



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE DOCTORADO EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS, OPCIÓN: RECURSOS BIÓTICOS**

Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales

**Elementos del paisaje que influyen en la conectividad funcional de la
ranita verduzca *Agalychnis dacnicolor* en el bosque tropical caducifolio
de México**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

M.C. SARA COVARRUBIAS JIMÉNEZ



DIRECTORA DE TESIS: Dra. Clementina González Zaragoza

CO-DIRECTORA DE TESIS: Dra. Carla Gutiérrez Rodríguez

Morelia, Michoacán, marzo 2022

Con todo el amor y respeto, ésta tesis es para ti papá.

Gracias infinitas por tu apoyo.

A mis hermanos: Rosalía, Javier y Paul.

Gracias por sus consejos, sin su ayuda no lo hubiera logrado.

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) por otorgarme una beca de manutención para mis estudios de posgrado. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento del proyecto PDCPN 2015-1250 otorgado a la Dra. Clementina González Zaragozay del cual fue posible realizar la presente tesis.

Al Programa Institucional en Ciencias Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales (INIRENA) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por las facilidades otorgadas para la realización de esta tesis.

A mi asesora la Dra. Clementina González Zaragoza por darme la oportunidad de regresar al ambiente académico y bajo su asesoría realizar un gran proyecto que representó un reto para mí. A la Dra. Carla Gutiérrez Rodríguez por aceptar ser mi coasesora y permitirme trabajar en su laboratorio desde la licenciatura.

Con gran estima y admiración les agradezco a mis dos asesoras por todos sus consejos, apoyo y dirección académica, de igual forma por su tiempo y dedicación en la escritura de la tesis y artículos científicos.

A los miembros de mi comité tutorial:

Dr. Rafael Hernández Guzmán

Dr. Leonel Lopez Toledo

Dr. Omar Chassin Noria

Por las aportaciones en el desarrollo del proyecto en cada evaluación tutorial y el tiempo dedicado para la revisión final de la presente tesis.

Al Dr. Rafael Hernández Guzmán por su asesoría, solución de dudas y gran ayuda en los análisis de paisaje.

A la Doctora Ileri Suazo por las facilidades de las muestras de tejido de la Colección Herpetológica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

A las personas que me ayudaron en campo: Martha Elena Mejía, Yesenia Fraga, Franceli Macedo, Ismaela Vega, Yunuen Soto, Pedro Castillo, Alberto Sánchez y Damián Berra.
Al Biólogo Jonatan Torres por facilitar el material para las salidas de campo.

A la Dra. Eva María Piedra y Violeta Patiño (Técnica Académica-LANASE) por sus sugerencias y asesorías en el trabajo de laboratorio.

Al M. en C. Emanuel Villafán, administrador de los servicios bioinformáticos del Cluster INECOL, por su ayuda para la realización de los análisis bioinformáticos.

A la Dra. Jessica Pérez, al Dr. Victor Piñeros, Andreia Malpica y Christian Morán por su gran ayuda y asesoría en los diferentes análisis genómicos y bioinformáticos.

A la secretaria Patricia Liliana Cerritos por su amabilidad y disponibilidad para asesorarme en los trámites del posgrado.

A mis amigos de siempre, quienes estuvieron apoyándome de cualquier manera: Denisse Maldonado, Andreia Malpica, Eva María Piedra, Jessica Pérez, Guillermo Huerta, Erandi Ramírez y Eric González.

A mis amigos y compañeros del INIRENA con quienes compartí momentos agradables: Franceli Macedo, Enrique Hernández, Yunuén Leal, Martha Elena Mejía, Isabel Santiago, Ariana González, Sandra Estrada, Liliana Robledo, Abril Serrato y Saúl González.

ÍNDICE

RESUMEN GENERAL	3
SUMMARY	5
INTRODUCCIÓN GENERAL	7
CAPÍTULO I	
Effects of natural and anthropogenic features on functional connectivity of anurans: a review of landscape genetics studies in temperate, subtropical and tropical species.....	15
CAPÍTULO II	
Functional connectivity of an endemic tree frog in a highly threatened tropical dry forest in Mexico.....	30
CAPÍTULO III	
Estructura genética a escala fina de una rana arborícola en un bosque tropical caducifolio de México explicada por la fragmentación reciente: una aproximación genómica.....	48
DISCUSIÓN GENERAL	101
REFERENCIAS	108
ANEXO	
Adaptación a un ambiente cambiante: Los Anfibios.....	119

RESUMEN GENERAL

Los paisajes modificados, como consecuencia de la pérdida del hábitat y la fragmentación, presentan distintos niveles de resistencia que pueden impedir o promover el movimiento de los individuos. El grado en el cual el paisaje facilita o restringe el movimiento de los organismos se denomina conectividad funcional. El bosque tropical caducifolio (BTC) se encuentra bajo una de las tasas más altas de deforestación y transformación, lo cual puede afectar el movimiento de las especies que lo habitan. Mediante dos aproximaciones de estudio y a dos escalas geográficas distintas evalué la conectividad funcional de la ranita verduzca *Agalychnis dacnicolor* a través del BTC en la vertiente del Pacífico. En la primera aproximación y en un área geográfica de aproximadamente 30,000 km² (en Jalisco y Colima), utilicé la teoría de circuitos y grafos para evaluar la conectividad funcional de *A. dacnicolor* entre parches de ámbito hogareño y parches de hábitat idóneo. Caractericé el paisaje a partir de capas ambientales y de actividad antropogénica obtenidas de diferentes fuentes de información que posteriormente integré en un Sistema de Información Geográfica. Convertí el paisaje caracterizado en una matriz con diferentes valores de resistencia para evaluar la conectividad de *A. dacnicolor* entre los diferentes parches de ámbito hogareño y parches de hábitat idóneo. Encontré un patrón de alta conectividad entre los parches de ámbito hogareño dentro de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala (RBCC) y los parches de ámbito que rodean la reserva. Por otro lado, la conectividad en el oeste (Tomatlán, Jalisco) y sureste del área de estudio (Colima) fue baja, probablemente debido a la fragmentación y la baja calidad del hábitat que caracteriza ambas zonas. Los cinco parches de hábitat idóneo de mayor área son los más importantes para mantener la conectividad en el paisaje, pero sólo uno de los parches se encuentra bajo protección federal. Como segunda aproximación y a una escala fina (en un área de aproximadamente 4,700 km² en la región de Chamela-Cuixmala), realicé un estudio de genética del paisaje para evaluar el efecto de los elementos naturales y antropogénicos en la diversidad y estructura genética, así como en la conectividad funcional de *A. dacnicolor*. Colecté un total de 96 individuos de ocho localidades que se encuentran en zonas fragmentadas y de ocho que están en bosque continuo, en la región de Chamela-Cuixmala (Jalisco) para los cuales se obtuvieron 41,236 polimorfismos de nucleótidos únicos (SNPs) mediante la técnica de 'Restriction-site-Associated DNA-sequencing (RADseq)'. Los individuos de las localidades dentro de las zonas fragmentadas presentaron

menor diversidad genética comparados con los individuos dentro del bosque continuo. Los individuos de las 16 localidades se diferenciaron en tres grupos genéticos con flujo génico moderado entre ellos. Tres localidades dentro de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala y cuatro localidades cercanas a la reserva formaron un grupo genético. El segundo grupo genético estuvo conformado por individuos de localidades, la mayoría situadas en zonas fragmentadas al noreste, y el tercer grupo genético por una sola localidad ubicada al sur del sitio de estudio, en una zona altamente fragmentada. El flujo génico fue más del doble en la dirección del grupo genético de las zonas fragmentadas hacia el grupo genético del bosque continuo. Los resultados muestran un patrón de distribución espacial consistente con la fragmentación del BTC y con la distancia geográfica. Las variables del paisaje que mejor explican el flujo génico en *A. dacnicolor* son la distancia geográfica, elevación y la cobertura de BTC + bosque perenne. Los resultados de la presente tesis tienen importantes implicaciones para la conservación de *A. dacnicolor* ya que la diversidad genética es esencial para la persistencia de las poblaciones a largo plazo. Además, mantener la conectividad entre los parches de hábitat y los grupos genéticos es vital debido a la alarmante pérdida y transformación del BTC que va en aumento.

Palabras clave: *anuros, RADseq, genómica del paisaje, fragmentación, pérdida de hábitat.*

SUMMARY

Modified landscapes, as a consequence of habitat loss and fragmentation impose different levels of resistance, which can impede or promote the movement of individuals. The degree to which the landscape facilitates or restricts the movement of organisms is called functional connectivity. The tropical dry forest (TDF) is an ecosystem under one of the highest rates of deforestation and transformation, which can affect the movement of the species inhabiting it. Using two approaches and at two different geographical scales, I evaluated the functional connectivity of the Mexican Leaf Frog (*Agalychnis dacnicolor*) through the TDF of the Pacific slope. For the first approximation and on a geographic scale of approximately 30,000 km² (Jalisco and Colima), I used the circuit and graph theories to evaluate functional connectivity of *A. dacnicolor* between home range patches and patches of suitable habitat. I characterized the landscape using environmental layers and layers of anthropogenic activity obtained from different information sources that I integrated in a Geographic Information System. I converted the characterized landscape into a matrix with different resistance values to evaluate the connectivity of *A. dacnicolor* between home range patches and patches of suitable habitat. I found a pattern of high connectivity between the home range patches located within the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve and the patches surrounding the reserve. On the other hand, I detected weak connectivity was detected in the west (Tomatlán, Jalisco) and southeast of the study area (Colima), probably due to fragmentation and low quality of the habitat that characterizes both areas. Five patches of suitable habitat with the largest area are the most important to maintain landscape connectivity, but only one of the patches is under federal protection. For the second approximation and at a fine scale (in an area of approximately 4,700 km² in the Chamela-Cuixmala region), I performed a landscape genetics study to evaluate the effect of natural and anthropogenic elements on genetic diversity and structure, as well as on functional connectivity of *A. dacnicolor*. I collected a total of 96 individuals from eight sites located in fragmented areas and eight from sites located in continuous forest within the Chamela-Cuixmala (Jalisco), for which 41,236 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were obtained using Restriction-site-Associated DNA-sequencing (RADseq). Individuals from localities situated within the fragmented zones showed less genetic diversity compared to individuals from the continuous forest. Individuals from the 16 localities were differentiated into three genetic groups with moderate gene flow among them. Three sites

within the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve and four near the reserve formed a genetic group. The second genetic group was constituted by individuals of sites, in the majority, located in fragmented areas (in the northeast), and the third genetic group by only one site located in the south of the study site in a highly fragmented area. Gene flow was higher from the genetic group of the fragmented areas towards the genetic group of the continuous forest. The results show a pattern of spatial distribution consistent with TDF fragmentation and geographic distance. The landscape variables that best explain gene flow in *A. dacnicolor* are geographic distance, elevation and TDF + evergreen forest. The results of the present thesis have important implications for the conservation of *A. dacnicolor* since genetic diversity is essential for the long-term persistence of populations. Additionally, maintaining connectivity among habitat patches and the genetic groups is vital due to the alarming loss and transformation of TDF that is increasing.

Keywords: *anurans, RADseq, landscape genetics, fragmentation, habitat loss.*

INTRODUCCIÓN GENERAL

El declive de la biodiversidad, a causa de la destrucción y degradación de los ecosistemas naturales por el incremento en las actividades antropogénicas, es un tema de gran preocupación a nivel mundial (Rands et al., 2010; Haddad et al., 2015). La pérdida de hábitat (reducción del área de hábitat óptimo) junto con la fragmentación (división del paisaje en parches de vegetación) ocasionan reducciones del tamaño de las poblaciones y pérdida de especies (Dirzo et al., 2014; Fahrig, 2017). La modificación del hábitat original y continuo en parches pequeños y aislados resulta en la pérdida y fragmentación del hábitat adecuado para las especies, lo cual puede influir el movimiento de los individuos (conectividad estructural; Taylor et al., 1993). Además de la composición del paisaje, el movimiento de los individuos es influenciado por la capacidad de dispersión de las especies (conectividad funcional; Tischendorf & Fahrig, 2000; Taylor et al., 2006). El movimiento de los individuos puede tener consecuencias a nivel genético en las poblaciones de distintos organismos. La conectividad funcional y ultimadamente el flujo génico incrementan la diversidad genética dentro de las poblaciones, la cual es de vital importancia debido a su relación directa con el potencial evolutivo de las poblaciones (Hugues et al., 2008). Por otro lado, si el flujo génico es limitado, las poblaciones pueden diferenciarse genéticamente (Conner & Hartl, 2004), e incrementarse la homocigosidad, lo que puede ocasionar depresión por endogamia, reducción en la adecuación de los individuos y reducción en sus capacidades de adaptarse a los cambios ambientales (Charlesworth & Willis, 2009). También se puede intensificar el desbalance entre el flujo génico y deriva genética, particularmente en poblaciones con tamaños efectivos poblacionales pequeños (Hutchinson & Templeton, 1999).

La evaluación de la conectividad funcional necesita tener dos componentes: superficies de resistencia y parches de hábitat o sitios de colecta. Las superficies de resistencia comúnmente se basan en simulaciones de la dispersión de los organismos dentro de una matriz, la cual se convierte en superficies de resistencia al movimiento. El paisaje se representa como una matriz cuyas celdas poseen un valor que representa el costo para que un organismo se disperse a través del paisaje. Los valores de resistencia se pueden obtener a partir de la opinión de expertos, quienes asignan valores altos a las celdas de la matriz que causan resistencia al movimiento y valores bajos a las que no lo causan (Epps et al., 2007). Otra forma para estimar la resistencia que impone el paisaje es a través de modelos de distribución potencial de las especies. Las áreas

con idoneidad del hábitat representan las áreas que permiten la dispersión a través del paisaje (Decout et al., 2012). Además de la matriz, se requieren registros de localidades o parches dentro del paisaje para estimar la conexión entre ellos. Los parches se pueden obtener delimitando el ámbito hogareño de una especie o delimitando las áreas de hábitat idóneo obtenidas mediante los modelos de nicho ecológico (Zetterberg et al., 2010; Alpanidou et al., 2014; Correa-Ayram et al., 2014).

A partir de las superficies de resistencia y los parches de hábitat o sitios de colecta la conectividad funcional se puede evaluar usando diferentes aproximaciones tales como teoría de circuitos y la ruta de menor costo, las cuales se basan en distancia costo (Adriaensen et al., 2003; McRae et al., 2008); y los análisis de redes que se basan en la teoría de grafos (Minor & Urban 2008). La teoría de circuitos modela la conectividad entre nodos (parches) a través de resistores que son componentes eléctricos que llevan corriente (McRae et al., 2008). Este método asume que los individuos se mueven sin conocimiento de la resistencia que ejerce el paisaje, y también considera todas las rutas posibles entre parches (McRae et al., 2008). La ruta de menor costo toma en cuenta una única ruta de dispersión y asume que los organismos se mueven sobre un área donde el “costo” puede reflejar la energía invertida para moverse por riesgo de mortalidad y reproducción (Rudnick et al., 2012). Los corredores se establecen mediante enlaces o uniones entre parches de hábitat que impliquen distancias mínimas ponderadas por el costo (McRae & Kavanagh, 2011). La teoría de grafos dice que una red se conforma de varios nodos (parches de hábitat) con un tamaño, forma y ubicación espacial, y que están conectados por uniones. Las uniones representan movimientos potenciales de individuos entre parches de hábitat en el paisaje (Galpern et al., 2011), por lo que la distancia de dispersión es importante en este análisis.

Una aproximación más reciente para estimar la conectividad funcional es a través de la genética del paisaje, que desde que el término fue propuesto en el 2003 ha ido en crecimiento, hasta convertirse en uno de los tópicos centrales de investigación en el campo de la ecología molecular (Manel et al., 2003, Storfer et al., 2010). El principal objetivo de la genética del paisaje es estudiar la interacción de la composición, configuración y heterogeneidad de la matriz en la que se encuentran los organismos (e.g. el paisaje) con los procesos microevolutivos, como la selección natural, flujo génico y deriva genética (Manel et al., 2003; Storfer et al., 2007; Holderegger & Wagner, 2008). En particular, la genética del paisaje se encarga de: a) investigar la influencia de las variables del paisaje y su configuración sobre la diversidad y estructura

genética, b) identificar la presencia de barreras y su influencia sobre el flujo génico, y c) determinar el efecto de la heterogeneidad ambiental (e.g. temperatura, humedad, calidad del suelo y altitud) en la variación genética adaptativa (Manel et al., 2003, Storfer et al., 2007). La genética del paisaje integra bases teóricas de disciplinas como la genética de poblaciones, ecología del paisaje y estadística espacial (Holderegger & Wagner, 2006; Storfer et al., 2007) con el fin de poner a prueba hipótesis sobre el efecto que los diferentes elementos del paisaje pueden tener sobre los patrones de distribución de la diversidad genética de los organismos (Holderegger & Wagner, 2008). Por un lado, de la genética de poblaciones utiliza los diferentes modelos que se han desarrollado para evaluar la influencia de procesos microevolutivos (i.e., mutación, flujo genético, deriva genética) sobre la diversidad y estructura genética de las poblaciones. Por otro, la ecología del paisaje emplea la teoría desarrollada para entender la interacción entre los patrones espaciales y los procesos ecológicos (Turner et al., 2001). Finalmente, de la estadística espacial usa los diferentes modelos de análisis para determinar las propiedades estadísticas de los patrones espaciales en términos del grado de autocorrelación espacial (Fortin et al., 2001).

El desarrollo de técnicas de secuenciación masiva (Next Generation Sequencing, NGS) han potenciado aún más los estudios de genética del paisaje, dando lugar a la genómica del paisaje. Paralelamente, las estrategias de partición del genoma [e.g. Restriction-site-Associated DNA-sequencing (RAD-seq) (Miller et al., 2007), que secuencian subconjuntos de este, se han convertido en alternativas poderosas a la secuenciación del genoma completo por su rapidez, bajo costo y porque no requieren de un genoma de referencia. La técnica RAD-seq permite descubrir y genotipificar cientos de marcadores genéticos (e.g. polimorfismos de nucleótidos únicos: SNPs), siendo una poderosa herramienta para investigar la diversidad genética en el espacio y tiempo, así como su relación con el paisaje (Segelbacher et al., 2010). Esta técnica consiste en digerir (cortar) el ADN con enzimas de restricción, seguido de un fraccionamiento mecánico de los fragmentos de ADN para reducir aún más su tamaño con el fin de que este sea adecuado para su secuenciación (Baird et al., 2008; Elshire et al., 2011). Existen variaciones de la técnica, como por ejemplo, aumentar el número de enzimas de restricción que se utilizan, lo que permite incrementar el número de loci, y/o hacer una segunda digestión para eliminar dímeros de adaptadores (Andrews et al., 2016).

Los SNPs varían en un solo nucleótido, dichos polimorfismos surgen bajo el modelo de mutación de sitios infinitos (Vignal et al., 2002). Estos marcadores se heredan por ambos padres y se encuentran distribuidos en todo el genoma, espaciados cada 300-1000 pares de bases (Morin et al., 2004). En comparación con los microsatélites que pueden presentar varios alelos por locus, se requiere de un gran número de SNPs para estimar de manera precisa la diversidad y estructura genética (Landguth et al., 2012). Los SNPs neutrales permiten inferir el flujo génico y la estructura genética, mientras que los SNPs bajo selección permiten separar el efecto de esta fuerza evolutiva para entender la influencia del paisaje y el ambiente en la variación genética adaptativa de las poblaciones naturales (Morin et al., 2004; Schwartz et al., 2010). Estos marcadores son particularmente útiles en ecosistemas que experimentan cambios rápidos y recientes en su paisaje, ya que permiten identificar patrones genéticos espaciales que estén asociados a la heterogeneidad del paisaje (Epps & Keyghobadi, 2015).

Los anuros, que representan el 90% de todos los anfibios, son de los principales componentes de ecosistemas terrestres y acuáticos (Beebe & Griffiths, 2005). Este grupo de organismos se caracteriza por tener una piel permeable, baja capacidad de dispersión (distancia promedio de 2 km), y especialización del hábitat para ovipositar y forrajear. Las diferentes especies de anuros están sujetas a una dinámica metapoblacional, tienen que dispersarse a través del paisaje para reproducirse, buscar alimento y recolonizar poblaciones (Marsh & Trenham, 2001). Debido a estas características los anuros son dependientes de las características del paisaje (Cushman, 2006) y particularmente sensibles a la degradación del hábitat (Beebe & Griffiths, 2005), haciéndolos organismos ideales para estudios que evalúen la conectividad funcional. Por ejemplo, en las especies con ciclo de vida bifásico (que representan la mayoría de las especies), las cuales se reproducen en pozas, se puede estudiar simultáneamente las características de las pozas locales (e.g. calidad y temperatura del agua) y las características del paisaje (e.g. cobertura de suelo, presencia de carreteras y ríos) entre éstas.

El número de estudios de genética del paisaje en anfibios ha incrementado durante los últimos años (Pereira-Monteiro et al., 2019; Covarrubias et al., 2021). La mayoría de los estudios de genética del paisaje se han realizado en especies de anuros de zonas templadas (70 estudios), seguido de las zonas tropicales (23 estudios) y subtropicales (20 estudios) (Covarrubias et al., 2021). Estas investigaciones han utilizado principalmente microsatélites (SSRs) (5-21), y en menor proporción ADN mitocondrial (ADNmt) o una combinación de SSRs + ADNmt,

únicamente cuatro han utilizado SNPs. Los estudios en las zonas templadas indican que la urbanización, la presencia de carreteras, los ríos, la elevación y la pendiente tienen efectos negativos para la conectividad funcional de los anuros (Funk et al., 2005; Coster et al., 2015; Keely et al., 2015; Crosby et al., 2009; Waraniak et al., 2019). Los pocos estudios realizados en los trópicos y subtrópicos han reportado que para algunas especies, la presencia de arroyos promueve la conectividad funcional (Koscinski et al., 2009; Parsley et al., 2020), mientras que los ríos con diferentes anchos, pendientes elevadas, la urbanización, la fragmentación del hábitat y la agricultura, ejercen resistencia a la dispersión de los individuos (Lampert et al., 2003; Richards-Zawacki, 2009; Nowakowski et al., 2015; Eterovick et al., 2016; Arroyo-Lambaer et al., 2018).

Los anfibios constituyen uno de los principales taxa de vertebrados que habita el bosque tropical caducifolio (BTC), el cual se caracteriza por el gran número de especies y endemismos de plantas y animales que alberga (García, 2006; García et al., 2007). En México, el BTC es uno de los ecosistemas mejor representados, abarcando el 12% de la cobertura del país a lo largo de la costa del Pacífico (Challenger & Soberón, 2008), aunque también se encuentra de manera aislada en la vertiente del Golfo de México y en la Península de Yucatán. El BTC en México tiene una marcada estacionalidad, con una temporada seca (noviembre-mayo) y una temporada de lluvias (junio-octubre) (Trejo, 1999). La precipitación promedio anual es menos de 2000 mm. Este tipo de vegetación se puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 1500 m (Ceballos & García, 1995). El BTC está sujeto a una alta tasa de deforestación y transformación (Trejo & Dirzo, 2000), principalmente como resultado de cambios por el uso de suelo y por el turismo (Trejo & Dirzo, 2002). La deforestación está ocasionando una alarmante pérdida de especies (Trejo & Dirzo, 2002), estimándose que por lo menos el 15% de las especies están en riesgo de extinción (Ceballos et al., 1999). En México, alrededor del 50% del territorio ha perdido su vegetación original, debido a la conversión a zonas agrícolas, pastizales y zonas urbanas (Challenger & Soberón, 2008). A pesar de que el BTC se encuentra entre los ecosistemas más afectados por la deforestación (Challenger & Soberón, 2008), pocos son los estudios que han evaluado el efecto del paisaje en los diferentes grupos de organismos que lo habitan (Arias et al., 2012; Blair et al., 2013; Garrido-Garduño et al., 2015; Mejía-Maya et al., 2020). La vulnerabilidad que caracteriza al BTC y el riesgo de extinción de las especies que lo habitan es alarmante. A pesar de que México cuenta con reservas y parques naturales para la conservación

de los BTCs, aún existen extensas áreas de BTC que no están bajo protección oficial (Curry, 2020), por lo que la conversión de la vegetación original en parches podría aumentar. Por lo anterior, realizar estudios de conectividad funcional en diferentes especies que habitan el BTC es importante ya que permitirán detectar áreas que faciliten la conectividad entre parches de hábitat.

Una de las especies de anuros endémicas y fuertemente asociadas a los BTCs mexicanos es la ranita verduzca o rana de árbol mexicana (*Agalychnis dacnicolor*) (Santos-Barrera & Canseco-Márquez, 2004). *A. dacnicolor* (Cope, 1864) pertenece a la familia Phyllomedusidae, se distribuye desde el sur de Sonora, a lo largo de la costa del Pacífico, incluyendo la depresión del Balsas hasta el sur de Oaxaca. Durante la temporada de lluvias (junio–octubre) los machos emiten cantos desde la vegetación, arbustos o árboles que se encuentran alrededor de pozas temporales. El llamado de apareamiento está compuesto por notas cortas, fuertes y similares a un cloqueo. Tanto el macho como la hembra se reúnen en pozas o charcos de agua donde ocurre el amplexo (evento en el que el macho sujeta a la hembra por debajo de sus extremidades anteriores) para que ocurra la fecundación de los huevos (Pyburn, 1970). Al igual que otras especies de anuros, el ciclo de vida de *A. dacnicolor* es bifásico, requiriendo de un microhábitat húmedo con suficiente cobertura vegetal durante la mayor parte de su ciclo de vida, así como de cuerpos de agua para su reproducción. Durante la temporada seca y no reproductiva, *A. dacnicolor* estiva, refugiándose en lugares húmedos (Álvarez-Grzybowska et al., 2020).

Debido a sus limitantes fisiológicas y su vulnerabilidad a la radiación directa y la baja humedad ambiental, al igual que otros anuros, *A. dacnicolor* en la región de Chamela Cuixmala se encuentra mayormente en pendiente bajas y cerca de arroyos (0-10 m), difícilmente encontrándose en áreas con pendientes altas (50-60 m) (Suazo-Ortuño et al., 2011). Algunas especies de ranas arborícolas incluyendo a *A. dacnicolor* presentan una asociación positiva con bosques secundarios (Suazo-Ortuño et al., 2015). La presencia de charcos y pozas artificiales que se encuentran en pastizales rodeados de vegetación secundaria pueden influir en la presencia de hembras, juveniles y crías, ya que favorecen los sitios para ovoposición y reproducción (Suazo-Ortuño et al., 2011). A pesar de que *A. dacnicolor* había sido previamente reportada como generalista (Suazo-Ortuño et al., 2015), más recientemente se ha identificado como una especie especialista de microhábitat, ya que se encuentra en los estratos más bajos de la vegetación y también en árboles (Soto-Sandoval et al., 2017).

El objetivo principal de esta tesis fue evaluar, mediante diferentes aproximaciones y a dos escalas geográficas distintas, la conectividad funcional de *Agalychnis dacnicolor* en un paisaje heterogéneo de la vertiente del Pacífico, compuesto originalmente por bosque tropical caducifolio. El estudio se llevó a cabo en la subprovincia fisiográfica de las Sierras de la Costa de Jalisco y Colima, abarcando la región de Chamela-Cuixmala. En el área de estudio predomina el BTC aunque también se pueden encontrar bosques perennes, bosques riparios y mangles. En los meses de noviembre a mayo domina una temporada seca durante la cual la mayor parte de la vegetación pierde sus hojas y los meses de junio a octubre se caracterizan por ser la temporada de lluvias (Trejo, 1999). En el noroeste de la región se localiza la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala que tiene un área total de 13,142 ha de BTC conservado (Ceballos et al., 1999). Desde 1960, el paisaje de esta zona se ha transformado en un mosaico de campos agrícolas, pastizales y zonas urbanas con pocas áreas extensas de bosque maduro y parches pequeños bajo diferentes estados de sucesión. Esta transformación ha convertido al BTC en un paisaje heterogéneo compuesto por una mezcla de elementos naturales y antropogénicos (Hernández-Guzmán et al., 2019).

La tesis está conformada por una introducción general, tres capítulos y una discusión general de todos los resultados obtenidos en el presente estudio. El primer capítulo consistió en una revisión de los estudios de genética del paisaje realizados en anuros de zonas tropicales, subtropicales y templadas en un período de 20 años (2000-2019). El objetivo de este capítulo fue identificar los elementos naturales y antropogénicos más importantes que influyen la conectividad (medida como flujo génico y/o estructura genética) en anuros de zonas tropicales, subtropicales y templadas. Este capítulo está publicado en la revista *Journal of Zoology* bajo el título “Effects of natural and anthropogenic features on functional connectivity of anurans: a review of landscape genetics studies in temperate, subtropical and tropical species”. En el segundo capítulo, evalué la conectividad funcional entre parches de ámbito hogareño y parches de hábitat idóneo para *A. dacnicolor* en un paisaje del oeste de México que comprende un área geográfica de aproximadamente 30,000 km² (en Jalisco y Colima). Para esto estimé parches de ámbito hogareño e identifiqué los parches de hábitat con condiciones ambientales idóneas para la especie mediante modelos de nicho ecológico (MNE), evalué la conectividad entre ambos tipos de parches, e identifiqué aquellos que son más importantes para mantener la conectividad dentro

del paisaje. Este capítulo está publicado en la revista *Ècoscience* bajo el título “Functional connectivity of an endemic tree frog in a highly threatened tropical dry forest in Mexico”. En el tercer capítulo utilicé marcadores moleculares (polimorfismos de nucleótidos únicos, SNPs) para evaluar el efecto de los elementos naturales y antropogénicos sobre la diversidad y estructura genética de *A. dacnicolor* a escala fina (área de aproximadamente 4,700 km²) dentro de un paisaje heterogéneo en la región de Chamela-Cuixmala. Para esto evalué los niveles de diversidad y estructura genética de *A. dacnicolor*, el efecto de la pérdida de vegetación original en sus patrones de diversidad y estructuración genética y determiné los elementos naturales (e.g. presencia de arroyos y ríos, pendiente, elevación, índice topográfico compuesto) y antropogénicos (e.g. cobertura y cambio de uso de suelo, presencia de carreteras) que afectan la conectividad funcional de *A. dacnicolor*.

CAPÍTULO I

Effects of natural and anthropogenic features on functional connectivity of anurans: a review of landscape genetics studies in temperate, subtropical and tropical species

Publicado en *Journal of Zoology* 313: 159–171 (2021) doi:10.1111/jzo.12851

Journal of
Zoology

Volume 313 | March 2021 | Number 3



REVIEW:
Effects of natural
and anthropogenic
features on
functional
connectivity of
anurans

ZSL
LET'S WORK
FOR WILDLIFE

REVIEW

Effects of natural and anthropogenic features on functional connectivity of anurans: a review of landscape genetics studies in temperate, subtropical and tropical species

S. Covarrubias¹, C. González¹  & C. Gutiérrez-Rodríguez² ¹Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México²Red de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología AC (INECOL), Xalapa, Veracruz, México

Keywords

landscape genetics; population genetics; landscape ecology; least cost path; circuit theory; habitat loss; fragmentation; frogs.

Correspondence

Clementina González, Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, San Juanito Itzicuaro s/n Col. Nva. Esperanza 58337, Morelia, Michoacán, México. Email: cynclus@yahoo.com.mx

Editor: David Hone
Associate Editor: Jon Bielby

Received 17 September 2019; revised 5 October 2020; accepted 21 October 2020

doi:10.1111/jzo.12851

Abstract

Habitat loss, overexploitation, the presence of invasive species, climate change and the proliferation of diseases continue to put at risk anuran species that represent 90% of all amphibians. Biphasic life cycle, habitat specialization to oviposit and forage, low dispersal abilities, and permeable skin make anurans particularly susceptible to the effect of landscape composition and configuration on their capacity to move through the landscape (connectivity). Limited connectivity can result in reduced gene flow, low genetic variation and high genetic structuring. Therefore, identifying landscape elements that promote or limit the dispersal of anurans is fundamental to propose conservation plans that allow maintaining areas that enhance connectivity to assure the evolutionary potential of the species by preserving genetic diversity. Here, we reviewed studies evaluating the effect of natural and anthropogenic elements of the landscape on gene flow across temperate, tropical and subtropical landscapes. Our results suggest that roads have the strongest negative effect on connectivity resistance in anurans from temperate regions. Urbanization, fragmentation, and land cover change into agriculture and grasslands are other anthropogenic landscape elements that provide resistance to connectivity in anurans worldwide. In temperate and tropical regions, rivers are the most important natural element negatively affecting connectivity, having a stronger effect in the tropics. Contrary, streams and forests cover promote connectivity in all regions. We provide a review of the growing progress of landscape genetics in this group of vulnerable organisms and highlight the importance of considering this research field for the conservation of the threatened ecosystems that anurans inhabit.

Introduction

Anurans, which represent almost 90% of all amphibians, are one of the main components of terrestrial and aquatic ecosystems and are very sensitive to environmental degradation (Beebe and Griffiths, 2005). Therefore, anurans are considered indicators of the effects of human populations on habitat quality (Cushman, 2006). Different biological characteristics of anurans such as their life cycle, habitat specialization to oviposit and forage, low dispersal ability, and permeable skin make them a group particularly dependent on the characteristics of the landscape they inhabit (Cushman *et al.*, 2006). These characteristics make anurans ideal model organisms for landscape genetics studies.

Anurans inhabit a great variety of habitats and microhabitats depending on their life-history traits and habits. Most species have a biphasic life cycle, in which eggs develop in a free-

living larva that is adapted to feed, breathe, and move in the water, while metamorphosis to adults occurs outside the water (Dodd, 2009). Some anurans deposit egg masses in still water (aquatic/terrestrial and aquatic/fossorial species), others in submerged vegetation (aquatic species) or in vegetation that sticks out of the water (arboreal species). Anurans spend their adult life in plants, holes and tree cracks, trunks, branches and leaves near ponds, or buried in the soil (Dodd, 2009). Other species (specially in the tropics) have direct development, in which metamorphosis occurs in the egg, lacking a free larval stage (Callery *et al.*, 2001). Those species lay eggs under trunks, in hollows of trees, on leaves, bromeliads, leaf litter, in terrestrial cavities or in burrows such as roots in the soil, all with high levels of moisture (Duellman & Trueb, 1994; Dodd, 2009). Some of this characteristics make anurans amenable for certain study designs. For example, in anurans with biphasic life cycle that breed in ponds the *a priori* definition of local

populations, which is often difficult in population genetics studies, is straight forward. Similarly, the simultaneous evaluation of at-site (local ponds) features (e.g. water temperature and quality) and between-sites characteristics (e.g. land cover, presence of roads) for landscape genetics studies are also facilitated in anurans that breed in ponds.

Deforestation and loss of vegetation cover can increase the risk of embryos and developing adults drying out in the soil (Dodd, 2009). Lack of vegetation in waterbodies can increase the risk of predation for both eggs and embryos. Additionally, with the decrease in vegetation cover, light levels and variation in water temperature and evaporation rates increase, which in turn can reduce hydroperiod and interrupt larval development (Neckel-Oliveira & Lanoo, 2007). Anurans are thus dependent on the presence and size of waterbodies, the hydroperiod, and the presence of vegetation for reproduction, development of eggs, protection from predation and survival (Hamer & Parris, 2011; Villaseñor *et al.*, 2017).

Because anurans tend to lose water by evaporation, as a result of their permeable skin, they usually inhabit wetlands (Duellman & Trueb, 1994). Therefore, the formation, distribution and spatio-temporal dynamic of wetlands are important (Semlitsch, 2008). In addition, ectothermia limits the activity of anurans, contributing to their susceptibility to extreme microclimates (Cushman *et al.*, 2006). Some anurans therefore avoid areas subjected to land use changes with low canopy coverage (Rittenhouse & Semlitsch, 2006).

Dispersal through the landscape is essential for reproduction, survival, and recolonization and for the maintenance of metapopulations and populations (Marsh & Trenham, 2001). According to a review, which included 53 species of anurans, 7% of the species disperse more than 10 km and 44% more than one kilometer, with an average dispersion distance of 2.02 kilometers during the reproductive season (Smith & Green, 2005). However, some anurans such as *Rhinella marina*, *Rana aurora* and *R. berlandieri* have exceptional dispersal abilities, dispersing 35, 24 and 16 km, respectively (Smith & Green, 2005).

Some anuran populations have small effective population sizes ($N_e < 100$ individuals; Schmelzer & Mèrilla, 2007; Philipson *et al.*, 2011), which make them susceptible to the loss of genetic diversity as the result of the increased effects of genetic drift and inbreeding (Frankham *et al.*, 2002). The reduction of genetic diversity can have important consequences for the subsistence of a species, since it can diminish the capacity of populations to adapt to environmental changes and to resist epidemics (Beebee & Griffiths, 2005). The presence of natural barriers to gene flow as well as habitat fragmentation, as the result of anthropogenic activities, can intensify the effect of the small N_e that characterizes populations of some anurans. This occurs because migration among isolated patches is reduced due to limited connectivity, resulting in the alteration of the balance between gene flow and genetic drift (Hutchison & Templeton, 1999).

Biological characteristics of anurans in combination with changes on the physical features of the landscape that they inhabit, can have a great impact on their genetic diversity, population structure, gene flow and functional connectivity

(Cushman *et al.*, 2006; Jenkins *et al.*, 2010). Therefore, studies that evaluate the effect of landscape characteristics on genetic patterns and functional connectivity of this highly threatened group are crucial. In recent years, the number of landscape genetics studies in amphibians has increased, becoming one of the most investigated groups (McCartney-Melstad & Shaffer, 2015; Pereira-Monteiro *et al.*, 2019). The growing interest in performing landscape genetics research using amphibians as model organisms has been attributed to the global decline of amphibians, as the result of habitat alteration, overexploitation, presence of invasive species, climate change and emerging diseases (Collins & Storer, 2003).

In this article, we reviewed landscape genetics studies on anurans conducted over a period of 20 years (2000–2019) in temperate, tropical and subtropical areas of the world. We focused on studies evaluating the effect of landscape composition on gene flow and genetic structure. Our main purpose was to identify the most important natural and anthropogenic landscape elements that influence connectivity (measured as gene flow and/or genetic structure). We chose studies conducted in anurans from temperate, tropical and subtropical areas of the world as these are characterized by having contrasting environmental (temperature, precipitation, seasonality) and landscape characteristics, as well as to identify the least studied areas where efforts should be focused.

Studies of landscape genetics in anurans

Literature search and data gathering

We performed a literature search on landscape genetics studies in anurans without restricting the year of publication. We first conducted searches in the Web of Science (<http://www.isiknowledge.com>) and Scopus (<http://www.scopus.com>) restricting them to articles within the following subject areas: Agricultural and Biological Sciences, Animal Science and Zoology, Biochemistry, Ecology, Evolution, Behavior and Systematics, Genetics, and Molecular Biology. Then, we performed complementary searches in Scielo (<http://www.scielo.org>) and Google scholar (<https://scholar.google.com>). The resulting searches were manually reviewed to discard those articles not related to landscape genetics in anurans. Books, book chapters, thesis and other documents were also found in the searches but were not included in the review. We used the following keywords, each one combined with “frogs”, “amphibians” and “anurans” by employing the conjunction AND between terms: “landscape genetics” (71 articles recovered), “connectivity” (10 articles), “landscape effects” (11 articles), “gene flow” (14 articles), and “genetic structure” (7 articles). In total, 113 studies were included in this review (Appendix S1) covering a period of 20 years (2000–2019), including three papers from 2020 and two from the nineties (1990, 1997). From these studies, in 104 the effects of landscape on the patterns of gene flow and genetic structure were explicitly tested. From the recovered articles, we gathered the following information: species studied, study location,

molecular markers, methods of analyses, total sample size, number of populations sampled, spatial scale, landscape variables tested, landscape elements with positive, negative or no effects, and year of publication. The landscape elements considered were classified as natural, anthropogenic or both. We completed our dataset with the family to which the studied species belong, as well as their habits, life cycle, and conservation status. According to the American Meteorological Society, we classified study locations as tropical (0–23.45°), subtropical (23.45–35°) or temperate (35–66.5°).

Characteristics of landscape genetics studies in anurans

The literature search indicated a significant increase since 2009 in the number of landscape genetics studies conducted in anurans (Fig. 1), which is in accordance with the increasing number of landscape genetics studies in general. While in the first studies only the effect of one or few natural and/or anthropogenic variables was tested, since 2012 studies have been testing the effect of several landscape features on genetic patterns. We found that most studies have been conducted in temperate regions (70), followed by the tropics (23) and subtropics (20; Fig. 2). The total number of studied anuran species was 76; several studies were carried out with the same species but in different locations. The conservation status of most of the species was of least concern (53), and seven and five species have the category of near threatened and vulnerable, respectively. Only six and two of the studied species were endangered and critically endangered, respectively, and in three, the conservation status was not evaluated (Fig. 2). The studied species belong to 20 families, being the most common Ranidae, Bufonidae and Hylidae. While most of the studied species have a biphasic life cycle (75), only three studies investigated species with direct development in the tropics (Fig. 3). In temperate zones, species with all kinds of habits have been studied, while in the tropics only arboreal and terrestrial species.

In the subtropics, arboreal, terrestrial, fossorial and aquatic species have been investigated (Fig. 3).

