*, *Incilius mazatlanensis*, *Incilius valliceps*, *Eleutherodactylus teretistes*, *Lithobates catesbeiana*, *L. chiricahuensis*, *L. forreri* y *Scaphiopus couchii*. La selección del mejor modelo de evolución molecular fue elegido usando el programa jModel Test v.2.1.9 (Darriba et al., 2012). El análisis se corrió con 20 millones de generaciones, almacenando muestras cada 1000 generaciones. Los resultados se visualizaron en TRACER v.1.6 para verificar que el tamaño muestral efectivo (ESS) fuese el adecuado. Una vez obtenidos los árboles se eliminó el 10 % con un límite de probabilidad posterior de 0.5, y para obtener un árbol consenso se usó el programa TreeAnnotator v.1.8.4 (Drummond et al., 2012). Se utilizaron siete calibraciones de fósiles: (1) *Bufo marinus* (Wilson, 1968) fechado en 10.3 – 13.6 Ma durante el Mioceno, utilizado para calibrar el nodo de *Incilius*; (2) *Craugastor sp.*

fechado en 22.8 – 23 Ma (Serrano-Sánchez et al., 2015) el cual es el ancestro más reciente y cercano del que se tiene registro dentro de México; (3) *Eleutherodactylus sp.* (Poinar y Canatella, 1987) fechado en 13.7 – 20.4 Ma durante el Mioceno, utilizado para calibrar a las especies de este género debido a la carencia de un fósil más cercano a México; (4) *Hyla miocenica* (Tedford et al., 1987) fechado en 13.6 – 16 Ma durante el Mioceno, utilizado para calibrar la especie del género *Dryophytes*; (5) *Amphiuma jepseni* (Rose, 1981) fechado en 56.8 – 61.7 Ma durante el Paleoceno, utilizado para calibrar el nodo de la familia Plethodontidae, ya que esta especie es el grupo hermano de esa familia; (6) *Rana sp.* (White, 1942) fechado en 16 – 20.4 Ma durante el Mioceno utilizado para calibrar el nodo de *Lithobates* ya que es el fósil más antiguo para el género; (7) *Spea neuter* (Korth, 1992) fechado en 20.4 – 24.8 durante el Mioceno, utilizado para calibrar el género *Spea*, ya que es un ancestro común de dicho género. Además de los fósiles se incluyeron calibraciones secundarias para algunos nodos. Específicamente se incluyeron dos dataciones secundarias para calibrar el nodo de los Anuros (155 Ma) y de *Hypopachus* (17.4 Ma; O de Sá et al., 2012; Pyron y Wiens, 2011). Para todas las calibraciones con fósiles se utilizaron parámetros de distribución “LogNormal” mientras que para todas las calibraciones secundarias se usaron parámetros de distribución normal y un “offset” de cero.

## Resultados

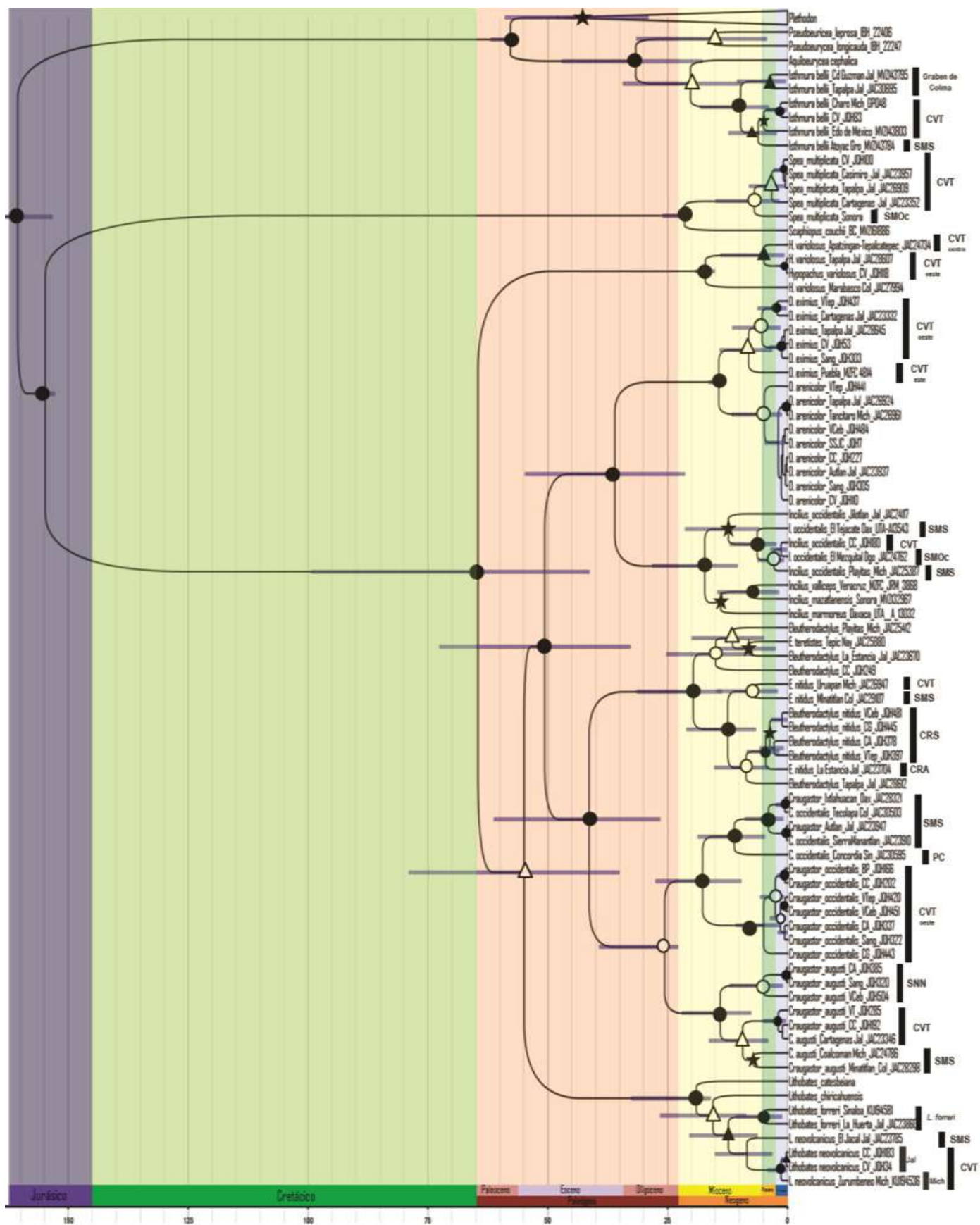
Los resultados de las estimaciones de tiempos de divergencia que se reportan a continuación están basados en intervalos de credibilidad del 95%, la probabilidad posterior inferida para las divergencias entre las especies fue alta (Fig. 2). Todas las divergencias entre especies, exceptuando a *Craugastor*, ocurrieron durante el Mioceno y Plioceno, y la mayoría de las divergencias intraespecíficas ocurrieron después de este periodo de tiempo. De acuerdo a las estimaciones de divergencia de las especies, los clados más antiguos de cada grupo indican que la mayoría de las especies tienen un origen al sur, con dispersión hacia el norte del país, sin embargo *Spea multiplicata* tiene un origen norteño y dispersión hacia el sur y en algunos casos no fue posible esclarecer el origen de algunas especies (Tabla 2). Este trabajo se enfoca en 10 especies de anfibios, de las cuales 9 presentan al

menos una población con divergencia mayor a 5 Ma, tiempo de divergencia muy grande entre poblaciones de una misma especie. Los casos en los que sucede este tiempo de divergencia son los clados: *Isthmura bellii*, *S. multiplicata* de Sonora, *Hypopachus variolosus* de Colima, *Incilius occidentalis* de Oaxaca, *Eleutherodactylus nitidus* de Tapalpa, Minatitlán y Michoacán, *Craugastor augusti* de las Sierras Neovolcánicas Nayaritas (SNN), CVT y SMS, y *Lithobates neovolcanicus* de la SMS. La divergencia dentro de *I. bellii* fue hace aproximadamente 9.7 Ma (Fig. 2) en donde se originaron dos clados, el primero compuesto por las poblaciones del sur de Jalisco en la zona geológica conocida como el Graben de Colima y el segundo grupo compuesto por las poblaciones del CVT y de la SMS. Por otro lado, dentro de *S. multiplicata* la primer divergencia ocurrió hace 3.27 Ma dentro de las poblaciones del CVT mientras que para *I. occidentalis* la divergencia calculada entre clados del CVT, SMOc y SMS es de 2.8 Ma. Por otra parte *H. variolosus* parece tener una historia diferente ya que la población más antigua es la de Apatzingán con un tiempo de divergencia de hace 4.8 Ma, mientras que las poblaciones de Jalisco son más recientes proviniendo del sur. El siguiente clado dentro de *H. variolosus* está compuesto por los individuos de CVT del centro y los del CVT del oeste. A diferencia de las demás especies, en *Dryophytes eximius* y *Dryophytes arenicolor* no se observa algún patrón reconocible para detectar de donde provienen estas especies, sin embargo el tiempo de divergencia entre estas dos especies fue calculado en 14.3 Ma. Dentro de las ranas de desarrollo directo, *Eleutherodactylus nitidus* forma dos clados con divergencia durante el Mioceno, hace 12.4 Ma. El primer clado está conformado por el CVT y la SMS mientras que el segundo clado por la CRS y la Cuenca del Río Ameca (CRA) con un tiempo de divergencia de 3.7 Ma durante el Plioceno. Dentro del clado de *Eleutherodactylus* la divergencia entre las diferentes especies comenzó en el Mioceno hace 14.9 Ma. Por los tiempos de divergencia obtenidos podemos sugerir que los cuatro individuos incluyendo al del Cerro Cuauhtépetl pertenecen a especies diferentes. El clado de *Craugastor occidentalis* presenta dos grupos con un periodo de divergencia de 17.7 Ma, durante el Mioceno. El primero es del oeste del CVT, dentro del cual comienza su divergencia entre los 4.9 Ma en el Plioceno. El segundo grupo de *C. occidentalis* está formado por las poblaciones de la SMS y de la PC con tiempos de divergencia hace 11 Ma. El segundo grupo de *Craugastor* está constituido por *C. augusti*, quien presenta una primer divergencia hace 14 Ma en el

Mioceno donde se separaron dos clados, uno de ellos involucra a todos los de las SNN con divergencia hace 5 Ma durante el Plioceno. El segundo grupo de *C. augusti* está conformado por dos subgrupos, el del CVT y el de la SMS. Dentro de *L. neovolcanicus* obtuvimos una divergencia en el Mioceno hace 8.4 Ma entre el clado de la SMS y el CVT.

Tabla 2. Estimaciones de tiempos de divergencia obtenidas por inferencia bayesiana. Se muestra la media, los límites inferior y superior de los intervalos de confianza del 95%, también las zonas de origen y dispersión de las especies.

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



**Figura 2.** Estimación de los tiempos de divergencia (Ma) para las especies de anfibios de las zonas montañosas en la zona oeste del Eje Neovolcánico inferidas usando un análisis filogenético bayesiano con reloj molecular relajado. Los nodos representan la media estimada mientras que las barras azules representan los intervalos de credibilidad del 95% de los tiempos de divergencia; Círculos negros=  $\geq 0.99\%$ , Círculos blancos=  $\geq 90\% \leq 98\%$ , Triángulo negro=  $\geq 80\% \leq 89\%$ , Triángulo blanco=  $\leq 79\% \geq 60\%$ , Estrella=  $\leq 59\%$ . CVT = Cinturón Volcánico Transmexicano, SMS = Sierra madre del Sur, SMOc = Sierra Madre Occidental, CRS = Cuenca del Río Santiago, CRA = Cuenca del Río Ameca, PC = Planicie Costera, SNN = Sierras Neovolcánicas Nayaritas, BC= Baja California, Col= Colima, Dgo= Durango, Jal= Jalisco, Mich= Michoacán, Nay= Nayarit, Oax= Oaxaca, Sin= Sinaloa, CA= Cerro Alto, CC= Cerro Cuautepetl, CG= Cerro Grande, CV= Cerro Viejo, Bosque la Primavera, Sang= Sangangüey, SSJC= Sierra de San Juan Cosala, VCeb= Volcán Ceboruco, VTep= Volcán Tepetitlic, VT= Volcán Tequila.

## Discusión

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

Entre los episodios volcánicos que ocurrieron en el CVT destacan los del episodio máfico del Mioceno tardío, que para *Isthmura bellii* solo alcanzó a afectar al Cerro Viejo hace 9 – 10.5 Ma, estos explican la separación entre los individuos de Jalisco a pesar de su cercanía. Después, al norte de Colima y alrededor del Lago de Chapala hubo actividad volcánica alrededor de 3.5 – 6 Ma lo cual explica la divergencia dentro del clado del Graben de Colima, mientras que en la zona centro del CVT hubo actividad volcánica hace aproximadamente 3.4 – 6 Ma lo que podría explicar la divergencia del clado del CVT. Al igual que en *I. bellii*, la primer divergencia del grupo SMOc de CVT en *S. multiplicata*

pudo deberse al vulcanismo silícico que ocurrió en el Mioceno tardío, aunque también pudo deberse a la formación de algunas cuencas como la del Río Mezquital y la del Río Santiago que interrumpieron la conexión entre la SMOc y la zona oeste del CVT. Esta interrupción geográfica resultó en el aislamiento entre poblaciones de diferentes grupos (abejas, Anducho-Reyes et al., 2008; escarabajos, Salinas-Moreno et al., 2004; serpientes, Bryson et al., 2011b). Los patrones biogeográficos de Coleoptera encontrados en trabajos como Corona et al. (2007) sugieren que la SMOc y la zona Oeste del CVT están estrechamente relacionados. Greenbaum et al. (2011) encontraron el mismo patrón que nosotros para *H. variolosus*, ellos señalan que hubo divisiones entre los clados de la costa del Pacífico durante el Mioceno, con subsecuentes divergencias en el Plioceno y Pleistoceno. Los resultados de *Incilius* concuerdan con trabajos anteriores donde para especies de sapos de tierras bajas en México (Mulcahy y Mendelson, 2000; Mulcahy et al., 2006) al igual que en otros anfibios, reptiles y mamíferos (Castoe et al., 2003; Pérez-Higareda y Navarro, 1980; Zaldívar-Riverón et al., 2004) se proponen eventos de vicarianza durante el periodo Mioceno-Plioceno, asociado con la formación de sistemas montañosos como el CVT sugiriendo que los sistemas montañosos funcionan como barreras efectivas que promueven la diversificación de los taxa.

