



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

SISTEMÁTICA

**EVOLUCIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE EUPOMPHINI
(COLEOPTERA: MELOIDAE), UNA TRIBU ENDÉMICA DE LAS ZONAS
ÁRIDAS DEL SUROESTE NORTEAMERICANO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**PRESENTA:
ESTEFANY KAREN LÓPEZ ESTRADA**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DR. OSCAR FEDERICO FRANCKE BALLVÉ
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM**

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

SISTEMÁTICA

**EVOLUCIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE EUPOMPHINI
(COLEOPTERA: MELOIDAE), UNA TRIBU ENDÉMICA DE LAS ZONAS
ÁRIDAS DEL SUROESTE NORTEAMERICANO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**PRESENTA:
ESTEFANY KAREN LÓPEZ ESTRADA**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DR. OSCAR FEDERICO FRANCKE BALLVÉ
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM**

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE, 2016

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 15 de agosto de 2016, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **LÓPEZ ESTRADA ESTEFANY KAREN** con número de cuenta **305330396** con la tesis titulada **"EVOLUCIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE EUPOMPHINI (COLEOPTERA: MELOIDAE) UNA TRIBU ENDÉMICA DE LAS ZONAS ÁRIDAS DEL SUROESTE NORTEAMERICANO"**, realizada bajo la dirección del **DR. ALEJANDRO ZALDIVAR RIVERÓN**:

Presidente: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Vocal: DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA
Secretario: DR. OSCAR FEDERICO FRANCKE BALLVÉ
Suplente: DR. ALEJANDRO FRANCISCO OCEGUERA FIGUEROA
Suplente: DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx, a 28 de septiembre de 2016.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

Agradecimientos

Gracias al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de ésta máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al Instituto de Biología UNAM por la oportunidad y las facilidades brindadas para realizar éste proyecto científico, desde las instalaciones hasta los apoyos recibidos para realizar estancias académicas (PAEP).

Gracias a CONACyT por todos los apoyos económicos brindados, tanto de manutención como de estancias académicas a través de la modalidad Beca Mixta (becaria #330519). Esta tesis es parte del Proyecto Ciencia Básica 2014 CONACyT (No. 220454) "Factores determinantes en los procesos de especiación de grupos de insectos de México". Sin el apoyo de esta institución, el desarrollo de ésta tesis no hubiera sido posible.

Gracias al Dr. Alejandro Zaldívar-Riverón el tutor principal de esta tesis, por aceptarme como su alumna, no solo por el tiempo invertido sino por todo el esfuerzo, sus observaciones, sus consejos y apoyos brindados, haciendo una labor invaluable en mi formación académica. A los miembros de mi comité tutorial el Dr. Oscar Federico Francke Ballvé y a la Dra. Livia Socorro León Paniagua así como al Dr. Luis Cervantes Peredo (QEPD), por vigilar y revisar este proyecto durante su realización y por sus aportaciones que sin duda enriquecieron este trabajo.

Agradecimientos a título personal

Al Dr. Mario García-París por el material entomológico brindado, por recibirme durante la estancia académica en el Museo Nacional de Ciencias Naturales-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (MNCN-CSIC) en la ciudad de Madrid, pero sobre todo por motivarme día a día, sembrar en mí la visión evolutiva, escuchar y brindar más que el apoyo necesario para desarrollar las ideas que ahora se proyectan en este estudio, por su paciencia y sobre todo por compartir conmigo su conocimiento. Al MNCN-CSIC por permitirme usar las instalaciones y a toda la gente que hace ciencia en ese lugar por sus consejos durante mi estancia académica.

Al PhD. Nico Franz, sus alumnos PhD. Matthew Gimmel y PhD. Andrew Johnston y la curadora Ph.D Sangmi Lee por recibirme durante la estancia realizada en “Insect Hasbrouck Collection, Arizona State University (ASU)”, y por el apoyo brindado en el trabajo de campo. A “The University of Arizona (UA)”, por el material entomológico brindado por parte de “University of Arizona Insect Collection”.

A la Dra. Isabel Sanmartín Bastida investigadora del Real Jardín Botánico de Madrid (RJB-CSIC) por aceptar ser parte de este estudio y por sus eminentes aportaciones en el diseño analítico de éste proyecto.

A los miembros del jurado, Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns, Dra. Claudia Patricia Ornelas García, Dr. Oscar Federico Francke Ballvé, Dr. Alejandro Francisco Ocegüera Figueroa y Dra. Livia Socorro León Paniagua por los distinguidos comentarios aportados a esta tesis, y por el tiempo invertido en ello, muchas gracias.

A la Act. Edna Gabriela López Estrada y al Dr. Raúl González Silva por las clases y asesorías de estadística y matemática. Al Biól. Oscar Pérez Flores por las asesorías entomológicas.

Este trabajo es para la niña con ojos color sol:

Abril Yaretzi Berumen López

Y para todas las personas que llevo hasta la raíz

Índice de Figuras

- Figura 1.** Arriba patrones de diversidad idealizados. Abajo curvas de disparidad y diversidad predichas en el tiempo (línea continua diversidad taxonómica, línea punteada disparidad morfológica. A) poca diversidad morfológica frente a una diversidad taxonómica que la excede. B) diversidad morfológica que sobrepasa la diversidad taxonómica, los clados tempranos tienen saltos morfológicos y la diversidad morfológica continúa creciendo pero con saltos acortados. C) la diversidad morfológica es concordante con la diversidad taxonómica (Erwin, 2007)..... 5
- Figura 2.** Especies representantes de los diferentes géneros de Eupomphini A) *Cordylospasta opaca* Horn, 1868, B) *Cysteodemus wislizeni* LeConte, 1851, C) *Eupompha elegans* (LeConte, 1851), D) *Eupompha fissiceps* LeConte, 1858, E) *Megetra cancellata* (Brandt y Erichson, 1832), F) *Phodaga alticeps* LeConte, 1858, G) *Pleuropasta reticulata* Van Dyke, 1947, y H) *Tegrodera latecincta* Horn, 1891 (Fotografías tomadas por: Mario García-París)..... 8
- Figura 3.** Mapa de distribución de las especies de la tribu Eupomphini..... 9
- Figura 4.** Parte del cladograma obtenido por Bologna y Pinto (2001) basado en caracteres larvarios, en donde se obtuvo la monofilia de Eupomphini, sin embargo no presenta valores de soporte y el muestreo es muy pobre con solo dos especies de las 26 conocidas..... 11
- Figura 5.** Partes de los filogramas obtenidos por Bologna et al. (2008) basados en caracteres moleculares y morfológicos en donde se obtuvo la monofilia de Eupomphini. A) Topología obtenida utilizando datos moleculares; B) topología obtenida con datos moleculares y morfológicos. 11
- Figura 6.** Modelo de estructura secundaria obtenido para el gen ribosomal 16S. 17
- Figura 7.** Modelo de estructura secundaria obtenido para el gen ribosomal 18S. 18
- Figura 8.** Modelo de estructura secundaria obtenido para el gen ribosomal 28S. 19
- Figura 9.** Filograma derivado del análisis bayesiano empleando una matriz de datos con cinco genes concatenados. Los números presentes en las ramas representan valores de probabilidad posterior de los clados..... 28
- Figura 10.** Filograma derivado del análisis de Máxima Verosimilitud empleando la matriz de datos con cinco genes concatenados. Los números presentes en los nodos representan los valores de soporte bootstrap. 29
- Figura 11.** Árbol ultramétrico derivado del análisis con BEAST para la tribu Eupomphini empleando información fósil para calibración. Los nodos con un círculo negro representan valores de probabilidad posterior de los clados > 0.95..... 31
- Figura 12.** Árbol ultramétrico derivado del análisis con BEAST para la tribu Eupomphini empleando tasas de evolución molecular. Los nodos con un círculo negro representan valores de probabilidad posterior de los clados > 0.95. 32
- Figura 13.** A) Tasa de diversificación (azul); Recambio de especies (rojo) calculados para la filogenia empírica. B) gráfico del número linajes a través del tiempo basados en la filogenia empírica de Eupomphini y 5.000 filogenias simuladas. 34
- Figura 14.** A) Tasa de diversificación calculada para cada una de las ramas desde el origen de Eupomphini al presente utilizando BAMM. Los colores rojos indican la máxima tasa