Studies in temperate zones included the largest sample sizes of the three areas (total sampled individuals: mean = 551; range = 71–2439) doubling the number of individuals sampled in the tropics (215; 14–668). In the subtropics, sample size was intermediate (405; 33–1163). Similarly, the number of sampled populations in temperate zones was the highest (25; 4–117) almost doubling the number of populations sampled in studies conducted in tropical (12; 2–33) and in subtropical (13; 6–26) areas. The spatial scale in which the studies have been carried out is very variable. In temperate zones, spatial scale is on average ~400 000 km², while in the tropics and subtropics studies have been performed at smaller scales (tropics = 54 000; subtropics = 165 000 km² approximately).

Most studies have inferred genetic diversity, population structure and gene flow on anurans using 5–21 microsatellite loci. A lower proportion has used mitochondrial DNA (mtDNA), other markers (RAPDs, allozymes, etc.), or a combination of microsatellites and mtDNA (Fig. 4). Only four studies have recently used SNPs: three in temperate zones (Grummer & Leaché, 2017; McCartney-Melstad *et al.*, 2018; Van Buskirk & van Rensburg, 2020) and one in the tropics (Chan & Brown, 2019; Fig. 4).

Analysis methods to relate landscape features with genetic patterns of anurans began to diversify during the 2009–2011 period (Fig. 5), as the result of methodological advances in the landscape genetics field. During the first three periods, most studies only used Mantel tests, while fewer investigations employed methods such as generalized linear models (GLM) and maximum likelihood population effects (MLPE). Despite of the several criticisms that Mantel tests have received (Guillot & Rousset, 2013), they are still commonly used, sometimes in combination with other methods (Fig. 5). Aside Mantel tests, in the last decade there is no method that dominates over other in the literature, but several analytical methodologies have been used (Fig. 5).

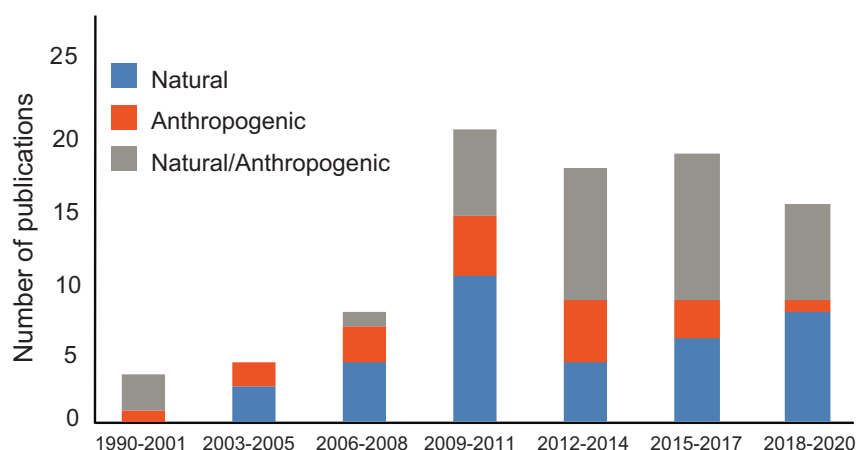


Figure 1 Number of landscape genetics studies conducted in anurans from 1990 to 2020, and the type of landscape element tested (natural, anthropogenic, or natural/anthropogenic) on patterns of gene flow and population structure. [Colour figure can be viewed at zslpublications.onlinelibrary.wiley.com.]

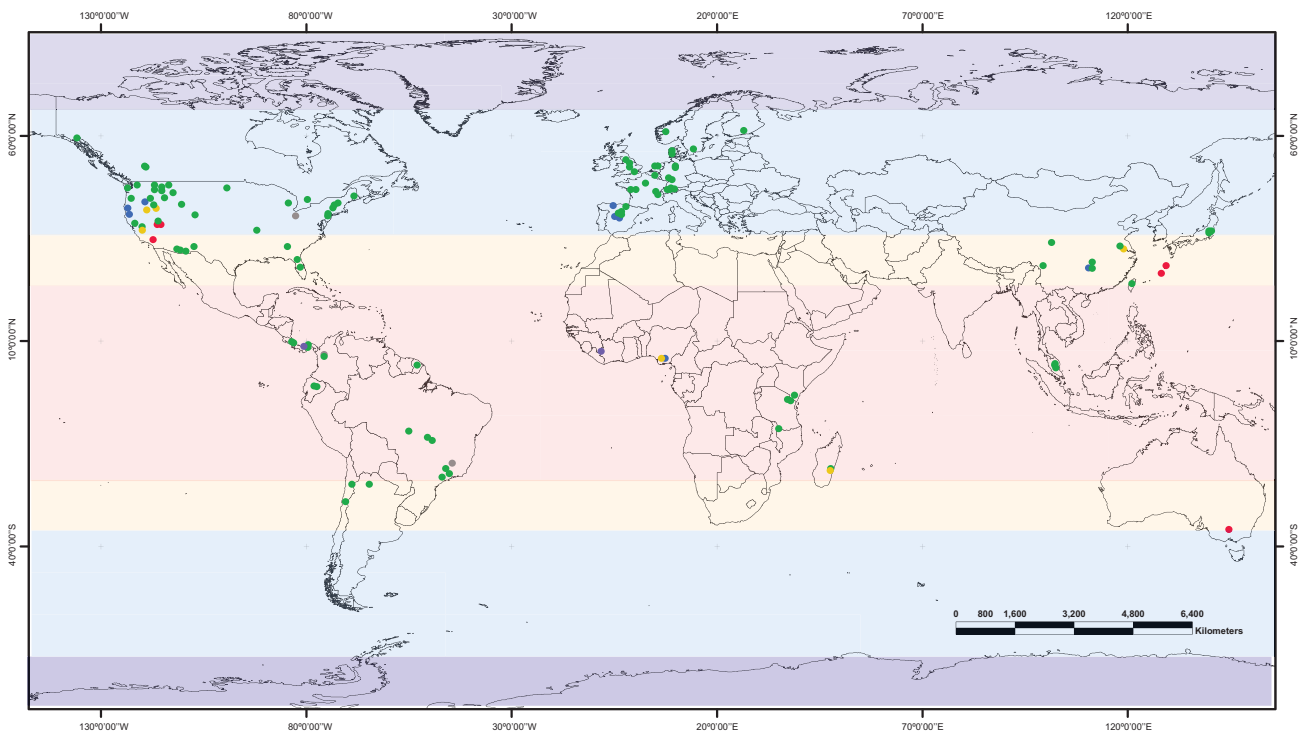


Figure 2 Sampling locations of landscape genetics studies in anuran recovered from the literature search. Color stripes indicate the tropical (pink), subtropical (yellow) and temperate (blue) regions. Color dots indicate the conservation status of the studied species: green = least concern; blue = near threatened; yellow = vulnerable; red = endangered; purple = critically endangered; gray = conservation status not evaluated. [Colour figure can be viewed at [zslpublications.onlinelibrary.wiley.com](https://onlinelibrary.wiley.com).]

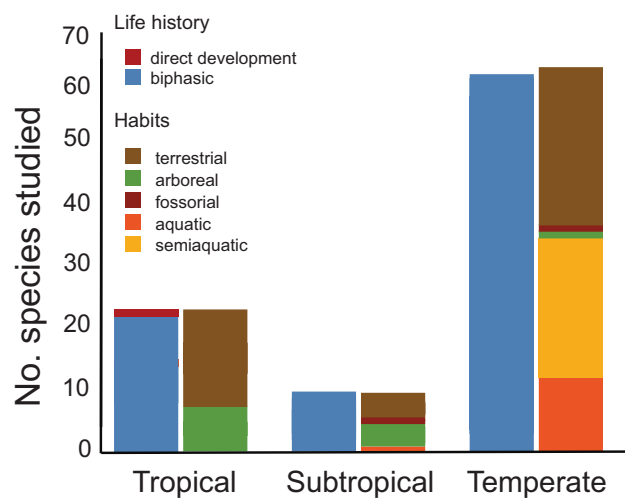


Figure 3 Life history and habits of the studied species on each region. [Colour figure can be viewed at [zslpublications.onlinelibrary.wiley.com](https://onlinelibrary.wiley.com).]

Landscape genetics studies in anurans from temperate zones

In anurans from temperate zones, the anthropogenic elements of the landscape that have been more frequently tested are

urbanization and presence of roads, followed by land cover change into agriculture and grasslands, artificial waterbodies, and fragmentation (Fig. 6). Within those studies that detected an effect, connectivity was mainly negatively affected. However, some exceptions were evident such as *Rana luteiventris* (Goldberg & Waits, 2010) and *Acris blanchardi* (Youngquist *et al.*, 2017), for which agriculture provides low resistance to movement.

Urbanization constitutes an important threat for anurans, since it implies changes in habitat characteristics which can affect growth, metamorphosis time, survival and recruitment, reducing the number of dispersers and the mating success of individuals (Semlitsch & Reyer, 1992). Negative effects in population connectivity due to urbanization have been reported in *Rana ornativentris*, *R. sylvatica*, *R. luteiventris* and *Bufo bufo* among others. Urbanization is also known to lead to declines in genetic diversity due to reductions in population sizes (Hitchings & Beebe, 1997; Keely *et al.*, 2015). For example, genetic diversity in small urban ponds of *Rana temporaria* was significantly lower than in bigger rural ponds (Hitchings & Beebe, 1997).

The presence of roads contributes to habitat destruction and has an important impact on amphibian populations (IUCN, 2004), showing to have the strongest negative effect on gene flow among the reviewed anthropogenic variables. Roads can interrupt gene flow among populations, and/or increase the mortality risk of

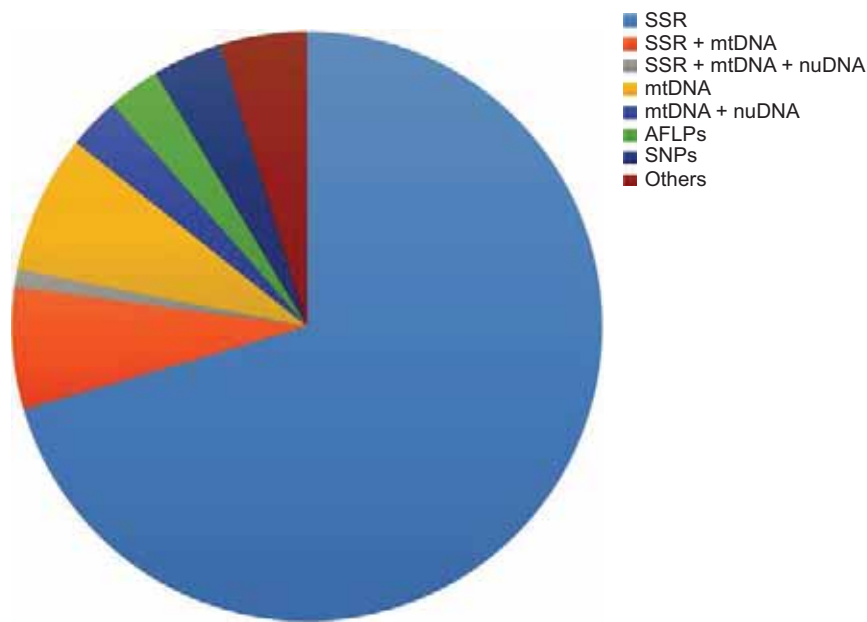


Figure 4 Proportion of molecular markers used to infer population structure and gene flow in landscape genetics studies on anurans (mtDNA, mitochondrial DNA; nuDNA, nuclear DNA; SSR, microsatellites). [Colour figure can be viewed at [zslpublications.onlinelibrary.wiley.com](https://onlinelibrary.wiley.com).]

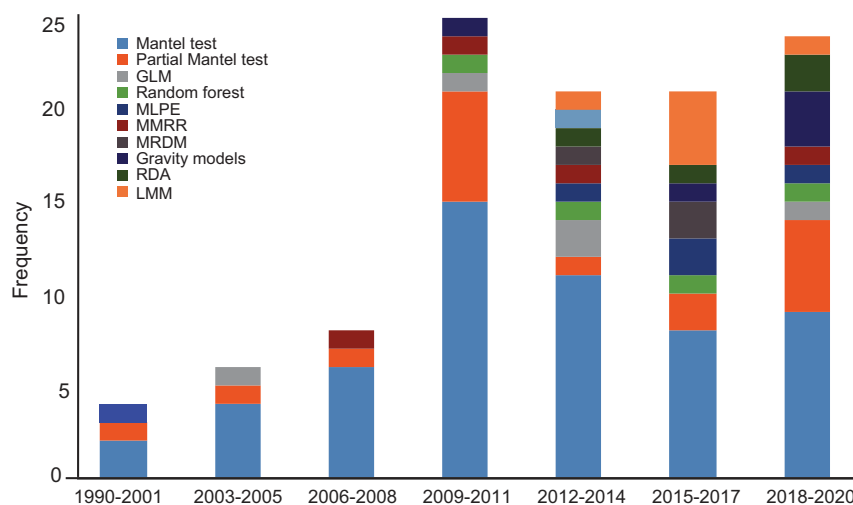


Figure 5 Frequency of the statistical methods used to relate landscape features with genetic patterns represented in three-year periods. GLM, generalized linear models; LMM, linear mixed-effect models; MLPE, maximum likelihood population effects; MMRR, multiple regression with randomization; MRDM, multiple regression on distance matrices; RDA, redundancy analysis. [Colour figure can be viewed at [zslpublications.onlinelibrary.wiley.com](https://onlinelibrary.wiley.com).]

individuals crossing them. For example, in three species of the genus *Rana*, distributed in temperate forests of Europe and North America, highways limit connectivity between populations leading to genetic structuring (Vos *et al.*, 2001; Lesbarrères *et al.*, 2006; Crosby *et al.*, 2009; Gabrielsen *et al.*, 2013). In threatened populations of *Acris blanchardi* (Youngquist *et al.*, 2017), and in *R. japonica* (Kobayashi *et al.*, 2013), there was also an effect of roads on genetic structuring.

The extensive development of agriculture has led to the introduction of a variety of agrochemicals to the environment, such as pesticides, which can affect the genetic patterns of anurans (Cusaac *et al.*, 2016). In Germany, reduced gene flow was detected among populations of *R. temporaria* located in pools within wine plantations compared to continuous undisturbed populations (Lendhart *et al.*, 2017). This was attributed to the exposure of larvae and adults to toxicity caused by the

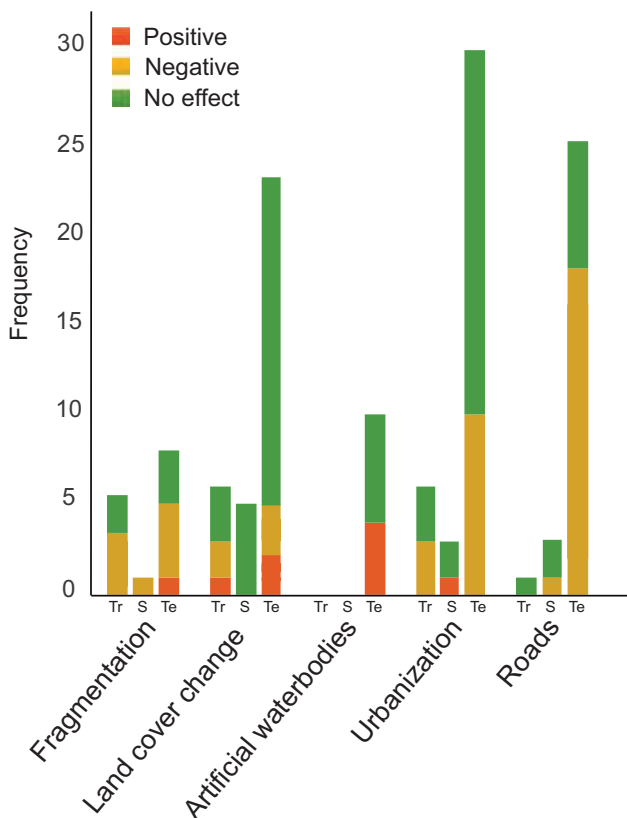


Figure 6 Frequency of the effect (positive, negative or no effect) that different anthropogenic elements of the landscape have on gene flow patterns of anurans in subtropical (S), temperate (Te) and tropical (Tr) regions. [Colour figure can be viewed at zslpublications.onlinelibrary.wiley.com.]

accumulation of pesticides in ponds, which resulted in their mortality or in a decrease of locomotion capacity, promoting isolation between ponds (Lenhardt *et al.*, 2013). Agriculture can also reduce gene flow of anurans as the result of habitat destruction that impedes dispersal across open areas (Arens *et al.*, 2007). However, sometimes agricultural fields are surrounded by primary forest, which can act as source populations or facilitate dispersal. One example is *Epidalea calamita* from Switzerland, in which large population sizes are maintained despite the presence of agricultural fields as the result of individuals reproducing in the more conserved habitats surrounding the managed fields (Frei *et al.*, 2016).

Although roads, urbanization and land cover change lead to habitat fragmentation, there are a number of studies in the literature that tested the effect of habitat fragmentation in general, without specifying the factors affecting it. In populations of *Rana dalmatina* from Spain, fragmentation has affected southeastern populations, showing evidence of recent bottlenecks and decreases on gene flow due to isolation (Sarasola-Puente *et al.*, 2012). In *Ascaphus truei*, low levels of genetic differentiation were detected in populations from fragmented forests, which could be the result of a delayed response of the populations to logging (Spear & Storfer, 2008).

Among the effects of natural elements of the landscape on gene flow that have been more frequently tested in temperate zones are natural waterbodies, forest cover, and slope followed by other types of vegetation, rivers, streams, and elevation (Fig. 7). The least tested are mountains and habitat suitability. Of those elements that have had significant effects, for rivers, elevation, and slope the effects were mostly negative. For example, the Missouri River in USA has prevented gene flow among populations of *R. pipiens* located at either side (Waraniak *et al.*, 2019). Regarding elevation, populations of *B. bufo* from Spain (Martínez-Solano & González, 2008) and *R. luteiventris* from USA (Funk *et al.*, 2005) exchange only few migrants with populations located at lower elevations. The dispersion from lower to higher elevations may be restricted by the energy cost that implies climbing steep slopes. Similarly, connectivity was negatively correlated with the topographic complexity of the habitat between populations of *R. luteiventris* (Murphy *et al.*, 2010) and *Anaxyrus canorus* in the USA (Wang, 2012). However, in populations of *R. sylvatica*, slope had a negative relationship with genetic differentiation, suggesting that downslope facilitates gene flow (Coster *et al.*, 2015a).

Both positive and negative effects of natural landscape elements on gene flow have been found in similar proportions for natural waterbodies and mountains. Among waterbodies, wetlands are considered as stepping-stone, having a positive influence on gene flow between USA populations of *R. sylvatica* and *Pseudacris maculata* (Watts *et al.*, 2015; Coster *et al.*, 2015b). Other waterbodies such as lakes limit dispersal and gene flow in populations of *R. sylvatica* in North America (Lee Yaw *et al.*, 2009). The presence of mountains has functioned as geographical barriers in *Allobates femoralis* (Loughheed *et al.*, 1999), *R. luteiventris* (Funk *et al.*, 2005) and *Pelobates cultripes* (Sánchez-Montes *et al.*, 2018). However, mountains do not always act as complete barriers to gene flow; instead, sometimes they can function as semipermeable filters. Such is the case for *E. calamita*, *Hyla molleri* and *Pelophylax perezii* in Spain (Sánchez-Montes *et al.*, 2018).

Landscape elements that had positive effects include forest cover, other types of vegetation, streams and habitat suitability. For example, in *A. truei*, low solar radiation and closed forests were correlated with high levels of gene flow among populations in USA (Spear & Storfer, 2008). Networks of small streams can help maintaining connectivity among populations, functioning as dispersal corridors. In *Rana boylei*, hydrological regions and river basins represent corridors that contribute to maintain genetic variation of populations in USA (Lind *et al.*, 2011).

Landscape genetics studies in anurans from tropical and subtropical zones

Despite the greater threats to biodiversity in the tropics, due to the more dramatic effects of habitat loss than in temperate zones (Ricketts *et al.*, 2005), the number of landscape genetics studies conducted in tropical areas is more limited. Both in the tropics and subtropics, the effects of land cover change,

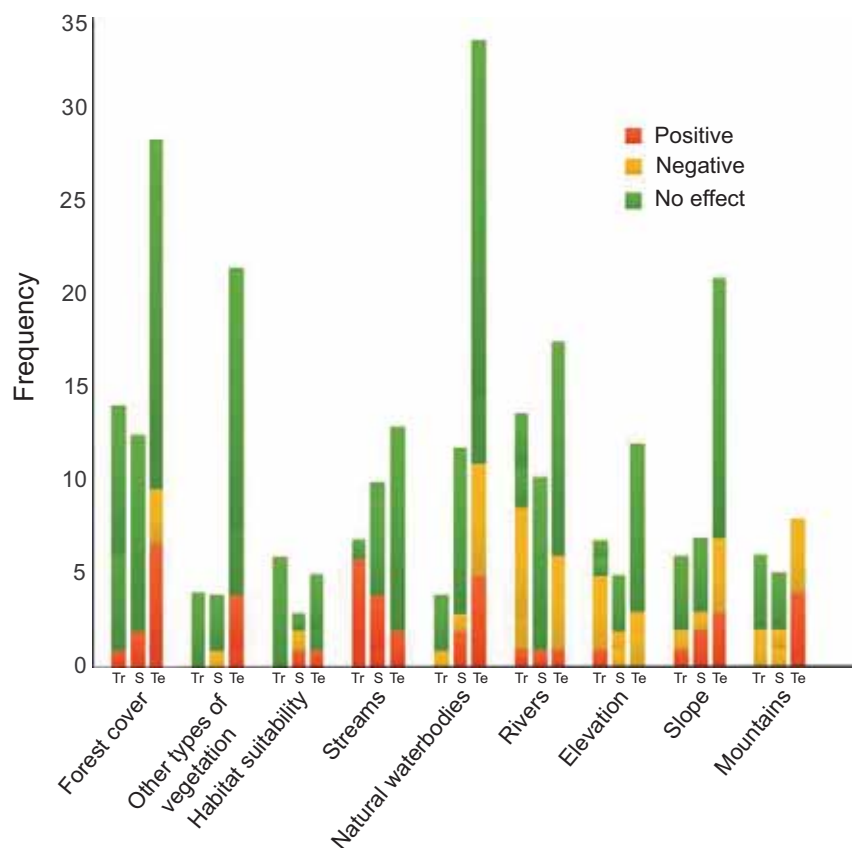


Figure 7 Frequency of the effects (positive, negative or no effect) that different natural elements have on gene flow patterns of anurans in subtropical (S), temperate (Te) and tropical (Tr) regions. [Colour figure can be viewed at [zslpublications.onlinelibrary.wiley.com](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jzo.12500).]

urbanization and fragmentation (mostly in the tropics) on functional connectivity were the most commonly tested, having mostly negative effects or no effects (Fig. 6). The effects of artificial waterbodies have not been investigated, and only one or two studies have tested the effects of roads, despite their strong effect in temperate zones (Fig. 6).

It has been reported that agriculture affects genetic patterns of tropical and subtropical anurans, as it has been shown in *Rhinella ornata* from Brazil. Genetic diversity was lower in smaller forest fragments within a landscape consisting of agricultural crops and original rainforest, probably due to decreased population sizes (Dixo *et al.*, 2009). In Costa Rica, the greatest resistance to connectivity for *Oophaga pumilio* was imposed by palmito plantations, while for *Craugastor bransfordii* it was grasslands (Nowakowski *et al.*, 2015).

As in temperate zones, in tropical and subtropical areas the effects of urbanization and fragmentation have also been mostly negative. For example, urban settlements in Brazil have caused isolation and low levels of gene flow between populations of *Bokermannohyla saxicola* (Eterovick *et al.*, 2016), as well as in *Amietia angolensis*, in Tanzania (Zancolli *et al.*, 2014). Habitat fragmentation in the Mambilla Plateau, Nigeria, has promoted limited connectivity among populations of *Cardioglossa schioetzi* in riparian forests (Arroyo-Lambaer *et al.*,

2018). However, in *Physalaemus cuvieri* high levels of gene flow were detected among fragmented populations in Brazil, which was attributed to the high abundance of the species, its capability to inhabit different types of habitats and its moderate level of dispersion (Pires de Campos Telles *et al.*, 2007).

Regarding natural elements, the effects of streams, rivers, forest cover and slope have been the most commonly tested, while natural waterbodies, other types of vegetation, habitat suitability, elevation and mountains have been the least tested (Fig. 7). In most studies, rivers have shown negative effects. For example, rivers represent significant dispersal barriers in *Gephyromantis enki*, a micro-endemic species of Madagascar, in *Rana kukunoris*, a high elevation species of the Hengduan Mountains in China, and in *Engystomops pustulosus* from Panama (Lampert *et al.*, 2003; Zhao *et al.*, 2009; Wollenberg Valero, 2015). On the contrary, streams constitute dispersal corridors in the Chihuahuan Desert for *Anaxyrus cognatus* (Jungels *et al.*, 2010), in the mountains of Kilimanjaro for *Amietia wittei* (Zancolli *et al.*, 2014) and in the Andes for *Hypsiboas andinus* (Koscinski *et al.*, 2009). Similarly, connectivity along stream networks was positively correlated with gene flow in *Dryophytes wrightorum* from USA (Parsley *et al.*, 2020), *Anaxyrus punctatus* and *Spea multiplicata* (Mims *et al.*, 2015). Forest cover has shown positive effects on gene

flow. In *Hyla squirella*, forest cover (upland oak forest) and, in *D. wrightorum*, large forest areas facilitate gene flow in USA (Hether & Hoffman, 2012; Mims *et al.*, 2016).

Contrary to temperate and subtropical zones, elevation has shown mostly negative effects on gene flow in the tropics. In two sister species (*Dendropsophus luddeckei* and *D. labialis*) with wide altitudinal distribution in a tropical forest in Los Andes, elevation was negatively associated with genetic distance (Guarnizo & Cannatella, 2013). This was attributed to ecological differences along the altitudinal gradient, which restricts the colonization ability of the species. However, in *Nimbaphrynoides occidentalis*, an endemic species of Mount Nimba, low but significant genetic structure was detected, with elevation identified as a semipermeable landscape component allowing functional connectivity (Sandberger-Loua *et al.*, 2018).

In some studies, both in tropical and subtropical zones, a negative effect of mountains has been detected. For example, in *Buergeria robusta* in Taiwan, and *Rana muscosa* in USA, gene flow has been limited by mountains (Schoville *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2012). The effect of slope in the tropics and subtropics shows similar patterns that in temperate zones. Habitats with less topographic complexity and low slopes of the island of Okinawa, Japan, have favored gene flow between populations of *Odorrana ishikawae*, while in *O. splendida*, gene flow among populations decreases due to topographic complexity (Igawa *et al.*, 2013). Similarly, in populations of *Ateolopus varius* of Panama, the slope imposed resistance to movement (Richards-Zawacki, 2009).

Landscape genetics as a tool for the conservation of anurans and their habitats

The results of landscape genetics studies have been used to propose conservation plans for different organisms. Recent reviews in amphibians have included investigations that used molecular tools in combination with spatial and environmental data to address different aspects of the conservation of this threatened group (McCartney-Melstad & Shaffer, 2015; Shaffer *et al.*, 2015). Some of the information generated from landscape genetics studies that are important to consider for species conservation include the maximum dispersal distance and home range, the identification of landscape features that are important for the species and of the threshold that a species has to particular landscape elements (Keller *et al.*, 2015; Joly, 2019). Some studies in anurans have considered one or more of these aspects to propose conservation plans. For example, in populations of *R. temporaria* a threshold of the effect of urbanization on the reduction of gene flow has been identified (Van Burskik, 2012). With information about dispersion of *E. calamita* using landscape genetics analyses, two source populations of conservation priority have been identified (Frei *et al.*, 2016).

The identification of biological corridors to maintain functional connectivity through the use of empirical data and methods such as the least cost path and circuit theory to generate landscape resistance models are of utmost importance for

conservation (Cushman *et al.*, 2006; McRae *et al.*, 2008). The use of each one of these methods will depend on the dispersal patterns and the landscape configuration in which a species inhabits (see Koen *et al.*, 2012; Marrote & Bowman, 2017). A study that employed the least cost path identified that *A. truei* use riparian areas for dispersal (Aguilar *et al.*, 2013). Based on this information, the authors proposed the establishment of 'buffers' containing wet vegetation in forests under management (Aguilar *et al.*, 2013). In addition, to identify biological corridors, it is necessary to propose restoration projects that increase the development of suitable habitats in areas that have been disturbed, in order to reduce the loss of the original habitats of anurans.

Gravity models, an approach to assess connectivity that incorporates within and between-site landscape features simultaneously, are also important for conservation purposes as they allow to include information on the characteristics of the sites that the organisms inhabit (Murphy *et al.*, 2010). Gravity models can also be used to predict changes of landscapes features that are under anthropogenic modification, or under a climatic change scenario. For example, gravity models have allowed to determine that connectivity in *Pseudacris maculata* depends on factors such as humidity and wetland topography (Watts *et al.*, 2015), while in *R. luteiventris*, connectivity is favored by seasonality (warm periods) and productivity (incidence of radiation; Murphy *et al.*, 2010).

Comparative studies of multiple co-distributed species, with different biological traits, are important as they can contribute to identify adaptive responses to unique or shared landscape features, providing elements for decision-making that promote the conservation of threatened ecosystems and not of individual species (Goldberg & Waits, 2010; Richardson, 2012; Zancolli *et al.*, 2014; Wollenberg Valero, 2015; Coster *et al.*, 2015a). It is also important that landscape genetics studies are not limited to report that gene flow is restricted, or that genetic differentiation is significant. Instead, this kind of studies should evaluate whether the detected levels of gene flow and genetic variation represent a risk for the subsistence of populations or if it is enough to allow their adaptation to landscape modifications. Although determining this is not an easy task, there are tools such as CDPOP and CDMetaPOP that use empirical data to simulate genetic structure and demographic processes, allowing to predict the effects of landscape structure and climate change scenarios on genetic interchange (Landguth & Cushman, 2010; Landguth *et al.*, 2017). CDPOP allows simultaneously testing multiple hypotheses of landscape resistance, isolation by barriers and Euclidean distance (Landguth & Cushman, 2010). CDMetaPOP additionally allows the prediction of demographic-genetic responses under different scenarios including environmental variation, presence/absence of barriers, and habitat modification (Landguth *et al.*, 2017). For example, simulations in CDPOP have been performed to understand how genetic diversity of *Ascapus truei* might change in future generations, in a managed and unmanaged area after the eruption of Mount St. Helens volcano (Spear *et al.*, 2012). Results demonstrated that genetic diversity will be affected in the future in response to landscape changes despite the lack of genetic differences between the areas.

Limitations, challenges and future directions

Although the progress of landscape genetics has been very important, there are gaps and limitations in some studies included in this review. Many studies are purely descriptive and lack *a priori* hypotheses regarding the effect of particular elements of the landscape on gene flow and genetic structure. Only few studies have combined field data on the species' movement with landscape genetics analyses. There is also a lack of landscape replicas and only few studies used multi-scale analyses to evaluate the genetic response to landscape variables at different spatial scales as suggested by Cushman & Landguth (2010). Power analyses to evaluate different sampling regimes, particularly the use of simulations that meet a sampling scheme for detecting different landscape genetics hypotheses were rarely conducted in the reviewed studies. The absence of knowledge about biological characteristics of many anuran species, mainly in the tropics, such as dispersal abilities, habitat requirements, and mode of reproduction, also limits the use of an appropriate sampling design. Also, in studies that used a limited number of microsatellites, the levels of gene flow could be overestimated.

When significant effects of the landscape on the genetic patterns were found, among the most common mechanistic explanations included isolation by distance, local extinctions and genetic drift. Authors usually associated these explanations to the restricted dispersal abilities tied to the life-history traits of the studied species. Mechanistic explanations could be further disentangled by performing landscape genetics analyses by sex, as males and females could have different dispersal abilities or behavior. Similarly, landscape characteristics might differ across seasons differentially affecting movement patterns. Interactions with other species, such as competition and predation, should also be considered as they affect the movement of organisms. The lack of effect of the landscape on functional connectivity has been attributed to the ability of the species to disperse through the landscape matrix, their tolerance of desiccation and mode of reproduction, or to the presence of suitable water bodies for reproduction and riparian areas surrounding the affected habitat, which can function as potential biological corridors. Other reasons include that landscape modification is too recent to have affected genetic structure (i.e. time-lag effects) or that common species can be so widely distributed that a small dispersal reduction has no effect, or if landscape features are homogeneous through space, it might be difficult to detect their influence on gene flow.

Landscape genetics is a discipline that has rapidly evolved, and for which analytical methods are still being developed to answer specific research questions. However, it is still difficult to identify a method that meets all statistical assumptions. This was evident from this review, in which several methods were used to answer the same research question. It would be important that future anuran studies use methods that consider uncertainty in the estimation of the landscape resistance parameters, and that combine ecological networks with landscape resistances to better explain the genetic-landscape relationship

(Peterson *et al.*, 2019). Landscape genetics studies in anurans will also benefit from using an individual-based approach that does not require *a priori* delimitation of populations and that is statistically powerful (Balkenhol *et al.*, 2016). It will also be important for studies to assess the effect of landscape at different spatial scales and dimensions on the movement of organisms as well as to evaluate the association of landscape characteristics with genetic structure at local sites (i.e. habitat patches) in addition to assessing the effect of landscape features of the intervening matrix (i.e. between sites). Comparisons of the effect of fragmented *versus* conserved landscapes on gene flow are also warranted to explicitly assess the effect of habitat loss. Comparisons on landscape genetics patterns based on historical versus recent landscape change would help to predict future impacts. Landscape genetics studies in anurans should also take advantage of next generation technologies by implementing RAD sequencing in SNPs discovery and genotyping to have a better resolution for detecting significant effects.

Landscape genetics studies of anuran from tropical and subtropical areas are underrepresented compared to studies in temperate zones, despite of the greater anuran diversity that the tropics and subtropics harbor. This may be the result of a lower number of studies carried out in the tropics and subtropics, either due to a lack of resources to conduct research or because there are less researchers trained on landscape genetics. It is essential to focus research efforts in these vulnerable areas and that studies include specific conservation proposals, especially for species under some category of risk or those that inhabit highly threatened ecosystems.

Acknowledgments

We thank Rafael Hernández-Guzmán, Omar Chassin, Leonel López-Toledo and two anonymous reviewers for providing useful comments on a previous version of the manuscript. We also thank Cinthya Mendoza-Almeralla for helping to collect data about life-history traits of the species included in this review. This work was supported by a grant from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) PDCPN 2015-1250 to C.G. and by a graduate scholarship to S. Covarrubias from the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). This study constitutes partial fulfillment to the S. Covarrubias's PhD. (Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas) by the UMSNH.

Conflict of interest

None.

References

- Aguilar, A., Douglas, R.B., Gordon, E., Baumsteiger, J. & Goldsworthy, M.O. (2013). Elevated genetic structure in the coastal tailed frog (*Ascaphus truei*) in managed redwood forests. *J. Hered.* **104**, 202–216.

- Arens, P., van der Sluis, T., van't Westende, W.P.C., Vosman, B., Vos, C.C. & Smulders, M.J.M. (2007). Genetic population differentiation and connectivity among fragmented Moor frog (*Rana arvalis*) populations in The Netherlands. *Lands. Ecol.* **22**, 1489–1500.
- Arroyo-Lambaer, A., Chapman, H., Hale, M. & Blackburn, D. (2018). Conservation genetics of two threatened frogs from the Mambilla highlands, Nigeria. *PLoS One* **13**, e0202010.
- Balkenhol, N., Cushman, S.A., Waits, L.P. & Storfer, A. (2016). *Landscape genetics: concepts, methods, applications*. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Beebe, T.J.C. & Griffiths, R.A. (2005). The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? *Biol. Cons.* **125**, 271–285.
- Callery, E.M., Fang, H. & Elinson, R.P. (2001). Frogs without polliwogs: evolution of anuran direct development. *BioEssays* **23**, 233–241.
- Chan, K.O. & Brown, R.M. (2019). Elucidating the drivers of genetic differentiation in Malaysian torrent frogs (Anura: Ranidae: *Amolops*): a landscape genomics approach. *Zool. J. Linnean Soc.* **190**, 65–78.
- Collins, J.P. & Storfer, A. (2003). Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Divers. Distrib.* **9**, 89–98.
- Coster, S.S., Babbitt, K.J., Cooper, A. & Kovach, A.I. (2015a). Limited influence of local and landscape factors on finescale gene flow in two pond-breeding amphibians. *Mol. Ecol.* **24**, 742–758.
- Coster, S.S., Babbitt, K.J., Cooper, A. & Kovach, A.I. (2015b). High genetic connectivity in wood frogs (*Lithobates sylvaticus*) and spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*) in a commercial forest. *Herpet. Conserv. Bio.* **10**, 64–68.
- Crosby, M.K.A., Licht, L.E. & Fu, J. (2009). The effect of habitat fragmentation on finescale population structure of wood frogs (*Rana sylvatica*). *Conserv. Genet.* **10**, 1707–1718.
- Cusaac, J.P., Morrison, S.A., Belden, J.B., Smith, L.M. & McMurry, S.T. (2016). Acute toxicity of Headline® fungicide to Blanchard's cricket frogs (*Acris blanchardi*). *Ecotoxicology* **25**, 447–455.
- Cushman, S.A. (2006). Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biol. Conserv.* **128**, 231–240.
- Cushman, S.A. & Landguth, E.L. (2010). Scale dependent inference in landscape genetics. *Lands. Ecol.* **25**, 967–979.
- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J. & Schwartz, M.K. (2006). Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *Am. Nat.* **168**, 486–499.
- Dixo, M., Metzger, J.P., Morgante, J.S. & Zamudio, K.R. (2009). Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biol. Conserv.* **142**, 1560–1569.
- Dodd, C.K. (2009). *Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques*. (Eds). Oxford: Oxford University Press.
- Duellman, W.E. & Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians*. (Eds). Baltimore: John Hopkins University Press.
- Eterovick, P.C., Sloss, B.L., Scalzo, J.A.M. & Alford, R.A. (2016). Isolated frogs in a crowded world: Effects of human-caused habitat loss on frog heterozygosity and fluctuating asymmetry. *Biol. Conserv.* **195**, 52–59.
- Frankham, R., Briscoe, D.A. & Ballou, J.D. (2002). *Introduction to Conservation Genetics*. (Eds). Cambridge: Cambridge University Press.
- Frei, M., Csensics, D., Brodbeck, S., Schweizer, E., Bühler, C., Gugerli, F. & Bollinger, J. (2016). Combining landscape genetics, radio-tracking and long term monitoring to derive management implications for Natterjack toads (*Epidalea calamita*) in agricultural landscapes. *J. Nat. Conserv.* **32**, 22–34.
- Funk, W.C., Blouin, M.S., Corn, P.S., Maxell, B.A., Pilliod, D.S., Amish, S. & Allendorf, F.W. (2005). Population structure of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Mol. Ecol.* **14**, 483–496.
- Gabrielsen, C.G., Kovach, A.I., Babbitt, K.J. & McDowell, W.H. (2013). Limited effects of suburbanization on the genetic structure of an abundant vernal pool-breeding amphibian. *Conserv. Genet.* **14**, 1083–1097.
- Goldberg, C.S. & Waits, L.P. (2010). Comparative landscape genetics of two pond-breeding amphibian species in a highly modified agricultural landscape. *Mol. Ecol.* **19**, 3650–3663.
- Grummer, J.A. & Leaché, A.D. (2017). Do dams also stop frogs? Assessing population connectivity of coastal tailed frogs (*Ascaphus truei*) in the North Cascades National Park Service Complex. *Conserv. Genet.* **18**, 439–451.
- Guarnizo, C.E. & Cannatella, D.C. (2013). Geographic determinants of gene flow in two sister species of tropical Andean frogs. *J. Hered.* **105**, 216–225.
- Guillot, G. & Rousset, F. (2013). Dismantling the Mantel test. *Methods Ecol. Evol.* **4**, 336–344.
- Hamer, A.J. & Parris, K.M. (2011). Local and landscape determinants of amphibian communities in urban ponds. *Ecol. Appl.* **21**, 378–390.
- Hether, T.D. & Hoffman, E.A. (2012). Machine learning identifies specific habitats associated with genetic connectivity in *Hyla squirella*. *J. Evol. Biol.* **25**, 1039–1052.
- Hitchings, S.P. & Beebe, T.J.C. (1997). Genetic substructuring as a result of barrier to gene flow in urban *Rana temporaria* (common frog) populations: implications for biodiversity conservation. *Heredity* **79**, 117–127.
- Hutchison, D.W. & Templeton, A.R. (1999). Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution* **53**, 1898–1914.
- Igawa, T., Oumi, S., Katsuren, S. & Sumida, M. (2013). Population structure and landscape genetics of two endangered frog species of genus *Odorrana*: different scenarios on two islands. *Heredity* **110**, 46–56.
- IUCN. (2004). *Conservation International and NatureServe. Global Amphibian Assessment*. URL: <https://www.globalamphibians.org>
- Jenkins, David G., Carey, Michael, Czerniewska, Justyna, Fletcher, Jennifer, Hether, Tyler, Jones, Amanda, Knight,