Nuestros resultados sobre *C. occidentalis* concuerdan con los de Streicher et al. (2012) quienes encontraron un patrón biogeográfico similar para tal especie. La formación de dos clados dentro de *C. occidentalis* sugiere la posibilidad de que esta especie pudiese haber quedado aislada en la zona oeste del CVT debido a los procesos de formación dentro de esta cadena montañosa. El Arco volcánico andesítico que ocurrió en la zona norte de la sierra de Manantlán del CVT durante el plioceno tardío explica la separación dentro de ramas de la SMS, mientras que la separación del individuo de Sinaloa posiblemente se deba a la barrera entre ambas regiones fisiográficas. El mismo patrón filogeográfico entre clados del CVT y de la SMS encontrado para *C. augusti* y *L. neovolcanicus* corresponde al encontrado en otros trabajos con distintos taxa (Devitt, 2006; Mateos, 2005; Mateos et al., 2002; Mulcahy y Mendelson, 2000; Pauly et al., 2004; Zaldívar-Riverón, 2004). Las divergencias estimadas entre clados de la zona sur-oeste del CVT son muy similares entre grupos taxonómicos. Dichas divergencias entre los clados son atribuidas al efecto que causan el CVT y la SMS, ya que entre ambas regiones existe una zona de baja altitud que



funciona como barrera ecológica para esta especie. Sin embargo el clado de SNN de *C. augusti* indica tener otra historia donde las poblaciones pudieron haber quedado aisladas, debido probablemente al vulcanismo silícico que ocurrió en esta zona conduciendo al aislamiento entre las dos poblaciones cercanas donde no hubo vulcanismo.

En la zona oeste del CVT se han encontrado muchos endemismos en diferentes grupos (aves, García-Trejo, 2004; mamíferos, Arroyo-Cabrales et al., 2015; mariposas, Ecalante y Llorente, 1985; plantas, Steinmann, 2002) aunque solo una serpiente endémica al volcán Ceboruco (Canseco-Márquez et al., 2007).

Como ya se ha mencionado anteriormente (Crawford y Smith, 2005; Heinicke et al., 2007) los géneros *Craugastor* y *Eleutherodactylus* tienen su origen en Centro y Sudamérica. Esto es concordante con lo obtenido en este trabajo ya que las divergencias más antiguas provienen del sur y las más recientes del norte, sugiriendo una dispersión de sur a norte, dicho patrón se observa en las tres especies de estos géneros. Del mismo modo este patrón se reconoció para *I. bellii* e *I. occidentalis*, tal como lo señalan en trabajos anteriores (Duque-Caro, 1990; Mulcahy y Mendelson, 2000; Parra-Olea et al., 2004; Pauly et al., 2004), y también *H. variolosus* (Van der Meijden et al., 2007), siendo de zonas bajas del sur con dispersión hacia el norte. Las estimaciones de tiempos de divergencia en *Lithobates* son similares a los obtenidos por Wiens et al. (2009), sin embargo estos autores no incluyeron a *L. neovolcanicus* dentro de su trabajo. De acuerdo a los resultados obtenidos concluimos que esta especie proviene de la zona oeste de la SMS con dispersión hacia el norte, a la zona oeste del CVT y después al este del CVT. *Spea multiplicata* es la única especie que parece tener un origen norteño con dispersión hacia el sur.

Basándonos en Parra-Olea et al. (2005), *I. bellii* tiene un patrón geográfico complicado donde las interacciones entre poblaciones es desconocida y no fueron resueltas debido al bajo soporte y a la alta divergencia entre poblaciones de diferentes regiones fisiográficas. Con esos hallazgos sumados a las divergencias estimadas en este trabajo podríamos sugerir una revisión más detallada de la especie ya que podrían considerarse como especies diferentes a algunas poblaciones. Del mismo modo ejemplares colectados en sistemas montañosos diferentes como son el CVT, SMS y SMOc presentan una diversificación mayor a 5 Ma, tales son los casos de *S. multiplicata*, *I. occidentalis*, *E. nitidus*, *C. augusti* y *L. neovolcanicus* por lo que sugerimos estudios filogeográficos detallados de estas especies.

El caso del clado de SNN de *C. augusti* indica tener una historia diferente donde las poblaciones pudieron haber quedado aisladas, esto pudo deberse al vulcanismo silícico que ocurrió en esta zona, debido a este evento particular *C. augusti* del Volcán Ceboruco pudo haberse diferenciado desde entonces. Por otro lado, la divergencia entre *Gastrophryne* e *Hypopachus* fue hace 17 Ma, durante el Mioceno (O de Sá et al., 2012; Van der Meijden et al., 2007), por lo que el individuo de Colima debe pertenecer al género *Gastrophryne*, esta evidencia sugiere un error en la determinación de dicho individuo posiblemente al momento de su colecta.

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

## **Agradecimientos**

Este estudio fue parte del proyecto "La Biodiversidad y su Resiliencia en Paisajes Modificados por Actividades Humanas" (PRODEP-SEP). También contó con financiamiento de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH. Los resultados de este estudio son parte de la tesis de maestría del autor principal bajo la dirección de la Dra. Ireri Suazo Ortuño en colaboración con el Dr. Eric N. Smith. El autor principal agradece el soporte del programa nacional de becas del Conacyt por la beca asignada. A la Maestría en Ciencias en Ecología Integrativa (MCEI) por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo. Al Programa Integral de Fortalecimiento Institucional (PIFI) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) y a la Red temática Biología manejo y conservación de la fauna nativa en ambientes antropizados (REFAMA) por el apoyo otorgado para la realización de la estancia en el extranjero del primer autor.

## Literatura citada

Allan, F. J. (1986). Geology of the Colima and Zacoalco grabens, SW Mexico: Late Cenozoic rifting in the Mexican Volcanic Belt. *Geological Society of America Bulletin*, 97, 473–485.

Alvarado-Díaz, J., Suazo-Ortuño, I., Wilson, D. L. y Medina-Aguilar, O. (2013). Patterns of physiographic distribution and conservation status of the herpetofauna of Michoacán, Mexico. *Amphibian and Reptile Conservation*, 7, 128–170.

Anducho-Reyes, M. A., Cognato, A. I., Hayes, J. L. y Zúñiga, G. (2008). Phylogeography of the bark beetle *Dendroctonus mexicanus* Hopkins (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49, 930–940.

Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A. J., Bates, J. M., Velazco, P. M. y Wüster, W. (2009). Molecular Studies and Phylogeography of Amazonian Tetrapods and their Relation to Geological and Climatic Models, in Amazonia: Landscape and Species Evolution: A look into the past (eds C. Hoorn and F. P. Wesselingh), Wiley-Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK. doi: 10.1002/9781444306408.ch24.

Arroyo-Cabrales, J., León-Paniagua, L., Ríos-Muñoz, C. A., Espinoza-Martínez, D. V. y Medrano-González, L. (2015). Mamíferos de Nayarit. *Revista Mexicana de Mastozoología Nueva Época* 5, 33–62.

Avice, J. C. (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36, 3–15.

Bryson, R. W. (2011a). *Historical diversification of montane herpetofauna within and between the sierras of Mexico*. Tesis doctoral. University of Nevada, Las Vegas.

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

Bryson R. W., Smith, B. T., Nieto-Montes de Oca, A., García-Vázquez, U. O. y Riddle, B. R. (2014). The role of mitochondrial introgression in illuminating the evolutionary history of Nearctic treefrogs. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 172, 103–116.

Canseco-Márquez, L., Smith, E. N., Ponce-Campos, P., Flores-Villela, O. y Campbell, J. A. (2007). A New Species of *Tantilla* (Squamata: Colubridae) of the calamarina Group from Volcán Ceboruco, Nayarit, Mexico. *Journal of Herpetology*, 41, 220–224.

Castoe, T. A., Chippindale, P., Campbell, J. A., Ammerman, L. K. y Parkinson, C. L. (2003). Evolutionary relationships of the Middle American Jumping Pitvipers (Genus

*Atropoides*) and phylogeography of the *Atropoides nummifer* complex. *Herpetologica*, 49, 421–432.

Castoe, T. A., Daza, J. M., Smith, E. N., Sasa, M. M., Kuch, U., Campbell, J. A., Chippindale, P. T. y Parkinson, C. L. (2009). Comparative phylogeography of pitvipers suggests a consensus of ancient Middle American highland biogeography. *Journal of Biogeography*, 36, 88–103.

Corona, A. M., Toledo, V. H. y Morrone, J. J. (2007). Does the Trans-Mexican Volcanic Belt represent a natural biogeographical unit? An analysis of the distributional patterns of the Coleoptera. *Journal of Biogeography*, 34, 1008–1015.

Crawford, A. J. y Smith, E. N. (2005). Cenozoic biogeography and evolution in direct-developing frogs of Central America (Leptodactylidae: *Eleutherodactylus*) as inferred from a phylogenetic analysis of nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35, 536–555.

Crawford, A. J., Bermingham, E. y Polanía, C. S. (2007). The role of tropical dry forest as a long-term barrier to dispersal: a comparative phylogeographical analysis of dry forest tolerant and intolerant frogs. *Molecular Ecology*, 16, 4789–4807.

Darriba, D. G. L., Taboada, R. D. y Posada, D. (2012). "jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing". *Nature Methods*, 9, 772.

Demant, A. (1978). Características del Eje Neovolcánico Transmexicano y sus problemas de interpretación. *Instituto de geología*, 2, 172–187.

Devitt, J. T. (2006). Phylogeography of the Western Lyresnake (*Trimorphodon biscutatus*): testing aridland biogeographical hypotheses across the Nearctic–Neotropical transition. *Molecular Ecology*, 15, 4387–4407.

Dirienzo, A. y Wilson, C. (1991). Branching pattern in the evolutionary tree for human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88, 1597–1601.

Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. (2009). Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32, 59–70.

Duque-Caro, H. (1990). Neogene stratigraphy, paleoceanography and paleobiogeography in northwest South America and the evolution of the Panama Seaway. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 77, 203–234.

Drummond, A. J., Ho, S. Y., Phillips, M. J. y Rambaut, A. (2006). Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biology*, 4, eBB. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040088.

Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D. y Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology And Evolution*, 29, 1969–1973.

Ericson, G. P., Klopstein, S., Irestedt, M., Nguyen, J. M. y Nylander, J. A. (2014). Dating the diversification of the major lineages of Passeriformes (Aves). *BMC Evolutionary Biology*, *14*, 8.

Escalante, P. P., y Llorente, J. B. (1985). Riqueza y endemismo de aves y mariposas como criterio para determinar áreas de conservación. Datos del estado de Nayarit, México. *Primer Simposio Internacional de fauna silvestre. The Wildlife Society of Mexico, Mexico, D.F.* 12 p.

Ferrari, L., López-Martínez, M., Aguirre-Díaz, G. y Carrasco-Núñez, G. (1999). Space-time patterns of Cenozoic arc volcanism in central Mexico: from the Sierra Madre Occidental to the Mexican volcanic belt. *Geology*, *27*, 303–306.

Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V. y Manea, M. (2012). The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, *522*, 122–149.

Flores-Villela, O. (1991). *Análisis de la distribución de la herpetofauna de México*. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Flores-Villela, O. (1993). Herpetofauna of Mexico: distribution and endemism. En T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (Eds.), *Biological diversity of Mexico: origins and distributions* (pp. 253–280). Oxford University Press, New York.

García-París, M., Buchholz, D. R. y Parra-Olea, G. (2003). Phylogenetic relationships of Pelobatoidea re-examined using mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *28*, 12–23.

García-Trejo, E. A. y Navarro, S. A. G. (2004). Patrones biogeográficos de la riqueza de especies y el endemismo de la avifauna en el oeste de México. *Acta Zoologica Mexicana*, *20*, 167–185.

Glazko, V. G. y Nei, M. (2003). Estimation of Divergence Times for Major Lineages of Primate Species. *Molecular Biology and Evolution*, *20*, 424–434.

Gómez-Tuena, A., Orozco-Esquivel, M. T. y Ferrari, L. (2007). Igneous petrogenesis of the Trans-Mexican Volcanic Belt. En Alaniz-Álvarez, S. A., y Nieto-Samaniego, A. F. (Eds.), *Geology of México: Celebrating the Centenary of the Geological Society of México: Geological Society of America Special Paper* (pp. 129–181). doi: 10.1130/2007.2422(05).

González-Hernández, A. J., Hernández-Ordóñez, O., Cervantes-López, M. y Reynoso, V. H. (2014). Primer registro de la cecilia de montaña *Gymnopsis syntrema* (Amphibia: Gymnophiona: Dermophiidae) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *85*, 645–649.

- Grismer, L. L. (2002). *Amphibians and Reptiles of Baja California in Pacific Island and the Islands in the Sea of Cortes*. University of California, USA.
- Greenbaum, E., Smith E. N. y O de Sá, R. (2011). Molecular systematics of the Middle American genus *Hypopachus* (Anura: Microhylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *61*, 265–277.
- Guarnizo, E. C. y Cannatella, D. C. (2013). Genetic divergence within frog species is greater in topographically more complex regions. *Journal of Zoological Systematics Evolutionary Research*, 10.1111/jzs.12027.
- Gutiérrez-García, T. A. y Vázquez-Domínguez, E. (2011). Comparative Phylogeography: Designing Studies while Surviving the Process. *BioScience*, *61*, 857–868.
- Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian Forest Birds. *Science*, *165*, 131–137.
- Heinicke, M. P., Duellman, W. E. y Hedges, S. B. (2007). Major Caribbean and Central American frog faunas originated by ancient oceanic dispersal. *PNAS*, *104*, 10092–10097.
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, *58*, 247–276.
- Hillis, M. D. y Wilcox, T. P. (2005). Phylogeny of the New World true frogs (*Rana*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *34*, 299–314.
- Ho, Y. W. S. y Phillips, M. J. (2009). Accounting for calibration uncertainty in phylogenetic estimation of evolutionary divergence times. *Systematic Biology*, *58*, 367–380.
- Korth, W. W. (1992). *Annals of Carnegie Museum*, *61*.
- Kumar, S., Stecher, G. y Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versión 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, *33*, 1870–1874.
- Lanteri, A. y Confalonieri, V. (2003). Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. En J. J. Morrone y J. Llorente (Eds.), *Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía* (pp. 185–194). CONABIO, México.
- Li, M., Tian, Y., Zhao, Y. y Bu, W. (2012). Higher Level Phylogeny and the First Divergence Time Estimation of Heteroptera (Insecta: Hemiptera) Based on Multiple Genes. *PLoS One*, *7*, e32152.
- Luna-Vega, I. (2008). Aplicaciones de la biogeografía histórica a la distribución de las plantas mexicanas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *79*, 217–241.

Marjanovic, D. y Laurin, M. (2014). An updated paleontological timetree of lissamphibians, with comments on the anatomy of Jurassic crown-group salamanders (Urodela). *Historical Biology*, 26, 535–550.

Mateos, M., Sanjur, O. I. y Vrijenhoek, R. C. (2002). Historical biogeography of the fish genus *Poeciliopsis* (Cyprinodontiformes). *Evolution*, 56, 972–984.

Mateos, M. (2005). Comparative phylogeography of livebearing fishes in the genera *Poeciliopsis* and *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes) in central Mexico. *Journal of Biogeography*, 32, 775–780.

McCormack, E. J., Peterson, A. T., Bonaccors, E. y Smith, B. (2008). Speciation in the highlands of Mexico: genetic and phenotypic divergence in the Mexican jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology*, 17, 2505–2521.