alcanzada. B) Síntesis del comportamiento de la tasa de diversificación a lo largo del tiempo para el árbol filogenético la línea roja representa la media y el espectro azul los intervalos de confianza.	35
Figura 15. A) Patrón de disparidad morfológica a lo largo del tiempo utilizando los cuatro caracteres morfológicos. B, C, D, E) índice de disparidad relativa (línea continua) comparado con la media de disparidad esperada (línea punteada) basadas en el espectro de comportamiento de las 1000 simulaciones filogenéticas (zona gris). En el eje X el tiempo cero indica el origen de la tribu y avanza en dirección al presente.	36
Figura 16. A) Tasa de evolución fenotípica calculada para cada una de las ramas desde el origen de Eupomphini al presente utilizando BAMM. Los colores rojos indican la máxima tasa alcanzada. B) Síntesis del comportamiento de la tasa de evolución fenotípica a lo largo del tiempo para el árbol filogenético la línea roja representa la media y el espectro azul los intervalos de confianza.	38
Figura 17. Correlación positiva entre la tasa de diversificación y la tasa de evolución fenotípica.....	38

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. OBJETIVOS	6
4.1. Generales.....	6
4.2. Particulares	6
5. ANTECEDENTES	7
5.1. La tribu Eupomphini	7
5.2. Historia taxonómica de Eupomphini.....	12
6. MÉTODOS.....	14
6.1. Selección de taxones	14
6.2. Trabajo de laboratorio	14
6.3. Alineamiento y análisis filogenéticos.....	16
6.4. Tiempos de divergencia.....	21
6.5. Tasas de diversificación	22
6.6. Patrones de disparidad y tasas de evolución fenotípica	25
6.7. Coeficiente de Correlación de Kendall.....	26
7. RESULTADOS	27
7.1. Relaciones filogenéticas en Eupomphini.....	27
7.2. Estimación de tiempos de divergencia.....	29
7.3. Tasas de diversificación	32
7.4. Patrones de disparidad y tasas de evolución fenotípica	35
7.5. Coeficiente de correlación de Kendall	38
8. DISCUSIÓN	39
8.1. Monofilia y relaciones filogenéticas en Eupomphini	39
8.2. Diversificación y tiempos de divergencia en Eupomphini.....	42
8.3. Disparidad morfológica en Eupomphini.....	44
8.4. Radiación evolutiva en Eupomphini	46
9. Conclusiones	48
APÉNDICE. Asignación específica, localidad y números de voucher para los ejemplares examinados en este estudio.	50
BIBLIOGRAFÍA.....	56

1. RESUMEN

Con 26 especies descritas, Eupomphini es una tribu relativamente pequeña dentro de Meloidae (Coleoptera); no obstante en ella se encuentra la mayor parte de la diversidad morfológica observada dentro de la familia. La extensa diversidad morfológica en este grupo se observa principalmente en la forma de los élitros los cuales muestran tendencias evolutivas en direcciones completamente diferentes e incluso contrarias. En este estudio se investigó el papel de los mecanismos evolutivos que pudieron dar lugar a la contrastante relación entre la alta diversidad morfológica y la escasa diversidad tóxica en Eupomphini. Para ello se reconstruyó una filogenia basada en 22 de las 26 especies descritas para la tribu utilizando cinco marcadores moleculares, dos mitocondriales (*cox1*, *16S*) y tres nucleares (*18S*, *28S* y *H3*). Se calcularon los tiempos de origen y diversificación de la tribu utilizando tasas de evolución molecular y se estimaron tasas de especiación, extinción, así como tasas de evolución fenotípica e índice de disparidad morfológica. La topología del árbol resultante muestra como monofilética a la tribu, así como todos sus géneros excepto *Eupompha*, el cual se recuperó parafilético y se corroboran aquí como géneros diferentes reestableciendo sus nombres. El cálculo de las tasas de especiación y extinción junto con la historia paleoclimática de la zona de distribución de Eupomphini, sugieren la existencia de un evento de extinción masivo, probablemente derivado de los drásticos cambios climáticos en la transición Mioceno-Plioceno, que eliminó a mas del 95% de las especies limitando su diversificación hasta hace dos millones de años. La alta tasa de diversificación y de evolución fenotípica en el primer tercio de la filogenia, ligada a la probable pérdida de la restricción evolutiva en la forma de los élitros, sugiere que la diversificación morfológica en la tribu en el pasado fue mucho mayor que la que existe actualmente. Los linajes de Eupomhini, incluyendo los extintos, mostrarían un continuo de morfotipos entre los que se encontrarían los actuales. Esta alta diversificación pasada se refleja en la existencia de ramas cortas y bajos valores de soporte en la base de la filogenia, poniendo de manifiesto la existencia de una posible radiación que acompañaría a la diversificación elitral. Debido a que el promotor de la diversificación en la radiación sugerida no esta relacionado con factores ecológicos sino con la probable pérdida de la restricción en la forma de los élitros, se sugiere que la radiación fue “no adaptativa”.