- Stacy, Knox, Joseph, Long, Tonya, Mannino, Mary, McGuire, Morgan, Riffle, Andrea, Segelsky, Shannon, Shappell, Logan, Sterner, Andrew, Strickler, Treanna & Tursi, Rosanna (2010). A meta-analysis of isolation by distance: relic or reference standard for landscape genetics? *Ecography* **33**, 315–320.
- Joly, P. (2019). Behavior in a changing landscape: using movement ecology to inform the conservation of pond-breeding amphibians. *Front. Ecol. Evol.* **7**, 155.
- Jungels, J.M., Griffis-Kyle, K.L. & Boeing, W.J. (2010). Low genetic differentiation among populations of the Great Plains Toad (*Bufo cognatus*) in the southern New Mexico. *Copeia* **2010**, 388–396.
- Keely, C.C., Hale, J.M., Heard, G.W., Parris, K.M., Sumner, J., Hamer, A.J. & Melville, J. (2015). Genetic structure and diversity of the endangered growling grass frog in a rapidly urbanizing. *R. Soc. Open Sci.* **2**, 140255.
- Keller, D., Holderegger, R. & Van Strien, M.J. (2015). How to make landscape genetics beneficial for conservation management? *Conserv. Genet.* **16**, 503–512.
- Kobayashi, S., Abe, S. & Matsuki, R. (2013). Genetic structure of a Japanese brown frog *Rana japonica* implies severe restriction of gene flow caused by recent urbanization in a satoyama landscape. *Mitochondrial DNA*. **24**, 697–704.
- Koen, E.L., Bowman, J. & Walpole, A.A. (2012). The effect of cost surface parameterization on landscape resistance estimates. *Mol. Ecol. Resour.* **12**, 686–696.
- Koscinski, D., Yates, A.G., Handford, P. & Loughheed, S.C. (2009). Effects of landscape and history on diversification of a montane, stream-breeding amphibian. *J. Biogeogr.* **36**, 255–265.
- Lampert, K.P., Rand, A.S., Mueller, U.G. & Ryan, M.J. (2003). Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog *Physalaemus pustulosus*. *Mol. Ecol.* **12**, 3325–3334.
- Landguth, E.L., Bearlin, A., Day, C.C. & Dunham, J. (2017). CDMetaPOP: an individual-based, eco-evolutionary model for spatially explicit simulation of landscape demogenetics. *Methods Ecol. Evol.* **8**, 4–11.
- Landguth, E.L. & Cushman, S.A. (2010). CDPOP: a spatially explicit cost distance population genetics program. *Mol. Ecol. Resour.* **10**, 156–161.
- Lee-Yaw, J.A., Davison, A., McRae, B.H. & Greens, D.M. (2009). Do landscape processes predict phylogeographic patterns in the wood frog? *Mol. Ecol.* **18**, 1863–1874.
- Lendhardt, P.P., Schäfer, R.B., Theissinger, K. & Brühl, C.A. (2013). An expert-based landscape permeability model for assessing the impact of agricultural management on amphibian migration. *Basic Appl. Ecol.* **14**, 442–451.
- Lendhardt, P.P., Brühl, C.A., Leeb, C. & Theissinger, K. (2017). Amphibian population genetics in agricultural landscapes: does viticulture drive the population structuring of the European common frog (*Rana temporaria*)? *PeerJ* **5**, e3520.
- Lesbarrères, D., Primmer, C.R., Lodé, T. & Merilä, J. (2006). The effects of 20 years of highway presence on the genetic structure of *Rana dalmatina* populations. *Ecoscience* **13**, 531–538.
- Lin, H.-D., Chen, Y.-R. & Lin, S.-M. (2012). Strict consistency between genetic and topographic landscapes of the brown tree frog (*Buergeria robusta*) in Taiwan. *Mol. Phylogenet. Evol.* **62**, 251–262.
- Lind, A.J., Spinks, P.Q., Fellers, G.M. & Shaffer, B.H. (2011). Rangelwide phylogeography and landscape genetics of the Western U.S. endemic frog *Rana boylei* (Ranidae): implications for the conservation of frogs and rivers. *Conserv. Genet.* **12**, 269–284.
- Loughheed, S.C., Gascon, C., Jones, D.A., Bogart, J.P. & Boag, P.T. (1999). Ridges and rivers: a test of competing hypotheses of Amazonian diversification using a dart-poison frog (*Epipedobates femoralis*). *Philos. R. Soc. Lond. B Bio.* **266**, 1829–1835.
- Marrote, R.R. & Bowman, J. (2017). The relationship between least-cost and resistance distance. *PLoS One* **12**, e0174212.
- Marsh, D.M. & Trenham, P.C. (2001). Metapopulation dynamics and amphibian conservation. *Conserv. Biol.* **15**, 40–49.
- Martínez-Solano, I. & González, E.G. (2008). Patterns of gene flow and source-sink dynamics in high altitud populations of the common toad *Bufo bufo* (Anura:Bufonidae). *Biol. J. Linn. Soc.* **95**, 824–839.
- McCartney-Melstad, E., Gidis, M. & Shaffer, B.H. (2018). Population genomic data reveal extreme geographic subdivision and novel conservation actions for the declining foothill yellow-legged frog. *Heredity* **121**, 112–125.
- McCartney-Melstad, E. & Shaffer, B.H. (2015). Amphibian molecular ecology and how it has informed conservation. *Mol. Ecol.* **24**, 5084–5109.
- McRae, B.H., Dickson, B.G., Keitt, T.H. & Shah, V.B. (2008). Using circuit theory to model connectivity in ecology, evolution, and conservation. *Ecology* **89**, 2712–2724.
- Mims, M.C., Hauser, L., Goldberg, C.S. & Olden, J.D. (2016). Genetic differentiation, isolation-by-distance, and metapopulation dynamics of the Arizona treefrog (*Hyla wrightorum*) in an Isolated Portion of Its Range. *PLoS One* **8**, e0160655.
- Mims, M.C., Phillipsen, I.C., Lyte, D.A., Hartfield-Kirk, E.E. & Olden, J.D. (2015). Ecological strategies predict associations between aquatic and genetic connectivity for dryland amphibians. *Ecology* **96**, 1371–1382.
- Murphy, M.A., Dezzani, R., Pilliod, D.S. & Storfer, A. (2010). Landscape genetics of high mountain frog metapopulations. *Mol. Ecol.* **19**, 3634–3649.
- Neckel-Oliveira, S. & Lanoo, M.J. (2007). Effects of forest disturbance on breeding Habitat availability for two species of anurans in the Amazon. *Copeia* **2007**, 186–192.
- Nowakowski, A.J., Veiman-Echeverria, M., Kurz, D.J. & Donnelly, M.A. (2015). Evaluating connectivity for tropical amphibians using empirically derived resistance surfaces. *Ecol. Appl.* **25**, 928–942.
- Parsley, M.B., Torres, M.L., Banerjee, S.M., Tobias, Z.J.C., Goldberg, C.S., Murphy, M.A. & Mims, M.C. (2020). Multiple lines of genetic inquiry reveal effects of local and

- landscape factors on an amphibian metapopulation. *Landscape Ecol.* **35**, 319–335.
- Pereira-Monteiro, W., Costa-Veiga, J., Reis-Silva, A., da Silva-Carvalho, C., Malta-Lanes, E.C., Rico, Y. & Jaffé, R. (2019). Everything you always wanted to know about gene flow in tropical landscapes (but were afraid to ask). *PeerJ.* **13**, e6446.
- Peterson, E.E., Hanks, E.M., Hooten, M.B., Ver Hoef, J.M. & Fortin, M.J. (2019). Spatially structured statistical network models for landscape genetics. *Ecol. Monogr.* **89**, e01355.
- Phillipsen, I.C., Funk, C.W., Hoffman, E.A., Monsen, K.J. & Blouin, M.S. (2011). Comparative analyses of effective population size within and among species: Ranid frogs a case study. *Evolution* **65**, 2927–2945.
- Pires de Campos Telles, M., Felizola Diniz-Filho, J.A., Pereira Bastos, R., Nascimento Soares, T., Dall'Ara Guimarães, L. & Pedrosa Lima, L. (2007). Landscape genetics of *Physalaemus cuvieri* in Brazilian Cerrado: Correspondence between population structure and patterns of human occupation and habitat loss. *Biol. Conserv.* **139**, 37–46.
- Richardson, J.L. (2012). Divergent landscape effects on population connectivity in two co-occurring amphibian species. *Mol. Ecol.* **21**, 4437–4451.
- Richards-Zawacki, C.L. (2009). Effects of slope and riparian habitat connectivity on gene flow in an endangered Panamanian frog, *Atelopus varius*. *Divers. Distrib.* **15**, 796–806.
- Ricketts, T.h, Dinerstein, E., Boucher, T., Brooks, T.m, Butchart, S.h m, Hoffmann, M., Lamoreux, J.f, Morrison, J., Parr, M., Pilgrim, J.d, Rodrigues, A.s l, Sechrest, W., Wallace, G.e, Berlin, K., Bielby, J., Burgess, N.d, Church, D.r, Cox, N., Knox, D., Loucks, C., Luck, G.w, Master, L.l, Moore, R., Naidoo, R., Ridgely, R., Schatz, G.e, Shire, G., Strand, H., Wettengel, W. & Wikramanayake, E. (2005). Pinpointing and preventing imminent extinctions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 18497–18501.
- Rittenhouse, T.A.G. & Semlitsch, R.D. (2006). Grasslands as movement barriers for a forest-associated salamander: Migration behavior of adult and juvenile salamanders at a distinct habitat edge. *Biol. Conserv.* **131**, 14–22.
- Sánchez-Montes, G., Wang, J., Ariño, A.H. & Martínez-Solano, I. (2018). Mountains as barriers to gene flow in amphibians: Quantifying the differential effect of a major mountain ridge on the genetic structure of four sympatric species with different life history traits. *J. Biogeogr.* **45**, 318–331.
- Sandberger-Loua, L., Rödel, M.-O. & Feldhaar, H. (2018). Gene flow in the clouds: landscape genetics of a viviparous, montane grassland toad in the tropics. *Conserv. Genet.* **19**, 169–180.
- Sarasola-Puente, V., Madeira, M.J., Gosá, A., Lizana, M. & Gómez-Moliner, B. (2012). Population structure and genetic diversity of *Rana dalmatina* in the Iberian Peninsula. *Conserv. Genet.* **13**, 197–209.
- Schmeller, D.S. & Mèrilla, J. (2007). Demographic and Genetic Estimates of Effective Population and Breeding Size in the Amphibian *Rana temporaria*. *Conserv. Biol.* **21**, 142–151.
- Schoville, S.D., Tustall, T.S., Vredenburg, V.T., Backlin, A.R., Gallegos, E., Wood, D.A. & Fisher, R.N. (2011). Conservation genetics of evolutionary lineages of the endangered mountain yellow-legged frog, *Rana muscosa* (Amphibia: Ranidae), in southern California. *Biol. Conserv.* **144**, 2031–2040.
- Semlitsch, R.D. (2008). Differentiating migration and dispersal processes for pond-breeding amphibians. *J. Wildl. Manage.* **72**, 260–267.
- Semlitsch, R.D. & Reyer, H.U. (1992). Modification of anti-predator behaviour in tadpoles by environmental conditioning. *J. Anim. Ecol.* **61**, 353–360.
- Shaffer, H.B., Gidis, M., McCartney-Melstad, E., Neal, K.M., Oyamaguchi, H.M., Tellez, M. & Toffelmier, E.M. (2015). Conservation genetics and genomics of amphibians and reptiles. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* **3**, 113–138.
- Smith, M.A. & Green, D.M. (2005). Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* **28**, 110–128.
- Spear, S.F., Crisafulli, C.M. & Storfer, A. (2012). Genetic structure among coastal tailed frog populations at Mount St. Helens is moderated by post-disturbance management. *Ecol. Appl.* **22**, 856–869.
- Spear, S.F. & Storfer, A. (2008). Landscape genetic structure of coastal tailed frogs (*Ascaphus truei*) in protected vs. managed forests. *Mol. Ecol.* **17**, 4642–4656.
- Van Burskik, J. (2012). Permeability of the landscape matrix between amphibian breeding sites. *Ecol. Evol.* **2**, 3160–3167.
- Van Buskirk, J. & Jansen van Rensburg, A. (2020). Relative importance of isolation-by-environment and other determinants of gene flow in an alpine amphibian. *Evolution* **74**, 962–978.
- Villaseñor, N.R., Driscoll, D.A., Gibbons, P., Calhoun, A.J.K. & Lindenmayer, D.B. (2017). The relative importance of aquatic and terrestrial variables for frogs in and urbanizing landscape: key insight for sustainable urban development. *Landscape Urban Plan.* **157**, 26–35.
- Vos, C.C., Antonisse-de Jong, A.G., Goedhart, P.W. & Smulders, M.J.M. (2001). Genetic similarity as a measure for connectivity between fragmented populations of the moor frog (*Rana arvalis*). *Heredity* **86**, 598–608.
- Wang, I.J. (2012). Environmental and topographic variables shape genetic structure and effective population sizes in the endangered Yosemite toad. *Divers. Distrib.* **18**, 1033–1041.
- Waraniak, J.M., Fisher, J.D., Purcell, K., Mushet, D.M. & Stockwell, C.A. (2019). Landscape genetics reveal broad and fine-scale population structure due to landscape features and climate history in the northern leopard frog (*Rana pipiens*) in North Dakota. *Ecol. Evol.* **9**, 1041–1060.
- Watts, A.G., Schlichting, P.E., Billerman, S.M., Jesmer, B.R., Micheletti, S., Fortin, M.J., Funk, W.C., Hapeman, P., Muths, E. & Murphy, M.A. (2015). How spatio-temporal habitat connectivity affects amphibian genetic structure. *Front. Genet.* **6**, 275.

- Wollenberg Valero, K.C. (2015). Evidence for an intrinsic factor promoting landscape genetic divergence in Madagascar leaf-litter frogs. *Front. Genet.* **6**, 155.
- Youngquist, M.B., Inoue, K., Berg, D.J. & Boone, M.D. (2017). Effects of land use on population presence and genetic structure of an amphibian in an agricultural landscape. *Landscape Ecol.* **32**, 147–162.
- Zancolli, G., Rödel, M.O., Steffan-Dewenter, I. & Storfer, A. (2014). Comparative landscape genetics of two river frog species occurring at different elevations on Mount Kilimanjaro. *Mol. Ecol.* **23**, 4989–5002.

- Zhao, S., Dai, Q. & Fu, J. (2009). Do rivers function as genetic barriers for the plateau wood frog at high elevations? *J. Zool.* **279**, 270–276.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Appendix S1. List of references not cited in the text, but analyzed in this review.



CAPÍTULO II

Functional connectivity of an endemic tree frog in a highly threatened tropical dry forest in Mexico

Publicado en *Écoscience* 29, 69–85 (2022) doi:10.1080/11956860.2021.1921935



Functional connectivity of an endemic tree frog in a highly threatened tropical dry forest in Mexico

Sara Covarrubias^a, Carla Gutiérrez-Rodríguez^b, Octavio Rojas-Soto ^b, Rafael Hernández-Guzmán^a and Clementina González ^a

^aInstituto de Investigaciones Sobre Los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás De Hidalgo, Michoacán, México; ^bRed de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología AC (INECOL), Xalapa, Veracruz, México

ABSTRACT

The increase in anthropogenic activities that lead to fragmentation and habitat loss, could result in a reduction of connectivity among habitat patches of terrestrial species. We used ecological niche models, circuit and graph theories to evaluate functional connectivity among home-range patches and suitable habitat patches of the Mexican Leaf Frog (*Agalychnis dacnicolor*), in a heterogeneous landscape of tropical dry forest (TDF) in central-western Mexico. We found high connectivity among home-range patches within the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (CCBR) and among those surrounding the CCBR. Similarly, suitable habitat patches along the Pacific slope (except those in the South) were well-connected. Conversely, we detected weak connectivity in the southern and eastern parts of the study area, which is in accordance with the poor habitat quality and fragmentation that characterize that zone. Suitable habitat patches with the largest areas of TDF were the most important in maintaining functional connectivity, but only one patch was within a natural protected area. Our results highlight the importance of conserving large and continuous patches of habitat in a very threatened landscape to maintain connectivity in *A. dacnicolor* and probably in other anurans.

RÉSUMÉ

L'augmentation des activités humaines qui a mené à la fragmentation et à la perte d'habitats pourrait réduire la connectivité entre les parcelles d'habitat d'espèces terrestres. Nous avons utilisé des modèles de niches écologiques et les théories des circuits et des graphes afin d'évaluer la connectivité fonctionnelle entre les parcelles du domaine vital et les parcelles d'habitat propice de la rainette du Mexique (*Agalychnis dacnicolor*) dans un paysage hétérogène de forêt tropicale sèche du Centre-Ouest du Mexique. Nous avons trouvé une connectivité élevée entre les parcelles de domaine vital dans la Réserve de biosphère de Chamela-Cuixmala et entre les parcelles entourant la Réserve. De la même manière, les parcelles d'habitat favorable du versant pacifique (sauf celles au sud) étaient bien connectées. À l'opposé, nous avons détecté une faible connectivité des parties sud et est de l'aire d'étude, en concordance avec la faible qualité et la fragmentation qui caractérisent cette zone. Les parcelles d'habitat propice avec les plus grandes superficies de forêt tropicale sèche étaient les plus importantes pour le maintien de la connectivité fonctionnelle, mais seule une parcelle était à l'intérieur d'une aire protégée. Nos résultats soulignent l'importance de conserver de grandes parcelles d'habitat continu dans un paysage très menacé pour maintenir la connectivité de *A. dacnicolor* et probablement d'autres anoures.

ARTICLE HISTORY

Received 13 Jan 2021
Accepted 22 April 2021

KEYWORDS

Circuit theory; dispersal; ecological niche models; fragmentation; habitat loss; landscape

Mots clés

Théorie des circuits; dispersion; modèles de niches écologiques; fragmentation; perte d'habitat; paysage

Introduction

Tropical forests are among the most biodiverse ecosystems worldwide due to their high levels of species richness and endemism (Whitmore 1998; Mittermeier et al. 2011). However, the biodiversity of these ecosystems is threatened by habitat loss and fragmentation that result from immoderate logging, expansion of agricultural fields and human settlements (Morris 2010; Newbold et al. 2015; Barlow et al. 2016). Habitat loss (the reduction of areas with optimal habitat for the species), in

combination with fragmentation (the division of the landscape into patches of vegetation), can cause reductions in population sizes and species loss (Dirzo et al. 2014; Fahrig 2017; Schlaepfer et al. 2018). Both habitat loss and fragmentation affect landscape composition, which in turn influences the movement of individuals among patches containing the necessary resources for reproduction and survival (i.e. structural connectivity; Taylor et al. 1993). In addition to landscape composition, the movement of individuals is influenced by the

dispersal capacity of the species (i.e. functional connectivity; Tischendorf and Fahrig 2000; Taylor et al. 2006). The movement of species throughout the landscape is vital for obtaining resources, performing seasonal migrations, dispersing between natal and reproductive sites, as well as for switching their niche in response to climate change (Dingle 2014). Therefore, the study of connectivity is of utmost importance.

Landscapes are fragmented by natural elements such as the interface between water and land or the presence of mountain ranges (Pickett and White 2013), as well as by the presence of anthropogenic elements such as roads, railways and human settlements, which can negatively affect habitats. For example, fragmentation due to human activities can increase the edge effect that could result in temperature increases and humidity reductions (Ewers and Banks-Leite 2013). It can also limit connectivity, having important consequences for species, as it occurs in most landscapes worldwide (Bennet and Saunders 2010; Haddad et al. 2015). Many landscapes (mostly in the tropics) consist of semi-natural matrices (Dirzo and Raven 2003) formed by forest remnants immersed in areas of crops and grasslands (Arroyo-Rodríguez et al. 2017). The isolation among forest remnants in combination with changes in their structure and composition can affect the movement patterns of individuals and ultimately connectivity among populations (Lindenmayer and Fischer 2007). Evaluating functional connectivity is therefore fundamental for the conservation of populations, as it assesses the movement of individuals, which is essential for gene exchange and for the stability of populations (Taylor et al. 1993).

One approach to evaluate functional connectivity is through simulations of the dispersion of organisms within a matrix, which is then converted to resistance surfaces to identify connections among patches. Landscape matrices consist of cells with values that represent the cost for an organism to move across different landscape elements, with higher values indicating greater resistance to movement. Resistance values can be obtained from expert opinions (Epps et al. 2007) or from empirical data derived from telemetry studies (Spear et al. 2010). The patches within the landscape matrix can be delimited using the species' home-range (habitat that contains the necessary resources for foraging, spawning and overwintering; Zetterberg et al. 2010; Decout et al. 2012) or by the predictive identification of the species' suitable habitat through ecological niche modeling (ENM; Decout et al. 2012; Almpnidou et al. 2014; Correa Ayram et al. 2014). Other commonly used methods to evaluate functional connectivity are the least-cost path and circuit theory, both based on cost distance (Adriaensen et al. 2003; McRae et al.

2008); and network analysis, based on graph theory (Minor and Urban 2008).

Amphibians are a group susceptible to changes in local and regional conditions of the habitat and to the spatial configuration of water ponds within the landscape (Cushman 2006; Skelly 2013), mainly as a result of their high specialization to microhabitats, permeable skin, and low vagility (2 km on average; Smith and Green 2005). These characteristics make anurans a particularly vulnerable group to environmental disturbance as a result of anthropogenic pressures (Cushman 2006). Most amphibians have a biphasic life cycle, in which eggs and larvae develop in water bodies, while metamorphosis from juvenile to adult occurs in terrestrial habitats (Dodd 2009). The metapopulation dynamics that characterizes amphibians, results in a strong fidelity to breeding sites and seasonal mobility (Trenham et al. 2003; Smith and Green 2005), making their ability to disperse between terrestrial habitats and water bodies vital for their persistence (Cushman 2006; Semlitsch 2008).

In Mexico, the tropical dry forest (TDF) is one of the most represented ecosystems, covering 12% of the country's surface along the Pacific slope (Challenger and Soberón 2008). The TDF is characterized by harboring a large number of species and endemism of both plants and animals (García 2006); amphibians being the group of vertebrates with the highest levels of endemism (54%; García et al. 2007). However, this ecosystem is under a high rate of deforestation and transformation (Trejo and Dirzo 2000), mainly as a result of changes in land use due to agricultural and tourism activities (Maass et al. 2005; Ceballos and Valenzuela 2010; Prieto-Torres et al. 2021). Such deterioration is driving the TDF to an alarming rate of species loss (Trejo and Dirzo 2002; Prieto-Torres et al. 2021); it has been estimated that at least 15% of the species are at risk of extinction (Ceballos et al. 1999).

Because of the vulnerability that characterizes amphibians in combination with the constant anthropogenic pressures such as habitat loss, degradation and fragmentation to which are subjected the species inhabiting TDF, it is important to use multiple tools to detect areas that facilitate connectivity among habitat patches. The main goal of this study was to evaluate functional connectivity (herein connectivity) among home-range patches and among habitat patches with suitable conditions for the Mexican Leaf Frog (*Agalychnis dacnicolor*), an endemic arboreal species, in a landscape encompassing the TDF of central-western Mexico. The specific goals were to: (1) delimit home-range patches of *A. dacnicolor*; (2) identify habitat patches with suitable environmental conditions for the species as predicted by ENM; (3) evaluate

connectivity among home-range patches and among suitable habitat patches (predicted by ENM) using circuit theory and network analysis; and (4) identify the most important patches to maintain connectivity within the landscape and quantify their contribution.

Materials and methods

Study species

Agalychnis dacnicolor (Phyllomedusidae) is an arboreal nocturnal species that inhabits forests with high vegetation cover (Soto-Sandoval et al. 2017). The species is distributed in the TDFs of the Mexican Pacific slope, from southern Sonora to southern Oaxaca as well as in the Balsas depression, at elevations ranging from 0 to 1000 m asl. The life cycle of *A. dacnicolor* is biphasic, depending on vegetation and water bodies for its reproduction. During the rainy season (June–October), males and females descend from trees and shrubs to lower strata near water ponds or puddles to reproduce (Pyburn 1970). *A. dacnicolor* is active mainly during the rainy season, while during the dry season (November–May) individuals hide within leaves or artificial ponds that provide humidity.

Study area

The study area is located in the physiographic sub-province ‘Sierras de la Costa de Jalisco y Colima’ between 18° 50′ – 20° 02′ N and 103° 15′ – 105° 28′ W, comprising an area of 32,644 km². Vegetation characteristic of TDF predominates in the area but evergreen forest, riparian vegetation and mangroves are also present (Figure 1). The TDF is characterized by a marked seasonality, with pronounced dry (November–May) and rainy (June–October) seasons, which determine plant phenology (Trejo 1999). The region is predominantly mountainous, dominated by hills with moderate to strong slopes (Trejo 2010). The Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (CCBR) is located northwest of the study area, comprising an area of 13,142 ha of conserved TDF (Ceballos et al. 1999). Temporary streams are present through the Reserve as well as permanent rivers in the northwest and southern parts (Noguera et al. 2002). Since the 1960s, the landscape of the study region has been gradually transformed into a complex mosaic of human settlements, agricultural fields, and grasslands, with few large areas of mature forest and small forest patches under different states of succession (Burgos and Maass 2004). Such transformation has been more drastic in the southern

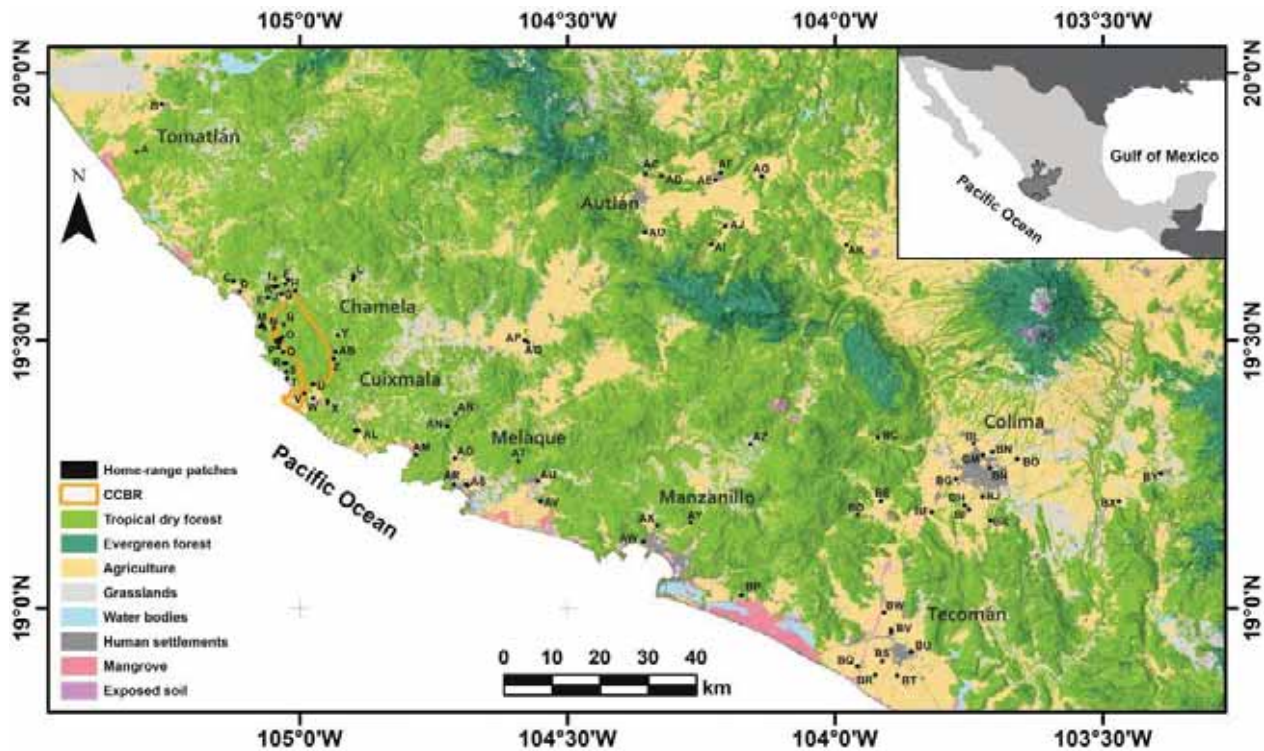


Figure 1. Study area (Jalisco and Colima) showing home-range patches (A–BY) of *A. dacnicolor* simulated using 106 georeferenced points and a 368-m radius buffer. The location of the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (CCBR) is shown, as well as the different types of vegetation and the presence of water bodies and human settlements. The inset indicates the location of the study area in Mexico.

part of the study area, where the extension of TDF has been considerably reduced (Palacio-Prieto et al. 2000), with ~48% of the surface area consisting of agricultural fields, livestock and human settlements (Sandoval-Legazpi and Castañeda-Palomera 2014).

Delimitation of home-range patches

Home-ranges for anurans are terrestrial buffer zones surrounding water bodies that are used for foraging, shelter, and as hibernation sites (Powell and Mitchell 2012). To delimit home-range patches of *A. dacnicolor* we obtained a total of 106 georeferenced points within the study area from the reproductive season (July–October). Of these, 35 corresponded to sites where we carried out collections during 2018, and 71 to points that we obtained from public databases such as the Global Biodiversity Information Facility (GBIF; <https://www.gbif.org/>) accessed on 11 September 2020, VertNet (<http://vertnet.org/index.html>), the National Collection of Amphibians and Reptiles of the Instituto de Biología (UNAM) and the Herpetological Collection of the Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales (INIRENA) from the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) (Table S1). Most of the collection sites and georeferenced points that we obtained from public databases were located in or near natural or artificial water ponds, as confirmed in Google Earth. We delimited home-range patches by establishing buffers with a 368-m radius from each georeferenced point in ArcGIS version 10.3.1 (ESRI 2015). This radius corresponds to the mean maximum core distance of terrestrial habitat surrounding amphibians ponds, and calculated from adult populations of 19 species of the genera *Hyla*, *Bufo*, *Rana* and *Pseudacris* (reviewed in Semlitsch and Bodie 2003), in the absence of empirical data for *A. dacnicolor*. Despite the variation in habitat use that may exist among species, the use of the maximum distance has been recommended to set biologically meaningful buffers of terrestrial habitat surrounding reproductive aquatic habitats of species with similar habits (Semlitsch and Bodie 2003).

Environmental variables used in the construction of the resistance surface

To construct the resistance surface for the analysis of connectivity among home-range patches, we used natural and anthropogenic variables of the landscape that are important for anurans: elevation, rivers, Compound Topographic Index (CTI), land use and land cover, type of road, and distance to human settlements. Elevation and

rivers can facilitate or impede the dispersion of anurans depending on the species' dispersal ability and physiological limits (in the case of elevation) and on the intensity of water flow and order of the rivers (Lampert et al. 2003; Funk et al. 2005). CTI is important for water retention and therefore for the establishment of water ponds on terrestrial surface (Gómez-Rodríguez et al. 2009). Forests can facilitate dispersal, while agriculture and pastures can limit the movements of arboreal anurans (Hether and Hoffman 2012; Clauzel et al. 2015). Urbanization and the presence of roads can dramatically change habitat characteristics, increasing the risk of mortality (Semlitsch and Reyer 1992; IUCN 2004).

We obtained elevation from the digital elevation model (DEM) of the 'Continuo de Elevaciones Mexicano' from the 'Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI)' (<https://www.inegi.org.mx/app/geo2/elevacionesmex/>). We reclassified the DEM by using the following elevation categories: 0–100, 100–200, 200–300, 300–400, 400–500, 500–750, 750–1000, 1000–1250 and > 1250 m asl. We obtained the layer of stream order from the DEM using the 'Hydrology' tool of ArcGIS and the Strahler (1957) classification. The categories of stream order in our study comprise of first to fifth order, with first-order rivers not including tributaries, second-order rivers being the result of the interception of two first-order tributaries, etc. The CTI is a dimensionless index, which we derived from the DEM by calculating the direction of water flow and the slope using the 'Hydrology' and 'Spatial Analyst' tools of ArcGIS. CTI values are continuous, ranging from 0 to 22. We obtained the land use and land cover layer for 2015 from the North American Land Cover Change Monitoring System (NALCMS, <http://www.cec.org/es/atlas-ambiental-de-america-del-norte/cobertura-del-suelo-2015-landsat-y-rapideye-30m/>). This layer is a map at a spatial resolution of 30 m, which land cover classes are defined according to the Land Cover Classification System (LCCS) developed by the Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. The land cover classes that we used for this layer were: TDF, evergreen forest, agriculture, grasslands, human settlements, water bodies, mangroves and exposed soil. We obtained the presence and type of road from the 'Red Nacional de Caminos' of the 'Instituto Mexicano del Transporte' (<http://189.254.204.50:83/>), and used the following categories: dirt roads, one- and two-lane roads. To estimate the distance to human settlements, we used the 'Censo de Población y Vivienda' (ITER-Integración Territorial; <https://datos.gob.mx/busca/dataset/censo-de-poblacion-y-vivienda-2010-principales-resultados-por-localidad-iter1>) to locate villages with more than 250 inhabitants. We digitized the villages on high-

resolution images available in Google Earth (2019), and calculated the Euclidean distances from the obtained home-range patches to each human settlement using the 'Distance' tool of ArcGIS. We reclassified the resulting layer using the following distance categories: 0–100, 100–200, 200–300, 300–400, 400–500, 500–750, 750–1000, 1000–1250, 1250–1500, 1500–1750, 1750–2000, 2000–3000 and > 3000 m.

All the variables described above were represented as raster layers at a spatial resolution of 100 m and were processed in ArcGIS. We parameterized the resistance surface by assigning resistance values to each variable based on 15 surveys conducted by expert herpetologists (Table S2). Experts assigned resistance values between 1 and 100 to each variable, with the highest values representing the greatest resistance to the movement of the species. Using the resistance values assigned to each variable, we calculated the truncated mean. We added all layers with their respective resistance values to obtain a final resistance surface.

Delimitation of patches of suitable habitat using the potential distribution of *A. dacnicolor*

To delimit patches of suitable habitat for *A. dacnicolor* we used an environmental-temporal approach by applying ecological niche models (ENM) following Encarnación-Luévano et al. (2013). This approach allowed us to detect potential habitat patches with ideal climatic conditions for the species taking into account its seasonal activity. We compiled a database for the entire geographic distribution of the species using different national and international sources, as well as occurrence records from our field collections (see above). Because July was the month with the highest activity of *A. dacnicolor* (i.e. the month with the most occurrence points) and presumably the month with optimal conditions for its presence, we only used records from July to reconstruct the species' ecological niche. We then transferred the model of July to the rest of the months of activity: August, September and October (covering the reproductive season of *A. dacnicolor*).

After elimination of duplicate records and spatial autocorrelation using the spThin package version 0.02 for R (Aiello-Lammens et al. 2015), we obtained a total of 120 unique occurrence records for July. To characterize the ecological niche, we used the following monthly environmental variables: minimum and maximum temperature, total precipitation and water vapor pressure from WorldClim v2 (Fick and Hijmans 2017). These variables are the result of the interpolation of monthly averages of climatic stations from 1970 to 2000. We selected these climatic variables as they are important for the survival and reproduction of amphibians and because they were the only available monthly variables.

Amphibians depend on temperature to maintain their body temperature, precipitation are important for reproduction and metamorphosis, and humidity (measured as water vapor pressure) for avoiding desiccation (Vitt and Caldwell 2013; Fakharzadeh and Hosseinzadeh 2021). Temperature and precipitation can also determine the geographic and temporal distribution of amphibians in regions with seasonal climatic variation (Whitton et al. 2012; Encarnación-Luévano et al. 2013), such as the TDF. We also used two topographic variables: slope and Compound Topographic Index (CTI). We selected slope because steep slopes constitute barriers to dispersal, while low slopes function as corridors (Richards-Zawacki 2009). We used CTI as a measure of water accumulation and soil moisture (Moore et al. 1993), which indicates the capacity of water retention on the terrestrial surface for the potential formation of water ponds. We calculated slope and CTI with the digital elevation model from WorldClim v2. The spatial resolution of all the layers that we used was 30 arc-seconds (~1 km).

For ENM construction, we used MaxEnt version 3.4.1, which employs maximum entropy to explain species' distribution (Phillips et al. 2017), and is considered an efficient algorithm in terms of predictive performance (Elith et al. 2011). We assigned 80% of the 120 occurrence records for training and 20% for testing, and used the default parameters (maximum iterations = 500; backgrounds points = 10,000; regularization multiplier = 1; replicated run type = bootstrap), restricting the features type to linear (l), quadratic (q) and product (p) to reduce model complexity. We ran ten replicates and chose the best replica of the July model based on the lowest omission rate and the highest Area Under the Curve (AUC) values. MaxEnt generates probability values ranging from 0 to 1 that are used as a measure of habitat suitability. Because these are continuous values, we converted the best replica of July into a binary map using the minimum training presence value as the cut-off threshold and used this same threshold to binarize the transferred models for August, September and October. We added the binary maps of the four months (July–October) to obtain the areas with suitable habitat during the period of higher activity of the species. Since ENMs do not consider the historical factors that affect species distribution (i.e. the accessibility area or 'M'; Soberón and Peterson 2005; Barve et al. 2011), we restricted the geographic distribution of *A. dacnicolor* to the biogeographic provinces defined by Morrone et al. (2017). To delimit the area of accessibility, we used the provinces with at least one localization of the species (Sonoran, Sierra Madre Occidental, Pacific lowlands, Transmexican Volcanic Belt, Balsas Basin and Sierra Madre del Sur).

To identify the patches of suitable habitat throughout the study area that include the temporal variation of the climate during the reproductive season of *A. dacnicolor*, we created a final map by adding each of the binary maps (i.e. July and its transfer to August, September and October). We clipped the final map to cover the study area (Jalisco and Colima) and overlapped it with TDF areas according to the land cover and land use layer. We obtained the resistance surface based on the ENM to use in the connectivity analyses (see below) by first averaging the original probabilistic maps of the four months (i.e. July and its transfer to August, September and October). We then calculated the additive inverse (by subtracting from unity) of suitable habitat index values to relate suitable habitat with low resistance to movement (Freeman et al. 2019).

Connectivity analyses

To assess connectivity among home-range patches and among patches of suitable habitat we used circuit and graph theories. Circuit theory models connectivity among nodes (i.e. patches) through resistors that are electrical components carrying current (McRae et al. 2008). It assumes that individuals move through the landscape without knowledge of the resistance imposed by landscape components, and takes into account all possible paths among patches (McRae et al. 2008). We performed two connectivity analyses in Circuitscape version 5 (www.circuitscape.org). This program estimates current density between nodes (patches), representing the probability of movement of random walkers through nodes each time they move from one patch to another (McRae et al. 2008). In one of the analyses, we used home-range patches in combination with the final resistance surface, and in the other one we employed patches of suitable habitat and the final resistance surface derived from the ENM.

We also evaluated connectivity among home-range patches using network analysis, which is based on graph theory (Minor and Urban 2008). Under this theory, a network is a set of nodes (patches) with certain spatial localization, size and shape that are connected by links. The links connecting pairs of nodes represent potential movements of individuals between habitat patches within the landscape (Galpern et al. 2011). We used 2000 m as the connectivity distance between home-range patches, because it has been reported as the maximum average dispersal distance in tree frogs (Smith and Green 2005). We used the package *rgdal* version 1.4–3 (Bivand et al. 2019) to visualize the spatial location of home-range patches; *gdistance* version 1.2–2 (van Etten 2017) to calculate the distance between

home-range patches; *rgeos* version 0.4–3 (Bivand and Colin 2019) to estimate the area and centroid of each patch; and *igraph* version 1.2.4.1 (Csardi and Nepusz 2006) to construct the graphs based on the connections among nodes (patches). We ran all packages in version 3.6.3 of the R statistical software (R Core Team 2020).

To further assess connectivity among home-range and suitable habitat patches we calculated the Integral Index of Connectivity (IIC) using Makurhini version 1.0.0 for R (Godínez-Gómez and Correa Ayram 2020) and a maximum dispersion distance of 2000 m. IIC indicates the importance of a certain node for maintaining connectivity, taking into account the distance among patches, the patch area, and the average dispersal distance of the species (Pascual-Hortal and Saura 2006). We also calculated the delta of the Integral Connectivity Index (dIIC), which estimates the relative importance of each patch based on the patch relevance in maintaining total connectivity within the landscape (Saura and Rubio 2010). Estimates of dIIC indicate the degree to which the IIC index decreases if each of the patches is removed from the landscape (Saura and Rubio 2010). dIIC values are composed by three fractions: intra, flux and connector. The intra fraction (dIICintra) is the internal connectivity of a patch, which depends on the resources available within a patch, without considering the connections with other patches. The flux fraction (dIICflux) is the flow through the connections among patches and depends on patch area. The connector fraction (dIICconnector) indicates the contribution of a patch (that cannot be replaced by another) as a link to other patches (stepping stone), and depends on the topological position of other patches within the landscape (Saura and Rubio 2010).

Results

Delimitation of home-range patches

From the simulated home-ranges, we identified a total of 77 home-range patches (Figure 1; Table S1) that represent the nodes in subsequent analyses. We clustered home-ranges into the same patch (node) if the estimated areas of different home-ranges overlapped. The size of the home-range patches ranged between 0.4 km² and 2.1 km². We identified eight large and continuous home-range patches that included multiple independent occurrence points. The largest home-range patch was the patch 'O', which comprises an area of 2.1 km² and it is located within the CCBR (Figure 1). Other smaller home-range patches were scattered in the study area, with areas ranging between 0.4 and 0.5 km². These smaller patches are located in the

northeastern, eastern and southern parts of the study area, in the regions of Autlán, Colima, Tecomán and Manzanillo, where the TDF is highly fragmented by urban settlements and agricultural fields (Figure 1).