Mendelson, R. J., Mulcahy, D. G., Williams, T. S. y Sites Jr. J. W. (2011). A phylogeny and evolutionary natural history of mesoamerican toads (Anura: Bufonidae: *Incilius*) based on morphology, life history, and molecular data. *Zootaxa*, 3138, 1–34.

Morris, B. A., Bell, C. D., Clayton, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E. y Soltis, P. S. (2007). Phylogeny and Divergence Time Estimation in *Illicium* with Implications for New World. *Biogeography*, 32, 236–249.

Mulcahy, G. D. y Mendelson, J. R. (2000). Phylogeography and Speciation of the Morphologically Variable, Widespread Species *Bufo valliceps*, Based on Molecular Evidence from mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17, 173–189.

Mulcahy, G. D., Morrill, B. H. y Mendelson, J. R. (2006). Historical biogeography of lowland species of toads (*Bufo*) across the Trans-Mexican Neovolcanic Belt and the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of biogeography*, 33, 1889–1904.

O de Sá, R., Streicher, J. W., Sekonyela, R., Forlani, M. C., Loader, S. P., Greenbaum, E., Richards, S. y Haddad, C. F. B. (2012). Molecular phylogeny of microhylid frogs (Anura: Microhylidae) with emphasis on relationships among New World genera. *BMC Evolutionary Biology*, 12, 241.

Parra-Olea, G. (2002). Phylogenetic relationships of the salamander of the genus *Pseudoeurycea* (Caudata: Plethodontidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22, 234–246.

Parra-Olea, G., García-París, M. y Wake, D. B. (2004). Molecular diversification of salamanders of the tropical American genus *Bolitoglossa* (Caudata: Plethodontidae) and its evolutionary and biogeographical implications. *Biological Journal of the Linnean Society*, 81, 325–346.



- Parra-Olea, G., Garcia-Paris, M., Papenfuss, T. J. y Wake, D. B. (2005). Systematics of the *Isthmura bellii* (Caudata: Plethodontidae) species complex. *Herpetologica*, *61*, 145–158.
- Parra-Olea, G., Flores-Villela, O. y Mendoza-Almeralla, C. (2014). Biodiversidad de anfibios en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *85*, 460–466.
- Pasquaré, G., Garduño, V., Tibaldi, A. y Ferrari, M. (1988). Stress pattern evolution in the central sector of the Mexican Volcanic Belt. *Tectonophysics*, *14*, 353–364.
- Pauly, B. G., Hillins, D. M. y Cannatella, D. C. (2004). The history of a nearctic colonization: molecular phylogenetics and biogeography of the nearctic toads (*Bufo*). *Evolution*, *58*, 2517–2535.
- Pérez-Higareda, G. y Navarro, D. L. (1980). The faunistic districts of the low plains of Veracruz, Mexico, based on reptilian and mammalian data. *Bulletin Maryland Herpetological Society*, *16*, 54–69.
- Poinar, O. G. y Canatella, D. C. (1987). An upper Eocene frog from the Dominican Republic and its implication for Caribbean biogeography. *Science*, *237*, 1215–1216.
- Pyron, R. A. y Wiens, J. J. (2011). A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *61*, 543–583.
- Reznick, N. D., Furness, A. I., Meredith, R. W. y Springer, M. S. (2017). The origin and biogeographic diversification of fishes in the family Poeciliidae. *PLoS ONE*, *12*, e0172546.
- Riddle, B. R. y Hafner, D. J. (2006). A step-wise approach to integrating phylogeographic and phylogenetic biogeographic perspectives on the history of a core North American warm deserts biota. *Journal of Arid Environments*, *66*, 435–461.
- Rose, D. K. (1981). The Clarkforkian Land-Mammal Age and Mammalian Faunal Composition Across the Paleocene-Eocene Boundary. *University of Michigan Papers on Paleontology*, *26*, 1–197.
- Ruiz-Sanchez, E. y Specht, C. D. (2013). Influence of the geological history of the Trans-Mexican Volcanic Belt on the diversification of *Nolina parviflora* (Asparagaceae: Nolinoideae). *Journal of Biogeography*, *40*, 1336–1347.
- Salinas-Moreno, Y., Mendoza, M. G., Barrios, M. A., Cisneros, R., Macías-Sámamo, J. y Zúñiga, G. (2004). Areography of the genus *Dendroctonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Mexico. *Journal of Biogeography*, *31*, 1163–1177.
- Serrano-Sánchez, M. de L., Hegna, T. A., Schaaf, P., Pérez, L., Centeno-García, E. y Vega, F. J. (2015). The aquatic and semiaquatic biota in Miocene amber from the Campo LA

Granja mine (Chiapas, Mexico): Paleoenvironmental implications. *Journal of South American Earth Sciences*, 62, 243–256.

Shepard, D. B. y Burbrink, F. T. (2008). Lineage diversification and historical demography of a sky island salamander, *Plethodon ouachitae*, from the Interior Highlands. *Molecular Ecology*, 17, 5315–5335.

Shepard, D. B. y Burbrink, F. T. (2009). Phylogeographic and demographic effects of Pleistocene climatic fluctuations in a montane salamander, *Plethodon ouachitae*. *Molecular Ecology*, 18, 2243–2262.

Steinmann, W. V. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, 61, 61–93.

Streicher, J. W. (2012). *Evolutionary relationships among some northern groups of the direct-developing frog genus Craugastor (Anura: Craugastoridae)*. Tesis doctoral. The University of Texas at Arlington, Arlington, Texas, USA.

Tedford, H. R., Galusha, T., Skinner, M. F., Taylor, B. E., Fields, R. W., Macdonald, J. R., Rensberger, J. M., Webb, S. D., y Whistler, D. P. (1987). Faunal succession and biochronology of the Arikareean through Hemphillian interval (late Oligocene through earliest Pliocene epochs) in North America. En M. O. Woodburne (Ed.), *Cenozoic Mammals of North America: Geochronology and Biostratigraphy* (pp. 153-210). Columbia University Press.

Townsend, T. M., Mulcahy, D. G., Noonan, B. P., Sites, J. W., Kuczynski, C. A., Wiens, J. J. y Reeder, T. W. (2011). Phylogeny of iguanian lizards inferred from 29 nuclear loci, and a comparison of concatenated and species-tree approaches for an ancient, rapid radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 363–380.

Van der Meijden, A., Vences, M., Hoegg, S., Boistel, R., Channing, A. y Meyer, A. (2007). Nuclear gene phylogeny of narrow-mouthed toads (Family: Microhylidae) and a discussion of competing hypotheses concerning their biogeographic origins. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 1017–1030.

Wiens, J. J., Sukumaran, J., Pyron, R. A. y Brown, R. M. (2009). Evolutionary and biogeographic origins of high tropical diversity in old world frogs (Ranidae). *Evolution*, 63, 1217–1231.

Wilson, L. R. (1968). Systematics and faunal analysis of a Lower Pliocene vertebrate assemblage from Trego County, Kansas. *Contributions from the Museum of Paleontology, University of Michigan*, 22, 75–126.

White, E. T. (1942). The Lower Miocene mammal fauna of Florida. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 92, 1–49.

Zakharov, E. V., Caterino, M. S. y Sperling, F. A. H. (2004). Molecular Phylogeny, Historical Biogeography, and Divergence Time Estimates for Swallowtail Butterflies of the Genus *Papilio* (Lepidoptera: Papilionidae). *Systematic Biology*, 53, 193–215.

Zaldivar-Riverón, A., León-Regagnon, V. y Nieto-Montes de Oca, A. (2004). Phylogeny of the Mexican coastal leopard frogs of the *Rana berlandieri* group based on mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30, 38–49.

## **VII. CAPÍTULO II**

### **Divergencia dentro de las serpientes de la Cueva del Río Santiago en la zona oeste del Cinturón Volcánico Transmexicano**

#### **VIII. INTRODUCCIÓN**

En México el Cinturón Volcánico Transmexicano (CVT) es uno de los centros de evolución más importantes debido principalmente a su topografía accidentada, esta característica ha generado una gran variedad de ambientes que a su vez han propiciado el elevado número de endemismos que existe en la zona (Grismer, 2002). Desde el origen del CVT en todo su territorio han ocurrido episodios geológicos durante el Neogeno (Ferrari et al., 2012) que han moldeado y contituido las estructuras volcánicas dentro de esta provincia.

Los procesos que han ocurrido a lo largo de la historia del CVT han impactado la distribución y diversificación de las especies (Bryson et al., 201; García de Jesús et al., 2016; García et al., 2015), por esto, la distribución geográfica actual de las especies no ocurrió de manera azarosa, ha sido moldeada por los procesos que han sucedido a lo largo de la historia de la tierra (Avisé et al., 1987). En México las diversificaciones de las especies han sido atribuidas a multiples causas, los principales procesos son tres 1) los episodios geológicos del Neogeno (Bryson et al., 2011; Castoe et al., 2003, 2009; Ferrari et al., 2012; Gomez-Tuena et al., 2007; Pérez-Higareda y Navarro, 1980; Zaldívar-Riverón et al., 2004) donde tales episodios jugaron un papel crucial en la historia evolutiva de los taxa (Bryson et al., 2011; Castoe et al., 2009), 2) las barreras geográficas que han influenciado las distribuciones y dispersiones (Anducho-Reyes et al., 2008; Crawford et al., 2007; Devitt, 2006). Por otro lado, 3) las fluctuaciones climáticas que ocurrieron durante el Pleistoceno tuvieron efectos en las vegetaciones del país y esto a su vez influyó en la distribución de la herpetofauna mexicana (Bryson et al., 2011; Flores-Villela, 1998; Pounds et al., 1999; Rodríguez-Banderas et al., 2009; Toledo, 1982; Zaldivar-Riverón et al., 2005).

Flores-Villela y Martínez-Salazar (2009) mencionan que es posible que las fluctuaciones del clima llevaran a la extinción de muchas especies, pero también a eventos de aislamiento en las zonas altas del centro de México. Por ello, las regiones de tierras altas han sido utilizadas como modelo de estudio bajo la premisa que estas funcionan como sitios de especiación por su historia geológica y climática (Bryson et al., 2011; Shepard y Burbrink, 2008, 2009) ya que son adecuadas para estudiar la historia evolutiva de los taxa. Al trabajar con especies co-distribuidas tenemos la oportunidad de buscar y encontrar patrones filogeográficos que nos ayuden a comprender su historia evolutiva (Avice, 2000), debido a que la información obtenida proviene de diferentes especies para una misma región geográfica podemos obtener un mayor soporte en los resultados.

En este sentido, en trabajos anteriores utilizando como herramienta las estimaciones de divergencia han propuesto tiempos de divergencia de los taxa en diferentes grupos, también incluyendo datos sobre los episodios geológicos de la zona es como se han propuesto las historias evolutivas en diferentes taxa. Estos tipos de trabajos han logrado encontrar y proponer zonas de origen así como las posibles dispersiones que han ocurrido a lo largo de la historia de las especies, así como lo hicieron (Crawford y Smith, 2005; Parra-Olea et al., 2004; Rodríguez-Robles y De Jesús-Escobar, 1999; Van der Meijden et al., 2007). En este sentido el objetivo principal de este trabajo es explorar las relaciones filogenéticas entre poblaciones de serpientes de las zonas altas en la Cuenca del Río Santiago en los estados de Jalisco y Nayarit, además de estimar los tiempos de divergencia entre las especies y sus poblaciones e inferir los procesos geológicos y/o climáticos que determinaron la historia evolutiva de los taxa.

## **IX. METODOLOGÍA**

### **8.1. Descripción del área de estudio**

La cuenca del Río Santiago se localiza en el centro-occidente de México, incluye parte de seis entidades federativas: Durango, Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato, Jalisco y Nayarit. Los cerros y volcanes que serán incluidos como sitios de muestreo son: Volcán Tequila, Volcán Ceboruco, Cerro Viejo, Sierra de San Juan Cósala, Bosque La Primavera,

Cerro Cuauhtépetl, Volcán Tepetitlic, Cerro Grande, Volcán Sangangüey y Cerro Alto (Fig. 1).

El volcán Ceboruco se encuentra a 62 km al suroeste de Tepic y Santa María del Oro en Nayarit, dentro del Eje Neovolcánico, formado por rocas ígneas extrusivas de suelo tipo leptosol y con una vegetación de bosque fragmentado de pino-encino. Los árboles poseen mucho musgo, esta vegetación está rodeada por selva baja, pastizales y agricultura. El clima de este sitio es cálido subhúmedo con lluvias en verano, de mayor humedad en las partes más bajas del volcán, mientras en la zona más alta el clima es templado subhúmedo, de mayor humedad. La altitud máxima a la que llega es de aproximadamente 2100 msnm (Canseco-Márquez et al., 2007; INEGI, 2009: <http://solgeo.inegi.org.mx>). Se encuentra perturbado por ganado e incendios.

El volcán Tequila, se encuentra aproximadamente a 9 km al sur de Tequila en el Cinturón Volcánico, conformado por rocas ígneas extrusivas, suelo luvisol, con bosque de pino en su base y al incrementar la altitud cambia a bosque de encino, el clima es templado subhúmedo, con altitud máxima de 2920 msnm (INEGI, 2009; <http://solgeo.inegi.org.mx>). Zona alterada por ganado, actividades humanas e incendios, algunas partes con mucho pasto, las pendientes son pronunciadas y con muchas rocas, hay zonas con mucho musgo y zonas sin musgo, existen algunos claros.

El cerro Cuauhtépetl se encuentra en los municipios de Ameca y Ahualulco de Mercado en Jalisco, el clima en la zona más alta es templado subhúmedo, mientras en la zona más baja es semicálido subhúmedo, suelo leptosol compuesto principalmente por rocas ígneas extrusivas. La vegetación es bosque de coníferas hasta la cima pero en altitudes más bajas es bosque de encino, se encuentra a una altitud de 2220 msnm (INEGI, 2009; <http://solgeo.inegi.org.mx>). Sitio perturbado por ganado e incendios, los sitios muestreados fueron las costillas del cerro.

El bosque la primavera esta decretada como Zona de Protección Forestal y Refugio de la Fauna Silvestre con una superficie de 30,500 hectáreas en Jalisco. El sitio donde se realizó el muestreo presenta bosque de encino, con una pendiente pronunciada con muchas rocas y pastos bajos, algunas partes con hojarasca abundante y con influencia antropogénica, el

cerro ha sufrido de incendios llega a una altitud máxima de 2220 msnm (INEGI, 2009; <http://www.bosquelaprimavera.com>).

La sierra de San Juan Cósala se encuentra en el extremo noroeste de la laguna de Chápala en el eje Neovolcánico dentro del estado de Jalisco, formado por rocas ígneas extrusivas, clima templado subhúmedo, suelo Phaeozem con selva baja caducifolia en las partes más bajas y en zonas altas con bosque de encino, la altitud máxima oscila los 2300 msnm (INEGI, 2009: <http://solgeo.inegi.org.mx>). Existe perturbación por ganado, y tala del bosque.