2. ABSTRACT

With 26 described species, Eupomphini is a relative small meloid (Coleoptera) tribe; however, it comprises most of the observed morphological diversity within the family. This morphological diversity is mainly found in the elytral shape, which shows completely different or even opposite evolutionary trends. In this study, I investigate the role of the evolutionary mechanisms that could be responsible of the contrasting relationship between morphological diversity and species richness in Eupomphini. For this, a phylogeny was reconstructed based on 22 of the 26 described species that conform the tribe using five molecular markers, two mitochondrials (*cox1*, *16S*) and three nuclears (*18S*, *28S* y *H3*). I calculated the tempo and mode of diversification in the tribe using molecular evolutionary rates, and I estimated speciation, extinction and phenotypic evolution rates, as well as disparity indices along the diversification events over the phylogeny. The reconstructed topology recovered the tribe as monophyletic, as well as all their genera except *Eupompha*, which appears divided into two non-sister clades here, I corroborate *Eupompha* as two separate genera and reestablished their names. The estimated speciation and extinction rates, along with the paleoclimatic history of the tribe's distribution area, suggest a massive extinction event, probably derived from the drastic climatic changes occurred during the Miocene-Pliocene transition. This extinction event eliminated more than 95% of the species and limited the diversification of the clade until approximately two million years ago. The high diversification and phenotypic evolution rates observed in the first third of the phylogeny, along with the probable lost of the evolutionary constraint limiting elytral shape, suggest that the morphological diversification in Eupomphini was far greater than the currently observed. Eupomphine lineages, including the extinct, would be represented by a continuous array of morphotypes, in which the extant are included. This past high diversification is reflected by the existence of short branches and low branch support values at the base of the phylogenetic tree, indicating the possible existence of an ancient rapid radiation paired to the elytral diversification. Because the promoter of diversification in the possible radiation is not related with ecological factors, but rather to the probable lost of the evolutionary constraint in the elytral shape, I suggest that the radiation was non-adaptive.

3. INTRODUCCIÓN

La idea de que la biodiversidad evoluciona gradualmente es una idea que ha sido universalmente aceptada desde la publicación del Origen de las especies por Charles Darwin en 1859 (Mayr, 1979). No obstante, la biodiversidad actual no es producto de un solo proceso, sino que existen diferentes procesos que actúan a diferente ritmo y forma y que moldean la historia evolutiva de las diferentes formas de vida que vemos (Foote, 1997). La evolución no actúa de manera uniforme sobre los organismos, por lo que a lo largo del gran árbol de la vida vemos diferencias pronunciadas en la distribución de riqueza de especies y diversidad de formas (Adams, 2009).

La disparidad morfológica es un término actualmente empleado para referirse a la variación en la forma de un grupo de especies (Foote, 1997); puede definirse como la extensión y estructura estadística de la diversidad de formas dentro de un conjunto de taxones, medida en términos del morfoespacio que co-ocupan (Kaplan 2004). El concepto de disparidad morfológica ha sido utilizado para discutir el cambio morfológico observado en varios grupos de organismos a diferentes niveles taxonómicos (Foote, 1997).

La gran gama de fósiles encontrados en el yacimiento Burgess Shale del Cámbrico Medio condujo a Gould (1989a) a proponer el término “disparidad morfológica” para referirse a la variación del diseño fundamental observado entre artrópodos de esa localidad. Dicha variación morfológica era mas grande que la de todos los artrópodos actuales y además inconsistente con las predicciones de una teoría evolutiva que implica que el incremento de disparidad morfológica va a la par con el incremento taxonómico (Fortey, 1996).

A la fecha, se han desarrollado varios métodos matemáticos y estadísticos para cuantificar y medir la disparidad morfológica, incluyendo el intervalo total, distancia media, volumen de cierta estructura, número de combinaciones únicas de caracteres por pares, análisis de componentes principales entre otros (Foote, 1997; Erwin, 2007).

El estudio de la disparidad involucra comparar a diferentes niveles taxonómicos la diversidad morfológica a lo largo de gradientes espaciales y temporales (Foote, 1997). La medición de la disparidad morfológica consiste en caracterizar la variación de la forma

dentro de un grupo de estudio y cuantificar la distancia entre una variación y otra (Erwin, 2007). El estudio de la disparidad morfológica a lo largo de la historia evolutiva de un linaje se puede abordar en función del modelo de cambio que presenta el linaje. Un modelo nulo asume que tanto la disparidad morfológica como la diversidad taxonómica crecen a la par durante la historia de un clado en particular, y a partir de este modelo se establece si el patrón de disparidad excede lo esperado dada la edad del clado, o si, por el contrario, es menor que la esperada (Erwin, 2007)(Figura 1).

De acuerdo con diferentes modelos evolutivos, existe una correlación positiva entre el proceso de diversificación de especies y la evolución fenotípica (Eldredge y Gould 1972; Pennell et al., 2013). Sin embargo, a pesar de que numerosos taxones son ejemplo de esta premisa (Eastel, 1990; Meyer et al., 1990), existen también varios grupos en donde la evolución fenotípica no está correlacionada con la diversificación de especies (Harmon et al., 2003; Slater et al., 2010). Algunos de estos casos están representados por grupos de organismos en donde su disparidad morfológica es pronunciada, es decir, la evolución fenotípica resulta desproporcionada con respecto al nivel de diversificación alcanzado dentro del clado (Kaplan, 2004; Erwin, 2007) (Figura 1c).

Dos clases de mecanismos desencadenantes principales se han propuesto para explicar la disparidad morfológica. En uno de ellos se relaciona la evolución fenotípica con un enfoque ecológico, colocando el papel de las oportunidades ecológicas extrínsecas como motor de la diversificación de especies (Glor 2010; Yoder et al., 2010). La segunda clase de mecanismos coloca la capacidad de evolucionar del linaje hacia fenotipos novedosos como el promotor de la diversificación de especies (Vermeij 1973; Liem and Osse 1975; Adamowicz et al., 2008; Pigliucci 2008). En ambos casos, los rasgos que se encuentren bajo selección a nivel de especie causan una alteración en las tasas netas de diversificación y extinción (Rabosky y McCune, 2010).

El desafío al hacer inferencias sobre los procesos que gobiernan la disparidad morfológica no solo se limita a la identificación de los promotores del cambio, ya sea por la capacidad intrínseca de evolucionar (“evolvability”; Kirschner y Gerhart, 1998) o dirigido por la oportunidad ecológica, sino la identificación del patrón que forma la relación entre riqueza de especies y cambio morfológico desde el origen del grupo y a lo largo de su historia evolutiva.