Delimitation of suitable habitat patches from ecological niche modelling

The AUC values of ten single models ranged from 0.89 to 0.90, and the mean was 0.89 (± 0.01). The best replica to predict the potential distribution of *A. dacnicolor* in July had an AUC value of 0.9 (Figure S1) and the logistic threshold of the omission rate at the minimum training presence was 0.089. The relative contribution of environmental and topographic variables to the model were: water vapor pressure (74.5%), precipitation (9.5%), maximum temperature (7.4%), CTI (4%), slope (3.8%) and minimum temperature (0.9%). The habitat with the best suitability for *A. dacnicolor* was predicted near the Pacific coast, decreasing towards the eastern part of the study area, where climatic conditions were less suitable for the species. The model predicted lower values of habitat suitability in the Autlán area (northeastern part of the study area), despite the presence of the species was confirmed by our own sampling (Figure 2a).

We identified 168 patches of suitable habitat with an average area of 20 km² (1.7–444 km², Figure 2b). The largest patches with suitable conditions for the species (85–443 km²) were located in the northwestern (Tomatlán and CCBR zones) and central (Melaque zone) parts of the study area. The largest patch (443 km²), located in the Tomatlán zone (patch A), was highly fragmented (Figure 2b). Although patches B (CCBR), C (Cuixmala) and D (Melaque) were smaller (152–299 km²), they were formed by continuous TDF vegetation. The smallest patches (1.7–4.0 km²) of suitable habitat were located towards the east and were scattered throughout the southern part of the study area (Figure 2b).

Connectivity analyses

Connectivity analyses based on circuit theory showed different current flow density patterns among coastal, eastern and southern home-range patches. We detected high connectivity among CCBR patches and those surrounding their limits (Figure 3a). Home-range patches within Melaque were also well connected, showing high current density values. Conversely, home-range patches located on the southern (Tecomán and Colima) and northern (Tomatlán) limits of the study area, as well as those in the east (Autlán), were poorly connected to neighboring patches, exhibiting low current density values. Home-range patches in the eastern part of the

study area (Autlán) were completely disconnected from those on the coast (Figure 3a). The cumulative current flow map among patches of suitable habitat, derived from the ENM, is consistent with high connectivity within the CCBR and with disconnection of patches located in the northern (Tomatlán) and southern (Tecomán and Colima) parts of the study area (Figure 3b). Contrary to the low connectivity showed among home-range patches, most suitable habitat patches along the Pacific coast were highly connected (Figure 3b).

Network analysis of home-range patches, considering a maximum average dispersion distance of 2000 m, indicated the presence of 10 networks formed by two to nine nodes (Figure 4). The two largest networks (GR1 and GR2) were geographically close to each other. Graph GR1 was composed by seven nodes (E-K), which were adjacent to the CCBR and graph GR2 by nine nodes (M-T), all located within the CCBR. Graph G3 was constituted by three nodes (U-W), while the rest of the graphs (GR4-GR10) by only two nodes. These graphs were located close to the CCBR (GR4 and GR5), in the central (GR6), southern (GR7, GR9 and GR10) and northeastern (GR8) parts of the study area. However, most nodes of these graphs were not connected, especially those in the southern and eastern parts of the study area (Figure 4).

Home-range patches O (dIIC = 24.60) and M (dIIC = 11.52), both located in the Chamela region, exhibited the highest dIIC index values (importance of each patch to the IIC if the patch is removed from the landscape and its relevance for maintaining connectivity; Figure 5a). Home-range patches K, P and R, also located in the Chamela region, showed intermediate dIIC values (8.61–11.0; Figure 5a). The fraction contributing the most to the connectivity of these patches (K, M, O, P, R) was dIICintra (internal connectivity within patches) with values between 1.90 and 14.68, followed by the connector fraction (dIICconnector), which values ranged from 4.38 to 6.77 (Figure S2). The flux fraction showed the lowest values of the connectivity metrics (dIICflux = 0.35–5.42 Figure S2).

The most important patches of suitable habitat for *A. dacnicolor* to maintain connectivity were patch A (dIIC = 37.40) located near the Tomatlán area, patch B in the Melaque area (dIIC = 18.09), patch C in the CCBR (dIIC = 14.11) and patch E in the Manzanillo area (dIIC = 11.46; Figure 5b). The intra fraction was higher for patches A (dIICintra = 35.41), B (dIICintra = 16.10) and C (dIICintra = 12.13). The connector fraction showed low values (dIICconnector = 1.51–1.72) for all four patches, and the flux fraction exhibited the lowest values (dIICflux = 0.26–0.47) of all connectivity metrics (Figure S3).

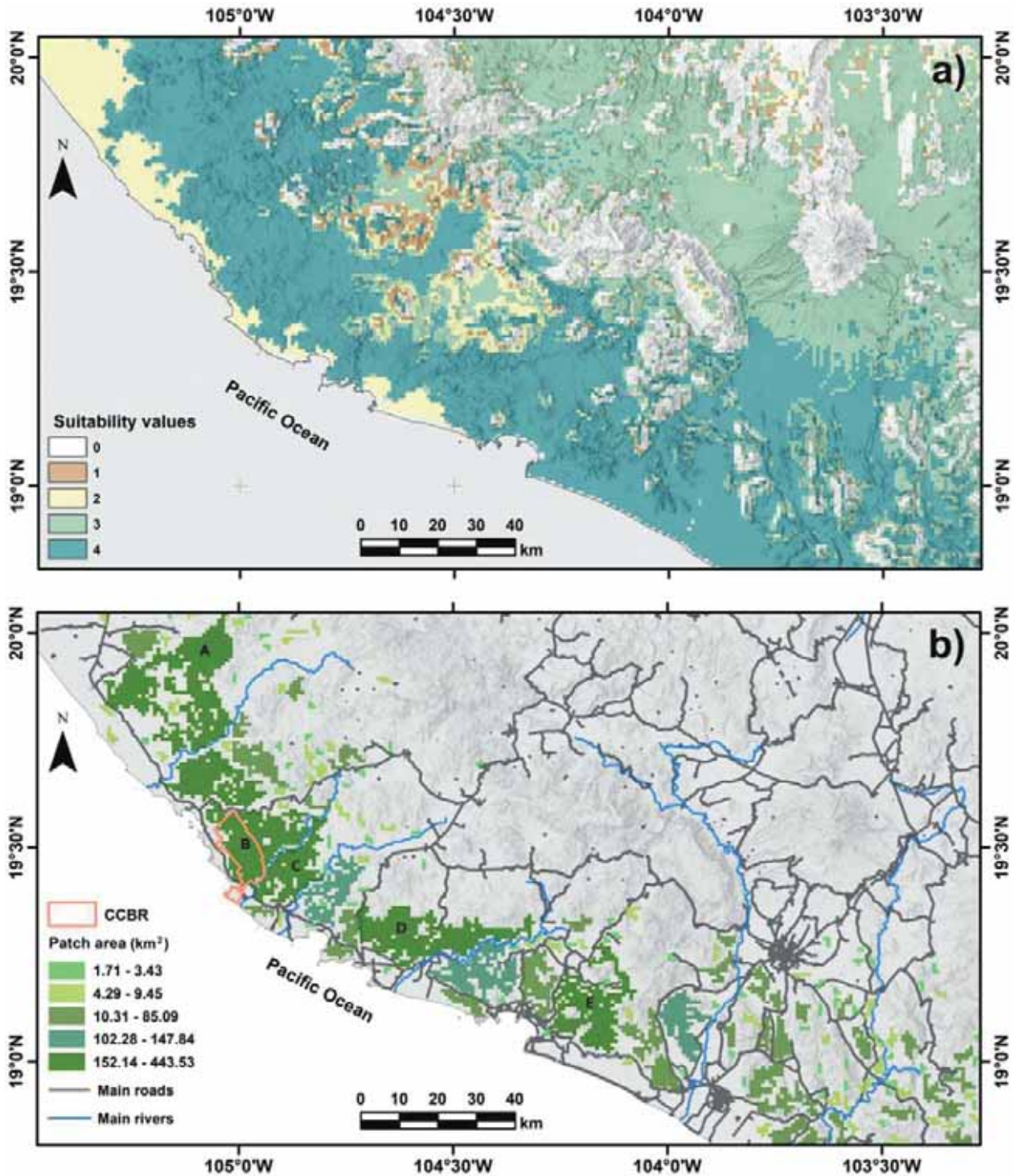


Figure 2. (a) Final binary map of the ecological niche modelling (ENM) of *A. dacnicolor* that resulted from adding the monthly (July–October) binary maps. The areas with optimal conditions for the species are those that overlapped in the four analyzed months. Darker green shows the areas with highest habitat suitability for the species. (b) Patches of suitable habitat for *A. dacnicolor* obtained by overlaying the binary map of the ENM with the TDF vegetation of the land use and land cover map. The location of Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (CCBR) is shown, as well as the main rivers and roads (one and two lanes). Patch A: Tomatlán zone; patch B: CCBR zone; patch C: Cuixmala zone; patch D: Melaque zone; patch E: Manzanillo zone.

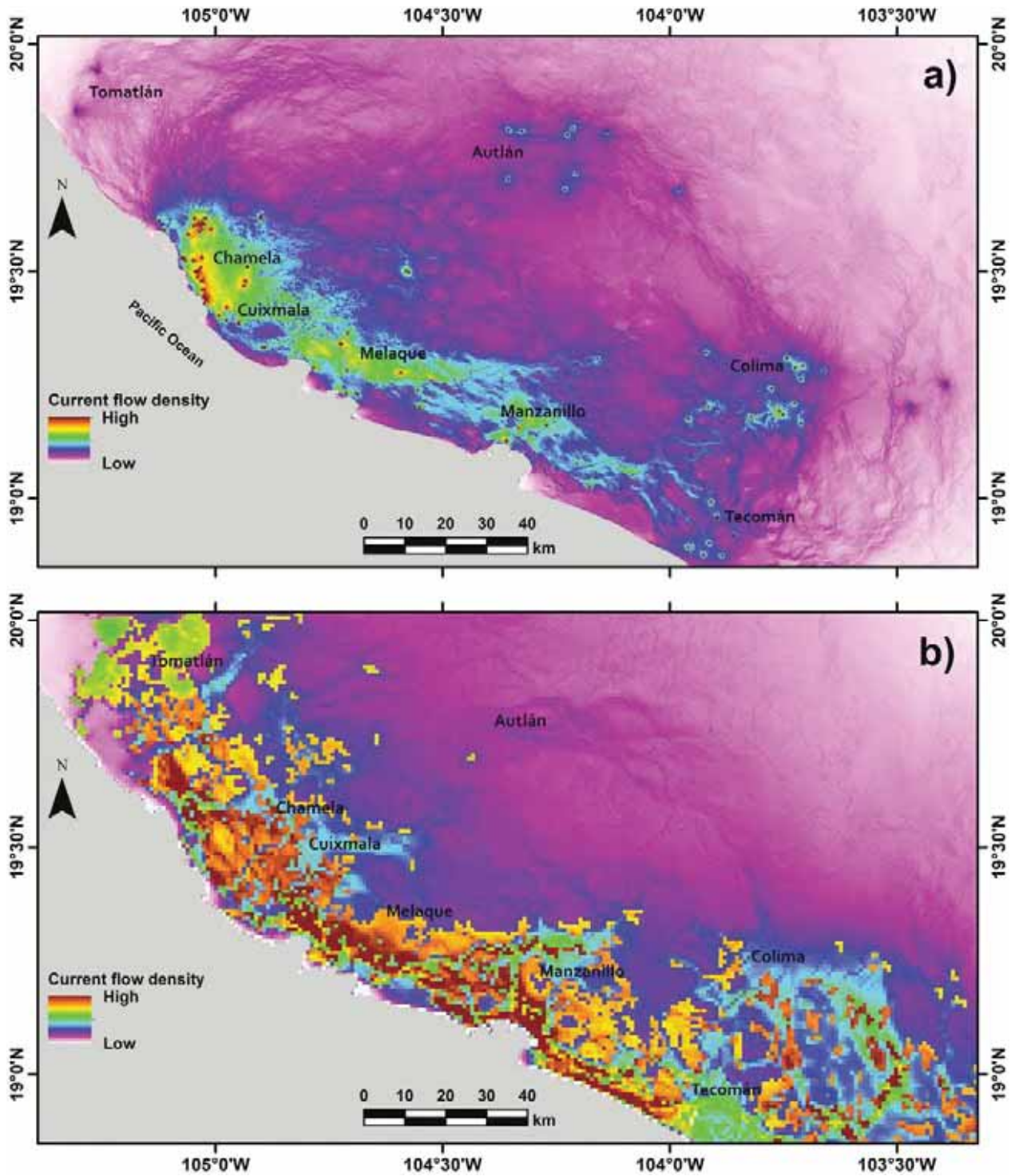


Figure 3. Connectivity based on circuit theory showing the current flow density between (a) home-range patches and (b) patches of suitable habitat obtained from ENM.

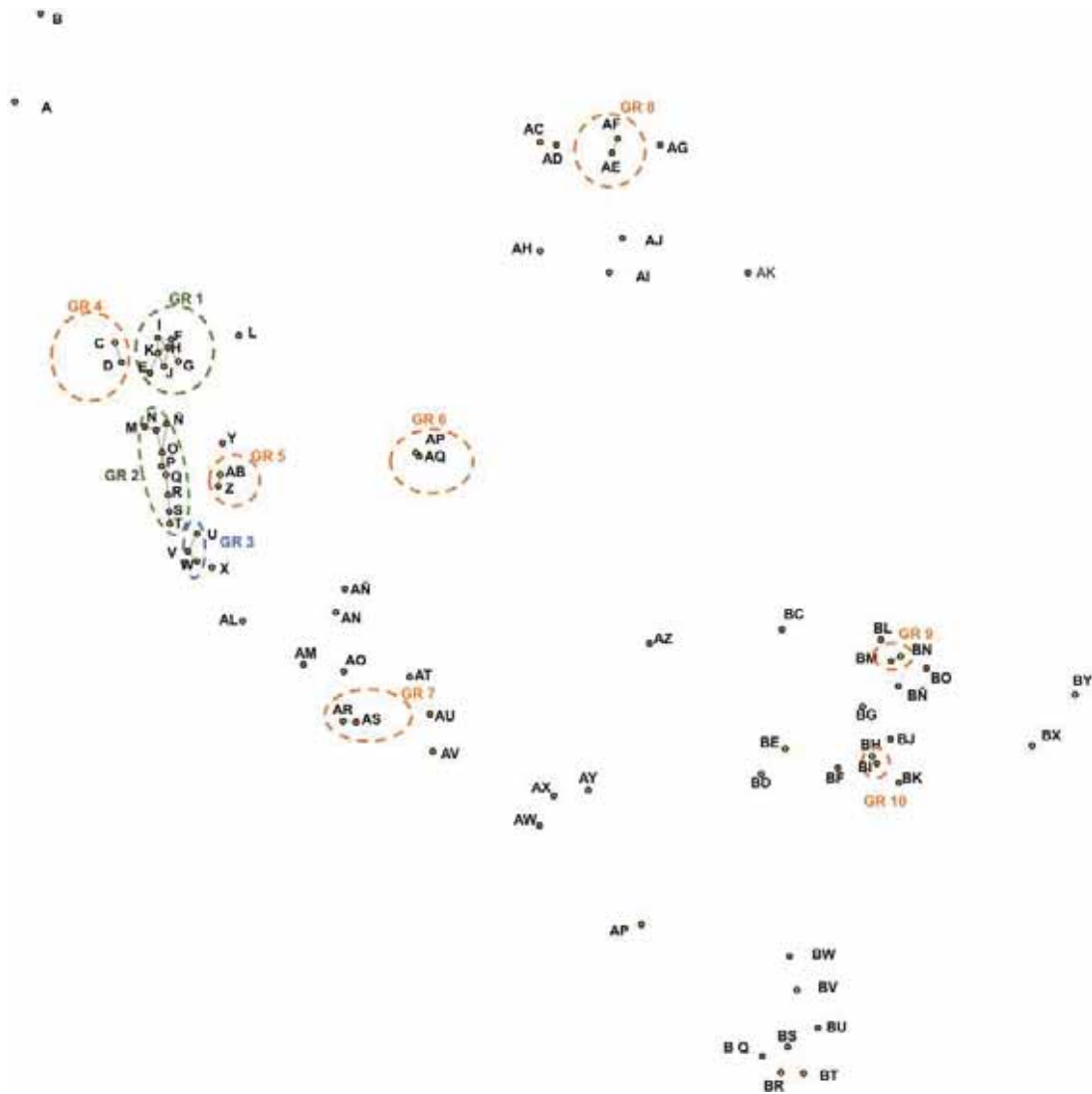


Figure 4. Connectivity networks among home-range patches (nodes) derived from graph analysis using the maximum average dispersion distance of 2000 m reported for arboreal anurans. The circles represent the nodes and the lines the connections among them. The graphs formed by more than three nodes are indicated with green ovals, those formed by three nodes with blue ovals and graphs formed by two nodes with orange ovals.

Discussion

Influence of the landscape on functional connectivity

Based on movement simulations using resistance surfaces and ecological niche models, we assessed functional connectivity among home range-patches and among patches of suitable habitat of *Agalychnis dacnicolor*. The results of the circuit theory approach suggested high connectivity among home-range patches within the CCBR and surrounding areas, and to a lesser extent among patches within the Melaque area. These home-range patches were located in water ponds and streams formed during the rainy season in areas with large and continuous

patches of TDF, with little or no anthropogenic disturbance. According to the surveys, experts considered that the presence of TDF is the landscape element offering the least resistance to the movement of *A. dacnicolor*. In both tropical and temperate ecosystems, forests provide amphibians with microhabitats that buffer changes in temperature and humidity (Calhoun and Hunter 2003). Tree frogs (and other species of anurans) require terrestrial habitats (trees, shrubs and riparian vegetation) surrounding the ponds (Boissinot et al. 2015) to disperse among home-range patches (Clauzel et al. 2015; Ribeiro et al. 2019). Similar to the results of the circuit theory approach, network analysis using a dispersion distance of 2000 m, suggested high

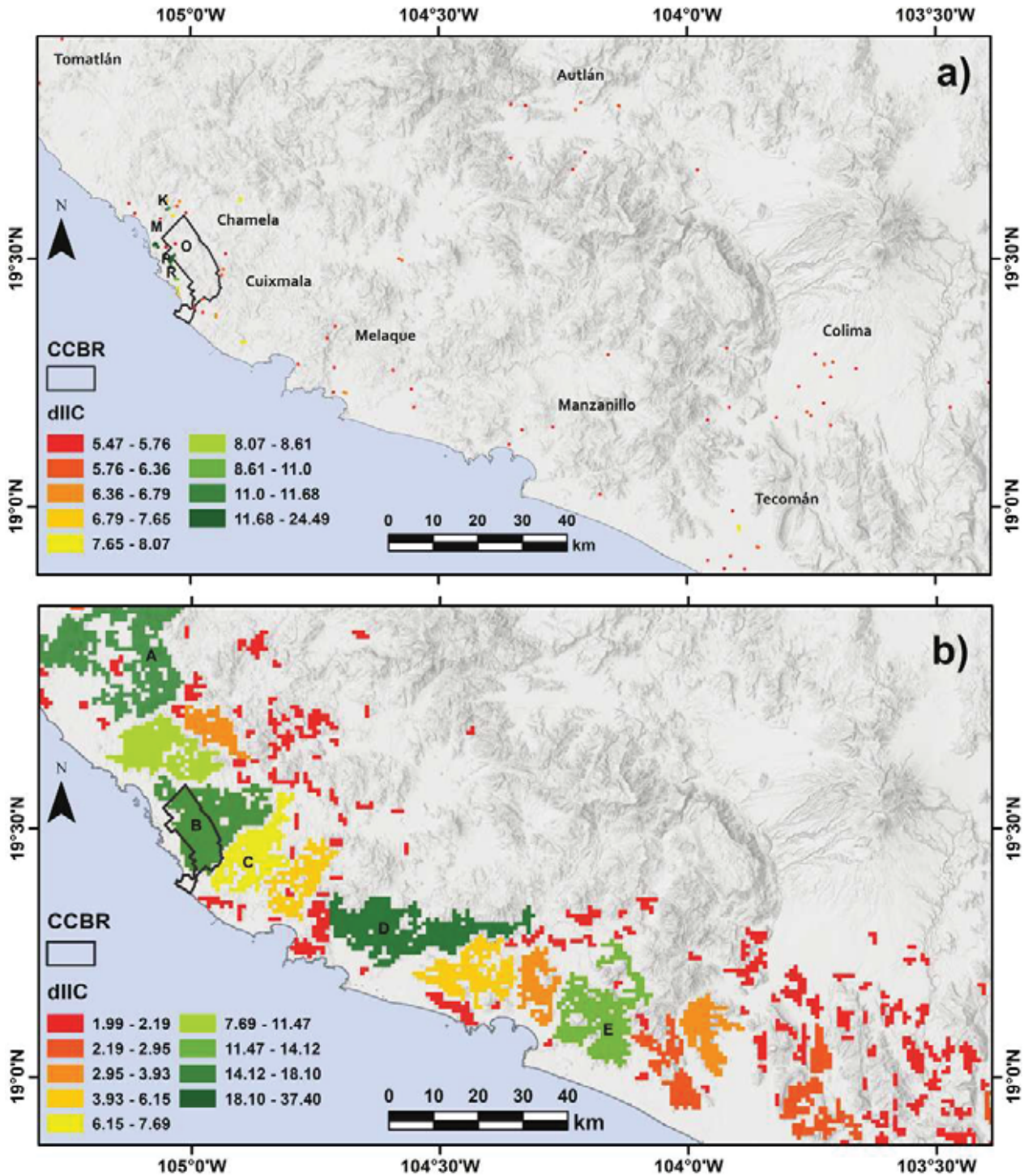


Figure 5. Integral Index of Connectivity (IIC) for (a) home-range patches and (b) patches of suitable habitat for *A. dacnicolor*. Colors in green depict the most important patches to maintain connectivity. The labels of the most important home-range patches (K, M, O, P, R) for maintaining connectivity are shown, as well as the labels of the suitable habitat patches (Patch A: Tomatlán zone; patch B: CCBR zone; patch C: Cuixmala zone; patch D: Melaque zone; patch E: Manzanillo zone).

connectivity among home-range patches within the CCBR. However, this analysis does not consider the characteristics of the landscape.

Both types of analyses (circuit theory and network analysis) also detected high connectivity among home-range patches located north of the CCBR with those

within the Reserve. The patches located near the CCBR were immersed in areas of crops and grasslands surrounded by TDF under different succession stages. In these moderately modified zones, the species may be present in ponds used for livestock or in humid areas of gardens of rural houses. Secondary vegetation within the study area likely plays an important role in providing resources and humidity (Quesada et al. 2014), preventing individuals to desiccate. Secondary forests, particularly those in advanced succession stages, could also function as corridors to maintain structural and functional connectivity among patches located in protected areas that are embedded in anthropic landscapes (Barlow et al. 2007; Chazdon et al. 2009).

In contrast, home-range patches in Autlán (northeast of the study area) were poorly connected. This area has been subjected to changes in land use due to agricultural activity, imposing resistance to species' movements according to expert opinions. Habitats with clear-cuts and open-canopies can be barriers to anuran dispersal, especially juveniles (Rothermel and Semlitsch 2002; Popescu and Hunter 2011). Home-range patches of Autlán were completely isolated from those on the Pacific coast, as shown by the low current flow among these areas. Autlán and the Pacific coast are separated by the physiographic province 'Sierra Madre del Sur', which is at an average altitude of 2000 m asl, reaching up to 3,400 m asl. Such high altitude is likely to limit the connectivity of *A. dacnicolor* between these two areas. The presence of temperate forests such as coniferous, pine-oak and cloud forests in combination with the climate of the Sierra Madre del Sur that ranges from temperate to cold, could also be limiting the dispersal of *A. dacnicolor*. In addition to the presence of the Sierra Madre del Sur, differences in altitude between the two areas (patches near the Pacific coast were in average at altitudes of 50 m, while those in Autlán were at altitudes of 900 m), are likely to influence the lack of connectivity. It is plausible that Autlán populations are adapted to the local conditions of the TDF and thus individuals do not disperse to the Pacific coast and vice versa. Further studies assessing associations between environmental and genetic variation are warranted. Alternatively, there might not be TDF patches available at intermediate altitudes between Autlán and the Pacific coast for *A. dacnicolor* individuals to disperse.

Another landscape element that imposes resistance to the movement of *A. dacnicolor*, according to expert opinions, is urbanization. The southern (Tecomán) and south-eastern (Colima) patches were in areas with the least connectivity. Such weak connectivity is in accordance with the poor habitat quality and increasing concentration of agricultural fields and human settlements.

The remaining TDF patches in Tecomán and Colima, are immersed in a completely modified landscape (Padilla-Velarde et al. 2006), where the loss of TDF coverage is evident and alarming. Although some home-range patches were found in agricultural areas where the species probably breeds in artificial ponds, the low vegetation coverage likely represents a threat for the long-term persistence of the populations. The presence of roads in the area may further limit dispersal of *A. dacnicolor* and increase the risk of mortality, as observed in other anuran species (Okamiya and Kusano 2019). Network analysis indicated that the distance (2.1–54.7 km) among most home-range patches in Tecomán and Colima was greater than the average (2 km) dispersal capacity of the species, further supporting low connectivity in the south-eastern part of the study area.

Our connectivity results among home-range patches may have been influenced by the higher number of records obtained within the CCBR and in sites near the Reserve compared to other areas. There are patches of TDF with no records of the presence of the species, which does not necessarily imply that *A. dacnicolor* is not present in those areas. Alternatively, it is possible that those regions are difficult to access, that the species is found at low densities, or that the meteorological conditions during the collections prevented the detection of the species. Because of these limitations, we used ENM to define patches of suitable habitat by predicting the potential distribution of *A. dacnicolor*, based on suitable environmental conditions (Decout et al. 2012; Campos et al. 2019).

Several studies have used ENM to define patches of suitable habitat within landscape matrices for different organisms (e.g. Decout et al. 2012; Correa Ayram et al. 2014; Almpandou et al. 2014). It is known that thermoregulatory mechanisms could impose sensitivity to seasonal climate variation in heterothermic species (Buckley et al. 2015; Beever et al. 2017). Because *A. dacnicolor* has a marked seasonal activity (Luna-Gómez et al. 2017), we used ENM under an environmental-temporal approach (Encarnación-Luévano et al. 2013). We used the environmental information of July (the month with the highest activity) to reconstruct the entire reproductive ecological niche, via transfers to other months of activity (August to October). This allowed us to detect potential habitat patches in a spatially finer way, considering the species' temporal activity and the variation of environmental variables across the reproductive season (Encarnación-Luévano et al. 2013). To explore the effect of using this environmental-temporal approach, we transferred the environmental variables to November–June, during which time the species does not reproduce. The model predicted smaller areas with ideal conditions

for the species during these months with a significant decrease in species activity (data not shown), compared to the ENMs of the reproductive season. *A. dacnicolor*, as other anurans inhabiting the TDF, decreases its activity and aestivate by refuging in humid places during the non-reproductive dry season (García and Ceballos 1994; Encarnación-Luévano et al. 2013; Álvarez-Grzybowska et al. 2020). This is supported by the few records of the species found during the non-reproductive season in different databases and in our collections. Therefore, as the ENMs predicted more suitable areas for the months of activity than for those of less activity, we consider that our approach is adequate and realistic as it considers the biology of the species.

The ENM predicted that the area with ideal conditions for the distribution of the species is mainly along the Pacific coast. Using the ENM in concert with the availability of TDF, we detected 168 suitable habitat patches. In contrast to the low connectivity exhibited among home-range patches on the coast, most suitable habitat patches near the Pacific coast showed high connectivity. Such connectivity decreased considerably eastward as altitude increased, and southward. ENM also predicted potential areas of distribution of *A. dacnicolor* in the north (Tomatlán) and south (Tecomán and Colima). However, the patches of suitable habitat in these areas were very small and poorly connected (mainly in Tecomán and Colima) probably because the TDF is highly fragmented. Such fragmentation and lack of connectivity could impose a risk for the populations of *A. dacnicolor* and other anurans in the near future. Because of the metapopulation dynamics that characterize anurans, it is important that the patches of habitat are connected to facilitate re-colonization, particularly when water bodies dry (Smith and Green 2005). The prediction of the potential distribution of the species was low in the eastern part of the study area (Autlán). Even though the species was recently collected in Autlán, no suitable habitat patches were detected. This could be because the climatic conditions in Autlán differ from those in the rest of the species' distribution.

Several studies have highlighted the importance of connectivity among ponds for the persistence of anuran populations and species (Ribeiro et al. 2011, 2019; Decout et al. 2012; Jeliaskov et al. 2019). Using the methodology employed in this study, and in some cases in combination with genetic data, different landscape elements have been identified as important for maintaining and limiting connectivity in anurans (reviewed in Covarrubias et al. 2021). In general, forest cover and streams favor connectivity among anuran populations worldwide; while rivers and elevation have a negative impact. Urbanization, fragmentation,

agriculture and grasslands are the main anthropogenic elements exerting resistance for connectivity (reviewed in Covarrubias et al. 2021).

Importance of home-range and suitable habitat patches

Habitat patches can play different roles in maintaining connectivity depending on their topological position within a landscape and intrinsic characteristics. The results of connectivity indices using dIIC metrics indicated that the largest home-range and suitable habitat patches located in TDF areas are the most important in promoting connectivity of *Agalychnis dacnicolor*. Large forest patches provide adequate microhabitats and permeability among patches to allow the movement of anurans to maintain connectivity (Decout et al. 2012; Chen et al. 2017; Ribeiro et al. 2019). Home-range patches with high dIIC connector values were located outside the Reserve, which is important because these can be used as stepping stones to reach other patches (Saura and Rubio 2010). The largest home-range patches also exhibited high dIICintra values, indicating high potential for internal connectivity and to function as shelters and breeding sites (Saura and Rubio 2010).

Largest home-range and suitable habitat patches (with high dIIC index values) are not under federal protection, increasing the risk of deforestation of the TDF where *A. dacnicolor* and other species are found. The amount and size of available habitat are important for designing protected areas as this influences the survival of the organisms (Lindenmayer et al. 2007). The smaller patches located in the southern part of the study area (Tecomán and Colima) are mostly isolated, making the development of management and conservation plans for the TDF very important. The conservation of the TDF in Tecomán and Colima could prevent further isolation among patches and reductions in patch size, decreasing the probability of local extinction of *A. dacnicolor*. Complementing this study with genetic data would be important as it could allow us to determine whether gene flow is maintained by the elements providing less resistance to the movement of the species, and if gene flow is limited in the most fragmented areas.

Acknowledgments

We thank Leonel López-Toledo and Omar Chassin for their comments and suggestions on a previous version of the manuscript; P. E. Castillo, M. E. Mejía Maya, A. Sánchez Almaguer, Y. Fraga and D. Berra Alanis for field assistance; and J. Torres Pérez for logistical support. We also thank J. Alvarado Díaz,

J. L. Barragán Ramírez, M. A. Durán Cervantes, A. García Aguayo, U. O. García Vázquez, O. Hernández Ordóñez, J. Marroquín Páramo, Y. Meza Parral, L. M. Ochoa Ochoa, A. Sánchez Almaguer, A. Sarmiento Rojas, H. H. Siliceo Cantero, Y. Soto Sandoval, I. Suazo Ortuño, J. Torres Pérez, for answering the survey on landscape resistance. This study constitutes partial fulfillment of Sara Covarrubias' doctoral degree (Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas) at the UMSNH.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

This work was supported by a grant from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) PDCPN 2015-1250 to Clementina González and by a graduate scholarship to Sara Covarrubias from the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

ORCID

Octavio Rojas-Soto  <http://orcid.org/0000-0002-0201-1454>
Clementina González  <http://orcid.org/0000-0003-2048-069X>

References

- Adriaensen F, Chardon JP, De Blust GE, Swinnen E, Villalba S, Gulinck H, Matthysen E. 2003. The application of least-cost modeling as a functional landscape model. *Landscape Urban Plan.* 64:233–247. doi:10.1016/S0169-2046(02)00242-6.
- Álvarez-Grzybowska E, Urbina-Cardona N, Córdova-Tapia F, García A. 2020. Amphibian communities in two contrasting ecosystems: functional diversity and environmental filters. *Biodivers Conserv.* 29:2457–2485. doi:10.1007/s10531-020-01984-w.
- Aiello-Lammens ME, Boria RA, Radosavljevic A, Vilela B, Anderson RP. 2015. spThin: an R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models. *Ecography.* 38:541–545. doi:10.1111/ecog.01132.
- Almpanidou V, Mazaris AD, Mertzanis Y, Avraam I, Antoniou I, Pantis JD, Sgardelis SP. 2014. Providing insights on habitat connectivity for male brown bears: a combination of habitat suitability and landscape graph-based models. *Ecol Model.* 286:37–44. doi:10.1016/j.ecolmodel.2014.04.024.
- Arroyo-Rodríguez V, Moreno CE, Galán-Acedo C. 2017. Landscape ecology in Mexico: achievements, challenges and opportunities in biological sciences. *Rev Mex Biodiv.* 88:42–51. doi:10.1016/j.rmb.2017.10.004.
- Barlow J, Gardner TA, Araujo IS, Ávila-Pires TC, Bonaldo AB, Costa JE, Esposito MC, Ferreira LV, Hawes J, Hernandez MIM, et al. 2007. Quantifying the biodiversity value of tropical primary, secondary, and plantation forests. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104:18555–18560. doi:10.1073/pnas.0703333104.
- Barlow J, Lennox GD, Ferreira J, Berenguer E, Lees AC, Mac Nally R, Thomson JR, de Barros Ferraz SF, Louzada J, Fonseca Oliveira VH, et al. 2016. Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation. *Nature.* 535:144–147. doi:10.1038/nature18326.
- Barve N, Barve V, Jiménez-Valverde A, Lira-Noriega A, Maher SP, Peterson AT, Soberón J, Villalobos F. 2011. The crucial role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modeling. *Ecol Model.* 222:1810–1819. doi:10.1016/j.ecolmodel.2011.02.011.
- Beever EA, Hall LE, Varner J, Loosen AE, Dunham JB, Gahl MK, Smith FA, Lawler JJ. 2017. Behavioral flexibility as a mechanism for coping with climate change. *Front Ecol Environ.* 15:299–308. doi:10.1002/fee.1502.
- Bennet AF, Saunders DA. 2010. Habitat fragmentation and landscape change. In: Shodi NS, Ehrlich PR, editors. *Conservation biology for all.* Oxford: Oxford University Press; p. 88–106.
- Bivand R, Colin R. 2019. rgeos: interface to geometry engine—Open Source ('GEOS'). R package version 0.4–3. <https://cran.r-project.org/package=rgeos>
- Bivand R, Keitt T, Rowlingson B. 2019. rgdal: bindings for the "Geospatial" data abstraction library. R package version 1.4–4 <https://cran.r-project.org/package=rgdal>
- Boissinot A, Grillet P, Besnard A, Lourdaï O. 2015. Small woods positively influence the occurrence and abundance of the common frog (*Rana temporaria*) in a traditional farming landscape. *Amphib Reptil.* 36:417–424. doi:10.1163/15685381-00003013.
- Buckley LB, Ehrenberger JC, Angilletta Jr MJ. 2015. Thermoregulatory behaviour limits local adaptation of thermal niches and confers sensitivity to climate change. *Funct Ecol.* 29:1038–1047. doi:10.1111/1365-2435.12406.
- Burgos A, Maass JM. 2004. Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of Western Mexico. *Agric Ecosys Environ.* 104:475–481. doi:10.1016/j.agee.2004.01.038.
- Calhoun AJK, Hunter ML Jr. 2003. Managing ecosystems for amphibian conservation. In: Semlitsch RD, editor. *Amphibian conservation.* Washington DC: Smithsonian Institution; p. 228–241.
- Campos FS, Lourenço-de-Moraes R, Ruas DS, Mira-Mendes CV, Franch M, Llorente GA, Solé M, Cabral P. 2019. Searching for networks: ecological connectivity for amphibians under climate change. *Environ Manage.* 65:46–61. doi:10.1007/s00267-019-01240-0.
- Ceballos G, Valenzuela D. 2010. Diversidad, ecología y conservación de los vertebrados de Latinoamérica. In: Ceballos G, Martínez L, García A, Espinoza E, Bezaury J, Dirzo R, editors. *Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las selvas secas del Pacífico de México.* México (D.F.): FCE, Conabio, Conanp, Alianza WWF-Telcel, Ecociencia, S.C and Telmex; p. 93–118.
- Ceballos G, Szekely A, García A, Rodríguez P, Noguera F. 1999. Programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala. Instituto Nacional de Ecología. México (D.F.): Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.
- Challenger A, Soberón J. 2008. Los ecosistemas terrestres en Capital natural de México, vol. I: conocimiento actual de la biodiversidad. México: Comisión Nacional para el Uso de la Biodiversidad; p. 87–108.
- Chazdon RL, Peres CA, Dent D, Sheil D, Lugo AE, Lamb D, Stork NE, Miller SE. 2009. The potential for species conservation in tropical secondary forests. *Conserv Biol.* 23:1406–1417. doi:10.1111/j.1523-1739.2009.01338.x.

- Chen C, Meurk CD, Jia Z, Mingquan L, Shengjun W, Junsong J. 2017. Incorporating landscape connectivity into household pond configuration in a hilly agricultural landscape. *Landscape Ecol Eng.* 13:189–204. doi:10.1007/s11355-016-0317-3.
- Clauzel C, Bannwarth C, Foltete JC. 2015. Integrating regional-scale connectivity in habitat restoration: an application for amphibian conservation in eastern France. *J Nat Conserv.* 23:98–107. doi:10.1016/j.jnc.2014.07.001.
- Correa Ayram CA, Mendoza ME, Pérez Salicrup DR, López Granados E. 2014. Identifying potential conservation areas in the Cuitzeo lake basin, Mexico by multitemporal analysis of landscape connectivity. *J Nat Conserv.* 22:424–435.
- Covarrubias S, González C, Gutiérrez-Rodríguez C. 2021. Effects of natural and anthropogenic features on functional connectivity of anurans: a review of landscape genetics studies in temperate, subtropical, and tropical species. *J Zool.* 313:159–171. doi:10.1111/jzo.12851.
- Csardi G, Nepusz T. 2006. The igraph software package for complex network research. *InterJ Complex Syst.* 1695:1–9. <http://igraph.sf.net/>.
- Cushman SA. 2006. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. *Biol Conserv.* 128:231–240. doi:10.1016/j.biocon.2005.09.031.
- Decout S, Manel S, Miaud C, Luque S. 2012. Integrative approach for landscape-based graph connectivity analysis: a case study with the common frog (*Rana temporaria*) in human-dominated landscapes. *Landscape Ecol.* 27:267–279. doi:10.1007/s10980-011-9694-z.
- Dingle H. 2014. *Migration: the biology of life on the move.* USA: Oxford: Oxford University Press.
- Dirzo R, Raven PH. 2003. Global state of biodiversity and loss. *Annu Rev Environ Res.* 28:137–167. doi:10.1146/annurev.energy.28.050302.105532.
- Dirzo R, Young HS, Galetti M, Ceballos G, Isaac NJB, Collen B. 2014. Defaunation in the Anthropocene. *Science.* 345:401–406. doi:10.1126/science.1251817.
- Dodd CK. 2009. *Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques.* Oxford: Oxford University Press.
- Elith J, Phillips SJ, Hastie T, Dudik M, Chee YE, Yates CJ. 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Divers Distrib.* 17:43–57. doi:10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x.
- Encarnación-Luévano A, Rojas-Soto OR, Sigala-Rodríguez JJ, Navas CA. 2013. Activity response to climate seasonality in species with fossorial habits: a niche modeling approach using the lowland burrowing treefrog (*Smilisca fodiens*). *PLoS ONE.* 8:e78290. doi:10.1371/journal.pone.0078290
- ESRI Environmental Systems Research Institute. 2015. *Arc GIS Desktop: Release 10.3.1.* ESRI, Redlands.
- Epps CW, Wehausen JD, Bleich VC, Torres ST, Brashares JS. 2007. Optimizing dispersal and corridor models using landscape genetics. *J Appl Ecol.* 44:714–724. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01325.x.
- Ewers RM, Banks-Leite C. 2013. Fragmentation impairs the microclimate buffering effect of tropical forests. *PLoS ONE.* 8:e58093. doi:10.1371/journal.pone.0058093.
- Fahrig L. 2017. Ecological responses to habitat fragmentation per se. *Annu Rev Ecol Evol S.* 48:1–23. doi:10.1146/annurev-ecolsys-110316-022612.
- Fakharzadeh F, Hosseinzadeh MS. 2021. Overview of taxonomy and prediction potential distribution of *Bufo* *sitibundus* (Anura: bufonidae) using environmental factors. *J Wildlife Biodiv.*
- Fick SE, Hijmans RJ. 2017. WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int J Climatol.* 37:4302–4315. doi:10.1002/joc.5086.
- Fischer J, Lindenmayer DB. 2007. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecol Biogeogr.* 16:265–280. doi:10.1111/j.1466-8238.2007.00287.x.
- Freeman B, Roehrdanz PR, Peterson AT. 2019. Modeling endangered mammal species distributions and forest connectivity across the humid Upper Guinea lowland rainforest of West Africa. *Biodivers Conserv.* 28:671–685. doi:10.1007/s10531-018-01684-6.
- Funk WC, Blouin MS, Corn PS, Maxell BA, Pilliod DS, Amish S, Allendorf FW. 2005. Population structure of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Mol Ecol.* 14:483–496. doi:10.1111/j.1365-294X.2005.02426.x.
- Galpern P, Manseau M, Fall A. 2011. Patch-based graphs of landscape connectivity: a guide to construction, analysis and application for conservation. *Biol Conserv.* 144:44–55. doi:10.1016/j.biocon.2010.09.002.
- García A. 2006. Using ecological niche modeling to identify diversity hotspots of the herpetofauna of Pacific Lowlands and adjacent interior valleys of Mexico. *Biol Conserv.* 130:25–46. doi:10.1016/j.biocon.2005.11.030.
- García A, Ceballos G. 1994. *Guía de campo de los reptiles y anfibios de la costa de Jalisco, México.* México: Fundación Ecológica de Cuixmala, A.C. e Instituto de Biología (UNAM); p. 300.
- García A, Solano-Rodríguez H, Flores-Villela O. 2007. Patterns of alpha, beta and gamma diversity of the herpetofauna in Mexico's Pacific lowlands and adjacent interior valleys. *Anim Biodivers Conserv.* 30:169–177.
- Godínez-Gómez O, Correa Ayram CA. 2020. Makurhini: analyzing landscape connectivity. Zenodo.
- Gómez-Rodríguez C, Díaz-Paniagua C, Serrano L, Florencio M, Porheault A. 2009. Mediterranean temporary ponds as amphibian breeding habitats: the importance of preserving pond networks. *Aquat Ecol.* 43:1179–1191. doi:10.1007/s10452-009-9235-x.
- Haddad NM, Brudvig LA, Clobert J, Davies KF, Gonzalez A, Holt RD, Levey TE, Sexton JO, Austin MP, Collins CD. 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Sci Adv.* 1:e1500052. doi:10.1126/sciadv.1500052.
- Hether TD, Hoffman EA. 2012. Machine learning identifies specific habitats associated with genetic connectivity in *Hyla squirella*. *J Evol Biol.* 25:1039–1052. doi:10.1111/j.1420-9101.2012.02497.x.
- IUCN, Conservation International and Nature Serve. (2004). *Global amphibian assessment.* <http://www.globalamphibians.org>.
- Jeliakov A, Lorrillière R, Besnard A, Garnier SM, Chiron F, Chiron F. 2019. Cross-scale effects of structural and functional connectivity in pond networks on amphibian distribution in agricultural landscapes. *Freshwater Biol.* 64:997–1014. doi:10.1111/fwb.13281.
- Lampert KP, Rand AS, Mueller UG, Ryan MJ. 2003. Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog *Physalaemus pustulosus*. *Mol Ecol.* 12:3325–3334. doi:10.1046/j.1365-294X.2003.02016.x.