El sitio denominado “Cerro viejo” se encuentra en Jalisco, dentro del eje Neovolcánico, está formado por rocas ígneas extrusivas que formaron suelos de tipo Phaeozem, el clima es templado subhúmedo, con selva baja caducifolia en la parte baja mientras en zonas altas presenta bosque de encino y bosque de coníferas, la altitud máxima oscila los 2300 msnm (INEGI, 2009: <http://solgeo.inegi.org.mx>). Cerca del sitio de muestreo pasa una arrollo, en el cerro hubo incendios que quemaron la vegetación, en la cima del cerro hay mucho musgo en rocas y árboles, también hay algunos claros, existe perturbación por ganado en todo el cerro.

Cerro Grande se encuentra en Nayarit, forma parte del eje Neovolcánico, está formado por rocas ígneas extrusivas, con suelo leptosol, desde la base hasta la cima hay pastizales, solo hasta la cima se puede encontrar el bosque de encino pero aún con pastizales altos, está rodeado por agricultura y pastizales. El clima es semicálido subhúmedo. La altitud máxima oscila los 2000 msnm (INEGI, 2009: <http://solgeo.inegi.org.mx>).

El volcán Tepetitlic se encuentra en Nayarit, dentro del eje Neovolcánico, está formado por rocas ígneas extrusivas con suelos leptosoles, luvisoles y cambisoles el clima es semicálido subhúmedo. Estas características dieron origen a una vegetación de bosque de coníferas y encinos, llega a una altitud máxima de 1900 msnm. Existe perturbación por ganado e incendios.

El Cerro Alto se encuentra en Nayarit, dentro del eje Neovolcánico, presenta rocas ígneas extrusivas con suelo regosol, un bosque de coníferas y encinar en un clima templado

subhúmedo, la altitud máxima oscila los 2200 msnm (INEGI, 2009: <http://solgeo.inegi.org.mx>). El cerro se encuentra perturbado por ganado e incendios.

El volcán Sangangüey se encuentra en Nayarit dentro del eje Neovolcánico, está formado por rocas ígneas extrusivas con suelos leptosoles, vegetación de bosque de coníferas y encinos, clima templado subhúmedo rodeado por otro clima, el cálido subhúmedo y con una vegetación de selva baja caducifolia, la altitud máxima oscila los 2100 msnm (INEGI, 2009: <http://solgeo.inegi.org.mx>). Existen rocas volcánicas alrededor de este volcán, el sitio esta perturbado por acción del ganado así como por los incendios, no encontramos arroyos permanentes y durante la noche mucha neblina, la pendiente en algunas zonas muy pronunciada.

## **8.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **8.2.1. Trabajo de campo**

Se realizó una salida al campo durante el periodo del 10 de septiembre al 10 de octubre del 2015 para la búsqueda de los organismos, las colectas se realizaron en 10 volcanes y cerros que se encuentran dentro de la Cuenca del Río Santiago en los estados de Jalisco y Nayarit, en cada sitio se destinaron dos días de búsqueda en los cuales se hicieron muestreos diurnos y nocturnos durante 3 horas. Las colectas se realizaron en un gradiente altitudinal desde los 1400 hasta los 2915 msnm, en los puntos más altos de cada sitio. Se colectó usando el método de búsqueda por encuentro visual (Lips et al., 2001). Todos los ejemplares colectados fueron determinados, medidos y pesados, además se les tomó una muestra de tejido la cual fue preservada en alcohol anhidro. Se colectó de cada sitio una muestra de 10 ejemplares por especie que fueron preservados en alcohol al 70% (Tabla. 1). La determinación de los ejemplares colectados se llevó a cabo mediante el uso de claves taxonómicas y guías fotográficas (Casas y McCoy, 1979; Flores-Villela et al., 1995; Ramírez-Bautista, 1994; Reyna et al., 2007). Los ejemplares colectados se depositaron en la Colección Herpetológica de la Universidad Michoacana (CHUM) (Permiso SGPA/DGVS/00655/1).



## 8.2.2. Extracción de ADN, amplificación de PCR y secuenciación

### Extracción y purificación de ADN

El ADN fue aislado del tejido muscular usando el protocolo de Rohland y Reich (2012). Se tomó un pequeño trozo (0.5 g) de tejido proveniente de una falange y se colocó en un microtubo con su etiqueta correspondiente. A cada uno de los tejidos se les agregó 100  $\mu$ l de solución Buffer y 5  $\mu$ l de Proteinasa K para disolver el tejido.

Una vez colocadas estas soluciones los tubos se pasaron al vortex por 3 segundos y luego a la centrifuga por aproximadamente 10 segundos. Después, los tubos se sometieron a incubación en un termociclador por un lapso de 2 horas a una temperatura de 55°C. En los casos en que luego de este lapso de tiempo el tejido no se digirió, fue necesario agregar 2  $\mu$ l más y se dejaron toda la noche incubando en el termociclador. En todos los sets de tubos fue el mismo caso así que se dejaron un total de 2 horas más una noche extra de incubación. Una vez finalizado el periodo de incubación los tubos se dejaron a temperatura ambiente para que la enzima continuara trabajando y adicionalmente se les agregó de 5-10  $\mu$ l de proteinasa K a los tubos a los cuales se observaba tejido.

Las muestras que contenían una cantidad grande de escamas se les agregó DTT ya que están constituidas principalmente por queratina, en algunas muestras el DTT se adicionó antes de la incubación y en algunas otras se adicionó después.

A cada uno de los tubos se les agregó 150-180  $\mu$ l de Serapure, luego de esto los tubos se llevaron al vortex en grupos de 8 durante 3 segundos y después a la centrifuga durante 15-20 segundos, para enseguida dejarlos en reposo a temperatura ambiente durante 5 minutos. Posteriormente se pasaron a la placa magnética por dos minutos. El sobrenadante fue extraído y se añadió alcohol al 70% por dos ocasiones, luego de dejarlos en reposo por unos minutos se agregó 50  $\mu$ l de tris pH 8. Una vez hecho este procedimiento el ADN quedó listo.

### 8.2.3. Amplificación por PCR

#### Master Mix

La Master Mix es una mezcla que contiene los reactivos necesarios para que se lleven a cabo las PCR. Esta mezcla estuvo compuesta por 8.5 µl de agua ultra pura, 1 µl de forward primer, 1 µl de reverse primer y 12.5 µl de Green Taq, esto para cada muestra de ADN. Los primers o cebadores se utilizan para definir el fragmento de ADN que se desea amplificar, y la Green Taq es la enzima que se utilizó para iniciar la polimerización y así generar la cadena complementaria. A todos los tubos se les colocó 23 µl de master mix y a cada uno se les adicionó 2 µl de su ADN correspondiente. Una vez que los tubos contenían esta mezcla de la master mix y el ADN se colocaron dentro del termociclador por un periodo de 3 horas. Pasadas las tres horas el producto de PCR se corrió en un gel de agarosa para visualizar el ADN amplificado. El gel se corrió por 25 minutos con 120 V, en la primer celda se colocó DNA ladder y hacia la derecha los productos de PCR dejando en la penúltima el positivo y en la última el negativo (Figura. 2). El propósito de la electroforesis es determinar la presencia o ausencia de un producto de PCR y cuantificar el tamaño de la molécula de ADN amplificada, en este caso amplifique un fragmento de ND4 con 788 pb de longitud.

Los genes mitocondriales han sido utilizados ampliamente en los animales por tener características que los hacen ideales para inferir relaciones entre los grupos a diferente escala taxonómica. Se eligieron dos genes mitocondriales debido a que tienen una tasa de evolución relativamente rápida suficiente para esclarecer procesos de especiación recientes, por ser ADN no recombinante y por su origen matrilineal (Antonelli et al., 2009; Dirienzo y Wilson, 1991). Se decidió utilizar estos dos genes debido a su frecuente uso en este tipo de trabajos cuando se pretende estimar las relaciones entre uno o más grupos taxonómicos (Bryson et al., 2011b; Castoe et al., 2007, 2009; Faivovich et al., 2005).

Se utilizó un fragmento del gen mitocondrial ND4 el cual fue amplificado mediante la técnica de PCR con el forward primer LEU (CATTACTTTTACTTGGATTTGCACCA) y el reverse primer ND4 (CACCTATGACTACCAAAGCTCATGTAGAAGC). El perfil de ciclo térmico estándar que se utilizó incluye 30 ciclos de 94°C de desnaturalización, 52°C de recombinación, y 72°C de elongación.

## Secuenciación

Las reacciones de PCR se limpiaron usando perlas magnéticas AMPure (Agencourt<sup>®</sup>, Bioscience, Beverly, MA, EE.UU.). Las amplificaciones y secuenciaciones se realizaron usando protocolos estándar asociados con química de terminación BigDye<sup>®</sup> (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.), en la instalación de genómica de UTA (University of Texas at Arlington, EE.UU.; [gcf.uta.edu](http://gcf.uta.edu)). Las secuencias obtenidas provienen de tres sitios diferentes (Tabla 2), se utilizaron 51 secuencias de los 10 volcanes, adicionalmente 46 muestras de las mismas especies para hacer comparaciones con los tiempos de divergencia provenientes de los alrededores de todos los sitios utilizando poblaciones externas. Dichas muestras provienen de los estados de Baja California del Norte, Colima, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Querétaro, Sinaloa, Sonora y Veracruz. De estas 79 solo 33 son secuencias extraídas de GenBank las otras 46 son muestras tomadas del Amphibian and Reptile Diversity Research Center (ARDRC), University of Texas at Arlington. Basándonos en múltiples filogenias incluí algunos grupos hermanos de las especies encontradas en los volcánes (Brandley et al., 2012; Conroy et al., 2005; Pyron et al., 2013; Wiens et al., 2010; Zaldivar-Riverón et al., 2005).

Tabla 2. Número de secuencias de reptiles utilizadas de las colecciones. CHUM=Colección Herpetológica de la Universidad Michoacana, UTA= University of Texas at Arlington, GenBank= Genetic Sequence Database.

	Final		
	CHUM	ARDRC	GenBank
Reptiles	51	46	30

### 8.2.4. Alineamiento de las secuencias y análisis filogenético

Las 127 secuencias que se obtuvieron fueron ensambladas y limpiadas con el programa Sequencher 5.4.1 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, EE.UU.). Una vez que se limpiaron las secuencias se alinearon de forma automática en el programa MEGA versión 7 (Kumar, Stecher y Tamura 2016) con Clustal W y “a ojo” para verificar el alineamiento y hacer correcciones.

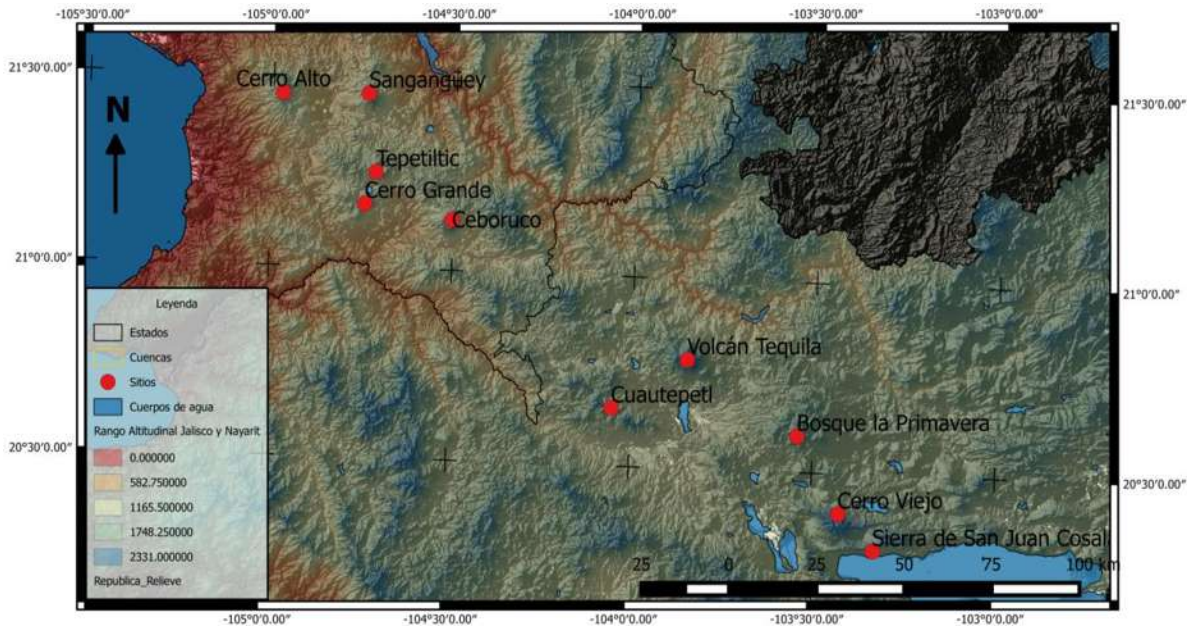


Fig. 1. Localización del área de estudio. En círculos rojos se muestran los 10 cerros volcánicos pertenecientes a la Cuenca del Río Santiago.

### 8.3. Dataciones de divergencia y calibraciones

Las estimaciones de divergencia fueron estimadas usando un reloj molecular relajado no correlacionado lognormal con el modelo de Yule en BEAST v.1.8.4 (Drummond et al., 2006). La selección del mejor modelo de evolución molecular fue elegido usando el programa jModel Test v.2.1.9 (Darriba et al., 2012). Usamos un reloj molecular relajado no correlacionado lognormal y construyendo nodos de las familias y generos basándonos en filogenias previas (Brandley et al., 2011, 2012; Conroy et al., 2005; Figueroa et al., 2016; Hedges y Vidal, 2009; Hsiang et al., 2015; Jones et al., 2013; Pyron et al., 2013; Townsend et al., 2011; Wiens et al., 2010; Zaldivar-Riverón et al., 2005) e incluí como grupos hermanos a *Bitis gabonica*, *Agkistrodon contortix*, *Agkistrodon piscivorus*, *Crotalus triseriatus*, *Crotalus scutulatus*, *Crotalus tancitarensis*, *Regina rigida*, *Imantodes gemmistratus*, *Lampropeltis ruthveni*, *Lampropeltis calligaster*, *Sonora mutabilis* y *Pseudoficimia frontalis*. El análisis se corrió con 20 con 15 millones de generaciones almacenando muestras cada 1000 generaciones Los resultados estadísticos se visualizaron en TRACER v.1.6 para verificar que el tamaño muestral efectivo (ESS) fuese el adecuado. Una vez obtenidos los árboles se eliminó el 10 % con un límite de probabilidad posterior de

0.5, y para obtener un árbol consenso usamos el programa TreeAnnotator v.1.8.4 (Drummond et al., 2012), Los árboles fueron visualizados utilizando el programa FigTree 1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>). Se utilizaron tres calibraciones de fósiles, (1) *Sitrurus* (Webb et al., 1981) del Mioceno fechado en 10.3 - 13.6 Ma siendo este el grupo hermano de los *Crotalus*, por tanto, este género fue calibrado por dicho fósil, (2) Crotalinae (Holman, 1977) del Mioceno fechado en 13.6 – 16 Ma, siendo el más antiguo para el grupo, dicho fósil fue utilizado para calibrar la subfamilia Crotalinae, (3) cf *Agkistrodon* (Korth, 1998) del Mioceno fechado en 10.3 – 13.6 Ma, siendo este el más antiguo para el género utilizado para calibrar dicho género. Adicionalmente a las calibraciones con fósiles se incluyeron dataciones secundarias, se usaron 6 dataciones secundarias de los tiempos de divergencia de las familias Natricidae (39.8 Ma), Dipsadidae (32.9 Ma), Colubridae (36.8 Ma) y Viperidae (54.3 Ma), también se agregó información de divergencia de las primeras tres familias mencionadas (46.3 Ma) (Vidal et al., 2009), de la misma manera, se incluyó el tiempo de divergencia entre *Imantodes* y *Leptodeira* (16.09 Ma) (Daza, 2010). Para todas las calibraciones con fósiles se utilizaron parámetros de distribución “LogNormal” mientras que para todas las calibraciones secundarias se usaron parámetros de distribución normal y un “offset” de cero.