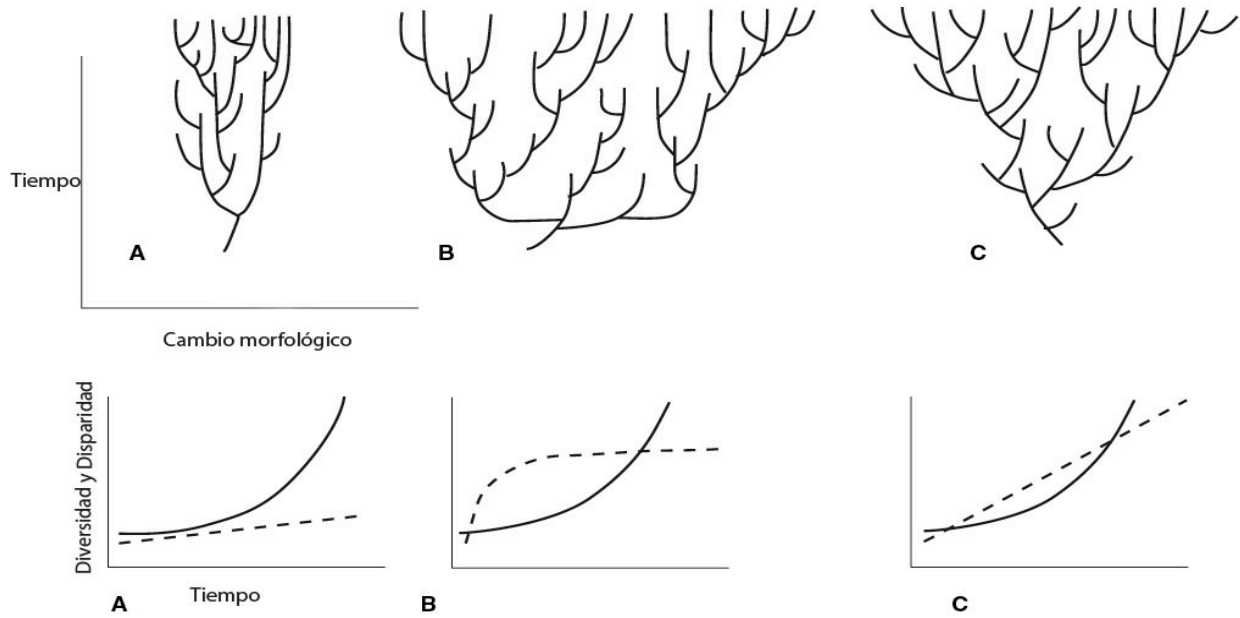


Figura 1. Arriba patrones de diversidad idealizados. Abajo curvas de disparidad y diversidad predichas en el tiempo (línea continua diversidad taxonómica, línea punteada disparidad morfológica. A) poca diversidad morfológica frente a una diversidad taxonómica que la excede. B) diversidad morfológica que sobrepasa la diversidad taxonómica, los clados tempranos tienen saltos morfológicos y la diversidad morfológica continúa creciendo pero con saltos acortados. C) la diversidad morfológica es concordante con la diversidad taxonómica (Erwin, 2007).

4. OBJETIVOS

4.1. Generales

Investigar la evolución del patrón de disparidad morfológica en relación a la diversidad táxica en la tribu Eupomphini a través de la identificación de cambios en las tasas de diversificación y extinción.

4.2. Particulares

- Reconstruir las relaciones filogenéticas entre los miembros de Eupomphini con base en cinco marcadores genéticos.
- Identificar las posibles causas de la baja diversidad táxica en Eupomphini.
- Estudiar la evolución estructural de caracteres morfológicos seleccionados.

5. ANTECEDENTES

5.1. La tribu Eupomphini

La amplia diversificación morfológica de estructuras complejas, tales como élitros y abdomen, en contraste con su pobre diversificación de especies hacen de los coleópteros del desierto de Norteamérica de la tribu Eupomphini (Meloidae) un grupo ideal para probar los posibles escenarios de la relación entre diversificación y evolución morfológica dentro de un clado a lo largo del tiempo.

Eupomphini es una de las siete tribus incluidas en la subfamilia Meloinae, dentro de la ampliamente distribuida familia Meloidae. Actualmente, esta tribu cuenta con sólo 26 especies reconocidas agrupadas en siete géneros (Pinto 1984a) (Figura 2), a diferencia de Epicautini en la que se alrededor de 360 especies descritas (García-París y Ruíz, 2013). La distribución geográfica de las especies de Eupomphini es restringida y poco usual, encontrándose en zonas áridas y semiáridas del noroeste de México y suroeste de Estados Unidos (Pinto, 1984a). Esta tribu tiene la mayor diversidad morfológica dentro de Meloidae; no obstante, a pesar de esto, la siguiente combinación de caracteres diagnósticos definen a la tribu (Pinto, 1984a): 1) adultos con la hoja ventral de la uña tarsal más corta que la hoja dorsal y fuertemente adnata a la hoja dorsal, formando un “diente” ventral; 2) antenas subfiliformes y con segmentos estrechamente articulados; 3) la limpieza de las antenas se realiza con las patas anteriores únicamente, las piezas bucales no están involucradas, y 4) el primer estado larvario presenta la extensión de la sutura epicraneal incompleta, es decir, no llega a tocar la base de la antena.



Figura 2. Especies representantes de los diferentes géneros de Eupomphini A) *Cordylospasta opaca* Horn, 1868, B) *Cysteodemus wislizeni* LeConte, 1851, C) *Eupompha elegans* (LeConte, 1851), D) *Eupompha fissiceps* LeConte, 1858, E) *Megetra cancellata* (Brandt y Erichson, 1832), F) *Phodaga alticeps* LeConte, 1858, G) *Pleuropasta reticulata* Van Dyke, 1947, y H) *Tegrodera latecincta* Horn, 1891 (Fotografías tomadas por: Mario García-París).

Tres de los géneros de Eupomphini, *Phodaga* LeConte, 1858, *Pleuropasta* Wellman, 1909 y *Cysteodemus* LeConte, 1851, se encuentran desde el oeste del desierto de Chihuahua hasta los desiertos de Mojave y Sonora, superponiendo sus distribuciones en el punto donde se juntan las fronteras de Baja California, Arizona y California, y solo *Pleuropasta* se extiende por Nuevo México en Estados Unidos hasta Nuevo León y Tamaulipas, en México (Pinto 1984a; García-París et al., 2007). Las especies de *Eupompha* LeConte, 1858 se localizan desde el suroeste de Estados Unidos y la mitad septentrional de México hasta Guerrero en el sur, con cuatro especies endémicas una en este último estado, otra en Michoacán, una en el desierto El Vizcaíno y una última de la Península de Baja California (Pinto 1984a; López-Estrada y García-París, 2015). *Tegrodera* LeConte, 1851 y *Cordylospasta* Horn, 1875, se distribuyen en el límite suroeste de Estados Unidos, en Baja California Norte y Sur y en Sonora (Pinto 1984a; García-París et al., 2007). Por último, las especies de *Megetra* LeConte, 1859 viven desde el norte de Arizona hasta el centro-norte de Nuevo México, y a través de la zona norte de México hasta Hidalgo y Jalisco (Pinto 1984a; García-París et al., 2007)(Figura 3).