- Lindenmayer DB, Fischer J, Hobbs R. 2007. The need for pluralism in landscape models: a reply to Dunn and Majer. *Oikos*. 116:1419–1421. doi:10.1111/j.0030-1299.2007.16133.x.
- Luna-Gómez MI, García A, Santos-Barrera G. 2017. Spatial and temporal distribution and microhabitat use of aquatic breeding amphibians (Anura) in a seasonally dry tropical forest in Chamela, Mexico. *Rev Biol Trop*. 65:1082–1094. doi:10.15517/rbt.v65i3.29440.
- Maass JM, Balvanera P, Castillo A, Daily GC, Mooney HA, Ehrlich P, Quesada M, Miranda A, Jaramillo VJ, García-Oliva F. 2005. Ecosystem services of tropical dry forests: insights from long-term ecological and social research on the Pacific Coast of Mexico. *Ecol Soc*. 10(1):17. doi:10.5751/ES-01219-100117.
- McRae BH, Dickson BG, Keith TH, Shah VB. 2008. Using circuit theory to model connectivity in ecology, evolution and conservation. *Ecology*. 89:2712–2724. doi:10.1890/07-1861.1.
- Minor ES, Urban DL. 2008. A graph-theory framework for evaluating landscape connectivity and conservation planning. *Conserv Biol*. 22:297–307. doi:10.1111/j.1523-1739.2007.00871.x.
- Mittermeier RA, Turner WR, Larsen FW, Brooks TM, Gascon C. 2011. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. In: Zachos FE, Habel J, editors. *Biodiversity hotspots*. Heidelberg: Springer; p. 3–22.
- Moore ID, Lewis A, Gallant JC. 1993. Terrain attributes: estimation methods and scale effects. In: Jakeman AJ, Beck M, McAleer MJ, editors. *Modeling change in environmental systems*. New York: Wiley; p. 189–214.
- Morris PJ. 2010. Anthropogenic impacts on tropical forest biodiversity: a network structure ecosystem function perspective. *Philos T R Soc B*. 365:3709–3718. doi:10.1098/rstb.2010.0273.
- Morrone JJ, Escalante T, Rodríguez-Tapia G. 2017. Mexican biogeographic provinces: map and shapefiles. *Zootaxa*. 4277:277–279. doi:10.11646/zootaxa.4277.2.8.
- Newbold T, Hudson LN, Hill SLL, Contu S, Lysenko I, Senior RA, Börger L, Bennett DJ, Choimes A, Collen B, et al. 2015. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature*. 520:45–50.
- Noguera F, Vega J, García A, Quesada M. 2002. *Historia natural de Chamela*. Instituto de Biología. México DF (México): Universidad Nacional Autónoma de México.
- Okamiya H, Kusano T. 2019. Effects of landscape features on gene flow among urban frog populations. *Ecol Res*. 34:497–508. doi:10.1111/1440-1703.12011.
- Padiilla-Velarde E, Cuevas-Guzmán R, Ibarra-Manríquez G, Moreno-Gómez S. 2006. Tree flora richness and biogeography. *Rev Mex Biodiv*. 77:271–295.
- Palacio-Prieto JL, Bocco G, Velázquez A, Mas JF, Takaki-Takaki F, Victoria A, Luna-González L, Gómez-Rodríguez G, López-García J, Palma Muñoz M, et al. 2000. Current situation of forest resources in Mexico: results of the 2000 National Forest Inventory 2000. *Invest Geog*. 43:183–203.
- Pascual-Hortal L, Saura S. 2006. Comparison and development of new graph based landscape connectivity indices: towards the prioritization of habitat patches for conservation. *Landscape Ecol*. 21:959–967. doi:10.1007/s10980-006-0013-z.
- Phillips SJ, Dudík M, Schapire RE. 2017. Maxent software for modeling species niches and distributions (Version 3.4. 1)0. accessed 2020 August 20. http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/.
- Pickett ST, White PS. 2013. *The ecology of natural disturbance and patch dynamics*. New York: Elsevier.
- Popescu VD, Hunter ML. 2011. Clear-cutting affects habitat connectivity for a forest amphibian by decreasing permeability to juvenile movements. *Ecol Appl*. 21:1283–1295. doi:10.1890/10-0658.1.
- Powell RA, Mitchell MS. 2012. What is a home range? *J Mammal*. 93:948–958. doi:10.1644/11-MAMM-S-177.1.
- Prieto-Torres DA, Nori J, Rojas-Soto O, Navarro-Sigüenza AG. 2021. Challenges and opportunities in planning for the conservation of Neotropical seasonally dry forests into the future. *Biol Conserv*. 257:109083. doi:10.1016/j.biocon.2021.109083.
- Pyburn WF. 1970. Breeding behavior of the leaf-frogs *Phyllomedusa callidryas* and *Phyllomedusa dacnicolor* in Mexico. *Copeia*. 1970:209–218. doi:10.2307/1441643.
- Quesada M, Álvarez-Añorve M, Ávila-Cabadilla L, Castillo A, Lopezaraiza-Mikel M, Martén-Rodríguez S, Rosas-Guerrero V, Sáyago R, Sánchez-Montoya G, Contreras-Sánchez JM. 2014. Tropical dry forest ecological succession in Mexico: synthesis of a long-term study. In: Sánchez-Azofeifa A, Powers J, Fernandes GW, Quesada M, editors. *Tropical dry forests in the Americas: ecology, conservation, and management*. Boca Ratón: CRC Press; p. 17–33.
- R Core Team. 2020. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Ribeiro J, Colli GR, Soares A. 2019. Landscape correlates of anuran functional connectivity in rice crops: a graph-theoretic approach. *J Trop Ecol*. 35:118–131. doi:10.1017/S026646741900004X.
- Ribeiro R, Carretero MA, Sillero N, Alarcos G, Ortiz-Santaliestra M, Lizana M, Llorente GA. 2011. The pond network: can structural connectivity reflect on (amphibian) biodiversity patterns? *Landscape Ecol*. 26:673–682. doi:10.1007/s10980-011-9592-4.
- Richards-Zawacki CL. 2009. Effects of slope and riparian habitat connectivity on gene flow in an endangered Panamanian frog, *Atelopus varius*. *Divers Distrib*. 15:796–806. doi:10.1111/j.1472-4642.2009.00582.x.
- Rothermel BB, Semlitsch RD. 2002. An experimental investigation of landscape resistance of forest versus old-field habitats to emigrating juvenile amphibians. *Conserv Biol*. 16:1324–1332. doi:10.1046/j.1523-1739.2002.01085.x.
- Sandoval-Legazpi JDJ, Castañeda-Palomera A. 2014. Social-environmental analysis of companies: mining consortium Benito Juárez “Peña colorada” and ingenio “Melchor Ocampo”, two organizations of Jalisco south coast. *CIBA*. 3:1–22. doi:10.23913/ciba.v3i5.24.
- Saura S, Rubio L. 2010. A common currency for the different ways in which fragments and links can contribute to habitat availability and connectivity in the landscape. *Ecography*. 33:523–537.
- Schlaepfer DR, Braschler B, Rusterholz HP, Baur B. 2018. Genetic effects of anthropogenic habitat fragmentation on remnant animal and plant populations: a meta-analysis. *Ecosphere*. 9:e02488. doi:10.1002/ecs2.2488.
- Semlitsch RD. 2008. Differentiating migration and dispersal processes for pond breeding amphibians. *J Wildl Manag*. 72:260–267. doi:10.2193/2007-082.

- Semlitsch RD, Bodie JR. 2003. Biological criteria for buffer zones around wetlands and riparian habitats for amphibians and reptiles. *Conserv Biol.* 17:1219–1228. doi:10.1046/j.1523-1739.2003.02177.x.
- Semlitsch RD, Reyer HU. 1992. Performance of tadpoles from the hybridogenetic *Rana esculenta* complex: interactions with pond drying and interspecific competition. *Evolution.* 46:665–676. doi:10.1111/j.1558-5646.1992.tb02074.x.
- Skelly DK. 2013. Distributions of pond-breeding anurans: an overview of mechanisms. *Israel J Zool.* 47:313–332. doi:10.1560/BVT1-LUYF-2XG6-B007.
- Smith MA, Green DM. 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography.* 28:110–128. doi:10.1111/j.0906-7590.2005.04042.x.
- Soberón J, Peterson AT. 2005. Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiv Inform.* 2:1–10. doi:10.17161/bi.v2i0.4.
- Soto-Sandoval Y, Suazo-Ortuño I, Urbina-Cardona N, Marroquín-Páramo J, Alvarado-Díaz J. 2017. Effect of tropical dry forest successional stages on microhabitat use by *Agalychnis dacnicolor* (Anura: phyllomedusidae) and *Smilisca fodiens* (Anura: hylidae). *Rev Biol Trop.* 65:777–798. doi:10.15517/rbt.v65i2.24706.
- Spear SF, Balkenhol N, Fortin MJ, McRae BH, Schribner K. 2010. Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. *Mol Ecol.* 19:3576–3591. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04657.x.
- Strahler AN. 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *EOS Trans Am Geophys Union.* 38:913–920. doi:10.1029/TR038i006p00913.
- Taylor P, Fahrig L, With K. 2006. Landscape connectivity: a return to basics. In: Crooks KR, Sanjayan M, editors. *Connectivity conservation*. Cambridge (UK): Cambridge University Press; p. 29–43.
- Taylor PD, Fahrig L, Henein K, Merriam NG. 1993. Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos.* 68:571–573. doi:10.2307/3544927.
- Tischendorf L, Fahrig L. 2000. How should we measure landscape connectivity? *Landscape Ecol.* 15:633–641. doi:10.1023/A:1008177324187.
- Trejo I. 1999. El clima de la selva baja caducifolia en México. *Invest Geog.* 39:40–52.
- Trejo I. 2010. Las selvas secas del Pacífico mexicano. In: Ceballos G, Martínez L, García A, Espinoza E, Bezaury J, Dirzo R, editors. *Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las selvas secas del Pacífico de México*. México (D.F.): FCE, Conabio, Conanp, Alianza WWF-Telcel, Ecociencia, S.C and Telmex; p. 41–51.
- Trejo I, Dirzo R. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biol Conserv.* 94:133–142. doi:10.1016/S0006-3207(99)00188-3.
- Trejo R, Dirzo R. 2002. Floristic diversity of Mexican seasonally dry tropical forests. *Biodivers Conserv.* 11:2063–48. doi:10.1023/A:1020876316013.
- Trenham PC, Koenig WD, Mossman MJ, Stark SL, Jagger LA. 2003. Regional dynamics of wetland-breeding frogs and toads: turnover and synchrony. *Ecol Appl.* 13:1522–1532. doi:10.1890/02-5206.
- van Etten J. 2017. gdistance: distances and routes on geographical grids. R package version 1.2-2. <https://cran.r-project.org/package=gdistance>
- Vitt LJ, Caldwell JP. 2013. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. New York: Academic Press.
- Whitmore TC. 1998. *An introduction to tropical rainforest*. Oxford: Oxford University Press.
- Whitton FJ, Purvis A, Orne CDL, Olalla-Tárraga MÁ. 2012. Understanding global patterns in amphibian geographic range size: does Rapoport rule? *Global Ecol Biogeogr.* 21:179–190. doi:10.1111/j.1466-8238.2011.00660.x.
- Zetterberg A, Mörtberg UM, Balfors B. 2010. Making graph theory operational for landscape ecological assessments, planning, and design. *Landscape Urban Plan.* 95:181–191. doi:10.1016/j.landurbplan.2010.01.002.

CAPÍTULO III

Estructura genética a escala fina de una rana arborícola en un bosque tropical caducifolio de México explicada por la fragmentación reciente: una aproximación genómica

1. Introducción

Estudiar el efecto de los paisajes heterogéneos en la variación y estructura genética no solo nos brinda información sobre los procesos involucrados en la divergencia poblacional, sino que también pueden ayudar en el desarrollo de estrategias de conservación que promuevan y mantengan la conectividad funcional, especialmente en ecosistemas amenazados (Manel et al., 2003; Storfer et al., 2007). Tanto los elementos naturales del paisaje (e.g. montañas, cuerpos naturales de agua y vegetación) como los de origen antrópico (e.g. carreteras, áreas urbanas y cultivos y tierras de pastoreo intensivo) (Fahrig et al., 2011), pueden actuar como barreras o corredores para la dispersión de distintos organismos, afectando su conectividad funcional (Storfer et al., 2007). La conectividad funcional, que es el grado de resistencia que ejerce la matriz del paisaje sobre el movimiento de los individuos, está influenciada por las características y composición del paisaje, así como por la capacidad de dispersión de los organismos (Doherty & Driscoll, 2018). Por lo tanto, la conectividad funcional afecta el movimiento de los individuos y de sus genes (Cushman et al., 2015; Balkenhol et al., 2016; Cheptou et al., 2017), jugando un papel importante en el mantenimiento del flujo génico (Taylor et al., 1993; Rudnick et al., 2012). La fragmentación y pérdida del hábitat, que resultan en la disminución del tamaño de los parches de vegetación original y en su aislamiento, pueden limitar el flujo génico y disminuir la diversidad genética. Esto puede resultar en extinciones locales ya que los individuos tienen menos posibilidad de adaptarse a cambios ambientales (Templeton et al., 2001; Pereira et al., 2010). Por lo tanto, el incremento acelerado en la tasa de modificación de los paisajes naturales representan un riesgo para el mantenimiento de la biodiversidad global (Haddad et al., 2015; Newbold et al., 2015; Zabel et al., 2019).

Los anfibios, que actualmente enfrentan los mayores declives poblacionales a nivel mundial, son uno de los taxa más afectados por la alteración del hábitat, la presencia de especies invasoras, el cambio climático y las enfermedades emergentes (Collins & Storfer, 2003). La dinámica metapoblacional de muchas especies de anfibios los hace particularmente susceptibles a extinciones poblacionales como resultado de la estocasticidad ambiental o demográfica, particularmente si el hábitat está fragmentado de manera natural o por actividad antropogénica (McCauley et al., 1991). A pesar de esto en las regiones tropicales, y particularmente en el Neotrópico, se sabe poco sobre la contribución de la configuración y modificación del paisaje en la conectividad y aislamiento poblacional de los anfibios (e.g. Pires de Campos Telles et al., 2007; Dixo et al., 2009; Richards-Zawacki, 2009; Guarnizo & Cannatella, 2014; Nowakowski et al., 2015). Es por lo tanto indispensable realizar estudios que investiguen el efecto positivo o negativo del paisaje sobre la diversidad genética y flujo génico para así entender cómo las especies están respondiendo a las modificaciones de su hábitat (Cushman et al., 2006).

La mayoría de los anfibios tienen baja dispersión y sus requerimientos fisiológicos los obliga a habitar sitios muy específicos (Duellman & Trueb, 1994). Así mismo, requieren de ambientes acuáticos y terrestres para completar su ciclo de vida (Semlitsch, 2008), por lo que la presencia de barreras o hábitats no adecuados entre estos dos ambientes puede afectar su conectividad funcional (Homan et al., 2004). Los anuros, que representan casi el 90% de todos los anfibios, son uno de los principales componentes de ecosistemas terrestres y acuáticos y son considerados como indicadores del efecto de la alteración humana en la calidad de los hábitats (Beebe & Griffiths, 2005; Cushman, 2006). Los anuros, al igual que otros anfibios, se caracterizan por tener una distribución espacial en subpoblaciones discretas con cierto grado de dispersión entre ellas (Smith & Green, 2005), siendo indispensable la conectividad funcional

para mantener estabilidad demográfica a través del intercambio de individuos (Pabijan et al., 2020). En ausencia de conectividad, la estructura de las metapoblaciones se puede modificar debido a la reducción de poblaciones sumidero, ya que la ocupación (recolonización) del hábitat disminuye causando un desequilibrio con la tasa de extinción local lo que hace vulnerable a una metapoblación (Reigada et al., 2015). Las poblaciones de algunas especies de anuros pueden tener tamaños efectivos pequeños ($N_e < 100$ individuos), haciéndolos susceptibles a la pérdida de diversidad genética como resultado del efecto de la deriva genética y endogamia (Frankham et al., 2002), que puede disminuir su adecuación como resultado de la depresión por endogamia (López et al., 2009). Las características de la biología de los anuros, sugieren que los elementos del paisaje juegan un papel importante en la estructuración de su diversidad genética, haciéndolos un buen modelo para evaluar el efecto de los elementos naturales y antropogénicos de paisajes heterogéneos sobre su conectividad funcional.

La mayoría de los estudios de genética del paisaje en anuros se han realizado en especies que habitan zonas templadas, casi duplicando los estudios realizados en zonas tropicales y subtropicales (Covarrubias et al., 2021). Esto a pesar de que las regiones tropicales son las que cuentan con mayor diversidad de anuros y en las que la biodiversidad está más amenazada por las actividades humanas (Wiens, 2007). Los pocos estudios realizados en los trópicos han reportado, para algunas especies de anuros, que la presencia de arroyos promueve conectividad funcional (Koscinski et al., 2009; Parsley et al., 2020), mientras que la presencia de ríos y pendientes elevadas la limitan (Lampert et al., 2003; Richards-Zawacki, 2009). Entre los elementos antropogénicos que tienen un mayor efecto en la conectividad funcional en zonas tropicales, se encuentran la fragmentación y el cambio de uso de suelo a la agricultura, los cuales ejercen resistencia a la dispersión de los individuos de algunas especies (Nowakowski et al.,

2015; Arroyo-Lambaer et al., 2018), restringiendo el flujo génico y reduciendo la diversidad genética (Dixo et al., 2009). De forma similar, la urbanización en las zonas tropicales limita el flujo génico entre poblaciones de anuros, como resultado del aislamiento de sus poblaciones (Eterovick et al., 2016). La mayoría de estos estudios han utilizado microsatélites y/o ADN mitocondrial (Covarrubias et al., 2021), siendo pocos los trabajos que han usado polimorfismos de nucleótidos únicos (SNPs) como marcadores moleculares. Los SNPs han mostrado tener excelente poder de resolución para detectar el efecto a escala fina y reciente de los elementos naturales y antropogénicos del paisaje en los patrones genéticos (Landguth et al., 2010; Willing et al., 2012; McCartney-Melstad et al., 2018).

El bosque tropical caducifolio (BTC), caracterizado por una alta riqueza de especies y endemismos, es uno de los ecosistemas tropicales mejor representados en México (Lott & Atkinson, 2002). Sin embargo, también es uno de los ecosistemas más amenazados y transformados ya que tiene elevadas tasas de deforestación (Trejo & Dirzo, 2000) debido al cambio de uso de suelo por actividades agropecuarias y turísticas (Maass et al., 2005; Prieto-Torres et al., 2021). Se ha estimado que sólo el 27% de cobertura original de BTC se encuentra bien conservado y mantiene el 20% de la biodiversidad del país (Juan-Baeza., 2015). Al ser uno de los bosques más amenazados, el Fondo Mundial para la Naturaleza ha catalogado a los BTCs mexicanos en riesgo crítico, ubicándolos en la lista Global 200 de ecorregiones prioritarias (Olson & Dinerstein, 1998). Alrededor de 300,000 ha son deforestadas anualmente, lo cual incrementa el riesgo de que dicho ecosistema desaparezca rápidamente (Balvanera et al., 2000). Una de las zonas con BTC más representativas de México se encuentra en la región de Chamela-Cuixmala, ubicada en la vertiente del Pacífico, en donde se localiza la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala (RBCC), que comprende un área de 13,142 hectáreas de BTC primario

(Ceballos et al., 1999). El BTC de la región, originalmente continuo, comenzó a ser transformado a partir de 1960 en un mosaico de campos agrícolas, pastizales y zonas urbanas con pocas áreas extensas de bosque maduro y parches pequeños bajo diferentes estados de sucesión (Castillo et al., 2007). Actualmente, la mayor parte del BTC original de la región ha sido severamente transformado (Maass et al., 2005; Ceballos & Valenzuela, 2010), convirtiéndolo en un paisaje heterogéneo compuesto por una mezcla de elementos naturales y antropogénicos (Hernández-Guzmán et al., 2019).

Uno de los principales taxa de vertebrados que habita los BTCs de México son los anfibios, grupo que presenta altos niveles de endemismos (García et al., 2007). Alrededor de 77 (23%) especies de anfibios habitan este ecosistema en México, lo que representa el 25% de todas las especies de anfibios endémicos registrados en el país (Ceballos & García, 1995). En la región de Chamela-Cuixmala hay 19 especies de anuros, de las cuales 11 son endémicas de México (García & Ceballos, 1994). Una de las especies de anuros endémicas y fuertemente asociadas a los BTC mexicanos es la rana de árbol mexicana (*Agalychnis dacnicolor*) (Santos-Barrera & Canseco-Marquez, 2004). *A. dacnicolor* es una especie arborícola que habita en los BTCs desde el sur de Sonora hasta Oaxaca, así como en la depresión del Balsas, a elevaciones de 0 a 1000 msnm. La especie requiere de un microhábitat húmedo con suficiente cobertura vegetal la mayor parte de su ciclo de vida, y al igual que otros anuros con ciclo de vida bifásico, necesita de cuerpos de agua para su reproducción. Durante la temporada seca y no reproductiva, *A. dacnicolor* así como otros anuros estivan, refugiándose en lugares húmedos (Álvarez-Grzybowska et al., 2020).

El principal objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de los elementos naturales y antropogénicos sobre la diversidad genética y conectividad funcional de *A. dacnicolor* en un

paisaje heterogéneo y altamente amenazado de la vertiente del Pacífico mexicano originalmente cubierto por BTC. Específicamente: i) evalué los niveles de diversidad genética y patrones de estructura genética a escala fina (aproximadamente 4,700 km²) de *A. dacnicolor*; ii) determiné el efecto de la pérdida de vegetación original en los patrones de diversidad y estructuración genética de *A. dacnicolor*; y iii) determiné los elementos naturales (e.g. presencia de arroyos y ríos, pendiente, elevación, índice topográfico compuesto) y antropogénicos (i.e. cobertura y uso de suelo (2015), presencia de carreteras (2019) que limitan o promueven la conectividad funcional. Esperaba detectar estructura genética y que ésta fuera menor entre los sitios de muestreo que se encuentran dentro de zonas de bosque original y continuo, incluyendo la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala (RBCC), en comparación con los sitios que se encuentran en zonas fragmentadas, en las que las condiciones del hábitat son menos adecuadas para la especie. Esto debido a la baja capacidad de dispersión de *A. dacnicolor* y a que requiere de un microhábitat con cobertura vegetal suficiente. También esperaba que los patrones de conectividad funcional estuvieran más asociados a elementos del paisaje que al aislamiento por distancia (IBD), el cual no considera la complejidad topográfica y la complejidad del ambiente (Bohonak, 1999). Debido a la baja conectividad detectada para esta especie entre los parches de BTC que se encuentran fuera de la Reserva (Covarrubias et al., 2022), se esperaba que la cobertura, cambio de uso de suelo, presencia de carreteras y ríos de quinto orden (Strahler 1957), pendiente y elevación limiten la conectividad funcional y que la presencia de ríos de primer a cuarto orden y la presencia de vegetación original la promuevan.

2. Material y Métodos

2.1 Área de estudio y muestreo

El área de estudio se ubica en la región de Chamela-Cuixmala, la cual forma parte de la subprovincia “Sierra de la Costa de Jalisco y Colima” localizada entre 19°10'0” – 19°50'0” de latitud norte y 104°38'0” – 105°19'0” de longitud oeste, abarcando un paisaje de 47,000 ha con elevaciones que van de 0 a 296 msnm (Figura 1). En la región predomina el BTC, aunque también se puede encontrar vegetación perenne, ribereña y de manglar. La región es predominantemente montañosa y su relieve está dominado por cerros con laderas cuya pendiente puede ser de moderada a fuerte (Lott et al., 1987). El BTC presenta una marcada estacionalidad que comprende una temporada seca de noviembre a mayo, en la que la mayor parte de la vegetación pierde completamente sus hojas, y la temporada de lluvias de junio a octubre (Trejo, 1999). La precipitación media anual es de aproximadamente 740 mm, con un promedio de precipitación de 83.2 mm en temporada seca y 704.3 mm en lluvias. Las temperaturas medias mensuales son de 23.6 °C y 27 °C para las temporadas seca y lluviosa, respectivamente. Los ríos principales como el río San Nicolás, Cuixmala, Chamela y Purificación (5^{to} orden: ~120 – 190 m y hasta 250 m en sus partes más anchas) pueden llevar poca agua en la época seca o secarse completamente, pero durante la época de lluvias tienen un gran caudal y llevan mucha corriente. Los arroyos temporales de la región (1 – 4^{to} orden: ~2 – 33 m) se secan completamente durante la época seca pero en ellos se forman pozas donde ovipositan muchas especies de anuros al inicio de la época de lluvias. La transformación a la que ha estado sujeto el BTC en los últimos años ha convertido el paisaje en un complejo mosaico compuesto por parches de bosque primario y vegetación secundaria en diferentes estados de sucesión así como asentamientos humanos, cultivos y suelo expuesto (Burgos & Maass, 2004; Hernández-Guzmán et al., 2019). En el

noreste del área de estudio se localiza la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala (RBCC), que cubre 13,142 ha de BTC original que no ha sido alterado por actividades antropogénicas (Ceballos et al., 1999).

Colecté un total de 96 individuos de 16 localidades, en promedio cinco individuos por localidad (rango: 2–7), durante los meses de junio a agosto de 2018 (Tabla 1, Figura 1). Ocho de las localidades muestreadas se encuentran dentro o cerca de los límites de la RBCC donde la vegetación es continua (de aquí en adelante “bosque continuo”) y ocho dentro de fragmentos de BTC bajo sucesión (de aquí en adelante “fragmentos”). Los muestreos se realizaron durante la noche combinando métodos visuales y acústicos para localizar y colectar a los individuos (Crump & Scott, 1994). La mayoría de los individuos se encontraron dentro o cerca de pozas de agua en la vegetación circundante y fueron atrapados manualmente. A cada individuo se le cortó una pequeña parte de tejido de una falange de una pata trasera y se liberó *in situ*. Los tejidos fueron almacenados en etanol al 100% a –20 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

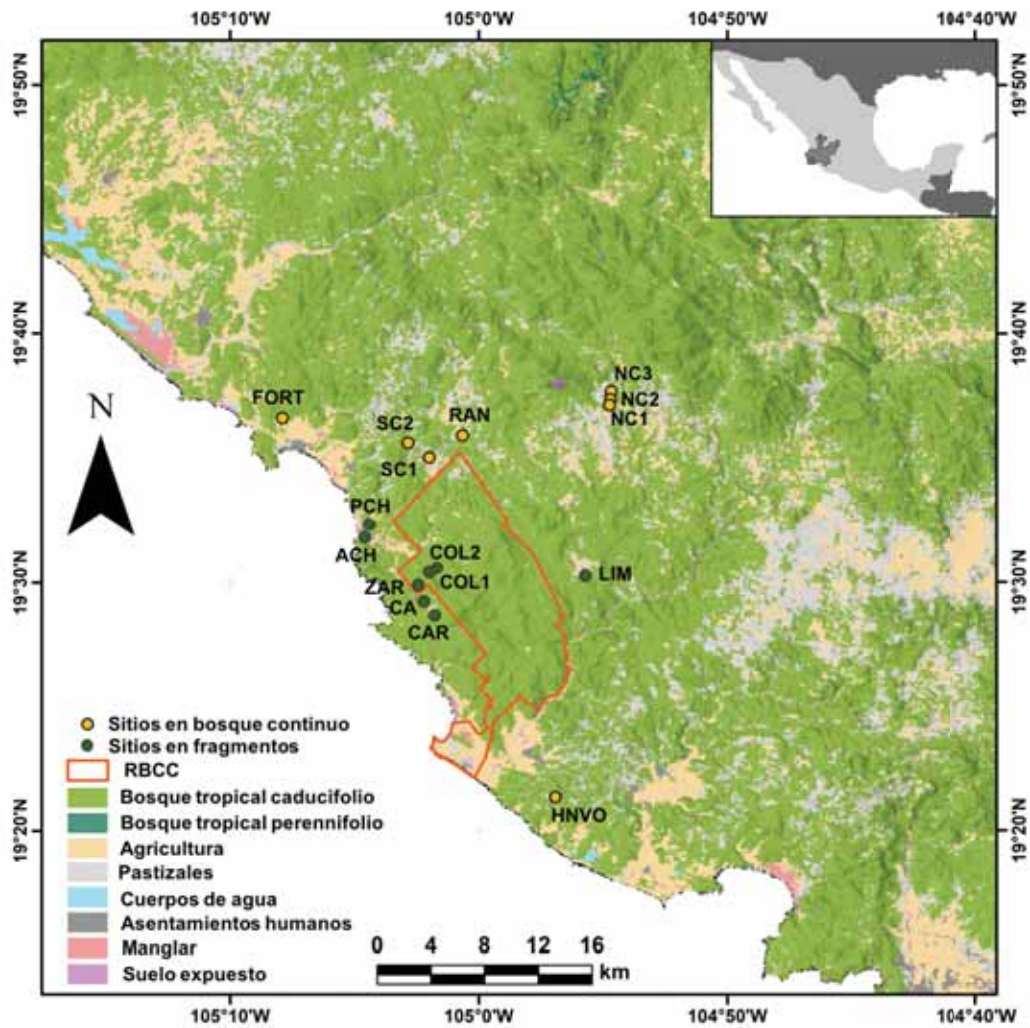


Fig. 1. Mapa del área de estudio en el que se indican los 16 sitios en los que colecté 96 individuos de *A. dacnicolor* en sitios de bosque continuo (puntos naranja) y zonas fragmentadas (puntos verdes) en la región de Chamela-Cuixmala. El polígono rojo indica el límite de la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala (RBCC), y los diferentes colores las categorías de cobertura y uso de suelo. Las abreviaciones corresponden a los de la Tabla 1.

2.2 Extracción de ADN y construcción de bibliotecas genómicas 3RAD

Extraje el ADN de cada muestra de tejido usando el kit de extracción DNeasy Blood and Tissue (Qiagen) siguiendo las instrucciones del fabricante, incluyendo un paso adicional de tratamiento de las muestras con RNAase para obtener ADN genómico libre de RNA. Medí la concentración

final del ADN con un fluorómetro Quantus™. Usé la técnica 3RAD para localizar y genotipificar polimorfismos de nucleótido único (SNPs), la cual es una variante de la técnica Restriction-site-Associated DNA-sequencing (RAD-seq). La técnica de RAD-seq consiste en la secuenciación masiva de bibliotecas genómicas que reduce el tamaño del genoma, permitiendo descubrir y genotipificar de cientos a miles de marcadores en especies no modelo (Andrews et al., 2016). La técnica 3RAD usa tres enzimas de restricción y hace uso de la digestión y el ligamiento para simultáneamente adherir adaptadores a todos los fragmentos de ADN que tienen terminaciones compatibles, evitando la formación de dímeros de adaptadores y quimeras en la reacción (Glenn et al., 2019). Las bibliotecas se construyeron en las instalaciones de BadDNA@UGA del Departamento de Ciencias Ambientales y de la Salud de la Universidad de Georgia en Estados Unidos. Brevemente, la construcción de las librerías consistió en estandarizar la concentración del ADN de todas las muestras a 27 ng/μl y en digerir el ADN usando tres enzimas de restricción (MspI, BamHI y ClaI; New England Biolabs® Inc.). Los fragmentos de ADN se ligaron a adaptadores con códigos de barras internos de longitud variable (Bayona-Vásquez et al., 2019), y se amplificaron mediante PCR y usando iTru-primers (Glenn et al., 2019). Los productos de PCR se purificaron y combinaron a un volumen equimolar para su secuenciación, que se realizó en la plataforma Illumina HiSeq X Ten. Se hicieron lecturas de los fragmentos de ADN (aproximadamente de 150 pares de bases) a partir de cada uno sus extremos obtenidos.

2.3 Procesamiento de datos genómicos y llamado de SNPs

Evalué la calidad de las secuencias (de aquí en adelante lecturas) con FASTQC v.0.11.7 (Andrews, 2010) y utilicé el módulo *process_radtags* del programa STACKS v2.55 (Catchen et al., 2013) para separar las lecturas y asignarlas a los individuos de acuerdo con sus códigos de

barras. Durante este proceso filtré las lecturas de acuerdo con su calidad (-q), y eliminé aquellas que tuvieran bases no llamadas (-c). Retuve las lecturas que incluyeran el sitio de restricción y código de barras (-r), y las corté a una longitud de 139 pares de bases. Debido a que no existe un genoma de referencia para la especie, usé el pipeline *denovo_map* en STACKS para detectar el número de loci y genotipos usando la optimización de los parámetros de alineamiento propuesta por Paris et al. (2017) y Rochette & Catchen (2017). Para esto, usé el módulo *ustacks* y los siguientes parámetros: un valor de cuatro como el número mínimo de lecturas para formar un stack (-m) y para construir un locus de *novus* para cada muestra y una distancia máxima de tres nucleótidos entre stacks (-M). Los loci se alinearon de acuerdo a la similitud entre las lecturas para crear un catálogo de todos los loci (loci consenso) a través de todas las muestras, utilizando *cstacks* y una distancia (-n) de tres entre los loci. Los loci de cada individuo se alinearon usando el catálogo como referencia en el módulo *sstacks*.

En el módulo *populations* de STACKS retuve los loci que estuvieron presentes en al menos el 80% de los individuos (r) y en al menos 13 de los 16 sitios de muestreo (p), usé una frecuencia mínima del alelo menos común (*min_maf*) de 0.05 y un máximo de heterocigosidad observada de 0.75. Además, utilicé el parámetro *write_single_snp* para retener sólo el primer SNP por cada locus, con la finalidad de evitar desequilibrio de ligamiento en los análisis genéticos.

2.4 Diversidad genética

Para estimar la diversidad genética de cada sitio de colecta, calculé la frecuencia del alelo más frecuente (PM), la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_E), la diversidad nucleotídica (π) y el coeficiente de endogamia (F_{IS}). Calculé todos los estimadores en el módulo

“populations” en STACKS. Para evaluar el efecto de la pérdida de vegetación original en los niveles de diversidad genética de *A. dacnicolor*, comparé los valores obtenidos de los estimadores de diversidad genética y del coeficiente de endogamia entre sitios de muestreo ubicados dentro del bosque continuo *versus* aquellos ubicados en los fragmentos con una prueba no paramétrica de Wilcoxon en R (R Core Team 2020).

2.5 Estructura genética

Inferí la estructura genética usando el programa ADMIXTURE v.1.3.0, que utiliza máxima verosimilitud para detectar grupos genéticos (Alexander et al., 2011). Corrí ADMIXTURE, probando valores de K entre 1 y 16. Seleccioné el valor de K más apropiado usando el procedimiento de validación cruzada de 10 veces (10-fold cross-validation), la mejor K es la que exhibe un error de validación cruzada bajo (error CV) (Alexander et al., 2011). Asimismo, utilicé el método de asignación bayesiana implementado en el programa STRUCTURE v 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) para inferir el número más probable de grupos genéticos (K). Corrí STRUCTURE sin proporcionar al programa información sobre los sitios de muestreo usando el modelo de *admixture* con frecuencias alélicas correlacionadas. Se realizaron 10 réplicas independientes para cada K , de $K = 1$ a $K = 5$. La duración del ‘burn-in’ y el número de repeticiones de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) después del ‘burn-in’ fue de 10,000 y 50,000 respectivamente. STRUCTURE corrió con la ayuda de StrAuto v. 1.0 (Chhatre & Emerson, 2017) que permite realizar procesamientos en paralelo de las múltiples iteraciones para el parámetro K . Para identificar el número más probable de K calculé el valor de ΔK (Evanno et al., 2005) en el programa Structure Harvester (Earl & vonHold, 2012), el cual se basa en la tasa de cambio en la probabilidad log de los datos entre valores sucesivos de K (Evanno et al., 2005).

Las gráficas de barras para visualizar los grupos genéticos fueron obtenidas en el programa CLUMPAK (Kopelman et al., 2015).

Estimé la diferenciación genética entre sitios de muestreo y entre los grupos genéticos detectados con los métodos de asignación (ADMIXTURE y STRUCTURE) mediante F_{ST} pareadas (Slatkin, 1995) y determiné su significancia con 10,000 permutaciones en el programa ARLEQUIN v3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2010). También evalué la estructura genética mediante un análisis discriminante de componentes principales (DAPC; Jombart et al., 2010), utilizando el paquete adegenet 2.1.3 en R (Jombart, 2008). El DAPC es un análisis multivariado que permite determinar el grado de diferenciación genética utilizando un modelo no-genético, el análisis está diseñado para maximizar la varianza genética entre grupos, mientras minimiza la varianza dentro de los grupos. Usé el criterio de información Bayesiano (BIC) y la función *find.clusters*, para determinar el número más probable de grupos después de retener todos los componentes principales (PCs). Debido a que el número óptimo de grupos sugeridos por este primer análisis fue $K=1$, realicé el análisis agrupando a los individuos en los 16 sitios de muestreo. En otro análisis agrupé a los individuos en tres grupos, de acuerdo con los resultados de ADMIXTURE y STRUCTURE ($K=3$, ver resultados). Para evitar un sobreajuste del modelo, determiné el número óptimo de PCs con el procedimiento de validación cruzada con la función *xvalDapc* usando 1,000 réplicas, dicho procedimiento se basa en la asignación exitosa máxima con el menor error de cuadrados medios (Jombart et al., 2010).

2.6 Construcción de las capas del paisaje

Para construir las capas del paisaje utilizadas en los análisis de superficie de resistencia (ver más abajo) usé las variables del paisaje naturales y antropogénicas que se sabe son importantes para

la dispersión de los anuros (Pereira-Monteiro et al., 2019, Covarrubias et al., 2021).

Específicamente, utilicé elevación, pendiente, índice topográfico compuesto (CTI) (todas variables continuas), así como presencia y tipo de carreteras, ríos y cobertura y uso de suelo (todas variables categóricas). La elevación la obtuve del modelo digital de elevación (DEM) del “Continuo de Elevaciones Mexicano” del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (<https://www.inegi.org.mx/app/geo2/elevacionesmex/>). Calculé la pendiente en grados a partir del DEM usando la función “Spatial Analyst”, la categoría “Surface” y el módulo “Slope” de ArcGIS. CTI es un índice adimensional que derivé del DEM y para esto utilicé la dirección del flujo de agua y la pendiente empleando las funciones “Hydrology” y “Spatial Analyst” de ArcGIS. Los valores de CTI oscilaron entre 0 y 22, siendo las áreas con mayores valores del índice las más proclives a generar escorrentía derivada de la precipitación (Moore et al., 1993).