## X. RESULTADOS

Los resultados de las estimaciones de divergencia que se reportan a continuación están basados en intervalos de credibilidad del 95%, la probabilidad posterior inferida para las divergencias entre las especies fue en casi todos los clados alta ( $\geq 0.99$  %) (Fig. 2). Cinco de las especies encontradas en los volcanes (*Conopsis nasus*, *Crotalus basiliscus*, *Geophis*, *Lampropeltis triangulum* y *Leptodeira*) presentan una divergencia entre especies durante el Mioceno y Plioceno, todas menores a 10 Ma, del mismo modo las divergencias dentro de estas especies también ocurrieron durante este periodo de tiempo. Así mismo sucede para otras especies como *Agkistrodon*, *Crotalus scutulatus*, *Crotalus tancitarencis*, *Leptodeira maculata*, *Salvadora bairdi*, *Tantilla ceboruca*, *Tantilla bocourti* y *Tantilla calamarina* cuyas divergencias sucedieron durante el Mioceno y Plioceno. De acuerdo a las estimaciones de divergencia de las especies, los clados más antiguos de cada grupo indican

solo para *L. triangulum* un origen sureño hacia el norte del país y para *C. nasus* un origen del este del CVT hacia el oeste (Tabla 2), desafortunadamente para las demás especies no hay datos suficientes como para sugerir un punto de origen y de dispersión. No obstante que las divergencias entre especies ocurrieron en el Mioceno y Plioceno se obtuvieron resultados que sugieren que durante el Pleistoceno ocurrieron divergencias a nivel poblacional en la mayoría de las especies encontradas dentro de la zona oeste del CVT. De las especies de serpientes incluidas en este trabajo hay tres casos en donde al menos una población presenta divergencia mayor a 5 Ma entre las demás poblaciones, tiempo de divergencia muy grande entre poblaciones de una misma especie, en otros trabajos se ha considerado que pertenecen a especies diferentes (Burbrink et al., 2011). Los casos en los que se observa esta divergencia son para el clado de *Leptodeira sp.* del Volcán Ceboruco y *C. nasus* de Tancítaro y de Tapalpa.

La divergencia dentro de *C. basiliscus* ocurrió hace aproximadamente 3.3 Ma durante el Plioceno (Fig. 2), resultando dos clados, el primero conformado por los individuos de Nayarit y el segundo por los de Jalisco y Colima, cabe resaltar que las divergencias dentro de cada uno de estos clados es pequeña dentro del tiempo geológico ( $\leq 0.62$  Ma). Un caso contrario es lo que sucede con *Storeria storerioides*, en donde se obtuvieron dos grupos dentro de la especie, el primero del centro del CVT con divergencia hace 1.6 Ma durante el Plioceno y el segundo grupo del oeste del CVT. Por otro lado para *Geophis* no encontramos un patrón para ninguna de las dos especies a pesar de ser estas de tierras altas, sin embargo se obtuvieron dos clados de *Geophis* uno de Jalisco y el otro de Michoacán. La primer divergencia dentro de *L. triangulum* ocurrió hace 4 Ma durante el Plioceno, esta divergencia llevó a la formación de dos clados uno de la SMS y el otro del CVT en conjunto con la PC. El clado de *Tantilla* está conformado por tres especies, desafortunadamente el número de ejemplares es muy limitado además que dos de las tres especies habitan principalmente en zonas bajas, a pesar del bajo número de individuos el análisis pudo diferenciar entre las tres especies. El clado de *Trimorphodon tau* está compuesto por dos grupos, el del CVT y de la SMS, la divergencia entre estos grupos ocurrió hace 2.5 Ma durante el Pleistoceno. Finalmente dentro de *C. nasus* se detectaron

dos clados con divergencia hace 6.3 Ma durante el Mioceno tardío los grupos son del este del CVT y del oeste del CVT.

Tabla 2. Estimaciones de divergencia obtenidas por inferencia bayesiana. Se muestra la media, el límite inferior y superior estimado para los taxa con intervalos de confianza del 95%.

Nodo	Inferior	Media	Superior	Origen-dispersión
Origen de <i>Crotalus basiliscus</i>	4.69	7.68	10.81	-
Origen de <i>Leptodeira</i>	14.56	16.48	18.41	-
Origen de <i>Lampropeltis triangulum</i>	3.69	8.34	14.67	Sur-Norte
Origen de <i>Tantilla bocourti</i>	6.42	12.56	19.82	-
Origen de <i>Conopsis nasus</i>	11.05	17.6	24.98	Este-Oeste

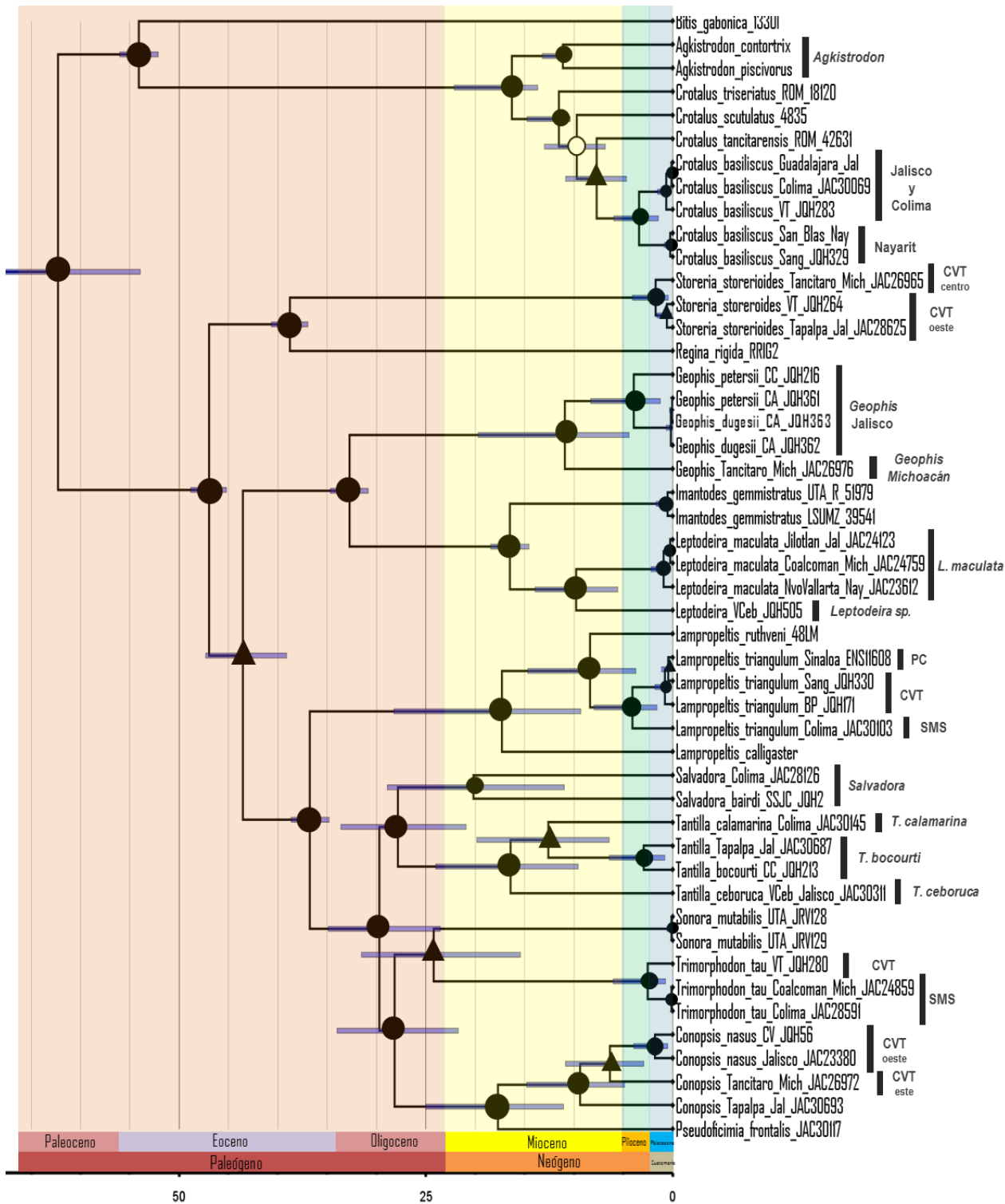


Fig. 2. Estimación de los tiempos de divergencia (Ma) para las especies de serpientes de las zonas montañosas en la zona oeste del Eje Neovolcánico inferidas usando un análisis filogenético bayesiano con reloj molecular relajado. Los nodos representan la media estimada mientras que las barras azules representan los intervalos de credibilidad del 95% de las divergencias; Círculos negros=  $\geq 0.99\%$ , Círculos blancos=  $\geq 90\% \leq 98\%$ , Triángulo negro=  $\leq 89\%$ . CVT = Cinturón Volcánico Transmexicano, SMS = Sierra madre del Sur.



## XI. DISCUSIÓN

La gran mayoría de los nodos presentan una probabilidad posterior mayor al 0.99%, esto significa que las ramas resultantes del análisis así como las relaciones entre los individuos tienen un soporte alto. Los resultados de las estimaciones de divergencia concuerdan con (Bryson et al., 2011a, 2011b; Castoe et al., 2009) quienes proponen que las formaciones del Neógeno en el CVT son la mayor fuerza que condujo la historia evolutiva de los taxa de tierras altas y que las fluctuaciones climáticas que ocurrieron durante el Pleistoceno tuvieron un efecto menor afectando a un nivel poblacional. Los patrones son diferentes para algunas especies, para especies como *C. nasus*, *L. triangulum*, *Leptodeira*, *Geophis* y *C. basiliscus* se piensa que fueron los eventos volcánicos que ocurrieron a lo largo del CVT la principal causa de las diversificaciones, mientras que para las demás especies es aventurado proponer a los eventos geológicos como promotores de la diversificación debido a que la representatividad de los grupos es muy baja y a que los individuos se encuentran en zonas fisiográficas diferentes por lo que pudiesen haber influido otros factores. Resultados similares a lo encontrado en este trabajo se han reportado en múltiples trabajos donde las diversificaciones de las especies ocurrieron dentro del CVT en el Mioceno y Plioceno tales son los casos de (Bryson et al., 2011b; Castoe et al., 2009; Crawford et al., 2007; Demastes et al., 2002) del mismo modo esto ha sucedido en otras regiones montañosas (Castoe et al., 2003; Jaeger et al., 2005; Macey et al., 1998; Murphy, 1983) donde los episodios geológicos han jugado un papel importante en la diversificación de los taxa. A pesar de tener representantes de diferentes zonas fisiográficas fueron pocas las especies en las que se pudo observar un patrón donde se pudiese distinguir clados formados por regiones fisiográficas, sin embargo las especies con resultados positivos sugieren que regiones como el CVT y la SMS presentan zonas bajas que funcionan como barreras entre las poblaciones de especies de serpientes.

La primera divergencia que ocurrió dentro de *C. basiliscus* está relacionada al arco volcánico basáltico y andesítico del Plioceno tardío en el CVT, esta actividad volcánica es parte de un conjunto de episodios volcánicos recientes en esta cadena montañosa (Ferrari et al., 2012; Gómez-Tuena et al., 2007). El vulcanismo en la zona pudo impedir hasta cierto punto la dispersión de *C. basiliscus* a tal grado que se observa la formación de un clado de

Nayarit y otro de Jalisco y Colima. Por otro lado, las divergencias que sucedieron entre las especies de *C. nasus* y *Geophis* hace 6.7 y 10.9 Ma son atribuidas al vulcanismo silícico del Mioceno tardío al Plioceno temprano (Ferrari et al., 2012; Gómez-Tuena et al., 2007) ya que estos eventos geológicos tuvieron lugar en la zona centro de Jalisco y norte-oeste de Michoacán, sin embargo la zona de Tancítaro quedó fuera de dichos eventos por lo que estos pudieron influenciar la dispersión de ambas especies y además influir con sus divergencias. De igual manera *S. storerioides* presenta el mismo patrón en la formación de los clados, sin embargo la divergencia entre ambos clados no está relacionada con el vulcanismo silícico si no a las fluctuaciones climáticas del pleistoceno. Para el caso de *L. triangulum* y *T. tau* se detectó un patrón similar al de otros taxa donde la divergencia es atribuida a regiones montañosas que funcionan como barreras de dispersión, específicamente estos casos se presentaron entre el CVT y la SMS (peces, Mateos et al., 2002; Mateos, 2005; anfibios, Mulcahy y Mendelson, 2000; Pauly et al., 2004; Quezada-Hipolito et al., en preparación; Zaldívar-Riverón, 2004; reptiles, Devitt, 2006;) pero también se han presentado casos en otras regiones montañosas con diversos taxa (Bryson et al., 2011c; Castoe et al., 2003, 2009; Mulcahy et al., 2006; Pyron y Burbrink, 2009). Cabe señalar que Bryson et al. (2007) encontraron un patrón similar en *L. triangulum* donde a pesar de la gran diversidad dentro del grupo obtienen la formación de un clado del oeste de México. Mis resultados concuerdan con Rodríguez-Robles y De Jesús-Escobar (1999) quienes sugieren que los ancestros de *Lampropeltis* provienen del sur-este o de la Meseta Central y que han tenido dispersiones hacia el norte de México hasta Estados Unidos. Sin embargo para *C. nasus* no hay trabajos anteriores que indiquen cual es el origen y las posibles dispersiones que ha tenido esta especie de tierras altas por lo que estos resultados son un nuevo aporte para entender mejor la historia evolutiva de *C. nasus*. Así como Castoe et al. (2003) encuentran una alta diversidad dentro de *Atropoides nummifer* de diferentes zonas fisiográficas y Castoe et al. (2009) quienes consideraron evaluar poblaciones de *Cerrophidion* una especie de zonas altas por presentar un periodo de divergencia mayor a 5Ma. También en este trabajo se encontró que la divergencia de *Leptodeira sp.* del Volcán Ceboruco apunta a que este individuo pertenece a una especie diferente, sin embargo no se pudo identificar correctamente en campo o en laboratorio, este error fue identificado una vez que se hizo el “blast” en la base de datos del GenBank (Morgulis et al., 2008; Zheng

Zhang et al., 2000), el blast mostró que este individuo pertenece a *Leptodeira splendida* y revisando en la literatura se encontró que esta especie se encuentra en el estado de Nayarit (Woolrich-Piña et al., 2016). Igualmente *Conopsis* de Tancítaro y de Tapalpa presentan un periodo de divergencia mayor a lo que se ha considerado para poblaciones de una especie (6.37 y 9.39 Ma) como para pensar que estos individuos pertenece a la misma especie, sin embargo al no haber secuencias con que comparar en el GenBank no se puede verificar la especie. Por lo tanto, se propone una revisión más exhaustiva de *C. nasus* ya que es posible que la diversidad genética de esta especie se esté subestimando.