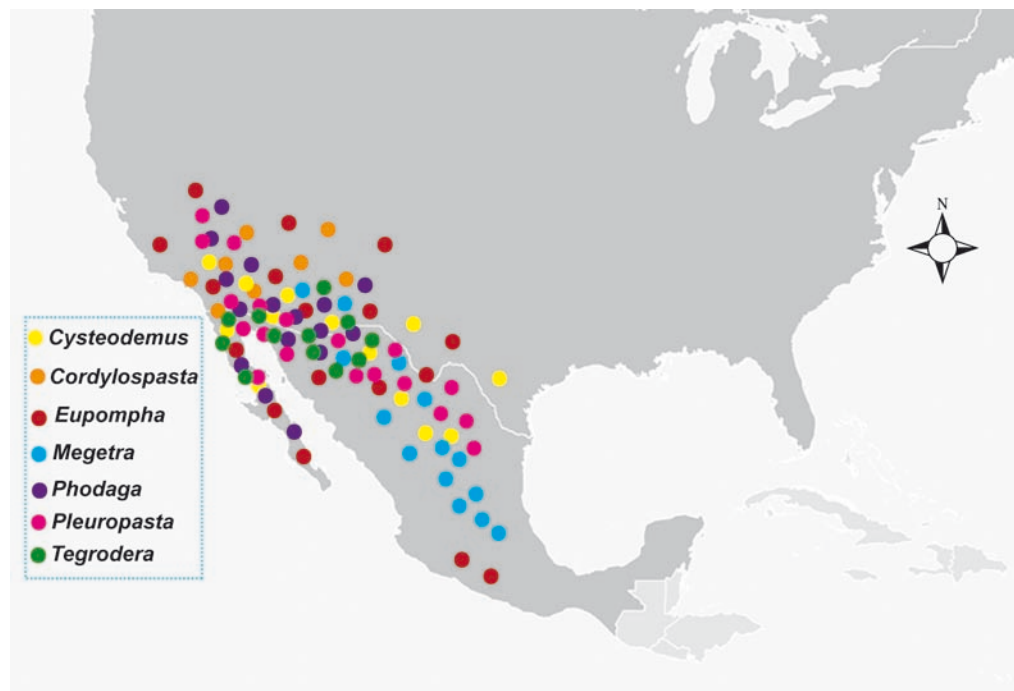


Figura 3. Mapa de distribución de los géneros de la tribu Eupomphini

Se han propuesto algunas hipótesis sobre las relaciones filogenéticas dentro de Eupomphini. Pinto (1979, 1984a) realizó análisis cladísticos y fenéticos utilizando caracteres morfológicos, tanto de los estados adultos como del primer estadio larval. No obstante, a pesar de la buena definición de caracteres y los análisis realizados por este autor, las relaciones de algunos de los clados no han sido resueltas.

A la fecha se han realizado un par de trabajos sobre la filogenia de Meloidae en los que se incluyen algunos géneros de Eupomphini como taxones terminales representantes de la tribu. En uno de estos trabajos (Bologna y Pinto, 2001) la tribu resultó monofilética usando caracteres morfológicos del primer estadio larvario forético, aunque no se realizaron análisis para evaluar el soporte de los clados obtenidos (Figura 4). Subsecuentemente, Bologna et al. (2008) reconstruyeron las relaciones filogenéticas de Meloidae, usando en este caso datos de marcadores moleculares (genes 16S e ITS2) e información morfológica y biológica (126 caracteres). Éste trabajo mostró consistentemente en un clado a las dos especies de Eupomphini que fueron incluidas de las 26 conocidas (Figura 5). Sin embargo el número de taxones utilizado hasta la fecha no puede considerarse significativo para determinar de forma robusta la monofilia de la tribu.

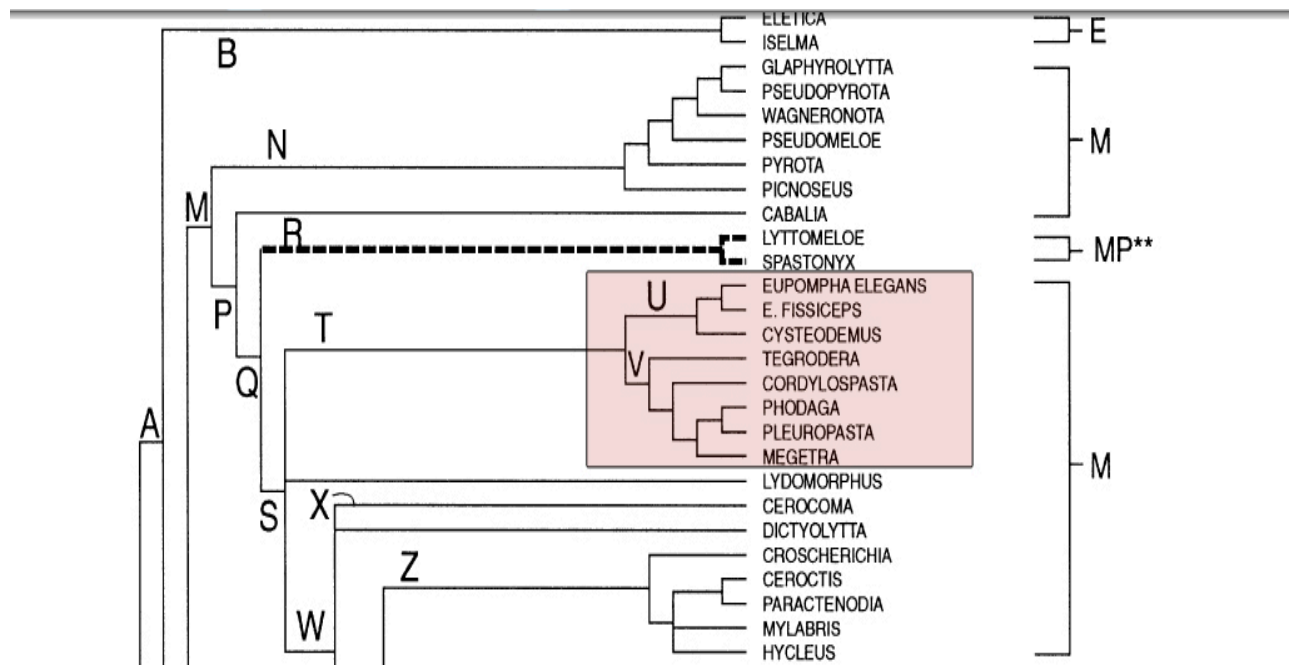


Figura 4. Parte del cladograma obtenido por Bologna y Pinto (2001) basado en caracteres larvarios, en donde se obtuvo la monofilia de Eupomphini, sin embargo no presenta valores de soporte y el muestreo es muy pobre con solo dos especies de las 26 conocidas.