La presencia y tipo de carreteras lo obtuve de la “Red Nacional de Caminos” del Instituto Mexicano del Transporte (<http://189.254.204.50:83/>). Construí dos capas, una que incluye caminos pavimentados de dos carriles y otra que solo incluye terracerías. Usando la herramienta “Reclassify”, asigné valores de 1 a los pixeles que conforman las carreteras de dos carriles y valores de 0 al resto de la matriz. De forma similar, en la capa de terracerías reclasifiqué con valores de 1 a los pixeles de terracerías mientras que los demás pixeles de la matriz les asigné valores de 0. Construí una capa de ríos a partir del DEM usando la función “Hydrology” de ArcGIS y la clasificación de Strahler (1957). La capa incluye ríos de primer a quinto orden. Los ríos de primer orden no incluyen afluentes, los ríos de segundo orden son el resultado de la intercepción de dos afluentes de primer orden, y así sucesivamente, hasta los ríos de quinto orden que son los más anchos y caudalosos. Reclasificando con valores de 0 y 1, construí dos capas independientes para el orden de ríos: una capa con ríos de primer a cuarto orden y la otra capa

únicamente con ríos de quinto orden. Obtuve la capa de uso y cobertura del suelo para 2015 del Sistema de Monitoreo del Cambio de la Cobertura del Suelo de América del Norte (NALCMS, <http://www.cec.org/es/atlas-ambiental-de-america-del-norte/cobertura-del-suelo-2015-landsat-y-rapideye-30m/>). Esta capa es un mapa con una resolución espacial de 30 m, cuyas clases de cobertura terrestre se definen según el Sistema de Clasificación de Cobertura Terrestre (LCCS) desarrollado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Las clases de cobertura terrestre en el área de estudio son: BTC, bosque perenne o bosque tropical perennifolio, el cual tiene una comunidad biológica en la que predominan árboles mayores a 5 m siempre verdes (Rzedowski, 2006), agricultura, pastizales, asentamientos humanos, cuerpos de agua, manglares y suelo expuesto. De la capa anterior obtuve tres capas combinadas de cobertura. Mediante la herramienta “Reclassify”, asigné valores de 1 a los píxeles que conforman a la capa combinada: BTC + bosque perenne y valores de 0 al resto de la matriz. Para otra capa combinada, asigné valores de 1 a los píxeles que corresponden a pastizales + asentamientos humanos + suelo expuesto y valores de 0 al resto de la matriz. Realicé este mismo procedimiento para la capa con solo la cobertura de agricultura.

Todas las capas descritas anteriormente fueron construidas para un estudio previo a una resolución espacial de 100 m (Covarrubias et al., 2022). En el presente estudio hice un re-muestreo de todas las capas anteriormente descritas a una resolución espacial de 300 m para el análisis de genética del paisaje. Esto lo realicé utilizando la herramienta “Resample” en ArcGIS (ESRI 2015).

2.7 Genética del paisaje

Para identificar los elementos de la matriz intermedia del paisaje entre los sitios de muestreo que mejor explican los patrones de estructura genética de *A. dacnicolor*, hice un análisis de superficies de resistencia utilizando el paquete ResistanceGA en R (Peterman, 2018).

ResistanceGA utiliza un algoritmo genético para optimizar superficies de resistencia asignando iterativamente valores a las capas categóricas o aplicando una serie de transformaciones a las capas continuas. El programa hace esto basándose en datos genéticos y distancias efectivas pareadas entre individuos/poblaciones sin hacer suposiciones sobre la relación entre resistencia y las características de dispersión de la especie. Para el análisis utilicé como distancias genéticas las F_{ST} pareadas linealizadas (Slatkin, 1995) calculadas en ARLEQUIN y optimicé por separado cada una de las superficies de resistencia (capas del paisaje), utilizando ocho funciones de transformación (funciones monomolecular y Ricker; Bolker, 2008). En la optimización, mediante la función *select.trans*, especifiqué que utilizara todas las transformaciones (“A”) para optimizar la superficie y exploré valores de resistencia de hasta 2500 con la función *max.cont*. Estimé las distancias efectivas pareadas entre los sitios de colecta que calculé bajo el enfoque “random-walk commute time” utilizando la función *commuteDistance* en el paquete *gdistance* en R (van Etten, 2017). Evalué la relación entre distancias efectivas y genéticas pareadas con un modelo lineal mixto basado en efectos poblacionales de máxima verosimilitud (MLPE) e identifiqué la superficie de resistencia óptima usando el criterio de información de Akaike (AIC). MLPE incluye una estructura covariada que justifica la no independencia de los datos pareados (Clarke et al., 2002). En el modelo, cada dato pareado es considerado como una observación, y la carencia de independencia se incorpora como un factor poblacional que distingue entre los datos que comparten un sitio o población (no independientes) y los que no lo comparten

(independientes). Después de cada optimización, evalué el nivel de soporte de cada selección de modelos realizando un análisis de bootstrap. Esto consistió en un submuestreo del 75% de las matrices de distancias genéticas y distancias efectivas pareadas, generadas a partir de cada superficie optimizada (10000 veces sin reemplazamiento). Usé la frecuencia a la cual un modelo fue considerado como el mejor y el promedio del peso del modelo para determinar el nivel de soporte. Incluí la distancia geográfica como un factor predictivo en el análisis de bootstrap.

3. Resultados

3.1 Datos de SNPs

Para los 96 individuos analizados obtuve un total de 420 millones de lecturas (210 millones para cada extremo secuenciado de ADN), de las cuales retuve 402 millones después de pasarlas por los filtros de calidad. El número promedio de lecturas por individuo fue de 4.19 millones. Debido a la baja cantidad de lecturas obtenidas en 10 de los individuos de sitios localizados en los fragmentos del bosque, éstos fueron removidos en los análisis subsecuentes. La optimización de los 86 individuos restantes, pertenecientes a 16 sitios de muestreo, resultó en un total de 52,396 loci y 48,905 SNPs. Después de los diferentes parámetros utilizados incluyendo *min_maf* (0.05), heterocigosidad observada (0.75) y la retención de únicamente un SNP por locus (parámetro *write_single_snp*), el número total de SNPs utilizado en los análisis fue de 41,236.

3.2 Diversidad genética

Los distintos estimadores de diversidad genética están resumidos en la Tabla 1. La frecuencia promedio del alelo más frecuente (PM) fluctuó entre 0.795 (SC2) y 0.81 (FORT), la heterocigosidad observada (H_o) varió entre 0.275 (FORT) y 0.292 (COL1), mientras que la

heterocigosidad esperada (H_E) entre 0.246 (FORT) y 0.281 (SC2), y la diversidad nucleotídica (π) entre 0.281 (FORT) y 0.307 (LIM). Los valores del coeficiente de endogamia (F_{IS}) variaron entre 0.014 (FORT) y 0.043 (RAN).

La diversidad nucleotídica (π) de los sitios ubicados en el bosque continuo (promedio: 0.303, rango: 0.301 – 0.307) fue significativamente mayor que la de aquellos localizados en la zona fragmentada (promedio: 0.298, rango: 0.281 – 0.304) (Wilcoxon test, $W = 55$, $P = 0.001$). La heterocigosidad observada (H_O) también fue significativamente mayor en los sitios del bosque continuo (promedio: 0.29, rango: 0.287 – 0.292) que en los de la zona fragmentada (promedio: 0.28, rango: 0.275 – 0.288) (Wilcoxon test, $W = 61$, $P = 0.0015$). Sin embargo, la frecuencia promedio del alelo mas frecuente (PM) y la heterocigosidad esperada (H_E) no difirieron significativamente entre los sitios del bosque continuo y del fragmentado.

Tabla 1. Diversidad genética de *Agalychnis dacnicolor*. Se incluye el sitio de colecta, su abreviación, el tipo de paisaje (F = fragmentos; BC = bosque continuo) en el que se localiza, el número de individuos (N) muestreados, el grupo genético al que fue asignado cada sitio con los análisis de asignación, la frecuencia promedio del alelo mas frecuente (PM), la heterocigosidad observada (H_O) y esperada (H_E), la diversidad nucleotídica (π) y el coeficiente de endogamia (F_{IS}).

Sitio de colecta	Abreviación	Paisaje	N	Grupo genético (K)	PM	H_O	H_E	π	F_{IS}
Fortuna	FORT	F	4	1	0.817	0.275	0.246	0.281	0.014
Ranchitos	RAN	F	5	1	0.799	0.284	0.272	0.304	0.043
Santa Cruz-1	SC1	F	6	1	0.798	0.287	0.276	0.303	0.036
Santa Cruz-2	SC2	F	7	1	0.795	0.288	0.281	0.303	0.035
Nacastillo-1	NC1	F	5	1	0.801	0.286	0.270	0.301	0.032
Nacastillo-2	NC2	F	5	1	0.800	0.288	0.271	0.303	0.032
Nacastillo-3	NC3	F	5	1	0.800	0.288	0.270	0.301	0.028
Hidalgo Nuevo	HNVO	F	7	3	0.801	0.284	0.271	0.293	0.022
Puente	PCH	BC	5	1	0.798	0.291	0.273	0.304	0.028
Chamela									
Limón	LIM	BC	5	1	0.797	0.291	0.275	0.307	0.033
Arroyo	ACH	BC	6	2	0.797	0.290	0.277	0.303	0.031
Chamela									
Colorado-1	COL1	BC	5	2	0.799	0.292	0.272	0.303	0.023
Colorado-2	COL2	BC	2	2	0.798	0.290	0.273	0.305	0.033
Zarco	ZAR	BC	6	2	0.797	0.287	0.277	0.303	0.036
Carretera	CA	BC	5	2	0.799	0.290	0.273	0.304	0.029
Careyes	CAR	BC	5	2	0.801	0.289	0.270	0.301	0.026

3.3 Estructura genética

Los valores más bajos del error de validación cruzada de 10 veces (10-fold cross-validation), para elegir el valor más probable de grupos genéticos (K) en ADMIXTURE, fueron $CV = 0.567$ para $K = 2$ y $CV = 0.589$ para $K = 3$. Los grupos detectados por ADMIXTURE son los siguientes: para $K=2$, los individuos asignados con mayor probabilidad al grupo 1 (rojo) se encuentran principalmente en sitios localizados en la zona fragmentada (al noroeste: FORT, RAN, SC1, SC2; al noreste: NC1, NC2, NC3). La excepción son los individuos de las localidades PCH y LIM, que se localizan dentro del bosque continuo (Fig. 2). El grupo 2 (azul), está conformado principalmente por individuos de sitios de muestreo que se encuentran dentro de la reserva (COL1, COL2 y ZAR), por individuos de sitios en bosque continuo fuera pero muy cerca de la reserva (CA, CAR, ACH) y por individuos de HNVO, el sitio más alejado geográficamente del resto y que se encuentra en una zona fragmentada (Fig. 2). La mayoría de los individuos tienen cierta proporción genética de ambos grupos, pero la proporción del grupo rojo en individuos que conforman el grupo en azul es mayor que en el sentido opuesto, sugiriendo mayor flujo génico del grupo rojo (bosque fragmentado) hacia el azul (bosque continuo; Fig. 2b). Para $K = 3$, los grupos genéticos son similares a los detectados para $K=2$, la diferencia es que los individuos de HNVO están asignados a un tercer grupo (Fig. 3). La mayoría de los individuos tienen cierta proporción genética de los tres grupos (Fig. 3).

Los resultados del análisis de STRUCTURE fueron muy parecidos a los de ADMIXTURE. Los cálculos de ΔK indicaron que el número de grupos genéticos más probable es $K = 2$ pero para $K = 3$ detectó más estructura (Figura S1). Los grupos genéticos (cuando $K = 2$ y $K = 3$) detectados con STRUCTURE están conformados por los mismos individuos que los grupos detectados con ADMIXTURE (Fig. S1).

Las estimaciones de diferenciación genética calculadas con F_{ST} pareadas indicaron diferenciación genética baja ($F_{ST} = 0 - 0.039$) pero significativa (en 60% de las comparaciones) entre los sitios de muestreo (Tabla S1). En general los valores de F_{ST} pareados más altos y significativos correspondieron a las comparaciones entre los sitios de colecta localizados en el bosque continuo vs el fragmentado. Mientras que la mayoría de las comparaciones entre sitios localizados dentro de zonas fragmentadas fueron significativas, aquellas entre sitios del bosque continuo no lo fueron (Tabla S1). La diferenciación genética entre los grupos genéticos detectados por ADMIXTURE y STRUCTURE fue significativa tanto para $K=2$ ($F_{ST} = 0.0083$, $P < 0.0001$) como para $K=3$. Para $K=3$, la diferenciación genética entre el grupo verde y el grupo rojo fue 0.009 ($P=0.0001$), entre el rojo y el azul 0.027 ($P=0.0001$), y entre el verde y el azul 0.023 ($P=0.001$).

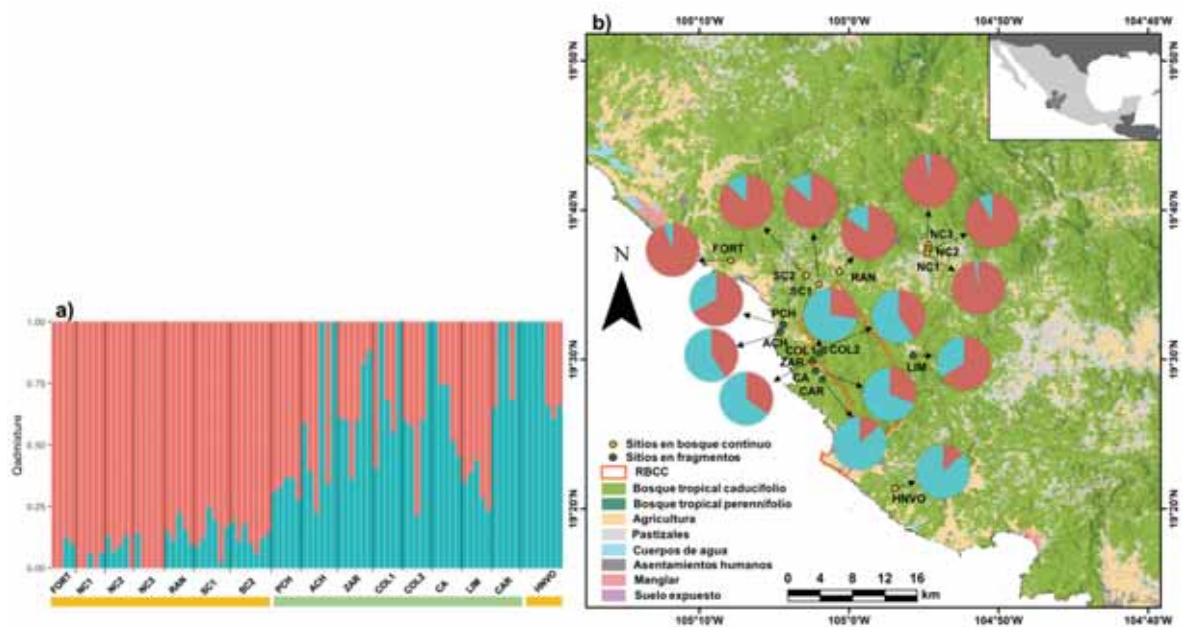


Figura 2. Asignación de los individuos de *Agalychnis dacnicolor* a grupos genéticos (K) realizado en Admixture. a) Probabilidad de 86 individuos analizados (barras verticales) de pertenecer a un número óptimo de grupos genéticos ($K=2$) indicados por los colores. Las barras horizontales debajo de la gráfica indican los sitios localizados en zonas fragmentadas (amarillo) y en bosque continuo (verde). b) Distribución geográfica de los sitios de colecta, indicando con diagramas de pays en distintos colores la proporción de pertenencia a los dos grupos genéticos (rojo = $K1$, azul= $K2$). El polígono verde indica los límites de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala (RBCC).

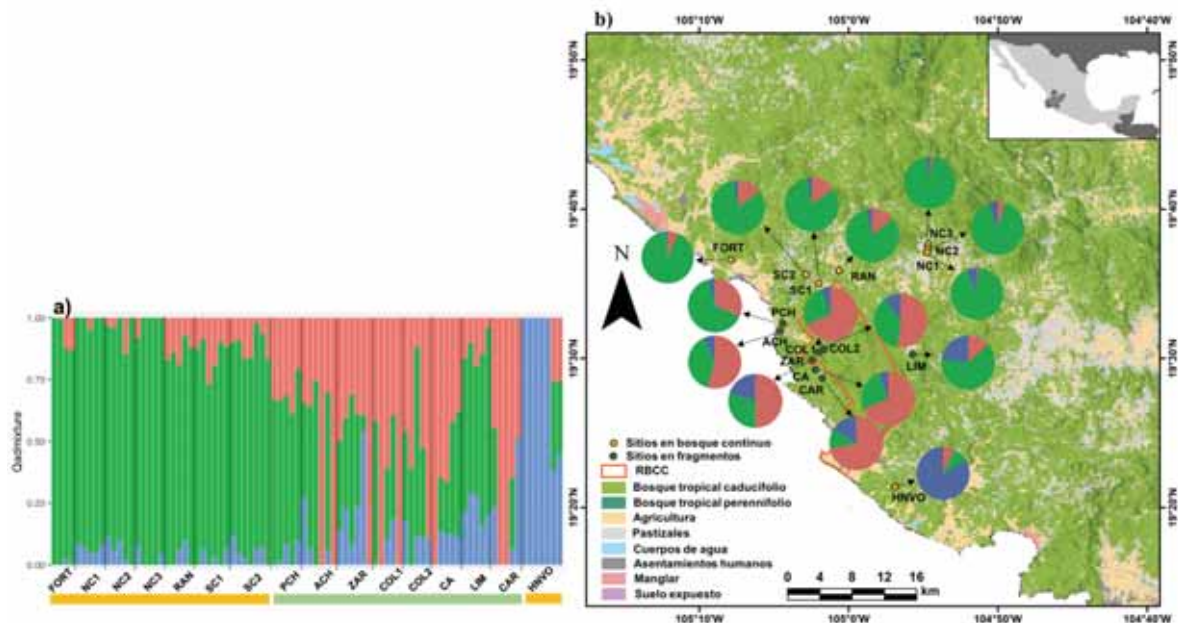


Figura 3. Asignación de los individuos de *Agalychnis dacnicolor* a grupos genéticos (K) realizado en Admixture. a) Probabilidad de 86 individuos analizados (barras verticales) de pertenecer a un número óptimo de grupos genéticos ($K=3$) indicado por los colores. Las barras horizontales debajo de la gráfica indican los sitios localizados en zonas fragmentadas (amarillo) y en bosque continuo (verde). b) Distribución geográfica de los sitios de colecta, indicando con diagramas de pays en distintos colores la proporción de pertenencia a los dos grupos genéticos (rojo = $K1$, verde = $K2$, azul = $K3$). El polígono verde indica los límites de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala (RBCC).

El análisis de DAPC, usando a los sitios de muestreo como *prior*, retuvo 15 componentes principales (PCs), constituyendo el 23% de la varianza acumulada como predictores del análisis discriminante. Las primeras dos funciones discriminantes distinguieron dos grupos genéticos, uno formado por todos los individuos de HNVO (rojo) y otro por los individuos del resto de los 15 sitios de muestreo (Figura 4a). Dentro del grupo formado por individuos pertenecientes a 15 sitios, se pueden distinguir cuatro grupos adicionales, con algunos individuos de diferentes grupos traslapándose. Dichos grupos, corresponden con la distribución de los sitios de colecta en fragmentos de bosque y en bosque continuo. Un grupo (naranja) está formado por individuos de

LIM y otro (tonos azules y grises) por el resto de los individuos muestreados en sitios de bosque continuo (COL, COL2, CAR, CA, ZAR, ACH y PCH). Los otros dos grupos estuvieron formados por individuos de sitios localizados en la zona fragmentada (en tonos amarillos: NC1, NC2, NC3; en tonos naranjas: RAN, SC1, SC2, FORT). El análisis, en el que agrupé las muestras en tres grupos de acuerdo con los resultados del análisis de ADMIXTURE, retuvo 30 PCs, constituyendo el 43% de la varianza acumulada como predictores de los análisis discriminantes. Las dos primeras funciones discriminantes distinguieron tres grupos genéticos: el grupo verde formado en su mayoría por individuos de sitios localizados en los fragmentos de bosque, el rojo en su mayor parte constituido por individuos de localidades dentro del bosque continuo y el grupo azul formado por los individuos de HNVO (Figura 4b).

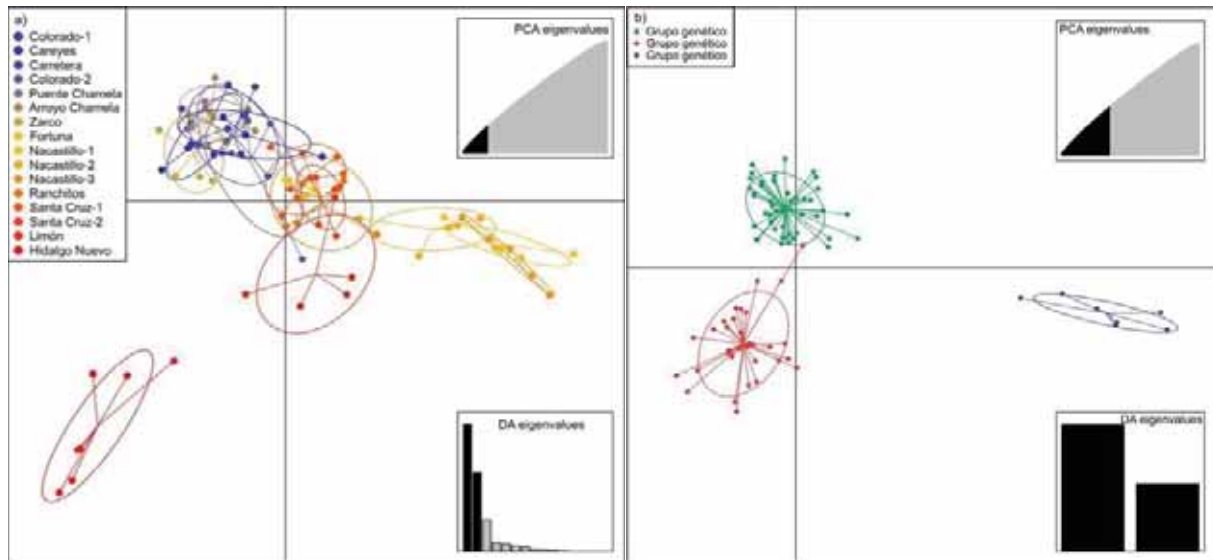


Figura. 4. Gráfico del análisis discriminante de componentes principales (DAPC). a) Individuos agrupados en los 16 sitios de muestreo, b) individuos agrupados en los tres grupos genéticos detectados por ADMIXTURE. Los ejes corresponden a las primeras dos funciones discriminantes y los puntos representan a los individuos con las elipses de inercia del 95%. Los diferentes colores indican los sitios de colecta (a) y grupos genéticos (b). Los recuadros dentro de ambos gráficos representan los valores propios de los componentes principales retenidos (arriba), y los vectores propios de las funciones discriminantes (abajo).

3.4 Genética del paisaje

La optimización y selección de modelo en ResistanceGA indicó que de acuerdo con el porcentaje del modelo mejor calificado (top-ranked %), la distancia geográfica (83.4%) y la elevación (16.30%) son las variables del paisaje que mejor explican el flujo génico entre los 16 sitios de colecta. El resto de las variables CTI (0.14%) y el BTC+ bosque perene (0.13%) tuvieron una menor contribución (Tabla 2). Debido a que HNVO podría estar sesgando los resultados, al ser el sitio de colecta geográficamente más alejado y genéticamente más diferenciado del resto, realicé otro análisis en ResistanceGA excluyendo HNVO. Los resultados de dicho análisis indicaron que la distancia geográfica (57.13%) y la cobertura del bosque tropical caducifolio + bosque perenne

(34.84%) son las variables del paisaje que mejor explican el flujo génico entre los 15 sitios de colecta. La elevación (7.82%) y el CTI (0.19%) tuvieron una menor contribución (Tabla 3). Las curvas de respuesta de las superficies de resistencia optimizadas mostraron que el costo de resistencia aumenta conforme aumenta la elevación, empezando a incrementarse a los 200 msnm (Fig. 5a). Zonas con valores más altos de CTI (e.g. áreas con más humedad edáfica) tuvieron un menor costo de resistencia que aquellas con valores más bajos (Figura 5b).

Tabla 2. Resultados de la selección del modelo lineal mixto basado en efectos poblacionales de máxima verosimilitud (MLPE) para evaluar el efecto de las variables del paisaje en la estructura genética de *A. dacnicolor* entre los 16 sitios de muestreo. Muestra la ecuación de transformación que mejor se ajustó y los estadísticos para cada superficie de resistencia. El porcentaje del modelo mejor calificado y el menor peso promedio indican los modelos mejor apoyados.

Superficie de resistencia	Ecuación de transformación	K	Avg.AICc	Avg.weight	Avg.rank	Modelo mejor calificado (%)
BTC+ b. perenne	NA	3	-439.14	0.026	5.08	0.13
Distancia geográfica	NA	2	-441.15	0.089	4.12	83.42
Pastizales	NA	3	-438.48	0.01	6.65	0
Agricultura	NA	3	-434.39	0.002	11.75	0
Ríos orden 5	NA	3	-436.98	0.01	6.85	0
Ríos orden 1– 4	NA	3	-436.33	0.009	9.20	0
Carreteras 2 carriles		3	-436.33	0.009	9.08	0
Terracerías	NA	3	-436.33	0.009	10.08	0
Elevación	Inverse-Reverse Ricker	4	-436.14	0.013	3.88	16.30
CTI	Ricker	4	-434.19	0.002	7.21	0.14
Pendiente	Ricker	4	-433.78	0.001	8.91	0

K= número de parámetros en la transformación de las superficies compuestas más la intersección o el número de categorías en una superficie binaria mas la intersección.

Avg.AICc: promedio del criterio de información de Akaike para cada modelo, corregido por el tamaño de muestra.

Avg.weight: promedio ponderado del modelo que representa la probabilidad de que un modelo es el mejor del conjunto de modelos, promediado sobre 10000 réplicas de bootstrap.

Avg.rank: clasificación de modelos promedio de 100 réplicas de bootstrap.

Modelo mejor calificado: proporción de veces que durante las 10000 iteraciones de bootstrap cada modelo se ubica como el mejor.

Tabla 3. Resultados de la selección del modelo lineal mixto basado en efectos poblacionales de máxima verosimilitud (MLPE) para evaluar el efecto de las variables del paisaje en la estructura genética de *A. dacnicolor* excluyendo Hidalgo Nuevo del análisis. Muestro la ecuación de transformación que mejor se ajustó y los estadísticos para cada superficie de resistencia. El porcentaje del modelo mejor calificado y el menor peso promedio indican los modelos mejor apoyados.

Superficie de resistencia	Ecuación de transformación	K	Avg.AICc	Avg. weight	Avg. rank	Modelo mejor calificado %
BTC+ b. perenne	NA	3	-441.94	0.17	2.69	34.84
Distancia geográfica	NA	2	-440.93	0.07	4.84	57.13
Pastizales	NA	3	-438.22	0.01	6.62	0
Agricultura	NA	3	-438.22	0.01	7.60	0
Ríos orden 5	NA	3	-436.81	0.01	7.47	0
Ríos orden 1– 4	NA	3	-436.16	0.008	9.35	0
Carreteras 2 carriles		3	-436.16	0.008	9.75	0
Terracerías	NA	3	-436.16	0.008	11.04	0
Elevación	Inverse-Reverse Ricker	4	-435.91	0.010	4.53	7.82
CTI	Ricker	4	-433.76	0.002	7.71	0.19
Pendiente	Ricker	4	-433.51	0.001	9.73	0

K= número de parámetros en la transformación de las superficies compuestas más la intersección o el número de categorías en una superficie binaria mas la intersección.

Avg.AICc: promedio del criterio de información de Akaike para cada modelo, corregido por el tamaño de muestra.

Avg.weight: promedio ponderado del modelo que representa la probabilidad de que un modelo es el mejor del conjunto de modelos, promediado sobre 10000 réplicas de bootstrap.

Avg.rank: clasificación de modelos promedio de 100 réplicas de bootstrap.

Modelo mejor calificado: proporción de veces que durante las 10000 iteraciones de bootstrap cada modelo se ubica como el mejor.

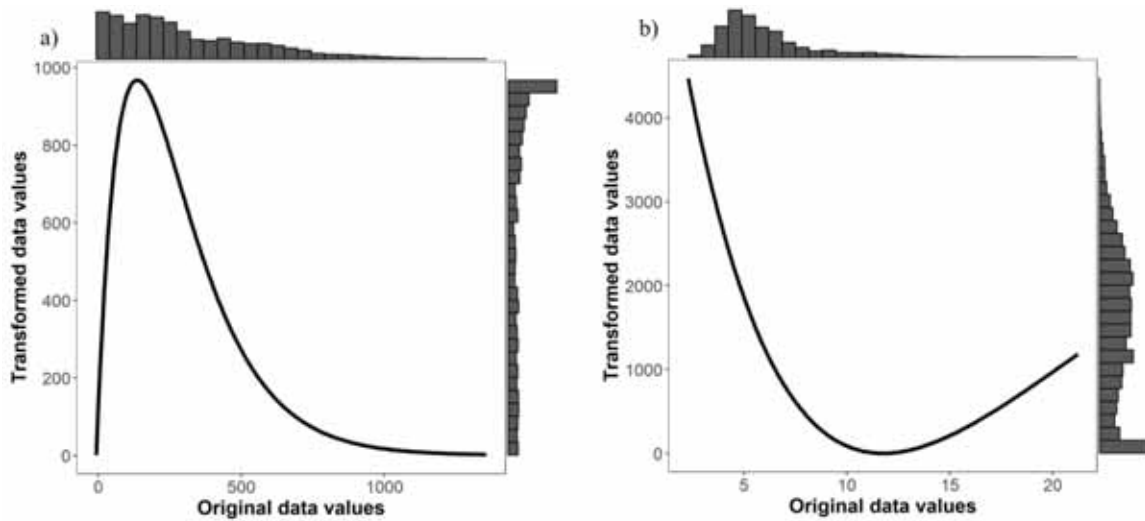


Figura. 5. Curvas de respuesta de optimización única de superficies para las variables del paisaje continuas (a) elevación y (b) CTI que explicaron la distancia genética (F_{ST}) entre las poblaciones de *A. dacnicolor*. Las barras en el histograma indican la frecuencia de cada valor de resistencia en el paisaje.

4. Discusión

Los valores de heterocigosidad observada (0.275 – 0.292), heterocigosidad esperada (0.246 – 0.281), y diversidad nucleotídica (0.281 – 0.307) detectados en *A. dacnicolor* en el sitio de estudio son más altos que los reportados en otros anuros como *Pelophylax plancyi* (H_O : 0.197 – 0.301; π : 0.239 – 0.268; Wei et al., 2021), *Amolopus larutensis* (promedio: H_O = 0.016, H_E = 0.022), *A. geratu* (promedio: H_O = 0.020, H_E = 0.032), *A. australis* (promedio: H_O = 0.027, H_E = 0.058; Chan & Brown, 2020) y *Rana cascadae* (H_O : 0.09 – 0.13, H_E : 0.07 – 0.13; π = 0.0003 – 0.0005; Hardy et al., 2021). A pesar de que los niveles de diversidad genética de *A. dacnicolor* detectados en este estudio son moderados y en general más altos en *A. dacnicolor* que en otras especies de anuros, sería importante monitorear la diversidad genética de la especie a corto y a mediano plazo pues el constante deterioro del hábitat puede eventualmente resultar en la reducción del tamaño efectivo de las poblaciones y como consecuencia de la diversidad genética

(Frankham et al., 2002). Las poblaciones con tamaños efectivos grandes suelen tener altos niveles de diversidad genética, lo que les confiere estabilidad y aumentan su potencial evolutivo (Frankham et al., 2014). Por otro lado, tamaños efectivos pequeños pueden resultar en niveles bajos de diversidad genética. Esto es particularmente importante en anuros ya que sus tamaños efectivos suelen ser pequeños ($N_e < 100$ individuos) (Phillipsen et al., 2011), haciéndolos susceptibles a la pérdida de diversidad genética, como se ha reportado en *Rana cascadae* (Pope et al., 2014; Hardy et al., 2021). Sería importante estimar el tamaño efectivo de *A. dacnicolor* para determinar si corresponde con los patrones de diversidad genética que detecté en este estudio. Estas estimaciones también serían relevantes para determinar si el tamaño efectivo es menor en la zona fragmentada que en el bosque continuo como se encontró para la diversidad genética (ver abajo) y de esta forma tener evidencia adicional que apoye la importancia de conservar hábitats adecuados para evitar el posible declive de sus poblaciones.

Como lo esperaba, la diversidad genética de *A. dacnicolor* fue menor en las zonas fragmentadas que en el bosque continuo, lo que sugiere que la pérdida de vegetación original tiene efecto en los patrones de diversidad genética. La mayor diversidad genética detectada en los sitios de bosque continuo puede deberse a que las pozas en esa zona, particularmente en los sitios ubicados dentro de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, se forman cerca de arroyos durante la temporada de lluvias, la cual coincide con la época reproductiva de *A. dacnicolor*. La presencia de pozas temporales puede estar promoviendo la dispersión de individuos de zonas fragmentas al bosque continuo en busca de sitios de reproducción. Dicha dispersión puede resultar en intercambio genético, resultando en una mayor diversidad genética en zonas de bosque continuo, como se ha encontrado en otras especies (Koscinski et al., 2009). Esto es apoyado por los resultados de los análisis de asignación (ADMIXTURE y

STRUCTURE), los cuales indicaron que el flujo génico es mayor de la zona fragmentada hacia el bosque continuo, posiblemente debido a que los individuos se dispersan en búsqueda de mejores condiciones, no solo para su reproducción sino también de cobertura arbórea que los provee de mayor humedad. La mayoría de los sitios del bosque fragmentado tienen pozas artificiales con agua todo el año para el mantenimiento del ganado. Algunas de estas pozas, donde se colectaron muestras de la especie, son grandes y están situadas en lugares muy abiertos con poca cobertura vegetal alrededor, lo que posiblemente limita la conectividad. Los sitios localizados en el bosque continuo además están inmersos en un paisaje con cobertura de vegetación original sin barreras antropogénicas que limiten la conectividad y por lo tanto el flujo génico. A pesar de que en México el BTC comprende algunas áreas extensas y continuas, la mayoría de éstas no se encuentran bajo protección federal, como lo está la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, por lo que están sujetas al efecto de las actividades humanas.

En el presente estudio detecté baja estructura genética a escala local, como se ha reportado en otros estudios en anfibios y particularmente en anuros en los que han utilizado SNPs como marcadores moleculares (McCartney-Melstad et al., 2018, Wei et al., 2021). Los SNPs son marcadores moleculares apropiados para detectar estructura genética a nivel local, debido a que la gran cantidad de loci con los que se trabaja proporciona suficiente resolución y poder estadístico, permitiendo realizar estimaciones más precisas de parámetros genéticos incluso si se tienen pocas muestras por población (Felsenstein, 2006; Björklund & Bergek, 2009). Los valores de diferenciación genética (F_{ST} : 0 – 0.039) detectados en este estudio son más bajos comparado con los reportados en otras especies distribuidas en paisajes conservados y en uno altamente modificado. Por ejemplo, en *Ascaphus truei*, cuyas poblaciones habitan cerca de presas hidroeléctricas y un parque nacional, sus valores de diferenciación genética (F_{ST})

calculados con SNPs entre sitios variaron entre 0.001 y 0.030 (Grummer & Leaché, 2017). En *R. cascadae* que se distribuyen dentro de una cadena montañosa, sus valores de F_{ST} variaron entre 0.007 a 0.244 (Hardy et al., 2021), mientras que en *P. plancyi* quien habita un paisaje dominado por la urbanización, sus valores variaron entre 0.026 y 0.107 (Wei et al., 2021). El que los valores de diferenciación genética detectados en este estudio sean mas bajos que en otras especies, puede ser resultado de la escala espacial que comprenden los estudios, diferencias en sus historias de vida, el efecto de los elementos del paisaje y/o los parámetros demográficos de las especies. Los valores de diferenciación genética más bajos fueron entre COL 1, COL 2 y CARR, todos localizados dentro de la RBCC, sugiriendo flujo génico entre estos (Tabla S1), lo cual es crucial para mantener la dinámica metapoblacional que caracteriza a los anuros. Por otro lado, la diferenciación genética más alta fue entre los sitios del bosque continuo y los de las zonas fragmentadas, así como entre sitios dentro de la zona fragmentada. Esto sugiere flujo génico limitado y restringido, probablemente como resultado de la falta de hábitat adecuado. Estos resultados son consistentes con lo que encontré en la modelación de la distribución potencial de la especie en un área geográfica más grande (Covarrubias et al., 2022). En la región de Chamela-Cuixmala desde 1960 comenzó el impacto antropogénico (Castillo et al., 2007) y continúa incrementándose debido a la conversión de vegetación original a cultivos, tierras para pastoreo intensivo, la urbanización y la construcción de carreteras hacia el noreste y sureste de la reserva. El limitado flujo génico puede impactar los niveles de diversidad genética de *A. dacnicolor* poniendo en riesgo las poblaciones remanentes, particularmente si su aislamiento sigue incrementándose.

El patrón de diferenciación genética encontrado con las F_{ST} fue apoyado por los análisis de asignación que detectaron de dos a tres grupos genéticos, en general formados por individuos

de zonas fragmentadas vs individuos que habitan en sitios de bosque continuo. En estos análisis, HNVO forma un grupo genético distinto, lo cual puede ser resultado de la distancia geográfica y baja conectividad de HNVO con el resto de los sitios que se localizan dentro de la RBCC, cerca de la misma y en otros sitios (FORT, NC, RAN y SC) de la zona fragmentada.

Desafortunadamente, no fue posible incluir muestras de sitios intermedios, debido a la complejidad de acceder a los bosques que rodean los cultivos que caracterizan esa zona. Sería importante incluir muestras de sitios intermedios para determinar si existe flujo génico entre HNVO y estos o si la configuración del paisaje limita la conectividad. El análisis de genética del paisaje sugirió que la distancia geográfica tiene un importante efecto en la diferenciación genética de HNVO con el resto de los sitios ya que la variable que más contribuye a la distancia genética fue la distancia geográfica, disminuyendo el porcentaje de su contribución al excluir HNVO del análisis. Además de las características del paisaje, la capacidad de dispersión también influye el flujo génico. A pesar de que no hay estudios de la capacidad de dispersión de *A. dacnicolor*, se ha reportado que las ranas arborícolas tienen una distancia máxima promedio de dispersión de 2000 m (Smith & Green, 2005). Esta baja dispersión, en combinación con las características del paisaje, pueden estar promoviendo la estructura genética a escala local que se detectó en este estudio.

Los resultados de este estudio indicaron que la distancia geográfica juega un papel importante en determinar la conectividad entre los sitios de muestreo. Se ha encontrado en otros estudios en anuros, que la conectividad entre las pozas reproductivas se debe en buena parte a la distancia geográfica en combinación con algunos elementos del paisaje (Murphy et al., 2010, Stevens et al., 2006). En este estudio, el BTC + bosque perenne fue el componente del paisaje que más promueve la conectividad funcional. Esto concuerda con lo encontrado en un estudio

previo en el que evalué la conectividad funcional de *A. dacnicolor* el cual indicó que el movimiento de la especie ocurre dentro de los parches de vegetación dentro de la RBCC y alrededores (Covarrubias et al., 2022), siendo el BTC el elemento natural que ejerce la menor resistencia para la especie. De forma similar otros estudios en especies de ranas arborícolas han encontrado que la cobertura de la vegetación original favorece la conectividad (Hether & Hoffman, 2012; Mims et al., 2016). Aún cuando el sitio de estudio es una región montañosa, con laderas cuya pendiente puede ser de moderada a fuerte, a diferencia de otros anuros (Lampert et al., 2003; Richards-Zawacki, 2009) en *A. dacnicolor* no ofreció una resistencia para la conectividad, probablemente debido a que la especie se encuentra mayormente en pendientes bajas (Suazo-Ortuño et al., 2011).

Algunos trabajos han indicado la importancia de la escala utilizada para determinar la relación entre el paisaje y la estructura genética (Zeller et al., 2012). Mientras que algunos estudios han encontrado que a escalas con resoluciones finas (e.g. tamaño del pixel) hay un incremento en las correlaciones de la resistencia de diferentes variables del paisaje, otros han reportado que las diferentes escalas no afectan los resultados (Cushman & Landguth, 2010; Zhao et al., 2003), sin embargo esto depende también del grado de heterogeneidad del paisaje estudiado. Debido a la baja capacidad de dispersión para los anuros en general y la escala del estudio, la resolución de los pixeles de las capas del paisaje (300 m) que utilicé podría ser una limitante. Sería importante usar una resolución más fina (e. g. 100 m) como se ha realizado en otros estudios (O'Connell et al., 2019) para corroborar el efecto de los elementos naturales y antropogénicos en los patrones genéticos que se observaron en este estudio

Los resultados de este estudio sugieren que las zonas de BTC y bosque perenne son importantes para mantener la conectividad funcional y diversidad genética de *A. dacnicolor*. Por

lo tanto, la fragmentación del hábitat pone en riesgo las poblaciones no solo de *A. dacnicolor* sino posiblemente también de otras especies sintópicas que habitan en el mismo hábitat. La detección de estructura genética a la escala espacial y temporal de este estudio fue posible gracias al uso de SNPs, los cuales son marcadores eficientes por su resolución en la detección de patrones genéticos de las poblaciones que son resultado del efecto de procesos demográficos y contemporáneos. Este tipo de estudios son de vital importancia para tomar acciones de conservación para especies que enfrentan declinación de sus poblaciones a nivel global, como es el caso de los anuros. Sin embargo, son pocos los estudios que se han realizado en anuros alrededor del mundo usando SNPs y son aún más escasas este tipo investigaciones en regiones tropicales (Covarrubias et al., 2021), donde las tasas de deforestación son elevadas.