Adicionalmente al efecto que tuvieron los episodios volcánicos del Mioceno y Plioceno en la diversificación de las especies, el análisis sugiere que las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno pudieron haber influido en los taxa a nivel poblacional interrumpiendo el flujo genético entre poblaciones. De igual modo Castoe et al. (2009) encontró los mismos patrones para tres géneros de víboras que habitan en tierras altas, sin embargo este hecho no es un evento aislado, dentro del CVT se han reportado en otras especies de tierras altas (Bryson et al., 2011b; Castoe et al., 2003, 2009; Quezada-Hipolito et al., 2017 en preparación; Rodríguez-Banderas et al., 2009; Zaldivar-Riverón et al., 2005) así como en diferentes regiones montañosas dentro y fuera de México (anfibios, Bryson et al., 2010, 2014; insectos, Ruiz et al., 2010; mamíferos, León-Paniagua et al., 2007; Ordóñez-Garza et al., 2014; plantas, Gugger et al., 2011; tetrápodos, Antonelli et al., 2009). Mismos Bryson et al. (2011b) proponen la posibilidad de que los ciclos climáticos glaciales contribuyeron con la fragmentación de los bosques mexicanos de pino-encino y que esto pudo haber llevado a las divergencias de los taxa de tierras altas.

Para finalizar, solo cuatro de todas las serpientes analizadas en este trabajo son exclusivas de tierras altas por lo que el árbol generado para las serpientes provee poca información sobre los orígenes, dispersiones y tiempos de divergencia de los taxa debido principalmente a dos razones: 1) la mayoría de las especies que se encontraron en campo tienen una distribución de tierras bajas asociadas a vegetación de selva baja caducifolia y ambientes cálidos, 2) el número de individuos por especie dentro y alrededor de la zona es bajo y poco representativo, esto dificulta en gran medida encontrar algún patrón ya que al no tener

representada la distribución de cada especie no es posible asegurar cuales clados son los más antiguos y los más recientes.

## **XII. CONCLUSIONES GENERALES**

Los episodios geológicos que ocurrieron durante el Neogeno en el Cinturón Volcanico Transmexicano son los principales procesos que influenciaron las diversificaciones y dispersiones de anfibios y reptiles tanto de tierras altas como para algunas de tierras bajas. Adicionalmente, es posible que las fluctuaciones climáticas que ocurrieron durante el Pleistoceno propiciaran las divergencias de especies a nivel poblacional dentro del CVT, sin embargo solo es una posibilidad.

La mayoría de las especies analizadas (anfibios y serpientes) indican tener un origen del sur y las estimaciones de divergencia indican que han tenido dispersiones hacia el norte de México a travez del Cinturón Volcanico Transmexicano.

Para algunas poblaciones de diferentes especies las estimaciones de divergencia son mayores a lo que se ha considerado en trabajos anteriores para poblaciones de una especie (*Craugastor augusti*, *Craugastor occidentalis*, *Dryophytes eximius*, *Eleutherodactylus nitidus*, *Hypopachus variolosus*, *Incilius occidentalis*, *Isthmura belli*, *Lithobates neovolcanicus*, *Spea multiplicata*). Por esto se sugiere hacer una revisión mas detallada sobre estas especies en donde se incluyan la mayoría de sus poblaciones.

### XIII. ANEXOS

Tabla 1.- Especímenes voucher utilizados en los análisis de los reptiles.

Taxon	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank ND4
<i>Anolis nebulosus</i>	Cerro viejo, Jalisco	JQH 134	20°18'8.92"N, 103°19'36.86"W	
<i>Anolis nebulosus</i>	Bosque la primavera, Jalisco	JQH 162	20°18'8.92"N, 103°19'36.86"W	
<i>Anolis nebulosus</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 222	20°18'2.2"N, 103°19'29.68"W	
<i>Anolis nebulosus</i>	Volcán tepetitlic, Nayarit	JQH 395	20°18'1.5"N, 103°19'31.1"W	
<i>Anolis nebulosus</i>	Volcán ceboruco, Nayarit	JQH 446	20°23'37"N, 103°25'33.1"W	
<i>Aspidoscelis communis</i>	Sierra de San Juan Cosalá, Jalisco	JQH 13	20°23'47.2"N, 103°25'21"W	
<i>Aspidoscelis gularis</i>	Volcán ceboruco, Nayarit	JQH 473	20°21'47.1"N, 103°25'57.2"W	
<i>Barisia imbricata</i>	Volcán tequila, Jalisco	JQH 255	20°21'47.1"N, 103°25'57.1"W	
<i>Conopsis nasus</i>	Cerro viejo, Jalisco	JQH 56	20°23'59.1"N, 103°24'45.9"W	
<i>Crotalus basiliscus</i>	Volcán tequila, Jalisco	JQH 283	20°23'45"N, 103°25'22.3"W	
<i>Crotalus basiliscus</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 329	20°35'45.5"N, 103°32'33.3"W	
<i>Elgaria kingii</i>	Bosque la primavera, Jalisco	JQH 155	20°35'41.1"N, 103°32'48.4"W	
<i>Elgaria kingii</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 254	20°35'34.3"N, 103°31'43.9"W	
<i>Elgaria kingii</i>	Volcán tepetitlic, Nayarit	JQH 430	20°35'41.1"N, 103°32'48.4"W	
<i>Geophis dugesii</i>	Cerro alto, Nayarit	JQH 362	20°35'41.1"N, 103°32'48.4"W	
<i>Geophis dugesii</i>	Cerro alto, Nayarit	JQH 363	20°35'38.4"N, 103°42'49.3"W	
<i>Geophis petersii</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 216	20°35'43.5"N, 103°32'42.5"W	
<i>Geophis petersii</i>	Cerro alto, Nayarit	JQH 361	20°37'54.83"N, 104°1'42.29"W	
<i>Gerrhonotus sp</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 214	20°37'56.24"N, 104°1'45.95"W	
<i>Lampropeltis micropholis</i>	Bosque la primavera, Jalisco	JQH 171	20°37'48.01"N, 104°1'34.83"W	
<i>Lampropeltis micropholis</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 330	20°37'47.5"N, 104°1'44.1"W	
<i>Leptodeira sp</i>	Volcán ceboruco, Nayarit	JQH 505	20°37'54.32"N, 104°1'32.15"W	
<i>Plestiodon callicephalus</i>	Bosque la primavera, Jalisco	JQH 163	20°37'49.7"N, 104°1'44.2"W	
<i>Plestiodon callicephalus</i>	Volcán tepetitlic, Nayarit	JQH 401	20°37'51.15"N, 104°1'43.73"W	
<i>Plestiodon dugesii</i>	Cerro viejo, Jalisco	JQH 58	20°37'40.95"N, 104°1'29.97"W	
<i>Plestiodon dugesii</i>	Bosque la primavera, Jalisco	JQH 159	20°37'43.6"N, 104°1'32.8"W	
<i>Plestiodon dugesii</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 174	20°37'54.41"N, 104°1'38.7"W	
<i>Plestiodon dugesii</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 193	20°47'11.7"N, 103°50'58.1"W	
<i>Plestiodon dugesii</i>	Volcán tequila, Jalisco	JQH 286	20°47'21.11"N, 103°50'52.22"W	
<i>Plestiodon dugesii</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 295	20°47'13.6"N, 103°50'48.4"W	
<i>Plestiodon dugesii</i>	Volcán tepetitlic, Nayarit	JQH 429	20°47'43.95"N, 103°50'47.39"W	
<i>Plestiodon sp</i>	Volcán tequila, Jalisco	JQH 263	20°47'12.26"N, 103°50'50.75"W	
<i>Plestiodon sp</i>	Cerro alto, Nayarit	JQH 370	20°48'32.6"N, 103°50'47.8"W	
<i>Salvadora bairdi</i>	Sierra de San Juan Cosalá, Jalisco	JQH 2	20°47'39"N, 103°50'46.8"W	
<i>Sceloporus albiventris</i>	Bosque la primavera, Jalisco	JQH 156	21°27'22.67"N, 104°44'21.78"W	
<i>Sceloporus asper</i>	Sangangüey, Nayarit	JQH 327	21°27'43.5"N, 104°44'43.4"W	
<i>Sceloporus dugesii</i>	Cerro viejo, Jalisco	JQH 29	21°27'21.9"N, 104°44'24.2"W	
<i>Sceloporus heterolepis</i>	Cerro viejo, Jalisco	JQH 127	21°27'53.46"N, 104°45'8.35"W	
<i>Sceloporus heterolepis</i>	Bosque la primavera, Jalisco	JQH 160	21°27'0.8"N, 104°57'59.5"W	
<i>Sceloporus heterolepis</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 228	21°27'0.8"N, 104°57'59.5"W	
<i>Sceloporus heterolepis</i>	Volcán tequila, Jalisco	JQH 265	21°27'0.8"N, 104°57'59.5"W	
<i>Sceloporus horridus</i>	Sierra de San Juan Cosalá, Jalisco	JQH 1	21°27'0"N, 104°58'4.3"W	
<i>Sceloporus horridus</i>	Sierra de San Juan Cosalá, Jalisco	JQH 4	21°15'16.5"N, 104°42'54.53"W	
<i>Sceloporus horridus</i>	Volcán ceboruco, Nayarit	JQH 463	21°15'16"N, 104°42'53.08"W	
<i>Sceloporus torquatus</i>	Cerro viejo, Jalisco	JQH 65	21°15'11"N, 104°42'45.1"W	
<i>Sceloporus utiformis</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 175	21°15'10.67"N, 104°42'55.4"W	
<i>Sceloporus utiformis</i>	Volcán tepetitlic, Nayarit	JQH 389	21°15'11.03"N, 104°42'53.43"W	
<i>Storeria storerioides</i>	Volcán tequila, Jalisco	JQH 264	21°8'1.2"N, 104°30'9.3"W	
<i>Tantilla bocourti</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 213	21°6'52.94"N, 104°30'12.41"W	
<i>Trimorphodon tau</i>	Volcán tequila, Jalisco	JQH 280	21°7'5.3"N, 104°30'3.3"W	

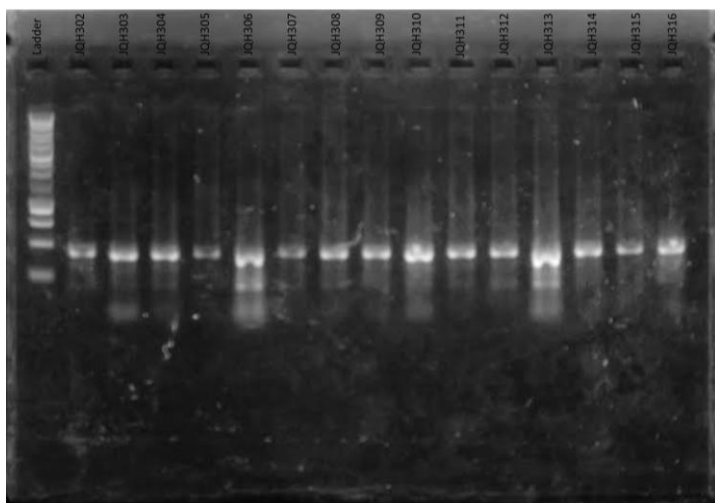
Tabla 1. (Continuación)