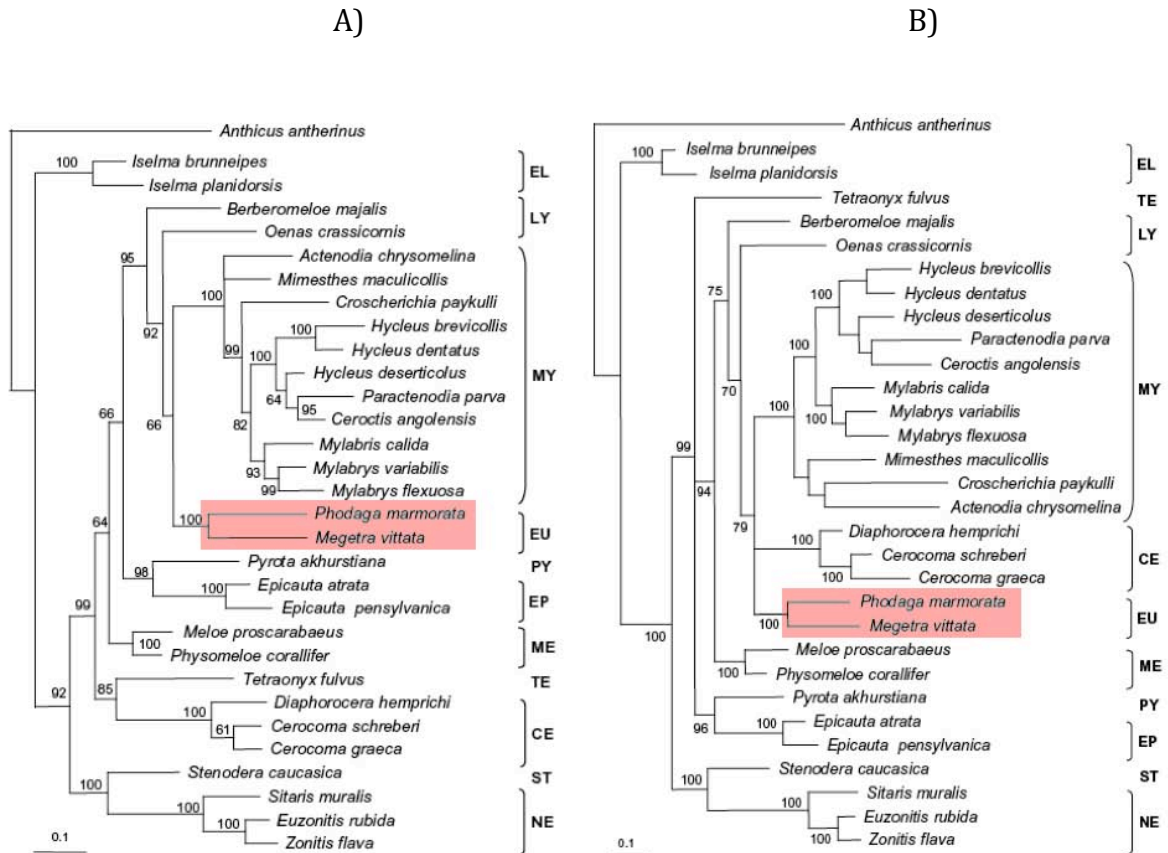


Figura 5. Partes de los filogramas obtenidos por Bologna et al. (2008) basados en caracteres moleculares y morfológicos en donde se obtuvo la monofilia de Eupomphini. A) Topología obtenida utilizando datos moleculares; B) topología obtenida con datos moleculares y morfológicos.

La alta diversidad morfológica encontrada en Eupomphini en contraste con su bajo número de especies actuales y el desconocimiento de las causas que generan esta situación, hacen de este grupo un modelo de estudio atractivo para responder preguntas de tipo evolutivo. Las causas de variación temporal, espacial y filogenética en la riqueza de especies residen en los procesos de especiación y extinción de los taxones (Glor, 2010; Paradis, 2011; Morlon et al., 2011; Rabosky, 2014). Por lo tanto, es posible abordar el estudio del contraste entre diversidad morfológica y riqueza investigando cómo y cuándo pueden variar las tasas de especiación y extinción de linajes a lo largo del tiempo, del espacio y entre clados.

Las tribus de la subfamilia Meloinae, excepto Eupomphini, muestran en general una riqueza de especies considerable, y sus especies conservan la morfología corporal “típica” conocida de la familia, la cual contrasta de manera notable con las diferentes formas corporales de Eupomphini, en donde cada uno de los géneros muestra una tendencia de evolución fenotípica completamente diferente en varios caracteres, especialmente los élitros con formas tan diferentes, desde una atrofia hasta un hiper desarrollo de los mismos, han sufrido una gran deformación. Incluso las especies de algunos géneros de Eupomphini presentan caracteres de comportamiento únicos en la subfamilia Meloinae, desafiando la forma corporal preservada en la familia entera. Por esta razón este estudio pretende determinar si el contraste entre una elevada diversidad morfológica y el escaso número de especies por género en Eupomphini puede ser explicado por cambios en las tasas netas de diversificación, y con ello poder entender la variación en los patrones de disparidad morfológica.

5.2. Historia taxonómica de Eupomphini

El primer taxón descrito para incluir a algún representante de esta tribu fue propuesto por LeConte (1862) como Eupomphae (nombre basado en el género *Eupompha* y que por lo tanto mantiene la prioridad a nivel supragenérico). A partir de entonces, la actual tribu Eupomphini estuvo considerada como una subtribu dentro de la tribu Lyttini por Van Dyke (1928) y por Selander (1954), aunque este último autor incluyó dentro del grupo a los representantes actuales del género *Spastonyx* Selander, 1954 (actualmente incluidos en la tribu Meloini). Posteriormente Kaszab (1969) reconoció a este grupo como tribu, en su concepción actual. Estudios filogenéticos subsecuentes dieron soporte a esta última clasificación (Bologna y Pinto, 2001; Bologna et al., 2008). Actualmente, la tribu Eupomphini está compuesta por siete géneros: *Cordylospasta*, *Cysteodemus*, *Eupompha*, *Megetra*, *Phodaga*, *Pleuropasta* y *Tegrodera*.

La nomenclatura de la tribu no ha estado exenta de controversia. Desde principios del siglo XX se utilizó incorrectamente el nombre Calospastini, propuesto por Van Dyke (1928), en lugar de Eupomphini al que corresponde la prioridad. Selander (1954) al sinonimizar los géneros *Eupompha* y *Calospasta* LeConte 1862 cometió un error nomenclatural al dar

prioridad a *Calospasta* sobre *Eupompha* el nombre más antiguo disponible, aunque este error se corrigió más tarde (Selander, 1955).

Cordylospasta incluye dos especies, *Cordylospasta opaca* (Horn, 1868) y *Cordylospasta fulleri* Horn, 1875 y se distingue, entre otras características por su grado de dimorfismo sexual en el tamaño de los élitros y alas, con los machos totalmente alados y con élitros cubriendo todo el abdomen y las hembras ápteras con élitros cubriendo sólo la mitad del abdomen (Pinto, 1972). *Cysteodemus* contiene dos especies descritas, *Cysteodemus armatus* LeConte, 1851 y *Cysteodemus wislizeni*. Las especies de este género se caracterizan por tener los élitros inflados y subglobosos (Pinto, 1984a).

Eupompha es el género más diverso e incluye actualmente doce especies reconocidas: *Eupompha decolorata* (Horn, 1894), *Eupompha edmundsi* (Selander, 1953), *Eupompha elegans* (LeConte, 1851), *Eupompha fissiceps* LeConte, 1858, *Eupompha histrionica* (Horn, 1891), *Eupompha imperialis* (Wellman, 1912), *Eupompha schwarzi* (Wellman, 1909), *Eupompha sulciphrons* (Champion, 1892), *Eupompha terminalis* Selander, 1957, *Eupompha viridis* (Horn, 1883), *Eupompha vizcaina* Pinto, 1883 y *Eupompha wenzeli* (Skinner, 1904)(Pinto, 1979). Este género es el único que no presenta deformación elitral y que conserva la forma generalizada de la familia Meloidae. Históricamente las especies de este género han sido agrupadas en dos géneros independientes *Eupompha* y *Calospasta*, hasta que Selander (1954) estableció su sinonimia.