Referencias

- Alexander, D. H., & Lange, K. (2011). Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation. *BMC Bioinformatics*, 12(246), 1–6.
<https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-246>
- Álvarez-Grzybowska E, Urbina-Cardona, N., Córdova-Tapia, F., García, A. (2020). Amphibian communities in two contrasting ecosystems: functional diversity and environmental filters. *Biodiversity and Conservation*, 29,2457–2485. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-01984-w>
- Andersen, L., Fog, K., & Damgaard, C. (2004). Habitat fragmentation causes bottlenecks and inbreeding in the European tree frog (*Hyla arborea*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1545), 1293–1302. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2720>
- Andrews, S. (2010). FastQC: a Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data. Babraham Bioinformatics. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>
- Andrews, K.R., Good, J.M., Miller M. R., Luikart, G., & Hohenlohe, P.A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Review Genetics*, 17(2), 81–92. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.28>
- Arroyo-Lambaer, A., Chapman, H., Hale, M., & Blackburn, D. (2018). Conservation genetics of two threatened frogs from the Mambilla highlands, Nigeria. *PLoS One*, 13(8), e0202010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202010>
- Balkenhol, N., Cushman, S.A., Waits, L.P. & Storfer, A. (2016). Landscape genetics: concepts, methods, applications. Hoboken: John Wiley & Sons.

- Balvanera, P., Islas, A., Aguirre, E., & Quijas, S. (2000). Las selvas secas [Dry forest]. *Ciencias*, 57, 18–24.
- Bayona-Vásquez, N. J., Glenn, T. C., Kieran, T. J. et al. (2019). Adapterama III: Quadruple-indexed, double/triple-enzyme RADseq libraries (2RAD/3RAD). *PeerJ*, 7, e7724. <https://doi.org/10.7717/peerj.7724>
- Beebe, T.J.C. & Griffiths, R.A. (2005). The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology?. *Biological Conservation*, 125(3), 271–285. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.04.009>
- Björklund, M., & Bergek, S. (2009). On the relationship between population differentiation and sampling effort: is more always better?. *Oikos* 118(8):1127–1129. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17555.x>
- Bohonak, A.J. (1999). Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74(1), 21–45.
- Bolker, B.M. (2008). *Ecological models and data in R*. Princeton, University Press, Princeton.
- Burgos, A., & Maass, J.M. (2004). Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of Western Mexico. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 104(3), 475–481. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2004.01.038>
- Castillo, A., A. Pujadas & N. Schroeder. (2007). La reserva de la biosfera Chamela-Cuixmala, México: perspectivas de los pobladores rurales sobre el bosque tropical seco y la conservación de ecosistemas. In: G. Halffter, S. Guevara y A. Melic (Eds.). *Hacia una cultura de conservación de la diversidad biológica*. pp. 245-254. M3M: Monografías Tercer Milenio, Vol. 6, Sociedad Entomológica Aragonesa, Zaragoza.

- Catchen, J., Hohenlohe, P.A., Bassham, S., Amores, A., & Cresko, W.A. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*, 22(11), 3124-3140.
<https://doi.org/10.1111/mec.12354>
- Ceballos, G., & García, A. (1995). Conserving neotropical biodiversity: the role of dry forest in western Mexico. *Conservation Biology*, 9(6), 1349–1356.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1995.09061349.x>
- Ceballos, G., & Valenzuela, D. (2010). Diversidad, ecología y conservación de los vertebrados de Latinoamérica. In: Ceballos G, Martínez L, García A, Espinoza E, Bezaury J, Dirzo R, editors. Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las selvas secas del Pacífico de México. FCE, Conabio, Conanp, Alianza WWF-Telcel, Ecociencia, S.C and Telmex, México, D.F., p. 93–118.
- Ceballos, G., Szekely, A., García, A., Rodríguez, P., Noguera, F. (1999). Programa de manejo de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala. Instituto Nacional de Ecología. México (D.F.): Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.
- Chan, K.O., & Brown, R.M. (2020). Elucidating the drivers of genetic differentiation in Malaysian torrent frogs (Anura: Ranidae: *Amolops*): a landscape genomics approach. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 190(1), 65–78.
<https://doi.org/10.1093/zoolinnea/zlz151>
- Cheptou, P.O., Hargreaves, A.L., Bonte, D., & Jacquemyn, H. (2017). Adaptation to fragmentation: Evolutionary dynamics driven by human influences. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1712), 20160037.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0037>

- Chhatre, V.E., & Emerson, K.J. (2017). StrAuto: Automation and Parallelization of STRUCTURE Analysis. *BMC Bioinformatics*, 18, 192.
<https://doi.org/10.1186/s12859-017-1593-0>
- Clarke, R.T., Rothery, P., & Raybould, A.F. (2002). Confidence limits for regression relationships between distance matrices: Estimating gene flow with distance. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics*, 7, 361–372.
<https://doi.org/10.1198/108571102320>
- Collins, J.P., & Storer, A. (2003). Global amphibian declines: Sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions*, 9(2), 89–98. <https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2003.00012.x>
- Covarrubias, S., González, C., Gutiérrez-Rodríguez, C. (2021). Effects of natural and anthropogenic features on functional connectivity of anurans: a review of landscape genetics studies in temperate, subtropical, and tropical species. *Journal of Zoology*, 313(3), 159–171. <https://doi.org/10.1111/jzo.12851>
- Covarrubias, S., Gutiérrez-Rodríguez, C., Rojas-Soto, O., Hernández-Guzmán, R., & González, C. (2022). Functional connectivity of an endemic tree frog in a highly threatened tropical dry forest in Mexico. *Écoscience*, 29(1), 1–17.
<https://doi.org/10.1080/11956860.2021.1921935>
- Crump, M.L. & N.J. Scott, Jr. (1994) Visual encounter surveys. In: Heyer, W.R., M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.C. Hayek, M.S. Foster (Eds.). *Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Cushman, S.A. (2006). Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. *Biological Conservation*, 128(2), 231–240,
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.031>

- Cushman, S.A., & Landguth, E.L. (2010). Scale dependent inference in landscape genetics. *Landscape Ecology* 25(6), 967–979. <https://doi.org/10.1007/s10980-010-9467-0>
- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J. & Schwartz, M.K. (2006). Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *The American Naturalist*, 168(4), 486–499. <https://doi.org/10.1086/506976>
- Cushman, S., Storfer A., & Waits, L. (2015). Landscape genetics: concepts, methods, applications. In N. Balkenhol, S. Cushman, A. Storfer, and L. Waits, editors. Landscape genetics: concepts, methods, applications. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Dixo, M., Metzger, J.P., Morgante, J.S., & Zamudio, K.R. (2009). Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation*, 142(8), 1560–1569. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.11.016>
- Doherty, T.S., & Driscoll, D.A. (2018). Coupling movement and landscape ecology for animal conservation in production landscapes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1879), 20172272. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.2272>
- Duellman, W.E. & Trueb, L. (1994). Biology of Amphibians. (Eds). Baltimore: John Hopkins University Press.
- Earl, D.A. & vonHoldt, B.M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- ESRI Environmental Systems Research Institute. (2015). Arc GIS Desktop: Release 10.3.1. ESRI, Redlands.

- Eterovick, P.C., Sloss, B.L., Scalzo, J.A.M., & Alford, R.A. (2016). Isolated frogs in a crowded world: Effects of human caused habitat loss on frog heterozygosity and fluctuating asymmetry. *Biological Conservation*, 195, 52–59.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.12.036>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Excoffier, L., & Lischer H.E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Fahrig, L., Baudry, J., Brotons, L., Burel, F.G., Crist, T.O., Fuller, R.J., Sirami, C., Siriwardena, G.M., & Martin, J.L. (2011). Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. *Ecology Letters*, 14(2), 101–112.
<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01559.x>
- Felsenstein, J. (2006). Accuracy of coalescent likelihood estimates: do we need more sites, more sequences, or more loci?. *Molecular Biology and Evolution*, 23(3), 691–700.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msj079>
- Frankham, R., Briscoe, D.A., & Ballou, J.D. (2002). Introduction to Conservation Genetics. (Eds). Cambridge: Cambridge University Press.
- Frankham, R., Bradshaw, C.J.A., & Brook, B.W. (2014). Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation*, 170, 56–63.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.12.036>

- García, A., & Ceballos, G. (1994). Guía de campo de los reptiles y anfibios de la costa de Jalisco, México. México: Fundación Ecológica de Cuixmala, A.C., Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- García, A, Solano-Rodríguez H., & Flores-Villela, O. (2007). Patterns of alpha, beta and gamma diversity for the herpetofauna of pacific lowlands and adjacent interior valleys of Mexico. *Animal Biodiversity and Conservation*, 30: 169-177.
- Glenn, T. C., Nilsen, R.A., Kieran, T.J., Sanders, J.G., Bayona-Vásquez, N.J., Finger, J.W., Pierson, T.W., Bentley, K.E., Hoffberg, S.L., Louha, S., García-De León F.J., del Río Portilla, M.A., Reed, K.D., Anderson, J.L., Faircloth, B.C. et al. (2019). Adapterama I: Universal stubs and primers for 384 unique dual-indexed or 147,456 combinatorially-indexed Illumina libraries (iTru & iNext). *PeerJ*, 7, e7755.
<https://doi.org/10.7717/peerj.7755>
- Grummer, J.A., & Leaché, A.D. (2017). Do dams also stop frogs? Assessing population connectivity of a coastal tailed frogs (*Ascaphus truei*) in the North cascades National Park Service Complex. *Conservation Genetics*, 18(2), 439–451.
<https://doi.org/10.1007/s10592-016-0919-1>
- Guarnizo, C.E., & Cannatella, D.C. (2014). Geographic determinants of gene flow in two sister species of tropical Andean frogs. *Journal of Heredity*, 105(2), 216–225.
<https://doi.org/10.1093/jhered/est092>
- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., Cook, W.M., Damschen, E.I., Ewers, R.M, Townshend, J.R., et al. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth’s ecosystems. *Sciences Advance*, 1(2), e1500052. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>

- Hardy, B.M., Pope, K.L., & Latch, E.K. (2021). Genomic signatures of demographic declines in an imperiled amphibian inform conservation action. *Animal Conservation*, 24(6), 946–958. <https://doi.org/10.1111/acv.12695>
- Hernández-Guzmán, R., Ruiz-Luna, A., & González, C. (2019). Assessing and modeling the impact of land use and changes in land cover related to carbon storage in a western basin in Mexico. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 13, 318–327. <https://doi.org/10.1016/j.rsase.2018.12.005>
- Hether, T.D. & Hoffman, E.A. (2012). Machine learning identifies specific habitats associated with genetic connectivity in *Hyla squirella*. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(6), 1039–1052. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02497.x>
- Homan, R.N., Windmiller, B.S., & Reed, J.M. (2004). Critical thresholds associated with habitat loss for two vernal pool-breeding amphibians. *Ecological Applications*, 14(5), 1547–1553. <https://doi.org/10.1890/03-5125>
- Jombart, T. (2008). adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11, 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Juan-Baeza, I., Martínez-Garza, C., & del-Val, E. (2015). Recovering more than tree cover: herbivores and herbivory in a restored tropical dry forest. *PLoS One*, 10(6), e0128583. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128583>
- Kopelman, N.M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., Mayrose I. (2015). CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences

across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5):1179–1191.

<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>

Koscinski, D., Yates, A.G., Handford, P., & Lougheed, S.C. (2009). Effects of landscape and history on diversification of a montane, stream-breeding amphibian. *Journal of Biogeography*, 36(2), 255–265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02009.x>

Lampert, K.P., Rand, A.S., Mueller, U.G., & Ryan, M.J. (2003). Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog *Physalaemus pustulosus*. *Molecular Ecology*, 12, 3325–3334. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.02016.x>

Landguth, E.L., Cushman, S.A., Schwartz, M.K., McKelvey, K.S., Murphy, M., & Luikart, G. (2010). Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Molecular Ecology*, 19(19), 4179–4191. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04808.x>

López, S., Rousset, F., Shaw, F.H., Shaw, R.G., & Ronce, O. (2009). Joint effects of inbreeding and local adaptation on the evolution of genetic load after fragmentation. *Conservation Biology*, 23(6), 1618–1627. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01326.x>

Lott, E.J., Bullock, S.H., & Solís-Magallanes, A. (1987). Floristic diversity structure of upland and Arroyo forest of Coastal Jalisco. *Biotropica*, 19(3): 228–235.
<https://doi.org/10.2307/2388340>

Lott, E.J., & Atkinson, T.H. (2002). Biodiversidad y fitogeografía de Chamela-Cuixmala, Jalisco. In: Nogera, F. A., J. Vega & M. Quesada (eds.). Historia natural de Chamela. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México. pp. 83–97.

Maass, J.M., Balvanera, P., Castillo, A., Daily, G.C., Mooney, H.A., Ehrlich, P., Quesada, M., Miranda, A., Jaramillo, V.J., & García-Oliva, F. (2005). Ecosystem services of tropical

- dry forests: insights from long-term ecological and social research on the Pacific Coast of Mexico. *Ecology and Society*, 10(1), 17. <https://doi.org/10.5751/ES-01219-100117>
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(4), 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00008-9)
- McCartney-Melstad, E., Vu, J.K., & Shaffer, H.B. (2018). Genomic data recover previously undetectable fragmentation effects in an endangered amphibian. *Molecular Ecology*, 27(2), 4430–4443. <https://doi.org/10.1111/mec.14892>
- McCauley, D. (1991). Genetic consequences of local population extinction and recolonization. *Trends in Ecology & Evolution*, 6(1), 5–8. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(91\)90139O](https://doi.org/10.1016/0169-5347(91)90139O)
- Mims, M.C., Hauser, L., Goldberg, C.S. & Olden, J.D. (2016). Genetic differentiation, isolation-by-distance, and metapopulation dynamics of the Arizona treefrog (*Hyla wrightorum*) in an Isolated Portion of Its Range. *PLoS One* 11(8), e0160655. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160655>
- Moore, I., Gessler, P., Nielsen, G., & Petersen, G. (1993) Terrain attributes and estimation methods and scale effects. In: *Modeling Change in Environmental Systems* (eds Jakeman A, Beck M, McAleer M). pp. 189–214. Wiley, London.
- Murphy, M.A., Dezzani, R., Pilliod, D.S., & Storfer, A. (2010). Landscape genetics of high mountain frog metapopulations. *Molecular Ecology*, 19(7), 3664–3649. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04723.x>

- Newbold, T., Hudson, L.N., Hill, S.L.L., Contu, S., Lysenko, I., Senior, R.A., Börger, L., Bennett, D.J., Choimes, A., Collen, B., et al. (2015). Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature*, 520, 45–50. <https://doi.org/10.1038/nature14324>
- Nowakowski, A.J., Veiman-Echeverria, M., Kurz, D.J. & Donnelly, M.A. (2015). Evaluating connectivity for tropical amphibians using empirically derived resistance surfaces. *Ecological Applications*, 25(4), 928–942. <https://doi.org/10.1890/14-0833.1>
- O'Connell, K. A., Mulder, K. P., Maldonado, J., Currie, K. L., & Ferraro, D. M. (2019). Sampling related individuals within ponds biases estimates of population structure in a pond-breeding amphibian. *Ecology and Evolution*, 9(6), 3620-3636. <https://doi.org/10.1002/ece3.4994>
- Olson, D.M., & Dinerstein, E. (1998). The Global 200: A representation approach to conserving the Earth's most biologically valuable ecoregions. *Conservation Biology*, 12, 502–515. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1998.012003502.x>
- Pabijan, M., Palomar, G., Antunes, B., Antol, W., Zieliński, P., & Babik, W. (2020). Evolutionary principles guiding amphibian conservation. *Evolutionary Applications*, 13(5), 857–878. <https://doi.org/10.1111/eva.12940>
- Paris, J.R., Stevens, J.R., & Catchen, J.M. (2017). Lost in parameter space: a road map for stacks. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(10), 1360–1373. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12775>
- Parsley, M.B., Torres, M.L., Banerjee, S.M., Tobias, Z.J.C., Goldberg, C.S., Murphy, M.A. & Mims, M.C. (2020). Multiple lines of genetic inquiry reveal effects of local and landscape factors on an amphibian metapopulation. *Landscape Ecology*, 35, 319–335. <https://doi.org/10.1007/s10980-019-00948-y>

- Pereira, H.M., Leadley, P.W., Proenca, V., Alkemade, R., Scharlemann, J.P.W., Fernandez-Manjarrés, J.F., Araujo, M.B., Balvanera, P., Biggs, R., Cheung, W.W., Chini, L., Cooper H.D. et al. (2010). Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science*, 330(6010),1496–1501. <https://doi.org/10.1126/science.1196624>.
- Pereira-Monteiro, W., Costa-Veiga, J., Reis-Silva, A., da Silva- Carvalho, C., Malta-Lanes, E.C., Rico, Y. & Jaffé, R. (2019). Everything you always wanted to know about gene flow in tropical landscapes (but were afraid to ask). *PeerJ*, 13, e6446. <https://doi.org/10.7717/peerj.6446>
- Peterman, W.E. (2018). ResistanceGA: An R package for the optimization of resistance surfaces using genetic algorithms. *Methods in Ecology & Evolution*, 9(6), 1638–1647. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12984>
- Phillipsen, I.C., Funk, C.W., Hoffman, E.A., Monsen, K.J. & Blouin, M.S. (2011). Comparative analyses of effective population size within and among species: Ranid frogs a case study. *Evolution*, 65, 2927–2945. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2011.01356.x>
- Pires de Campos Telles, M., Felizola Diniz-Filho, J.A., Pereira Bastos, R., Nascimento Soares, T., Dall’Ara Guimarães, L. & Pedrosa Lima, L. (2007). Landscape genetics of *Physalaemus cuvieri* in Brazilian Cerrado: Correspondence between population structure and patterns of human occupation and habitat loss. *Biological Conservation*, 139, 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.06.003>
- Pope, K., Brown, C., Hayes, M., Green, G. & Macfarlane, D. (2014). Cascades frog conservation assessment. USDA Forest Service General Technical Report No. PSW-GTR-244. Pacific Southwest Research Station. Arcata, CA.

- Prieto-Torres, D.A., Nori, J., Rojas-Soto, O., Navarro-Sigüenza, A.G. (2021). Challenges and opportunities in planning for the conservation of Neotropical seasonally dry forests into the future. *Biological Conservation*, 257, 109083.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109083>
- Pritchard, J.K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
<https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org/>
- Reigada, C., Schreiber, S.J., Altermatt, F., & Holyoak, M. (2015). Metapopulation dynamics on ephemeral patches. *The American Naturalist*, 185(2), 183–195.
<https://doi.org/10.1086/679502>
- Richards-Zawacki, C.L. (2009). Effects of slope and riparian habitat connectivity on gene flow in an endangered Panamanian frog, *Atelopus varius*. *Diversity and Distributions*, 15(5), 796–806. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2009.00582.x>
- Rochette, N.C., & Catchen, J.M. (2017). Deriving genotypes from RADseq short-read data using Stacks. *Nature Protocols*, 12(12), 2640–2659. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.123>
- Rudnick, D., Beier, P., Cushman, S., Dieffenbach, F., Epps, C.W., Gerber, L., Hartter, J., Jenness, J., Kintsch, J., Merenlender, A.M., Perkle, R.M., Preziosi, D.V., Ryan, S.J., & Trombulak, S.C. (2012). The role of landscape connectivity in planning and implementing conservation and restoration priorities. *Issues in Ecology*, 16, 1–20.
- Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México, first digital ed. CONABIO.
http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Cont.pdf

- Santos-Barrera, G., & Canseco-Márquez, L. (2004). *Pachymedusa dacnicolor*. 2006. IUCN Red List of Threatened Species.
- Semlitsch, R.D. (2008). Differentiating migration and dispersal processes for pond breeding amphibians. *Journal of Wildlife Management*, 72(1), 260–267.
<https://doi.org/10.2193/2007-082>
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139(1), 457–462. <https://doi.org/10.1093/genetics/139.1.457>
- Smith, M.A., & Green, D.M. (2005). Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: Are all amphibian populations metapopulations?. *Ecography*, 28(1), 110–128. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2005.04042.x>
- Stevens, V.M., Verkenne, C., Vandewoestijne, S., Wesselingh, R.A., Baguette, M. (2006) Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology*, 15(9), 2333–2344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02936.x>
- Storfer, A., Murphy, M.A., Evans, J.S., Goldberg, C.S., Robinson, S., Spear, S.F., Dezzani, R., Demelle, E., Vierling, L., & Waits, L.P. (2007). Putting the “landscape” in landscape genetics. *Heredity*, 98(3), 128–142. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800917>
- Strahler, A.N. (1957). Quantitative analysis of watershed geomorphology. *EOS Transactions American Geophysical Union*, 38(6), 913–920.
<https://doi.org/10.1029/TR038i006p00913>
- Suazo-Ortuño, Alvarado-Díaz, J., & Martínez-Ramos, M. (2011). Riparian areas and conservation of herpetofauna in a tropical dry forest in western Mexico. *Biotropica*, 43(2), 237–245. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2010.00677.x>

- Taylor, P.D., Fahrig, L., Henein, K., & Merriam, N.G. (1993). Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos*, 68(3), 571–573. <https://doi.org/10.2307/3544927>
- Templeton, A.R., Robertson, R.J., Brisson, J., & Strasburg, J. (2001). Disrupting evolutionary processes: the effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(10), 5426–5432. <https://doi.org/10.1073/pnas.091093098>
- Trejo, I. (1999). El clima de la selva baja caducifolia en México. *Investigaciones Geográficas*, 1(39), 40–52. <https://doi.org/10.14350/rig.59082>
- Trejo, I., & Dirzo, R. (2000). Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*, 94(2), 133–142. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(99\)00188-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(99)00188-3)
- van Etten, J. (2017). R package gdistance, distances and routes on geographical grids. *Journal of Statistical Software*, 76(13), 1–21. <https://doi.org/10.18637/jss.v076.i13>
- Wei, X., Huang, M., Yue, Q., Ma, S., Li, B., Mu, Z., et al. (2021). Long-term urbanization impacts the eastern golden frog (*Pelophylax plancyi*) in Shanghai City: Demographic history, genetic structure, and implications for amphibian conservation in intensively urbanizing environments. *Evolutionary Applications*, 14(1), 117–135. <https://doi.org/10.1111/eva.13156>
- Wiens, J.J. (2007). Global patterns of diversification and species richness in amphibians. *The American Naturalist*, 170(S2), S86–S106. <https://doi.org/10.1086/519396>
- Willing, E.M., Dreyer, C., & Van Oosterhout, C. (2012). Estimates of genetic differentiation measured by F_{ST} do not necessarily require large sample sizes when using many SNP markers. *PLoS ONE*, 7(8), e42649. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042649>

- Zabel, F., Delzeit, R., Schneider, J.M., Seppelt, R., Mauser, W., & Václavík, T. (2019). Global impacts of future cropland expansion and intensification on agricultural markets and biodiversity. *Nature Communications*, 10(2844), 1-10.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-10775-z>
- Zeller, K.A., McGarigal, K., & Whiteley, A.R. (2012). Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landscape Ecology*, 27(6), 777–97.
<https://doi.org/10.1007/s10980-012-9737-0>
- Zhao, W.W., Fu, B.J., & Chen, L.D. (2003). The effects of grain change on landscape indices. *Quaternary Science*, 23(3), 326–333.

Apéndice

Tabla S1. Valores pareados de diferenciación genética (F_{ST}) entre los 16 sitios en los que se colectó *Agalychnis dacnicolor*. Valores significativamente diferente de cero se indican con un asterisco.

	FORT	RAN	SC1	SC2	NC1	NC2	NC3	PCH	LIM	ACH	COL1	COL2	ZAR	CA	CAR	HNVO
FORT	–															
RAN	0	–														
SC1	0	0.003	–													
SC2	0	0.002	0	–												
NC1	0	*0.005	*0.006	*0.003	–											
NC2	0	0.009	*0.009	0.009	*0.003	–										
NC3	0	*0.010	*0.013	*0.011	0.004	0.007	–									
PCH	0	0.006	*0.007	*0.008	*0.012	*0.018	*0.018	–								
LIM	0	0.006	*0.009	*0.007	0.005	0.007	*0.012	*0.010	–							
ACH	0	*0.009	*0.007	*0.007	*0.010	*0.018	*0.020	0.002	*0.009	–						
COL1	0	*0.013	*0.012	*0.012	*0.013	*0.019	*0.020	0.006	*0.008	0.004	–					
COL2	0	*0.015	*0.015	*0.016	*0.016	*0.023	*0.023	*0.012	*0.014	0.006	0.005	–				
ZAR	0	0.006	*0.007	*0.006	*0.005	0.014	*0.014	0.005	0.005	0	0.002	0.003	–			
CA	0	*0.016	*0.012	*0.014	*0.015	*0.018	*0.023	*0.010	*0.010	0.003	0.002	0.0006	0.00004	–		
CAR	0	*0.014	*0.017	*0.012	*0.018	*0.022	*0.024	*0.013	*0.011	0	0.0004	0.005	0	0.003	–	
HNVO	0	*0.036	*0.036	*0.032	*0.038	*0.037	*0.041	*0.038	*0.022	*0.031	*0.025	*0.037	*0.028	*0.031	*0.029	–

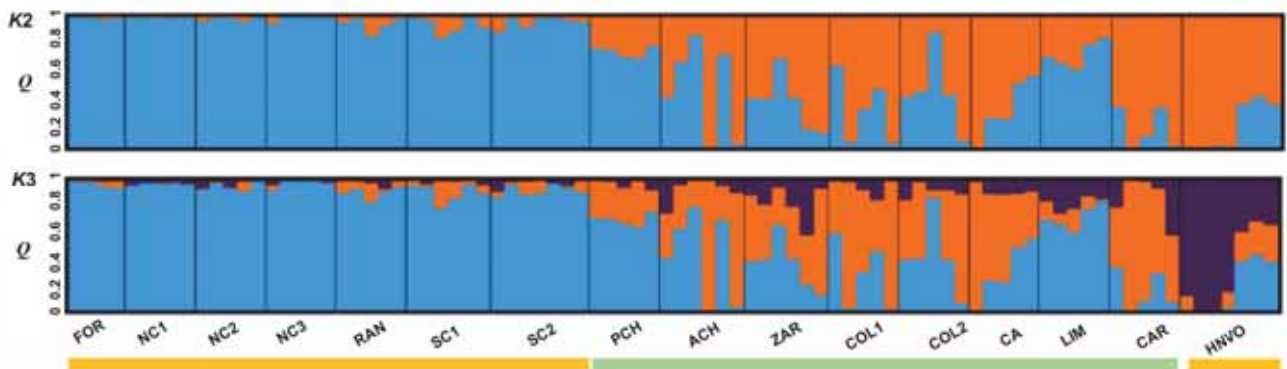


Figura S1. Gráfico de barras del número de grupos genéticos detectado por el análisis de asignación Bayesiana en STRUCTURE. Se indica la proporción de mezcla (Q) de los individuos de *Agalychnis daenicolor* de cada grupo genético para $K=2$ y $K=3$. La barras horizontal en color verde indica los sitios muestreados en la zona fragmentada y la de color verde son los sitios del bosque continuo.

DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo general de este estudio fue evaluar la conectividad funcional de *A. dacnicolor* en un paisaje heterogéneo de la vertiente del Pacífico. Para esto primero hice una revisión en la literatura para identificar el efecto que los paisajes heterogéneos tienen sobre la conectividad funcional de los anuros distribuidos en zonas tropicales, subtropicales y templadas. Después, hice un diagnóstico de la conectividad funcional de *A. dacnicolor* a través del bosque tropical caducifolio a dos escalas geográficas distintas y utilizando dos aproximaciones: 1) modelos de nicho ecológico, teoría de circuitos y de grafos a una escala geográfica extensa y 2) la genética del paisaje a una escala fina. Esto me permitió identificar los parches de hábitat más importantes que mantienen conectadas a las poblaciones y determinar los elementos del paisaje que facilitan o limitan su dispersión.

Patrones de conectividad funcional en anuros que habitan paisajes heterogéneos en tres regiones climáticas

En el primer capítulo en el que realicé una revisión de los estudios publicados sobre genética del paisaje en anuros distribuidos en zonas tropicales, subtropicales y templadas, identifiqué una serie de patrones interesantes. Durante el período que abarcó la revisión (1990–2020) hubo un incremento en los estudios de genética del paisaje a partir del 2009, lo cual probablemente se deba al avance y reducción de costos en las técnicas moleculares para la obtención de marcadores. Hasta el año 2016 los marcadores moleculares que más comúnmente se usaban eran el ADN mitocondrial, los microsatélites y la combinación de estos. Fue hasta el año 2017 cuando se publicó el primer trabajo usando SNPs, pero a la fecha siguen predominando los microsatélites como marcadores moleculares. El uso de microsatélites posiblemente se deba al nivel de polimorfismo que caracteriza a estos marcadores, lo que favorece la identificación de patrones genéticos a pequeñas escalas geográficas y a la relativa facilidad para obtenerlos y para usarlos (Björklund & Bergek, 2009). Los marcadores menos utilizados fueron los SNPs posiblemente por el costo en el desarrollo de las librerías y secuenciación. Los pocos trabajos que han empleado este marcador se han realizado en zonas templadas, lo cual posiblemente se deba a una mayor accesibilidad a las tecnologías de secuenciación masiva y a los recursos bioinformáticos.

Los métodos para relacionar las características del paisaje con los patrones genéticos de los anuros comenzaron a diversificarse a partir del 2009, ya que antes de ese año comúnmente los estudios utilizaban pruebas de Mantel. Sin embargo, aún cuando la prueba de Mantel ha recibido algunas críticas (Guillot & Rousset, 2013), ésta sigue siendo utilizada en estudios de genética del paisaje en combinación con otros métodos.

En las zonas tropicales y subtropicales los elementos antropogénicos y naturales del paisaje más importantes en la limitación de la conectividad (Dixo et al., 2009; Eterovick et al., 2016), son la fragmentación, la urbanización, la elevación y las montañas, respectivamente (Guarnizo & Canatella, 2013; Lin et al., 2012). De manera contraria, los arroyos y la cobertura de bosque (Koscinski et al., 2009; Hether & Hoffman, 2012) fueron los elementos naturales más importantes en facilitar la dispersión. En las zonas templadas la urbanización y las carreteras, los ríos, la elevación y la pendiente fueron los elementos antropogénicos y naturales que tienen los efectos negativos más importantes sobre la conectividad (Coster et al., 2005; Funk et al., 2005; Crosby et al., 2009; Keely et al., 2015; Waraniak et al., 2019). La cobertura de bosque, otros tipos de vegetación y los arroyos fueron los elementos naturales más importantes en facilitar la conectividad (Spear & Storfer, 2008; Lind et al., 2011). Dos elementos que tuvieron tanto efectos positivos como negativos fueron las montañas y los cuerpos de agua naturales. Las montañas pueden representar una barrera geográfica para la dispersión o bien ser filtros semipermeables (Funk et al., 2005; Sánchez-Montes et al., 2018), mientras que los cuerpos de agua naturales como los lagos pueden limitar la dispersión, aunque algunos pueden fungir como “stepping stone” (Lee Yaw et al., 2009; Watts et al., 2015). De forma similar, los resultados del estudio de genética del paisaje (Capítulo 3) indicaron que la cobertura de BTC facilita la dispersión de *A. dacnicolor* y que hay un efecto de la fragmentación en los patrones de diversidad y estructura genética de la especie.

La revisión mostró que la mayoría de los estudios se han centrado en especies de anuros que habitan en zonas templadas. Lo anterior, puede deberse a que los recursos para llevar a cabo este tipo de estudios son limitados y/o debido a que la genética del paisaje es un área de investigación que solo recientemente se empezó a desarrollar en México y en otros países de zonas tropicales y subtropicales, siendo pocos los investigadores que realizan este tipo de estudios.

El estatus de riesgo de la mayoría de las especies de anuros estudiadas es de menor preocupación. Sin embargo, pocos son los estudios que se han realizado en especies casi amenazadas, vulnerables, en peligro y en peligro crítico, por lo que sería importante evaluar la conectividad en estas especies con la finalidad de conservar sus poblaciones y hábitats. El trabajar con especies amenazadas o en peligro de extinción tiene algunas limitaciones tales como la dificultad para obtener un elevado número de individuos para realizar los análisis, se tiene poco conocimiento de su historia de vida y un rango de distribución muy pequeño. *A. dacnicolor* es una especie que no está catalogada en riesgo. Sin embargo, su hábitat (BTC) está en alto riesgo de destrucción y de continuar perdiéndose, esta especie junto con otras estrechamente asociadas al BTC, podrían llegar a alguna categoría de riesgo. Este trabajo es por lo tanto es de gran relevancia pues contribuye al limitado conocimiento que existe sobre el efecto que tienen los elementos del paisaje en la conectividad funcional de anuros en zonas tropicales.

Conectividad funcional de Agalychnis dacnicolor entre parches de ámbito hogareño y entre parches de hábitat con condiciones óptimas

En el segundo capítulo evalué la conectividad funcional de *A. dacnicolor* entre parches de ámbito hogareño y entre parches de hábitat con condiciones óptimas dentro de un paisaje heterogéneo del bosque tropical caducifolio a una escala geográfica de ~30,000 km². Para esto utilicé modelado de nicho ecológico, la teoría de circuitos y de grafos en combinación con diferentes aspectos importantes de la biología de *A. dacnicolor*. Estas aproximaciones han sido utilizadas para evaluar la conectividad funcional de diferentes anuros, con la finalidad de proponer estrategias de conservación de especies que habitan paisajes heterogéneos (Decout et al., 2012; Campos et al, 2019). Debido a la marcada actividad estacional de *A. dacnicolor*, el uso de modelos de nicho ecológico bajo un enfoque temporal del ambiente me permitió definir parches de hábitat idóneo en los que potencialmente se distribuye la especie. El modelo de nicho ecológico predijo que las áreas con las condiciones ideales para *A. dacnicolor* se encuentran principalmente en la costa del Pacífico. A pesar de que existen registros e incluso colectas en sitios alejados de la costa a altitudes de 900 m y localizados en la región de Autlán (Jalisco), la predicción de la distribución potencial de la especie en esta zona fue baja. Esto posiblemente se debe a un

menor número de registros de la especie y a que en esa zona las condiciones ambientales del BTC difieren a las del resto de la distribución de la especie. Sería importante hacer búsquedas de colectas de la especie en la región y de registros en diferentes bases de la especie para mejorar los resultados de la predicción de hábitat idóneo. De acuerdo con la teoría de circuitos, la mayor conectividad ocurre dentro de los parches de hábitat idóneo más grandes y con mayor cobertura de BTC. Los parches con estas características son los que se localizan en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala y en la selva de Melaque. Sin embargo, los parches grandes que se localizan cerca de otros parches también son importantes para mantener la conectividad (Pascual-Hortal & Saura, 2006). De manera contraria, los parches de hábitat idóneo pequeños y pobremente conectados se localizan en la región sur del área de estudio en Tecomán y Colima, la cual es una zona altamente deforestada por la creciente urbanización, presencia de zonas agrícolas y de ganadería, que abarca un ~48% de superficie (Sandoval-Legazpi & Castañeda-Palomera, 2014).

En los análisis de redes utilicé la distancia promedio reportada para otras especies arborícolas debido a que se desconoce la distancia de dispersión de *A. dacnicolor*. Dichos análisis indicaron que la conectividad entre los parches de ámbito hogareño ocurre en el bosque dentro de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala y entre parches de ámbito que están cerca de los límites de la reserva. De manera contraria, la conectividad entre parches de ámbito hogareño que se encuentran al suroeste (Manzanillo, Tecomán y Colima), es baja debido a la distancia a la que están distribuidos espacialmente, lo cual impide que *A. dacnicolor* se pueda dispersar. De forma similar, los resultados de la teoría de circuitos indicaron que en la zona de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala es donde ocurre la mayor conectividad, lo que apoya que el BTC continuo facilita la dispersión de la especie. Esto también es apoyado por los índices de importancia de los parches ubicados en la reserva, si fueran removidos del paisaje. También detecté conectividad entre los parches de ámbito hogareño ubicados al noreste (Tomatlán) y cierto nivel de conectividad entre estos y los de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala. Tomatlán se encuentra en una zona con cierto grado de conversión del bosque a cultivos y pastizales, pero éstos aún están rodeados por BTC bajo diferentes estados de sucesión, lo cual puede estar facilitando, hasta cierto grado la conexión entre parches de esta región con los de la reserva. De manera contraria, la conectividad entre los parches de ámbito

hogareño localizados en Autlán, Manzanillo, Tecomán y Colima es casi nula probablemente debido a que están inmersos en paisajes modificados en mayor grado. Esto evidencia el efecto que tiene la alarmante pérdida de BTC en dichas zonas, ya que la conectividad funcional entre ámbitos hogareños refleja la dispersión a cortas distancias dentro de los parches de hábitat. Aún más, la presencia de parches de hábitat no es homogénea en el área de estudio para soportar redes de ámbitos hogareños, ya que hacia el noreste (Tomatlán) y sureste (Manzanillo, Colima y Tecomán) el tamaño de los parches disminuye.

Elementos del paisaje que afectan la diversidad genética y conectividad funcional de A. dacnicolor

En el tercer capítulo evalué el efecto de los elementos naturales y antropogénicos sobre la diversidad genética y conectividad funcional de *A. dacnicolor* a una escala fina (4,700 km²), utilizando SNPs como marcadores moleculares. La diversidad genética en *A. dacnicolor* presentó niveles más altos comparado con otras especies de anuros (Wei et al., 2021; Chan & Brown, 2020; Hardy et al., 2021), lo que podría sugerir que las poblaciones de la especie están estables. Sin embargo, sería importante monitorear la diversidad genética de *A. dacnicolor* a corto y mediano plazo, debido a que en zonas fragmentadas las condiciones idóneas del hábitat se reducen y la conectividad funcional es limitada (ver Capítulo 2). La falta de conectividad y por lo tanto de flujo génico puede resultar en la reducción del tamaño efectivo de las poblaciones y como consecuencia en la reducción de su diversidad genética (Frankham et al., 2002). Sería importante estimar el tamaño efectivo de las poblaciones de *A. dacnicolor* para determinar si este corresponde con los patrones de menor diversidad genética en los sitios de bosque fragmentado que en el bosque continuo detectados en este estudio. En otras especies de zonas tropicales también se ha reportado menor diversidad genética en poblaciones localizados bosques fragmentados y en parches pequeños (Dixo et al., 2009). Los parches localizados dentro del bosque continuo parecen favorecer la conectividad de *A. dacnicolor*. De forma similar, estudios en especies arborícolas han encontrado que la cobertura arbórea y de bosques extensos facilitan la dispersión y el flujo génico (Hether & Hoffman, 2012; Mims et al., 2016). Los análisis de asignación sugieren que el flujo génico es mayor de la zona fragmentada hacia el bosque

continuo (localidades dentro y cerca de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala), posiblemente debido a que los individuos se dispersan hacia las condiciones más favorables que provee el BTC continuo, evitando áreas abiertas con menor humedad debido a la mayor radiación solar en las zonas fragmentadas. Sería importante hacer estimaciones específicas de flujo génico reciente para determinar la direccionalidad y cantidad de flujo génico.

Tanto los resultados de estructura genética obtenidos con los análisis de asignación (ADMIXTURE y STRUCTURE), los valores pareados de diferenciación genética (F_{ST}) como los resultados del análisis discriminante de componentes principales apoyaron la existencia de tres grupos genéticos. Los individuos de sitios dentro y cerca de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala conformaron un grupo genético mientras que los individuos de sitios de zonas fragmentadas constituyeron dos grupos genéticos (uno conformado por sólo HNVO), indicando estructuración genética entre zonas fragmentadas y de bosque continuo. Sin embargo, se detectó ancestría mezclada entre los individuos de los diferentes grupos genéticos, sugiriendo flujo génico, que en su mayor parte es del bosque fragmentado al continuo. La diferenciación genética de *A. dacnicolor* fue explicada principalmente por la distancia geográfica y presencia de BTC. Sería importante incluir muestras de sitios intermedios entre Hidalgo Nuevo y los sitios que se localizan en el bosque continuo para determinar si el flujo génico se reduce por efecto de la distancia geográfica o si los elementos antropogénicos tienen un costo para la dispersión de *A. dacnicolor*.

La evaluación del efecto de la fragmentación del BTC en la diversidad y estructura genética de *A. dacnicolor* realizada en este capítulo es de vital importancia ya que con los resultados obtenidos se pueden proponer planes de conservación del BTC. Este es el primer estudio de genética del paisaje utilizando datos genómicos en anuros que habitan un ecosistema tropical mexicano.

Implicaciones para la conservación

La información obtenida en este proyecto, utilizando diferentes enfoques, me permitió evaluar el efecto del paisaje en la conectividad funcional de *A. dacnicolor* en una parte de su distribución en México. Los resultados derivados de este estudio proporcionan información de lo que puede estar ocurriendo con otras especies de anuros que habitan en la región de Chamela-Cuixmala y del riesgo que puede implicar el incremento de la

conversión del paisaje no solo fuera de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala sino también en otros BTC de México.