Taxon	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank ND4
<i>Urosaurus bicarinatus</i>	Cerro cuautepetl, Jalisco	JQH 231	21°7'5.3"N, 104°30'3.3"W	
<i>Aspidoscelis</i>	Comalá, Colima	JAC 30458	19°19'15.42"N, 103°45'30.996"W	
<i>Aspidoscelis gularis</i>	Huejúcar, JAL	JAC 23303	19°17'56.8104"N, 104°42'56.52"W	
<i>Barisia imbricata</i>	Carretera Uruapan-Perilan, Mich	JAC 24686	19°18'44.388"N, 104°40'14.772"W	
<i>Conopsis</i>	2 km SE Tancitaro, Michoacán	JAC 26972	18°52'57.864"N, 103°58'40.8"W	
<i>Conopsis</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 30693	19°19'23.16"N, 102°20'56.796"W	
<i>Conopsis nasus</i>	Jalisco	JAC 23380	20°39'54"N, 103°42'38.376"W	
<i>Crotalus basiliscus</i>	7.7 km NE Minatitlan, Colima	JAC 30069	19°13'13.8"N, 104°12'21.888"W	
<i>Elgaria</i>	Agua fría, Colima	JAC 28056	19°23'59.496"N, 103°57'43.164"W	
<i>Elgaria kingii</i>	Sierra de Álica, Nayarit	JAC 23476	19°19'38.64"N, 102°20'43.008"W	
<i>Elgaria kingii</i>	Huajimic, Nayarit	JAC 23445	19°19'6.024"N, 103°49'40.44"W	
<i>Geophis</i>	2 km SE Tancitaro, Michoacán	JAC 26976	20°22'37.236"N, 104°58'54.696"W	
<i>Gerrhonotus</i>	Minatitlan, Colima	JAC 30071	19°38'53.304"N, 103°39'30.672"W	
<i>Lampropeltis micropholis</i>	Ranchitos, Colima	JAC 30103	19°24'20.88"N, 103°47'16.368"W	
<i>Lampropeltis micropholis</i>	8.3 km SW Pericos, Sinaloa	ENS 11608	19°19'38.64"N, 102°20'43.008"W	
<i>Leptodeira maculata</i>	Nuevo vallarta, Nayarit	JAC 23612	20°22'10.308"N, 104°59'27.312"W	
<i>Leptodeira maculata</i>	Jilotlán de los Dolores, Jalisco	JAC 24123	19°25'33.816"N, 103°59'10.752"W	
<i>Leptodeira maculata</i>	Entre Tepalcatepec y Coalcoman, Mich.	JAC 24759	23°49'20.2"N, 106°32'15.93"W	
<i>Plestiodon</i>	Carretera Uruapan-Perilan, Mich	JAC 24685	25°1'56.5"N, 107°45'40.64"W	
<i>Plestiodon brevirostris</i>	Tumbiscatio, Mich	JAC 25348	21°52'31.404"N, 103°49'14.448"W	
<i>Plestiodon brevirostris</i>	Playitas-La Torre, Mich	JAC 25384	21°53'7.8"N	
<i>Plestiodon brevirostris</i>	La Estancia, Jalisco	JAC 23695	21°47'30.84"N, 104°17'21.48"W	
<i>Salvadora</i>	3 km E Camotlan de Miraflores, Colima	JAC 28126	21°37'17.616"N, 104°16'30.936"W	
<i>Sceloporus</i>	7.3 km NE Coyotitlán, Sinaloa	ENS 11615	20°41'57.732"N, 105°15'25.2"W	
<i>Sceloporus asper</i>	20 km NW de Mascota, Jalisco	JAC 23686	20°40'19.2"N, 104°53'46.68"W	
<i>Sceloporus asper</i>	Carretera Uruapan-Nueva Italia, Mich	JAC 24920	19°41'54.636"N, 104°23'24.432"W	
<i>Sceloporus dugesii</i>	6.5 km NW de Bolaños, Jalisco	JAC 23368	19°12'57.672"N, 102°51'52.956"W	
<i>Sceloporus heterolepis</i>	Playitas-La Torre, Mich	JAC 25372	19°26'36.636"N, 102°25'40.8"W	
<i>Sceloporus horridus</i>	Agua fría, Colima	JAC 28277	19°21'13.788"N, 102°0'0"W	
<i>Sceloporus horridus</i>	Carretera Uruapan-Nueva Italia, Mich.	JAC 24921	19°23'14.28"N, 102°58'28.092"W	
<i>Sceloporus horridus</i>	Tumbiscatio, Mich.	JAC 25365	18°59'10.392"N, 103°47'15.36"W	
<i>Sceloporus melanorrhinus</i>	Entre Tepalcatepec y Coalcoman, Mich.	JAC 24744	19°40'42.6"N, 102°55'14.376"W	
<i>Sceloporus torquatus</i>	Uruapan-Perilan, via Tancitaro, Mich.	JAC 24688	19°21'13.788"N, 102°0'0"W	
<i>Sceloporus utiformis</i>	6km SW Armeria, Colima	JAC 28081	19°21'13.788"N, 102°0'0"W	
<i>Sceloporus utiformis</i>	Sierra pajaritos, Nayarit	JAC 23443	18°27'26.676"N, 102°30'50.4"W	
<i>Sceloporus utiformis</i>	Sierra de Manantlan, Jalisco	JAC 23934	18°28'32.88"N, 102°30'48.708"W	
<i>Sceloporus utiformis</i>	Rd. W of Jilotlan, Jalisco	JAC 24889	18°24'0"N, 102°33'52.812"W	
<i>Storeria storerioides</i>	2 km SE Tancitaro, Michoacán	JAC 26965	18°24'26.532"N, 102°33'52.812"W	
<i>Storeria storerioides</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 28625	22°21'31.32"N, 103°16'54.84"W	
<i>Tantilla</i>	Tapalpa, Jalisco	JAC 30687	21°42'45.36"N, 104°26'28.608"W	
<i>Tantilla calamarina</i>	6.7 km W Comala, Colima	JAC 30145	21°37'17.616"N, 104°16'30.936"W	
<i>Tantilla ceboruca</i>	Tetilla, Jalisco	JAC 30311	19°26'52.332"N, 102°24'57.312"W	
<i>Trimorphodon tau</i>	7 km NW Ixtlahuacan, Jalisco	JAC 28591	19°26'36.636"N, 102°25'40.8"W	
<i>Trimorphodon tau</i>	Entre Tepalcatepec y Coalcoman, Mich.	JAC 24859	20°41'56.472"N, 104°52'12"W	
<i>Urosaurus bicarinatus</i>	7 km SE Camotlán, Jalisco	JAC 23438	19°23'6"N, 103°49'44.4"W	
<i>Urosaurus bicarinatus</i>	Carretera Uruapan-Nueva Italia, Mich.	JAC 24693	18°58'14.016"N, 103°54'38.16"W	
<i>Urosaurus bicarinatus</i>	Entre Tepalcatepec y Coalcoman, Mich.	JAC 24754	19°24'50.18"N, 104°4'1.48"W	
<i>Abronia graminea</i>	Tapalpa, Jalisco	LVT 10842		JN885255
<i>Ameiva ameiva</i>		166640		AF151206
<i>Aspidoscelis tigris</i>		TCWC71822		AF026173
<i>Ctenosaura similis</i>		USNM FN_21309		EU407525
<i>Elgaria multicarinata</i>	Fatima, Sonora	GP 444		DQ364661
<i>Gerrhonotus infernalis</i>	Moroleon, Guanajuato			JN547358
<i>Gerrhonotus liocephalus</i>				JN547359
<i>Lepidophyma tuxtlae</i>	Tierra Colorada, Guerrero	LACM 136354		KC621580

Tabla 1. (Continuación)

Taxon	Localidad	Voucher	Coordenadas	Número de acceso GenBank ND4
<i>Ophisaurus attenuatus</i>		LSUMZ H-15928		EU747729
<i>Sceloporus clarkii</i>	South Llano, Texas	CAS 229955		EU085836
<i>Sceloporus clarkii</i>	Cumbre de los arrastrados, Jalisco	MZFC 5757		AF210344
<i>Sceloporus dugesii</i>	Paraguay	UTA R-23955		GQ464754
<i>Sceloporus dugesii</i>		IBH 18002		DQ525878
<i>Sceloporus heterolepis</i>	Yoro, Honduras	IBH 18138		DQ525869
<i>Sceloporus horridus</i>	Puerto del Aire, Veracruz	MZFC 7458		GQ464762
<i>Sceloporus torquatus</i>		UTA R-24016		EU085843
<i>Urosaurus bicarinatus</i>	Baja California Norte, México	MZFC 5700		AF210338
<i>Agkistrodon contortrix</i>	Athens Ohio, USA	Moody338	39°19'10.45"N, 82° 5'16.32"W	AF156576
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	Le Flore, Oklahoma USA	HWG 2571	34°53'53.54"N, 94°58'54.90"W	AF156579
<i>Bitis gabonica</i>	Sta Lucia, KwaZulu Natal, South Africa	WW 1330	28°23'11.34"S, 32°25'6.86"W	EU624217
<i>Crotalus basiliscus</i>	San Blas, Nayarit	822	21°32'27.10"N, 105°16'28.19"W	AY704894
<i>Crotalus basiliscus</i>	Guadalajara, Jalisco			AY704895
<i>Crotalus scutulatus</i>	Hidalgo County, New Mexico	4835	31°55'21.13"N, 108°43'2.02"W	KX256581
<i>Crotalus tancitarensis</i>	Tancitaro, Michoacán	ROM 42631	19°24'43.38"N, 102°19'21.99"W	JN022851
<i>Crotalus triseriatus</i>	México, México	ROM 18120		HQ257879
<i>Imantodes gemmistratus</i>	Sinaloa, México, cerca de Cosalá	UTA R-51979	24°26'0.60"N, 106°41'44.19"W	EF078557
<i>Imantodes gemmistratus</i>	Sonora, México, cerca de Alamos	LSUMZ 39541	27° 0'30.35"N, 108°57'6.43"W	EF078558
<i>Lampropeltis calligaster</i>	Florida, USA	No Voucher		DQ902311
<i>Lampropeltis ruthveni</i>	Querétaro, México cerca de Amealco	GTS R-12	20°10'12.94"N, 100° 9'13.57"W	AY739642
<i>Pseudoficimia frontalis</i>		JAC30117		KU859722
<i>Regina rigida</i>	Louisiana, USA	H20703		KF258642
<i>Sonora mutabilis</i>	Huaxtla, Jalisco, México	UTA JRV128	20°43'42.42"N 103°39'24.12"W	JQ265977
<i>Sonora mutabilis</i>	Huaxtla, Jalisco, México	UTA_JRV129	20°43'42.42"N 103°39'24.12"W	JQ265978

Tabla 2.- Electroforesis de 15 muestras de anfibios y reptiles. En la esquina superior izquierda se encuentra el ladder, las etiquetas de cada celda corresponden a un número de voucher.



#### XIV. LITERATURA CITADA

Alvarado-Díaz, J., Suazo-Ortuño, I., Wilson, D. L. y Medina-Aguilar, O. (2013). Patterns of physiographic distribution and conservation status of the herpetofauna of Michoacán, Mexico. *Amphibian and Reptile Conservation*, 7, 128–170.

Anónimo. Sin año. Bosque la primavera. Recuperado el 04 julio, 2015 de [www.bosquelaprimavera.com](http://www.bosquelaprimavera.com).

Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A. J., Bates, J. M., Velazco, P. M. y Wüster, W. (2009). Molecular Studies and Phylogeography of Amazonian Tetrapods and their Relation to Geological and Climatic Models. En C. Hoorn y F. P. Wesselingh (Eds.), *Amazonia: Landscape and Species Evolution: A look into the past* (386–404). Wiley-Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.

Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, L. E., Reeb, C. A. y Saunders, N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review in Ecology and Systematics*, 18, 489–522.

Bell, K. E. y Donnelly, M. A. (2006). Influence of Forest Fragmentation on Community Structure of Frogs and Lizards in Northeastern Costa Rica. *Conservation Biology*, 20, 1750–1760.

Burnbrink, F. T., Yao, H., Ingrassi, M., Bryson Jr, R. W., Guiher, T. J. y Ruane, S. (2011). Speciation at the Mogollon Rim in the Arizona Mountain Kingsnake (*Lampropeltis pyromelana*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60, 445–454.

Brandley, M. C., Wang Y, Guo, X, Montes de Oca, N. A, Ortíz, F. M., Hikida, T., Ota, H. (2011). Accommodating heterogenous rates of evolution in molecular divergence dating methods: an example using intercontinental dispersal of *Plestiodon* (*Eumeces*) lizards. *Systematic Biology*, 60, 3–15.

Brandley, C. M., Ota, H., Hikida, T., Montes de Oca, N. A., Fería-Ortíz, M., Guo, X. y Wang, Y. (2012). The phylogenetic systematics of blue-tailed skinks (*Plestiodon*) and the family Scincidae. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 165, 163–189.

Bryson Jr., R. W., Pastorini, J., Burbrink, F. T. y Forstner, M. R. J. (2007). A phylogeny of the *Lampropeltis mexicana* complex (Serpentes: Colubridae) based on mitochondrial DNA sequences suggests evidence for species-level polyphyly within *Lampropeltis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 674–684.

Bryson Jr., R. W., Nieto-Montes de Oca, A., Jaeger, J. R. y Riddle, B. R. (2010). Elucidation of cryptic diversity in a widespread nearctic treefrog reveals episodes of mitochondrial gene capture as frogs diversified across a dynamic landscape. *Evolution*, 64, 2315–2330.



- Bryson Jr., R. W. (2011<sup>a</sup>). *Historical diversification of montane herpetofauna within and between the sierras of Mexico*. Tesis doctoral. University of Nevada, Las Vegas.
- Bryson Jr., R. W., Murphy, R. W., Lathrop, A. y Lazcano-Villareal, D. (2011b). Evolutionary drivers of phylogeographical diversity in the highlands of Mexico: a case study of the *Crotalus triseriatus* species group of montane rattlesnakes. *Journal of Biogeography*, 38, 697–710.
- Bryson Jr., R. W., García-Vázquez, U. O. y Riddle, B. R. (2011c). Phylogeography of Middle American gophersnakes: Mixed responses to biogeographical barriers across the Mexican Transition Zone. *Journal of Biogeography*, 38, 1570–1584.
- Bryson Jr., R. W., Smith, B. T., Nieto-Montes de Oca, A., García-Vázquez, U. O. y Riddle, B. R. (2014). The role of mitochondrial introgression in illuminating the evolutionary history of Nearctic treefrogs. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 172, 103–116.
- Canseco-Márquez, L., Smith, E. N., Ponce-Campos, P., Flores-Villela, O. y Campbell, J. A. (2007). A new species of *Tantilla* (Squamata: Colubridae) of the *calamarina* Group from Volcán Ceboruco, Nayarit, Mexico. *Journal of Herpetology*, 41, 220–224.
- Casas, A. G. y McCoy, J. C. (1979). *Anfibios y reptiles de México, Claves ilustradas para su identificación*. Limusa, México, D.F.
- Castoe, T. A., Chippindale, P. T., Campbell, J. A., Ammerman, L. K. y Parkinson, C. L. (2003). Molecular systematics of the Middle American Jumping Pitvipers (Genus *Atropoides*) and phylogeography of the *Atropoides nummifer* complex. *Herpetologica*, 59, 420–431.
- Castoe, T. A., Smith, E. N., Brown, R. M. y Parkinson, C. L. (2007). Higher-level phylogeny of Asian and American coralsnakes, their placement within the Elapidae (Squamata), and the systematic affinities of the enigmatic Asian coralsnake *Hemibungarus calligaster* (Wiegmann, 1834). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 151, 809–831.
- Castoe, T. A., Daza, J. M., Smith, E. N., Sasa, M. M., Kuch, U., Campbell, J. A., Chippindale, P. T. y Parkinson, C. L. (2009). Comparative phylogeography of pitvipers suggests a consensus of ancient Middle American highland biogeography. *Journal of Biogeography*, 36, 88–103.
- Conroy, J. C., Bryson Jr., R. W., Lazcano, D. y Knight, A. (2005). Phylogenetic Placement of the Pygmy Alligator Lizard Based on Mitochondrial DNA. *Journal of Herpetology*, 39, 142–147.
- Crawford, A. J. y Smith, E. N. (2005). Cenozoic biogeography and evolution in direct-developing frogs of Central America (Leptodactylidae: *Eleutherodactylus*) as inferred from a phylogenetic analysis of nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35, 536–555.

- Crawford, A. J., Bermingham, E. y Polanía, C. S. (2007). The role of tropical dry forest as a long-term barrier to dispersal: a comparative phylogeographical analysis of dry forest tolerant and intolerant frogs. *Molecular Ecology*, 16, 4789–4807.
- Croizat, L. 1958. *Panbiogeography*. Publicada por el autor. Caracas.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. y Posada, D. (2012). "jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing". *Nature Methods*, 9, 772.
- Daza, M. J. (2010). Biogeography and Diversification in the Neotropics: Testing Macroevolutionary Hypotheses Using Molecular Phylogenetic Data. Tesis doctoral. University of Central Florida, Orlando, Florida.
- Demant, A. (1978). Características del Eje Neovolcánico Transmexicano y sus problemas de interpretación. *Instituto de geología*, 2, 172–187.
- Demastes, J. W., Spradling, T. A., Hafner, M. S., Hafner, D. J. y Reed, D. L. (2002). Systematics and Phylogeography of Pocket Gophers in the Genera *Cratogeomys* and *Pappogeomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22, 144–154.
- Devitt, J. T. (2006). Phylogeography of the Western Lyresnake (*Trimorphodon biscutatus*): testing aridland biogeographical hypotheses across the Nearctic–Neotropical transition. *Molecular Ecology*, 15, 4387–4407.
- Dirienzo, A. y Wilson, C. (1991). Branching pattern in the evolutionary tree for human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88, 1597–1601.
- Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. (2009). Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32, 59–70.
- Drummond, A. J., Ho, S. Y., Phillips, M. J. y Rambaut, A. (2006). Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biology*, 4, e88.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A. Xie, D. y Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology And Evolution*, 29, 1969–1973.
- Escalante, P. P., y Bousquets, J. L. (1985). Riqueza y endemismo de aves y mariposas como criterio para determinar áreas de conservación. Datos del estado de Nayarit, México. Primer Simposio Internacional de fauna silvestre. The Wildlife Society of Mexico, Mexico, D.F.
- Faivovich, J., Haddad, C. F. B., Garcia, P. C. A., Frost, D. R., Campbell, J. A. y Wheeler, W. C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 294, 240 pp.