Megetra tiene tres especies descritas: *Megetra cancellata*, *Megetra punctata* Selander, 1965 y *Megetra vittata* (LeConte, 1853). Las especies de este género son totalmente áptero y posee élitros que cubren solo una tercera parte del abdomen, y presenta coloraciones rojas, amarillas o naranjas en la cabeza, élitros y abdomen (Selander, 1965). *Phodaga* agrupa a un par de especies *Phodaga alticeps* y *Phodaga marmorata* (Casei, 1891), ambas aladas y con élitros que cubren todo el abdomen. Históricamente las especies de este género han sido agrupadas en dos géneros independientes *Negalius* Casei y *Phodaga*, hasta que Pinto (1984b) estableció su sinonimia. *Pleuropasta* también tiene dos especies descritas, *Pleuropasta mirabilis* (Horn, 1870) y *Pleuropasta reticulata* Van Dyke, 1947. Estas especies se caracterizan por poseer élitros acostillados y el cuerpo predominantemente amarillo o amarillo-naranja (Pinto, 1984a).

Por último, *Tegrodera* cuenta con tres especies descritas, *Tegrodera aloga* Skinner, 1903, *Tegrodera erosa* LeConte, 1851 y *Tegrodera latecincta* Horn, 1891. Los miembros de *Tegrodera* poseen un patrón de coloración característico del género, cabeza roja, élitros amarillos con una banda negra y el resto del cuerpo negro (Pinto, 1975).

6. MÉTODOS

6.1. Selección de taxones

En este estudio se incluyeron 22 de las 26 especies reconocidas de Eupomphini, lo que representa aproximadamente el 84 % de la riqueza total de especies descritas de la tribu. Seis de los siete géneros de Eupomphini estuvieron representados por todas sus especies, mientras que de *Eupompha* se incluyeron ocho de sus 12 especies. Para evaluar la monofilia de Eupomphini, se incluyeron en el análisis seis especies pertenecientes a cinco de las siete tribus reconocidas de la subfamilia Meloinae (Lyttnini: 1 espécimen; Mylabrini: 1 espécimen; Pyrotini: 1 espécimen; Epicautini; 2 especímenes; Meloini: 1 espécimen). Como grupo externo se usó un representante de la subfamilia Nemognatinae (*Zonitis flava* Fabricius). Los taxones incluidos en este estudio, sus datos de recolecta y sus números de voucher y de acceso a GenBank se encuentran enlistados en el apéndice. El material examinado se encuentra depositado en el Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid, España (MNCN-CSIC) y en la Colección Nacional de Insectos el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (CNIN, IB-UNAM).

6.2. Trabajo de laboratorio

Para cada espécimen se extrajo músculo torácico de la inserción de la coxa posterior. El ADN genómico total fue extraído usando el “DNA Easy extraction Kit” (Qiagen®), siguiendo el protocolo descrito por Ceccareli et al. (2012). Se obtuvieron secuencias de los siguientes cinco marcadores genéticos con distintas tasas de evolución debido a su naturaleza (Wolfe et al., 1987), con el fin de obtener resolución a diferentes niveles taxonómicos: 650 pb del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (Cox1), 784 pb del gen mitocondrial ribosomal 16S, 306 pb del gen nuclear histona 3 (H3), 722 pb del gen nuclear ribosomal 18S y 598 pb del gen nuclear ribosomal 28S. Estos marcadores fueron seleccionados debido a su buen desempeño

en trabajos filogenéticos previos con otros grupos de coleópteros, particularmente de la superfamilia Tenebrionoidea (Baselga et al., 2011; Gunter et al., 2014) y la familia Meloidae (Bologna et al., 2008; Alcobendas et al., 2008).

Los cebadores seleccionados y el protocolo de PCR utilizado se mencionan en la tabla 1. Las amplificaciones de los fragmentos de DNA seleccionados fueron preparados en un volumen total de 15µl, utilizando 3µl de buffer de PCR, 0.1-0.2 µl de MgCl₂, 0.2 µl de cada cebador, 0.1µl de MyTaq polymerase (BioLine©), 3µl de ADN y 8.3µl de ddH₂O. Algunos de los productos de PCR sin purificar fueron enviados para su secuenciación al “Throughput Genomics Center” en Washington, EEUU (<http://www.htseq.org>), y el resto al servicio de secuenciación del IB-UNAM.

Tabla 1. Marcadores seleccionados, secuencias de los cebadores y protocolo utilizado para cada uno de los genes de este estudio

Marcador genético	Cebador	Protocolo
<i>Cox1</i>	LCO1499: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' HCO2198: 5'-TAAACTTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'	Desnaturalización 94°C (30 sec), alineamiento 50°C (45 sec), extensión 72°C (1 min); 35 ciclos
<i>H3</i>	H3F: 5'-ATGGCTCGTACCAAGCAGACVGC- 3' H3R: 5'- ATATCCTTRGGCATRATRGTGAC- 3'	Desnaturalización 94°C (1 min), alineamiento 45.5°C (1 min), extensión 72°C (1.5 min); 35 ciclos
<i>28s</i>	28sV: AAGGTAGCCAAATGCCTCATC- 3' 28sX: 5'- GTGAATTCTGCTTCATCAATGTA -3'	Desnaturalización 94°C (30 sec), alineamiento 55°C (45 sec), extensión 72°C (1 min); 35 ciclos
<i>18s</i>	18Sai: 5'-CCTGAGAAACGGCTACCACATC-3' (Whiting <i>et al.</i> , 1997) 18Sbi: 5'-GAGTCTCGTTCGTTATCGGA-3' (Whiting <i>et al.</i> , 1997)	Desnaturalización 94°C (1 min), alineamiento 50°C (1.5 min); extensión 72°C (1.5 min); 35 ciclos
<i>16s</i>	16S-AR: 5'-CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3' (Simon <i>et al.</i> , 1994) 16S-BR: 5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3' (Simon <i>et</i>	Desnaturalización 94°C (1 min), alineamiento 50°C (1 min); extensión 72°C (1.5 min); 40 ciclos

6.3. Alineamiento y análisis filogenéticos

Las secuencias de los marcadores *Cox1* y *H3* fueron alineadas manualmente. Las secuencias de los fragmentos genéticos pertenecientes a los genes ribosomales 16S, 18S y 28S fueron alineadas utilizando un modelo de estructura secundaria empleando el programa en línea RNA fold del servidor del “Institute for Theoretical Chemistry” de la Universidad de Viena (<http://rna.tbi.univie.ac.at>). En las Figuras 6, 7 y 8 se encuentran los modelos de estructura secundaria obtenidos para cada uno de estos genes.