Los enfoques y métodos utilizados en la presente tesis son de los más utilizados en biología de la conservación (Dickson et al., 2018). Por una lado, la genética del paisaje permite determinar los límites de las poblaciones y la asociación entre la estructura genética y los elementos del paisaje; y con la información obtenida se pueden establecer medidas prioritarias para la protección de las especies (McCartney-Melstad & Shaffer, 2015). En este sentido, en la población genética localizada en la zona fragmentada del noroeste del área de estudio hay localidades que mantienen conectividad con la población genética de la Reserva. Esta conectividad podría mantenerse a largo plazo estableciendo corredores en las áreas con mayor flujo de corriente entre los parches de hábitat idóneo localizados en las dos poblaciones genéticas. En cuanto a la población genética de Hidalgo Nuevo es prioridad conservarla y mantener su hábitat, debido a que se encuentra en riesgo de aislarse completamente de las localidades de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala. En las áreas predichas de hábitat idóneo hacia el sur de la reserva, sería importante monitorear la presencia de la especie y evaluar su diversidad genética y conectividad con la población de Hidalgo Nuevo.

Cabe resaltar el papel fundamental que juega la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala en el mantenimiento de la conectividad funcional de *A. dacnicolor* dentro de la reserva y con parches aledaños. Sería vital mantener los parches de BTC en zonas aledañas a la reserva, como por ejemplo, Careyes que es un área que actualmente está siendo modificada por actividades antropogénicas. Es importante hacer estudios comparativos de otras especies con diferentes capacidades de dispersión e historias de vida en el área de estudio. Esta información permitiría proponer estrategias de conservación para las zonas localizadas alrededor de la reserva y que son vulnerables a la pérdida del hábitat, ya que las constantes tasas de deforestación ponen en riesgo a las especies terrestres que las habitan.

REFERENCIAS

- Adriaensen, F., Chardon, J.P., De Blust, G.E., Swinnen, E., Villalba, S., Gulinck, H., Matthysen, E. (2003). The application of least-cost modeling as a functional landscape model. *Landscape Urban Planning*, 64(4), 233–247.
[https://doi.org/10.1016/S01692046\(02\)002426](https://doi.org/10.1016/S01692046(02)002426)
- Alpanidou, V., Mazaris, A.D., Mertzanis, Y., Avraam, I., Antoniou, I., Pantis, J.D., & Sgardelis, S.P. (2014). Providing insights on habitat connectivity for male brown bears: a combination of habitat suitability and landscape graph-based models. *Ecological Modelling*, 286, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2014.04.024>
- Álvarez-Grzybowska, E., Urbina-Cardona, N., Córdova-Tapia, F., García, A. (2020). Amphibian communities in two contrasting ecosystems: functional diversity and environmental filters. *Biodiversity and Conservation*, 29, 2457–2485.
<https://doi.org/10.1007/s10531-020-01984-w>
- Andrews, K.R., Good, J.M., Miller, M.R., Luikart, G., & Hohenlohe, P.A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17(2), 81–92. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.28>
- Arias, D. M., Albarrán-Lara, A. L., González-Rodríguez, A., Peñaloza-Ramírez, J., Dorado, O., & Leyva, E. (2012). Genetic diversity and structure of wild populations of the tropical dry forest tree *Jacaratia Mexicana* (Brassicales: Caricaceae) at a local scale in Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 60(1), 01–10.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v60i1.2359>
- Arroyo-Lambaer, A., Chapman, H., Hale, M., & Blackburn, D. (2018). Conservation genetics of two threatened frogs from the Mambilla highlands, Nigeria. *PLoS One*, 13(8), e0202010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202010>
- Baird, N.A., Etter, P.D., Atwood, T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L., Lewis Z.A., Selker, E.U., Cresko, W.A., & Johnson, E.A. (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE*, 3(10), e3376.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003376>

- Beebe, T.J.C., & Griffiths, R.A. (2005). The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology?. *Biological Conservation*, 125(3), 271–285.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.04.009>
- Blair, M.E., & Melnick, D.J. (2012). Scale-dependent effects of a heterogeneous landscape on genetic differentiation in the Central American squirrel monkey (*Saimiri oerstedii*). *PLoS ONE*, 7(8), e43027. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043027>
- Björklund, M., Bergek, S. (2009). On the relationship between population differentiation and sampling effort: is more always better?. *Oikos*, 118(8):1127–1129.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17555.x>
- Campos, F.S., Lourenço-de-Moraes, R., Ruas, D.S., Mira-Mendes, C.V., Franch, M., Llorente, G.A., Solé, M., & Cabral P. (2019). Searching for networks: ecological connectivity for amphibians under climate change. *Environmental Management*, 65, 46–61. doi:10.1007/s00267-019-01240-0.
- Ceballos, G., Szekely, A., García, A., Rodríguez, P., & Noguera, F. (1999). Programa de manejo de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala. Instituto Nacional de Ecología. México (D.F.): Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.
- Ceballos, G., & García, A. (1995). Conserving neotropical biodiversity: the role of dry forest in western Mexico. *Conservation Biology*, 9(6), 1349–1356.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1995.09061349.x>
- Challenger, A., & Soberón J. (2008). Los ecosistemas terrestres. *In* Capital natural de México. Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México. pp. 87–108.
- Charlesworth, D., & Willis, J.H. (2009). The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics*, 10, 783–796. <https://doi.org/10.1038/nrg2664>
- Chan, K.O. & Brown, R.M. (2020). Elucidating the drivers of genetic differentiation in Malaysian torrent frogs (Anura: Ranidae: *Amolops*): a landscape genomics approach. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 90(1): 65–78.
<https://doi.org/10.1093/zoolinnea/zlz151>
- Conner, J.K., & Hartl, D.L. (2004). A primer of ecological genetics. Sinauer Associates incorporated.

- Coster, S.S., Babbitt, K.J., Cooper, A., & Kovach, A.I. (2015). Limited influence of local and landscape factors on finescale gene flow in two pond-breeding amphibians. *Molecular Ecology*, 24(4), 742–758. <https://doi.org/10.1111/mec.13062>
- Correa-Ayram, C.A., Mendoza, M.E., Salicrup D.R., López Granados, E. (2014). Identifying potential conservation areas in the Cuitzeo lake basin, Mexico by multitemporal analysis of landscape connectivity. *Journal for Nature Conservation*, 22(5), 424–435. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2014.03.010>
- Correa-Ayram, C.A., Mendoza, M.E., Etter, A., & Salicrup, D.R.P. (2016). Habitat connectivity in biodiversity conservation: A review of recent studies and applications. *Progress in Physical Geography*, 40(1), 7–37. <https://doi.org/10.1177/0309133315598713>
- Covarrubias, S., González, C., Gutiérrez-Rodríguez, C. (2021). Effects of natural and anthropogenic features on functional connectivity of anurans: a review of landscape genetics studies in temperate, subtropical, and tropical species. *Journal of Zoology*, 313(3), 159–171. <https://doi.org/10.1111/jzo.12851>
- Covarrubias, S., Gutiérrez-Rodríguez, C., Rojas-Soto, O., Hernández-Guzmán, R., & González, C. (2022). Functional connectivity of an endemic tree frog in a highly threatened tropical dry forest in Mexico. *Écoscience*, 1–17. <https://doi.org/10.1080/11956860.2021.1921935>
- Crosby, M.K.A., Licht, L.E., & Fu, J. (2009). The effect of habitat fragmentation on finescale population structure of wood frogs (*Rana sylvatica*). *Conservation Genetics*, 10(6), 1707–1718. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9772-1>
- Curry, T.R. (2020). Mexico's Tropical Dry Forest. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, Elsevier.
- Cushman, S.A. (2006). Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. *Biological Conservation*, 128(2), 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.031>
- Decout, S., Manel, S., Miaud, C., & Luque, S. (2012). Integrative approach for landscape-based graph connectivity analysis: a case study with the common frog (*Rana temporaria*) in human-dominated landscapes. *Landscape Ecology*, 27(2), 267–279. <https://doi.org/10.1007/s10980-011-9694-z>

- Dickson, B. G., Albano, C. M., Anantharaman, R., Beier, P., Fargione, J., Graves, T.A., Gray M.E., Hal, K.R., Lawler, J.J., Leonard, P.B., Littlefield, C.E., & Theobald, D. M. et al. (2019). Circuit-theory applications to connectivity science and conservation. *Conservation Biology*, 33(2), 239-249. <https://doi.org/10.1111/cobi.13230>
- Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J., & Collen, B. (2014). Defaunation in the Anthropocene. *Science*, 345(6195), 401–406. <https://doi.org/10.1126/science.1251817>
- Dixo, M., Metzger, J.P., Morgante, J.S. & Zamudio, K. R. (2009). Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation*. 142(8), 1560–1569. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.11.016>
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., & Mitchell, S.E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*, 6(5), e19379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>
- Epps, C.W., & Keyghobadi, N. (2015). Landscape genetics in a changing world: disentangling historical and contemporary influences and inferring change. *Molecular Ecology*, 24(24), 6021-6040. <https://doi.org/10.1111/mec.13454>
- Epps, C.W, Wehausen, J.D, Bleich, V.C, Torres, S.T, Brashares, J.S. (2007). Optimizing dispersal and corridor models using landscape genetics. *Journal of Applied Ecology*, 44:714–724. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2007.01325.x>
- Eterovick, P.C., Sloss, B.L., Scalzo, J.A., & Alford, R.A. (2016). Isolated frogs in a crowded world: Effects of human caused habitat loss on frog heterozygosity and fluctuating asymmetry. *Biological Conservation*, 195, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.12.036>
- Fahrig, L. (2017). Ecological responses to habitat fragmentation per se. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 48, 1–23. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022612>
- Fortin, M.J., Dale, M.R.T., & ver Hoef, J. (2001). Spatial analysis in ecology. The encyclopedia of environmetrics. John Wiley and Sons, New York, New York, USA. p. 2051–2058.

- Frankham, R., Briscoe, D.A., & Ballou, J.D. (2002). Introduction to Conservation Genetics. (Eds). Cambridge: Cambridge University Press.
- Funk, W.C., Blouin, M.S., Corn, P.S., Maxell, B.A., Pilliod, D.S., Amish, S., & Allendorf, F.W. (2005). Population structure of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Molecular Ecology*, 14(2), 483–496.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02426.x>
- Galpern, P., Manseau, M., & Fall, A. (2011). Patch-based graphs of landscape connectivity: a guide to construction, analysis and application for conservation. *Biological Conservation*, 144(1), 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.09.002>
- García, A. (2006). Using ecological niche modeling to identify diversity hotspots of the herpetofauna of Pacific Lowlands and adjacent interior valleys of Mexico. *Biological Conservation*, 130(1), 25–46. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.11.030>
- García, A., Solano-Rodríguez, H., Flores-Villela, O. (2007). Patterns of alpha, beta and gamma diversity of the herpetofauna in Mexico's Pacific lowlands and adjacent interior valleys of Mexico. *Animal Biodiversity and Conservation*, 30(2), 169–177.
- Garrido-Garduño, T., Téllez-Valdés, O., Manel, S., & Vázquez-Domínguez, E. (2016). Role of habitat heterogeneity and landscape connectivity in shaping gene flow and spatial population structure of a dominant rodent species in a tropical dry forest. *Journal of Zoology*, 298(4), 293-302. <https://doi.org/10.1111/jzo.12307>
- Guillot, G., & Rousset, F. (2013). Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(4), 336-344. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12018>
- Guarnizo, C.E. & Cannatella, D.C. (2013). Geographic determinants of gene flow in two sister species of tropical Andean frogs. *Journal of Heredity*, 105(2), 216–225.
<https://doi.org/10.1093/jhered/est092>
- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., et al. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Sciences Advance*, 1(2), e1500052.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>
- Hardy, B. M., Pope, K. L., & Latch, E. K. (2021). Genomic signatures of demographic declines in an imperiled amphibian inform conservation action. *Animal Conservation*, 24(6), 946-958. <https://doi.org/10.1111/acv.12695>

- Hernández-Guzmán, R., Ruiz-Luna, A., & González, C. (2019). Assessing and modeling the impact of land use and changes in land cover related to carbon storage in a western basin in Mexico. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 13, 318–327. <https://doi.org/10.1016/j.rsase.2018.12.005>
- Hether, T.D. & Hoffman, E.A. (2012). Machine learning identifies specific habitats associated with genetic connectivity in *Hyla squirella*. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(6), 1039–1052. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02497.x>
- Holderegger, R., & Wagner, H. (2006). A brief guide to landscape genetics. *Landscape Ecology*, 21(6), 793–796. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-6058-6>
- Holderegger, R., & Wagner, H.H. (2008). Landscape genetics. *Bioscience*, 58(3), 199–207. <https://doi.org/10.1641/B580306>
- Hugues, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T., Underwood, N., & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609–623. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x>
- Hutchinson, D.W., & Templeton, A.R. (1999). Correlation of pairwise genetic and geographic measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution*, 53(6), 1898–1914. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb04571.x>
- Keely, C.C., Hale, J.M., Heard, G.W., Parris, K.M., Sumner, J., Hamer, A.J., & Melville, J. (2015). Genetic structure and diversity of the endangered growling grass frog in a rapidly urbanizing. *Royal Society Open Science*, 2(8), 140255. <https://doi.org/10.1098/rsos.140255>
- Koscinski, D., Yates, A.G., Handford, P., & Loughheed, S.C. (2009). Effects of landscape and history on diversification of a montane, stream-breeding amphibian. *Journal of Biogeography*, 36, 255–265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02009.x>
- Lampert, K.P., Rand, A.S., Mueller, U.G., & Ryan, M.J. (2003). Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog *Physalaemus pustulosus*. *Molecular Ecology*, 12(12), 3325–3334. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.02016.x>
- Landguth, E.L., Fedy, B.C., Oyler-McCance, S. J., Garey, A.L., Emel, S.L., Mumma, M., Wagner, H.H., Fortin, M.J., & Cushman, S.A. (2012). Effects of sample size, number

- of markers, and allelic richness on the detection of spatial genetic pattern. *Molecular Ecology Resources*, 12(2), 276–284.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03077.x>
- Lee-Yaw, J.A., Davison, A., McRae, B.H. & Greens, D.M. (2009). Do landscape processes predict phylogeographic patterns in the wood frog?. *Molecular Ecology*, 18(9), 1863–1874. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04152.x>
- Lin, H-D., Chen, Y-R. & Lin, S-M. (2012). Strict consistency between genetic and topographic landscapes of the brown tree frog (*Buergeria robusta*) in Taiwan. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 62(1), 251–262.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.09.022>
- Lind, A.J., Spinks, P.Q., Fellers, G.M. & Shaffer, B.H. (2011). Rangewide phylogeography and landscape genetics of the Western U.S. endemic frog *Rana boylei* (Ranidae): implications for the conservation of frogs and rivers. *Conservation Genetics*, 12, 269–284. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0138-0>
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(4), 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00008-9)
- McCartney-Melstad, E. & Shaffer, B.H. (2015). Amphibian molecular ecology and how it has informed conservation. *Molecular Ecology*, 24(20), 5084–5109.
<https://doi.org/10.1111/mec.13391>
- Marsh, D.M., & Trenham, P.C. (2001). Metapopulation dynamics and amphibian conservation. *Conservation Biology*, 15(1), 40–49.
<https://www.jstor.org/stable/2641644>
- McRae, B.H., Dickson, B.G., Keith, T.H., & Shah, V.B. (2008). Using circuit theory to model connectivity in ecology, evolution and conservation. *Ecology*, 89(10), 2712–2724. <https://doi.org/10.1890/07-1861.1>
- McRae, B.H., & Kavanagh, D.M. (2011). Linkage mapper connectivity analysis software. Seattle: The Nature Conservancy.
- Mejía-Maya, M. (2020). Genética del paisaje y estructura genética de *Anolis nebulosus* en un bosque tropical caducifolio del occidente de México. (Tesis de Maestría).

Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

- Miller, M.R., Dunham, J.P., Amores, A., Cresko, W.A., & Johnson, E.A. (2007). Rapid and cost effective polymorphism identification and genotyping using restriction site associated DNA (RAD) markers. *Genome Research*, 17(2), 240–248.
<https://doi.org/10.1101/gr.5681207>
- Mims, M.C., Phillipsen, I.C., Lyte, D.A., Hartfield-Kirk, E.E. & Olden, J.D. (2015). Ecological strategies predict associations between aquatic and genetic connectivity for dryland amphibians. *Ecology*, 96(5), 1371–1382.
<https://doi.org/10.1890/14-0490.1>
- Minor, E.S., & Urban, D.L. (2008). A graph-theory framework for evaluating landscape connectivity and conservation planning. *Conservation Biology*, 22(2), 297–307.
<https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2007.00871.x>
- Morin, P.A., Luikart, G., & Wayne, R.K. (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(4), 208–216.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.01.009>
- Nowakowski, A.J., Veiman-Echeverria, M., Kurz, D.J., & Donnelly, M.A. (2015). Evaluating connectivity for tropical amphibians using empirically derived resistance surfaces. *Ecological Applications*, 25(4), 928–942. <https://doi.org/10.1890/14-0833.1>
- Parsley, M.B., Torres, M.L., Banerjee, S.M., Tobias, Z.J.C., Goldberg, C.S., Murphy, M.A., & Mims, M.C. (2020). Multiple lines of genetic inquiry reveal effects of local and landscape factor son an amphibian metapopulation. *Landscape Ecology* 35, 319–335. <https://doi.org/10.1007/s10980-019-00948-y>
- Pascual-Hortal, L., & Saura, S. (2006). Comparison and development of new graph based landscape connectivity indices: towards the prioritization of habitat patches for conservation. *Landscape Ecology*. 21, 959–967. <https://doi.org/10.1007/s10980-006-0013-z>
- Pereira-Monteiro, W.P., Costa-Veiga, J., Reis-Silva, A., da Silva-Carvalho, C., Malta-Lanes, É.C., Rico, Y., & Jaffé, R. (2019). Everything you always wanted to know about gene flow in tropical landscapes (but were afraid to ask). *PeerJ*, 13, e6446.
<https://doi.org/10.7717/peerj.6446>

- Pyburn, W.F. (1970). Breeding behavior of the leaf-frogs *Phyllomedusa callidryas* and *Phyllomedusa dacnicolor* in Mexico. *Copeia*, 1970(2), 209–218.
<https://doi.org/10.2307/1441643>
- Rands, M.R., Adams, W.M., Bennun, L., Butchart, S.H.M, Clements, A., Coomes, D., Coomes, D., Entwistle, A., Hodge, I., Kapos, V., Scharlemann J.P.W., Sutherland, W.J., & Vira, B. (2010). Biodiversity conservation: challenges beyond 2010. *Science*, 329(5997), 1298–1303. <https://doi.org/10.1126/science.1189138>
- Richards-Zawacki, C.L. (2009). Effects of slope and riparian habitat connectivity on gene flow in an endangered Panamanian frog, *Atelopus varius*. *Diversity and Distributions*, 15(5), 796–806. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2009.00582.x>
- Santos-Barrera, G., & Canseco-Márquez, L. (2004). *Pachymedusa dacnicolor*. 2006. IUCN Red List of Threatened Species.
- Sánchez-Montes, G., Wang, J., Ariño, A.H., Martínez-Solano, I. (2018). Mountains as barriers to gene flow in amphibians: Quantifying the differential effect of a major mountain ridge on the genetic structure of four sympatric species with different life history traits. *Journal of Biogeography*, 45(2), 318–331.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jbi.13132>
- Segelbacher, G., Cushman S.A., Epperson, B.K., Fortin, M.J., Francois, O., Hardy, O.J., Holderegger, R., Taberlet, P., Waits, L.P., & Manel, S. (2010). Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. *Conservation Genetics*, 11, 375–385. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-0044-5>
- Soto-Sandoval, Y., Suazo-Ortuño, I., Urbina-Cardona, N., Marroquín-Páramo, J., & Alvarado-Díaz, J. (2017). Effect of tropical dry forest successional stages on microhabitat use by *Agalychnis dacnicolor* (Anura: phyllomedusidae) and *Smilisca fodiens* (Anura: hylidae). *Revista Biología Tropical*, 65(2), 777–798.
<https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v65i2.24706>
- Suazo-Ortuño, Alvarado-Díaz, J., & Martínez-Ramos, M. (2011). Riparian areas and conservation of herpetofauna in a tropical dry forest in western Mexico. *Biotropica*, 43(2), 237–245. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2010.00677.x>
- Suazo-Ortuño, I., Alvarado-Díaz, J., Mendoza, E., Lopez-Toledo, L., Lara-Uribe, N., Márquez-Camargo, C., Paz-Gutiérrez, J.G., & Rangel-Orozco, J.D. (2015). High

- resilience of herpetofaunal communities in a human-modified tropical dry forest landscape in western Mexico. *Tropical Conservation Science*, 8(2), 396–423.
<https://doi.org/10.1177/194008291500800208>
- Taylor, P.D., Fahrig, L., Henein, K., & Merriam, G. (1993). Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos*, 68(3), 571–573. <https://doi.org/10.2307/3544927>
- Taylor, P., Fahrig, L., & With, K. (2006). Landscape connectivity: a return to basics. In: Crooks KR, Sanjayan M, editors. *Connectivity conservation*. Cambridge (UK): Cambridge University Press. pp. 29–43.
- Tischendorf, L., & Fahrig, L. (2000). How should we measure landscape connectivity? *Landscape Ecology*, 15(7), 633–641. <https://doi.org/10.1023/A:1008177324187>
- Trejo, I. (1999). El clima de la selva baja caducifolia en México. *Investigaciones Geográficas*, 1(39), 40–52. <https://doi.org/10.14350/rig.59082>
- Trejo, I., & Dirzo, R. (2000). Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*, 94(2), 133–142.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(99\)00188-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(99)00188-3)
- Rudnick, D., Ryan, S., Beier, P., Cushman, S., Dieffenbach, F., Epps, C.W., Gerber, L., Hartter, J., Jenness, J., Kintsch, J., Merenlender, A.M., Perkle, R.M., Preziosi, D.V., Ryan, S.J., & Trombulak, S.C. (2012). The role of landscape connectivity in planning and implementing conservation and restoration priorities. *Issues in Ecology*, 16, 20–20.
- Sandoval-Legazpi JDJ, Castañeda-Palomera A. (2014). Social environmental analysis of companies: mining consortium Benito Juárez “Peña colorada” and ingenio “Melchor Ocampo”, two organizations of Jalisco south coast. *CIBA*. 3:1–22.
<https://doi:10.23913/ciba.v3i5.24>.
- Schwartz, M. K., McKelvey, K. S., Cushman, S.A., & Luikart, G. (2010). Landscape genomics: a brief perspective. In *Spatial complexity, informatics, and wildlife conservation*. pp. 165–174) Springer, Tokyo.
- Spear, S.F. & Storfer, A. (2008). Landscape genetic structure of coastal tailed frogs (*Ascaphus truei*) in protected vs. managed forests. *Molecular Ecology*, 17(21), 4642–4656. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03952.x>

- Storfer, A., Murphy, M.A., Evans, J.S., Goldberg, C.S, Robinson, S., Spear, S.F., Dezzani, R., Delmelle, E., Vierling, L., & Waits, L.P. (2007). Putting the ‘landscape’ in landscape genetics. *Heredity*, 98, 128–142. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800917>
- Storfer, A., Murphy, M.A., Spear, S.F., Holderegger, R., & Waits, L. P. (2010). Landscape genetics: where we now?. *Molecular Ecology*, 19(17), 3496–3514. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04691.x>
- Turner, M.G., Gardner, R.H., & O’Neill, R.V. (2001). *Landscape Ecology in Theory and Practice*. New York: Springer-Verlag. 401 pp.
- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal., M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34(3), 275–305. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-3-275>
- Waraniak, J.M., Fisher, J.D., Purcell, K., Mushet, D.M., & Stockwell, C.A. (2019). Landscape genetics reveal broad and fine-scale population structure due to landscape features and climate history in the northern leopard frog (*Rana pipiens*) in North Dakota. *Ecology and Evolution*, 9(3), 1041–1060. <https://doi.org/10.1002/ece3.4745>
- Watts, A.G., Schlichting, P.E., Billerman, S.M., Jesmer, B.R., Micheletti, S., Fortin, M.J., Funk, W.C., Hapeman, P., Muths, E, Murphy, M.A. (2015). How spatio- temporal habitat connectivity affects amphibian genetic structure. *Frontiers in Genetics*, 6, 275. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00275>
- Wei, X., Huang, M., Yue, Q., Ma, S., Li, B., Mu, Z., Peng, C., Gao, W., Liu, W., Zheng, J., Weng, X., Sun, X., Zuo, Q., et al. (2021). Long-term urbanization impacts the eastern golden frog (*Pelophylax plancyi*) in Shanghai City: Demographic history, genetic structure, and implications for amphibian conservation in intensively urbanizing environments. *Evolutionary Applications*, 14(1), 117-135. <https://doi.org/10.1111/eva.13156>
- Zetterberg, A., Mörtberg, U.M., & Balfors, B. (2010). Making graph theory operational for landscape ecological assessments, planning, and design. *Landscape Urban Planning*, 95(4), 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2010.01.002>

ANEXO

Adaptación a un ambiente cambiante: Los Anfibios

Publicado en: *Biodiversitas* (2020) 152: 12–16



Adaptación a
un ambiente cambiante:

LOS ANFIBIOS

SARA COVARRUBIAS¹, CARLA GUTIÉRREZ RODRÍGUEZ²
Y CLEMENTINA GONZÁLEZ^{1, 3}

La ranita verduzca
(*Agalychnis dacnicolor*)
es endémica del bosque
tropical caducifolio del
occidente de México.

Fotos: © Juan Manuel González Villa

La diversidad de especies que observamos en la naturaleza hoy día es resultado de la evolución. A lo largo de muchas generaciones, los organismos han cambiado sus características, principalmente a través de la selección natural, uno de los principales mecanismos de evolución. Por medio de ella, los individuos con características que les permiten estar adaptados a las condiciones del ambiente en el que habitan son capaces de sobrevivir, reproducirse y heredar esas características a su descendencia. Estas características, que pueden ser morfológicas (forma, tamaño, color), fisiológicas (tolerancia térmica, resistencia a la sequía) y/o conductuales (vocalizaciones, despliegues de cortejo, tipo de forrajeo), constituyen el fenotipo de un organismo, el cual está determinado por sus genes (genotipo). La adaptación es entonces el proceso a través del cual las características de los organismos se ajustan mejor a su ambiente y les confieren ventajas para su sobrevivencia y éxito reproductivo (adecuación). Dentro de las poblaciones naturales existen diferentes fenotipos (con sus genotipos asociados), sobre los cuales la selección natural puede actuar, eligiendo aquellos que tienen mayor adecuación.

Los ecosistemas de la Tierra proporcionan una gran variedad de condiciones ambientales (hábitats) para albergar a un sinfín de organismos. Cuando los organismos están adaptados a las condiciones ambientales específicas de su hábitat, el movimiento de individuos y

por lo tanto de genes a otros hábitats con características ambientales distintas puede disminuir, lo que resulta en una adaptación local.¹ Para que una especie se pueda adaptar localmente es indispensable contar con variación genética suficiente para que los individuos tengan “opciones disponibles” para modificar su fenotipo y así adecuarse al nuevo ambiente. Es importante no confundir adaptación local con plasticidad fenotípica, que se refiere a la capacidad de los organismos de modificar su fenotipo como respuesta a los cambios en el ambiente sin que sus características genéticas se vean alteradas.

Las condiciones ambientales y, por lo tanto, el hábitat donde viven las especies pueden cambiar de forma natural a lo largo del tiempo. Sin embargo, las actividades humanas pueden alterar las condiciones del medio ambiente (incremento en los niveles de acidificación de cuerpos de agua, en la radiación ultravioleta y la temperatura), afectando la adecuación de los organismos. Como respuesta a estos cambios los individuos pueden responder potencialmente a las nuevas condiciones migrando a sitios más favorables, mediante plasticidad fenotípica o adaptación local. Sin embargo, la migración no es una opción para organismos con baja capacidad de dispersión, y bajo un escenario de continuo cambio ambiental, la plasticidad fenotípica no permitirá la persistencia de los organismos. Por lo tanto, es fundamental contar con variación genética para poder adaptarse lo-

calmente a las nuevas condiciones ambientales, ya que de otro modo podrían extinguirse. Es por esto que el estudio de la adaptación local es relevante en un contexto evolutivo, de conservación y de cambio climático.

¿Cómo se puede detectar la adaptación local?

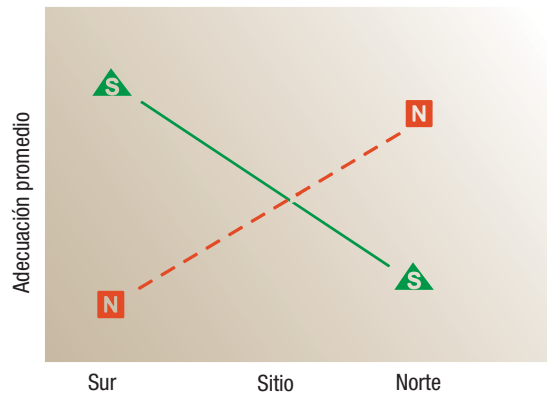
Los experimentos de jardín y trasplantes recíprocos constituyen herramientas clásicas para estudiar la adaptación local. El primero consiste en que individuos de diferentes poblaciones con condiciones ambientales contrastantes son llevados y criados bajo las mismas condiciones controladas, cuantificándose su sobrevivencia y la capacidad de modificar su fenotipo, ya sea por factores genéticos o en respuesta al cambio en las condiciones ambientales. En los experimentos de trasplante recíproco, los individuos de poblaciones con ambientes contrastantes son intercambiados para observar y comparar su desempeño con los individuos nativos. Sin embargo, estos experimentos pueden ser costosos y no aplicables a organismos que no se pueden reproducir fácilmente en el laboratorio.

Desde hace algunas décadas, los estudios de adaptación local se realizan también utilizando regiones específicas del ADN del genoma de un organismo. Recientemente, con el desarrollo de la tecnología se pueden obtener datos de miles a millones de regiones del genoma de múltiples individuos. Paralelamente, se han desarrollado diferentes métodos para detectar adaptación local, es decir, partes del genoma que se encuentran bajo selección natural. Entre los más empleados se encuentra la identificación de “valores atípicos”, es decir, aquellas partes del genoma que presentan mayores diferencias genéticas entre poblaciones en comparación de lo que se esperaría bajo neutralidad (ausencia de selección) y su posible función. Por otro lado, el método de “correlación genotipo-ambiente” busca asociaciones entre diferencias genéticas y ambientales.²

Los anfibios como modelo para estudiar patrones de adaptación local

Los anfibios están compuestos por tres grupos: sapos y ranas (Orden Anura), salamandras y ajolotes (Orden Caudata) y cecilias (Orden Gymnophiona). México cuenta con 396 especies de anfibios, de las cuales 273 son endémicas,³ siendo el quinto país a nivel mundial en riqueza de anfibios. Sin embargo, este grupo está padeciendo la peor crisis de extinción de su historia.⁴ En México, se estima que un 43% de la diversidad de anfibios está amenazada, principalmente como resultado de la destrucción de sus hábitats, contaminación ambiental, enfermedades emergentes y el cambio climático.

La mayoría de los anfibios tienen un ciclo de vida bifásico: una fase ocurre en el agua y otra en la tierra.



Diferencias en la adecuación promedio (sobrevivencia y éxito reproductivo) observadas en individuos de una especie en su sitio de origen y en sitios de donde no son originarias.

(Figura modificada de D. Cummings, W. J. Kennington y T. R. Bitterli, 2019).

Durante la fase acuática, los huevos se desarrollan en una larva de vida libre, adaptada para alimentarse, respirar y moverse. En la fase terrestre se lleva a cabo la metamorfosis en la que adquieren la forma adulta. Los anfibios son organismos ectotermos, es decir, regulan su temperatura a partir de la temperatura ambiental, y su piel es permeable, lo cual es importante para el intercambio de gases y la osmorregulación.

La salamandra de cafetal (*Aquiloerycea cafetalera*) es endémica del bosque de niebla con distribución muy restringida.



Rana del volcán de San Martín (*Craugastor loki*) en un bosque tropical subcaducifolio de Veracruz.



Debido a que son ectotermos, los anfibios son muy sensibles a cambios en la temperatura. Además, el aumento de la temperatura, como resultado del cambio climático, favorece el desarrollo y expansión de las enfermedades emergentes. La permeabilidad de la piel los hace vulnerables a modificaciones en las condiciones del agua como la salinidad y la presencia de contaminantes (herbicidas y pesticidas). Todas estas características originan que necesiten adaptarse a los cambios del hábitat.

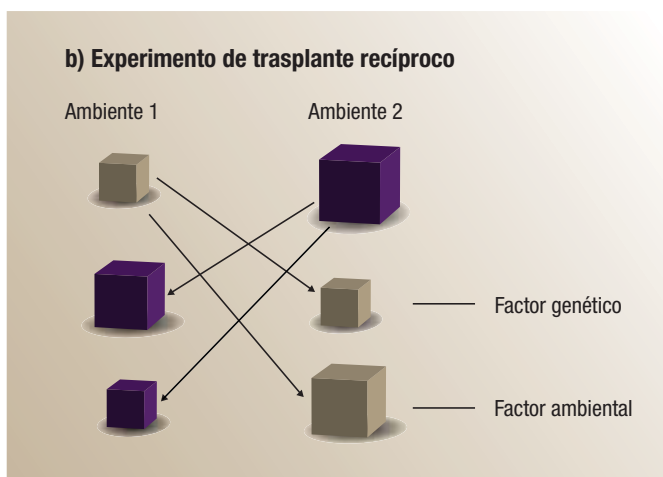
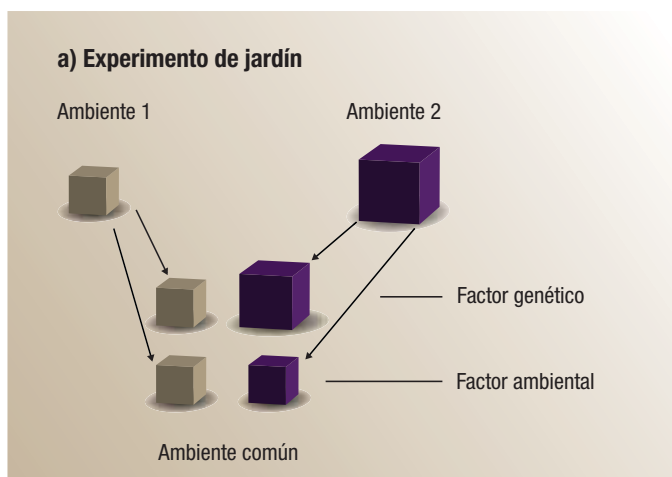
de pozas con dosel abierto tienen colas más largas y cuerpos menos profundos, debido a la mayor disponibilidad de alimento y de depredadores. Por el contrario, las ranas de pozas con dosel cerrado tienen cuerpos más profundos y colas más pequeñas, en virtud de la menor cantidad de depredadores y alimento disponible en esas pozas, lo que incrementa la competencia entre individuos.

En otro estudio realizado con una especie de salamandra (*Ambystoma maculatum*) en Estados Unidos, se evaluó si la especie está adaptada a la presencia de sus dos principales depredadores: la larva de otra salamandra y la de un escarabajo.⁶ Las larvas difieren en abundancia dentro de las pozas y en su habilidad para atacar grandes presas. En un experimento de jardín, las larvas de *A. maculatum* fueron expuestas a cada uno de los depredadores. Los resultados indicaron que

Métodos ecológicos para evaluar adaptación local (a) experimento de jardín y (b) trasplante recíproco. En ambos experimentos se muestran las diferencias en el fenotipo debido a factores genéticos o ambientales en el nuevo ambiente.

Adaptación local en anfibios: casos de estudios ecológicos y genéticos

En un estudio realizado con poblaciones de *Rana sylvatica* evaluaron, mediante un experimento de jardín, si las ranas originarias de pozas con dosel abierto y cerrado están adaptadas a sus respectivos ambientes.⁵ Los resultados indicaron que las ranas provenientes





La rana pico de pato del Pacífico (*Diaglena spatulata*), es endémica del bosque tropical caducifolio y está amenazada por la pérdida de hábitat.

los individuos expuestos a altas densidades de larvas del escarabajo desarrollaron músculos más grandes en la cola, haciéndolas más eficientes para escapar de los depredadores. Por el contrario, los individuos expuestos a altas densidades del depredador menos hábil para atacar no mostraron tal desarrollo en los músculos.

La adaptación de los anfibios a ambientes característicos de altitudes elevadas ha sido un tópico de interés por décadas. Por ejemplo, en la rana tibetana *Nanorana parkeri* —que se distribuye desde 2800 hasta 4000 metros de altura en la placa Qinghai-Tibetana— se investigó, usando datos genómicos, si las diferencias en los factores ecológicos de distintas altitudes han promovido adaptación local.⁷ Los resultados indicaron que los genes involucrados con funciones como circulación sanguínea, respuesta a la hipoxia y radiación UV están aso-

ciados a individuos de altas elevaciones. Esto sugiere adaptación local a las condiciones adversas de altas elevaciones, por ejemplo poco oxígeno y alta radiación.

En Australia, a lo largo de un gradiente de temperatura promedio anual (que disminuye de norte a sur) y de precipitación (que incrementa de norte a sur), se identificaron 413 regiones del genoma de la rana *Pseudophryne guentheri* asociadas con temperatura, evaporación y humedad del suelo. También se identificaron genes involucrados en la maduración de ovocitos, que facilitan el rápido desarrollo de embriones en climas secos.⁸ A pesar de que estos resultados sugieren adaptación local, los bajos niveles de variación genética detectados en algunas poblaciones de la especie podrían limitar su capacidad de adaptación al constante cambio climático.

Los resultados de estos y otros estudios sugieren que las poblaciones de especies de anfibios estudiadas



La salamandra falsa gigantesca del arroyo (*Isthmura gigantea*) es endémica del bosque de niebla y se encuentra críticamente amenazada.



Ranita de cristal costeña (*Hyalinobatrachium fleischmanni*) protegiendo su puesta en un bosque tropical subcaducifolio de Veracruz.

en diversos ecosistemas del mundo se encuentran localmente adaptadas a las condiciones bióticas y abióticas del lugar en que habitan. En México son pocos los estudios de adaptación local que se han realizado, a pesar de la importancia de la diversidad de anfibios y ecosistemas que presenta. En una colaboración entre la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y el Instituto de Ecología, A.C., estamos desarrollando un estudio de adaptación local en la ranita verduzca (*Agalychnis dacnicolor*), una rana que se encuentra exclusivamente en los bosques tropicales caducifolios del occidente de México. El principal objetivo de nuestro estudio es evaluar, mediante herramientas genómicas, si las poblaciones de *A. dacnicolor* localizadas en un gradiente altitudinal están adaptadas localmente a distintos ambientes. Bajo un contexto de cambio climático, los resultados de nuestro estudio serán importantes para determinar el posible efecto que el aumento de la temperatura y las sequías tendrán en las poblaciones de *A. dacnicolor*. Debido a

las constantes amenazas a las que están sujetas las poblaciones de anfibios y por la tasa acelerada de cambio climático, en la que se prevé que habrá un incremento en la intensidad de condiciones extremas, es importante evaluar el potencial de las poblaciones para responder ante el cambio ambiental.

Bibliografía

- ¹ Kawecki T. J. y D. Ebert. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology letters* 7: 1225-1241.
- ² De Mita, S., A. C. Thuillet, L. Gay, N. Ahmadi, S. Manel, J. Ronford y Y. Vigouroux. 2013. Detecting selection along environmental gradients: analysis of eight methods and their effectiveness for outbreeding and selfing populations. *Molecular Ecology* 22: 1383-1399.
- ³ AmphibiaWeb. 2019. <https://amphibiaweb.org>, University of California, Berkeley, Estados Unidos. Última consulta: 6 de diciembre de 2019.
- ⁴ Wake, D. B. y V. T. Vredenburg. 2008. Colloquium paper: Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 11466-11473.
- ⁵ Zellmer, A. J. 2018. Microgeographic morphological variation across larval wood frog populations associated with environment despite gene flow. *Ecology and Evolution* 8: 2504-2517.
- ⁶ Urban, M. C. 2010. Microgeographic adaptations of spotted salamander morphological defenses in response to a predatory salamander and beetle. *Oikos* 119: 646-658.
- ⁷ Wang, G. D., B. L. Zhang, W. W. Zhou, Y. X. Li, J. Q. Jin, Y. Shao, et al. 2018. Selection and environmental adaptation along a path to speciation in the Tibetan frog *Nanorana parkeri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115: E5056-E5065.
- ⁸ Cummings, D., W. J. Kennington y T. R. Bitterli. 2019. A genome-wide search for local adaptation in a terrestrial-breeding frog reveals vulnerability to climatic change. *Global Change Biology* 25: 3151-3162.
- ⁹ Savolainen, O., M. Peralta y J. Merilä. 2013. Ecological genomics of local adaptation. *Nature Reviews Genetics* 14: 807-820.
- ¹⁰ Miaud, C. y J. Merilä. 2000. Local adaptation or environmental induction? Causes of population differentiation in alpine amphibians. *Biota* 2:31-50.

¹ Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
² Red de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología, A.C.
³ clementina.gonzalez@umich.mx