- Ferrari, L., López-Martínez, M., Aguirre-Díaz, G. y Carrasco-Núñez, G. (1999). Space-time patterns of Cenozoic arc volcanism in central Mexico: from the Sierra Madre Occidental to the Mexican volcanic belt. *Geology*, 27, 303–306.
- Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V. y Manea, M. (2012). The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522, 122–149.
- Figuroa, A., McKelvy, A. D., Grismer, L. L., Bell, C. D. y Lailvaux, S. P. (2016). A Species-Level Phylogeny of Extant Snakes with Description of a New Colubrid Subfamily and Genus. *PLOS ONE*, 11, e0161070.
- Flores-Villela, O. (1991). *Análisis de la distribución de la herpetofauna de México*. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Flores-Villela, O., Mendoza, Q. F. y Gonzalez, G. (1995). Recopilación de claves para la determinación de anfibios y reptiles de México. Publicación especial 10. Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 285 pp.
- Flores-Villela, O. (1998). Herpetofauna de México: distribución y endemismo. En: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (comps.), *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución* (pp. 251-278). Instituto de Biología, UNAM, México.
- Flores-Villela, O. y Martínez-Salazar, E. (2009). Origin of the herpetofauna of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80, 817–833.
- Flores-Villela, O. y García-Vazquez, U. (2014). Biodiversidad de reptiles en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 467–475.
- García de Jesús, S., Moreno, E. C., Morón, M. Á., Castellanos, I. y Pavón, P. N. (2016). Integrando la estructura taxonómica en el análisis de la diversidad alfa y beta de los escarabajos Melolonthidae en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 1033–1044.
- García, D. R., Cuevas, S. J. A., Ledesma, S. S. y Peña, B. F. (2015). Análisis panbiogeográfico de *Diospyros* spp. (Ebenaceae) en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6, 187–200.
- Gómez-Tuena, A., Orozco-Esquivel, M. T. y Ferrari, L. (2007). Igneous petrogenesis of the Trans-Mexican Volcanic Belt. En S. A. Alaniz-Álvarez y Á. F. Nieto-Samaniego (Eds.), *Geology of México: Celebrating the Centenary of the Geological Society of México*. (pp. 129–181). The Geological Society of America Special Paper.
- González-Hernández, A. J., Hernández-Ordóñez, O., Cervantes-López, M. y Reynoso, V. H. (2014). Primer registro de la cecilia de montaña *Gymnopsis syntrema* (Amphibia: Gymnophiona: Dermophiidae) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 645–649.

Grismer, L. L. (2002). *Amphibians and Reptiles of Baja California in Pacific Island and the Islands in the Sea of Cortes*. University of California. USA.

Gugger, P. F., González-Rodríguez, A., Rodríguez-Correa, H., Sugita, S. y Cavender-Bares, J. (2011). Southward Pleistocene migration of Douglas-fir into Mexico: phylogeography, ecological niche modeling, and conservation of 'rear edge' populations. *New Phytologist*, 189, 1185–1199.

Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian Forest Birds. *Science*, 165, 131–137.

Hedges, S. B. y Vidal, N. (2009). Lizards, snakes and amphisbaenians (Squamata). The Timetree of Life. En S. H. Hedges y S. Kumar (Eds.), (pp. 383-389). Oxford University Press.

Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58, 247–276.

Hillers, A., Veith, M. y Rödel, M. (2008). Effects of Forest Fragmentation and Habitat Degradation on West African Leaf-Litter Frogs. *Conservation Biology*, 22, 762–772.

Holman, J. A., (1977). Upper Miocene snakes (Reptilia, Serpentes) from Southeastern Nebraska. *Journal of Herpetology*, 11, 323–335.

Hsiang, Y. A., Field, D. J., Webster, T. H., Behlke, A. DB, Davis, M. B., Racicot, R. A. y Gauthier, J. A. (2015). The origin of snakes: revealing the ecology, behavior, and evolutionary history of early snakes using genomics, phenomics, and the fossil record. *BMC Evolutionary Biology*, 15, 25989795.

Höglund, J., Wengström, A., Rogell, B. y Meyer-Lucht, Y. (2015). Low MHC variation in isolated island populations of the Natterjack toad (*Bufo calamita*). *Conservation Genetics*, 16, 1007–1010.

INEGI. (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Ameca, Jalisco.

Jaeger, R. J., Riddle, B. R. y Bradford, D. F. (2005). Cryptic Neogene vicariance and Quaternary dispersal of the red-spotted toad (*Bufo punctatus*): insights on the evolution of North American warm desert biotas. *Molecular Ecology*, 14, 3033–3048.

Jones, M. E., Anderson, C. L., Hipsley, C. A., Müller, J., Evans, S. E. y Schoch, R. R. (2013). Integration of molecules and new fossils supports a Triassic origin for Lepidosauria (lizards, snakes, and tuatara). *BMC Evolutionary Biology*, 13, 208.

Korth, W. W. (1998). *Annals of Carnegie Museum*, 67, 299–348.

Kumar, S., Stecher, G. y Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versión 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870–1874.

- Lanteri, A. y Confalonieri, V. (2003). Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. En J. J. Morrone y J. Llorente (Eds.), *Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía* (pp. 185–194). CONABIO, México.
- León-Paniagua, L., Navarro-Sigüenza, A. G., Hernández-Baños, B. E. y Morales, J. C. (2007). Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in the Mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42, 653–664.
- Lips, K. R., Reaser, J. K., Young, B. E. y Ibañez, R. (2001). Amphibian monitoring in Latin America: a protocol manual/Monitoreo de anfibios en America Latina: Manual de protocolos. SSAR herpetological Circular no. 30.
- Luna-Vega, I. (2008). Aplicaciones de la biogeografía histórica a la distribución de las plantas mexicanas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 79, 217–241.
- Macey, R. J., Shulte, J. A., Larson, A., Fang, Z., Wang, Y., Tuniyev, B. S. y Papenfuss, T. J. (1998). Phylogenetic Relationships of Toads in the *Bufo bufo* Species Group from the Eastern Escarpment of the Tibetan Plateau: A Case of Vicariance and Dispersal. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9, 80–87.
- Mateos, M., Sanjur, O. I. y Vrijenhoek, R. C. (2002). Historical biogeography of the fish genus *Poeciliopsis* (Cyprinodontiformes). *Evolution*, 56, 972–984.
- Mateos, M. (2005). Comparative phylogeography of livebearing fishes in the genera *Poeciliopsis* and *Poecilia* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes) in central Mexico. *Journal of Biogeography*, 32, 775–780.
- Mittermeier, R. A. (1988). Primate diversity and the tropical forest: case studies from Brazil and Madagascar and the importance of the megadiversity countries. En E. O. Wilson (Ed.), *Biodiversity* (pp. 145-154). National Academy Press, Washington D. C.
- Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, L. T., Agarwala, R. y Schäffer, A. A. (2008). "Database Indexing for Production MegaBLAST Searches", *Bioinformatics*, 24, 1757-1764.
- Mulcahy, G. D. y Mendelson, J. R. (2000). Phylogeography and Speciation of the Morphologically Variable, Widespread Species *Bufo valliceps*, Based on Molecular Evidence from mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17, 173–189.
- Mulcahy, G. D., Morrill, B. H. y Mendelson, J. R. (2006). Historical biogeography of lowland species of toads (*Bufo*) across the Trans-Mexican Neovolcanic Belt and the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of biogeography*, 33, 1889–1904.
- Murphy, W. R. (1983). Paleobiogeography and Genetic Differentiation of the Baja California Herpetofauna. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences*, 137, 1–48.

- Ordóñez-Garza, N., Thompson, C. W., Unkefer, M. K., Edwards, C. W., Owen, J. G. y Bradley, R. D. (2014). Systematics of the *Neotoma mexicana* species group (Mammalia: Rodentia: Cricetidae) in Mesoamerica: new molecular evidence on the status and relationships of *N. ferruginea* Tomes, 1862. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 127, 518–532.
- Parra-Olea, G., Flores-Villela, O. y Mendoza-Almeralla, C. (2014). Biodiversidad de anfibios en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 460–466.
- Pauly, B. G., Hillins, D. M. y Cannatella, D. C. (2004). The history of a nearctic colonization: molecular phylogenetics and biogeography of the nearctic toads (*Bufo*). *Evolution*, 58, 2517–2535.
- Peterman, W. E., Feist, S. M., Semlitsch, R. D. y Eggert, L. S. (2013). Conservation and management of peripheral populations: Spatial and temporal influences on the genetic structure of wood frog (*Rana sylvatica*) populations. *Biological Conservation*, 158, 351–358.
- Pounds, J. A., Fogden, M. P. L. y Campbell, J. H. (1999). Biological response to climate change on a tropical mountain. *Nature*, 398, 611–6115.
- Pyron, A. R. y Burbrink, F. T. (2009). Lineage diversification in a widespread species: roles for niche divergence and conservatism in the common kingsnake, *Lampropeltis getula*. *Molecular Ecology*, 18, 3443–3457.
- Pyron, R. A., Burbrink, F. T. y Wiens, J. J. (2013). A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 93.
- Ramírez-Bautista, A. (1994). *Manual y claves ilustradas de los anfibios y reptiles de la región de Chamela, Jalisco, México*. Cuaderno del Instituto de Biología 23. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Reyna, O. F., Ahumada, I. T. y Vázquez, O. H. (2007). *Anfibios y reptiles del bosque La Primavera*. Universidad de Guadalajara, Gobierno de Jalisco.
- Riddle, B. R. y Hafner, D. J. (2006). A step-wise approach to integrating phylogeographic and phylogenetic biogeographic perspectives on the history of a core North American warm deserts biota. *Journal of Arid Environments*, 66, 435–461.
- Rodríguez-Banderas, A., Vargas-Mendoza, C. F., Buonamici, A. y Vendramin, G. G. (2009). Genetic diversity and phylogeographic analysis of *Pinus leiophylla*: a post-glacial range expansion. *Journal of Biogeography*, 36, 1807–1820.
- Rodríguez-Robles, A. J. y De Jesús-Escobar, J. M. (1999). Molecular systematics of New World lampropeltine snakes (Colubridae): implications for biogeography and evolution of food habits. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68, 355–385.

- Rohland, N. y Reich, D. (2012). Cost-effective, high-throughput DNA sequencing libraries for multiplexed target capture. *Genome Research*, 22, 939–946.
- Ruiz, E. A., Rinehart, J. E., Hayes, J. L. y Zuñiga, G. (2010). Historical demography and phylogeography of a specialist bark beetle, *Dendroctonus pseudotsugae* Hopkins (Curculionidae: Scolytinae). *Environmental Entomology*, 39, 1685–1697.
- Savage, J. M. (1982). The Enigma of the Central American Herpetofauna: Dispersals or Vicariance?. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 69, 464–547.
- Sequencher® version 5.4.5 sequence analysis software, Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI USA <http://www.genecodes.com>.
- Shepard, D. B. y Burbrink, F. T. (2008). Lineage diversification and historical demography of a sky island salamander, *Plethodon ouachitae*, from the Interior Highlands. *Molecular Ecology*, 17, 5315–5335.
- Shepard, D. B. y Burbrink, F. T. (2009). Phylogeographic and demographic effects of Pleistocene climatic fluctuations in a montane salamander, *Plethodon ouachitae*. *Molecular Ecology*, 18, 2243–2262.
- Spear, S. F., Peterson, C. R., Matocq, M. D. y Storfer, A. (2005). Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Molecular Ecology*, 14, 2553–2564.
- Toledo, V. M. (1982). Pleistocene changes of vegetation in tropical México. En G. T. Prance (Ed.), *Biological Diversification in the Tropics* (93–111). Columbia University Press, New York.
- Torres-Miranda, A. y Vega, I. L. (2006). Análisis de trazos para establecer áreas de conservación en la faja volcánica transmexicana. *Interciencia*, 31, 849–855.
- Townsend, T. M., Mulcahy, D. G., Noonan, B. P., Sites Jr., J. W., Kuczynski, C. A., Wiens, J. J. y Reeder, T. W. (2011). Phylogeny of iguanian lizards inferred from 29 nuclear loci, and a comparison of concatenated and species-tree approaches for an ancient, rapid radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 363–380.
- Vega-López, A. A. y Alvarez, T. S. (1992). La herpetofauna de los volcanes Popocatepetl e Iztaccihuatl. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 51, 1–28.
- Vidal, N., Rage, J. C., Couloux, A. y Hedges, S. B. (2009). Snakes (Serpentes). En S. B. Hedges y S. Kumar (Eds.), *The Timetree of Life* (pp. 390–397). Oxford University Press.
- Wang, I. J., Savage, W. K. y Shaffer, H. B. (2009). Landscape genetics and least-cost path analysis reveal unexpected dispersal routes in the California tiger salamander (*Ambystoma californiense*). *Molecular Ecology*, 18, 1365–1374.

- Webb, S. D., MacFadden, B. J., y Baskin, J. A. (1981). Geology and paleontology of the Love Bone Bed from the Late Miocene of Florida. *American Journal of Science*, 281, 513–544.
- Wiens, J. J., Kuczynski, C. A., Arif, S. y Reeder, T. W. (2010). Phylogenetic relationships of phrynosomatid lizards based on nuclear and mitochondrial data, and a revised phylogeny for *Sceloporus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54, 150–161.
- With, K. A., Gardner, R. H. y Turner, M. G. (1997). Landscape connectivity and Population distributions in heterogeneous environments. *Oikos*, 78, 151–169.
- Woolrich-Piña, G. A., Ponce-Campos, P., Loc-Barragán, J., Ramírez-Silva, J. P., Mata-Silva, V., Johnson, J. D., García-Padilla, E. y Wilson, L. D. (2016). The herpetofauna of Nayarit, Mexico: composition, distribution, and conservation status. *Mesoamerican Herpetology*, 3, 375–448.
- Zaldivar-Riverón, A., León-Regagnon, V. y Nieto-Montes de Oca, A. (2004). Phylogeny of the Mexican coastal leopard frogs of the *Rana berlandieri* group based on mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30, 38–49.
- Zaldivar-Riverón, A., Nieto-Montes de Oca, A. y Laclette, J. P. (2005). Phylogeny and evolution of dorsal pattern in the Mexican endemic lizard genus *Barisia* (Anguidae: Gerrhonotinae). *Blackwell Verlag, Berlin*, 43, 243–257.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. y Miller, W. (2000). "A greedy algorithm for aligning DNA sequences". *Journal of Computational Biology*, 7, 203–214.