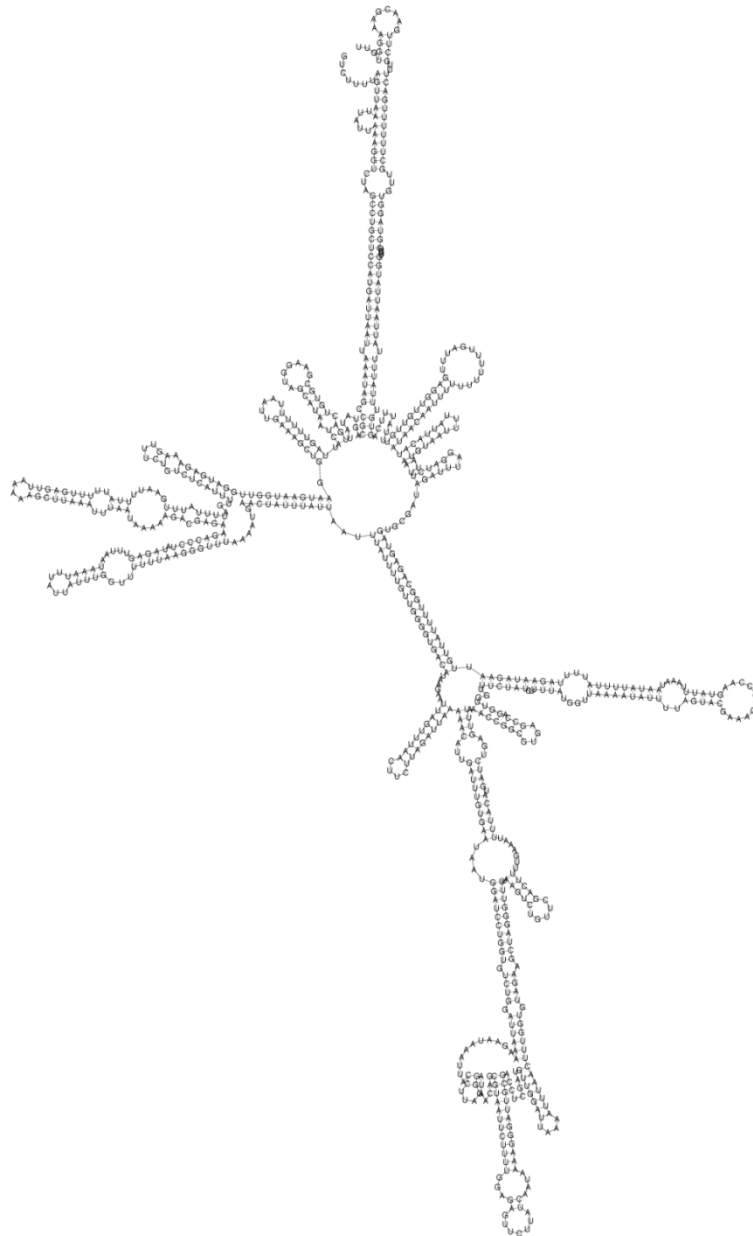


Figura 6. Modelo de estructura secundaria obtenido para el gen ribosomal 16S.

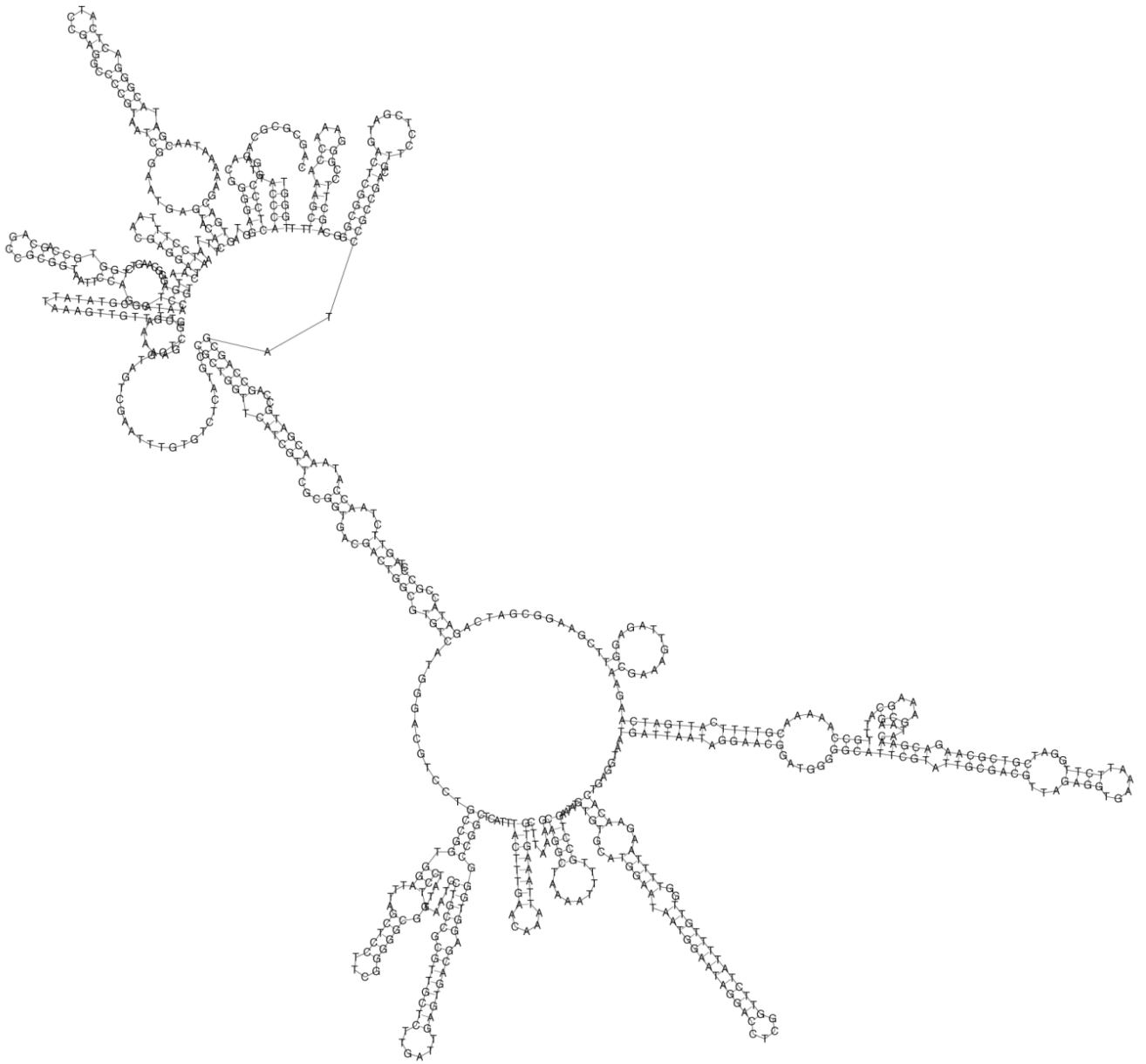


Figura 7. Modelo de estructura secundaria obtenido para el gen ribosomal 18S.

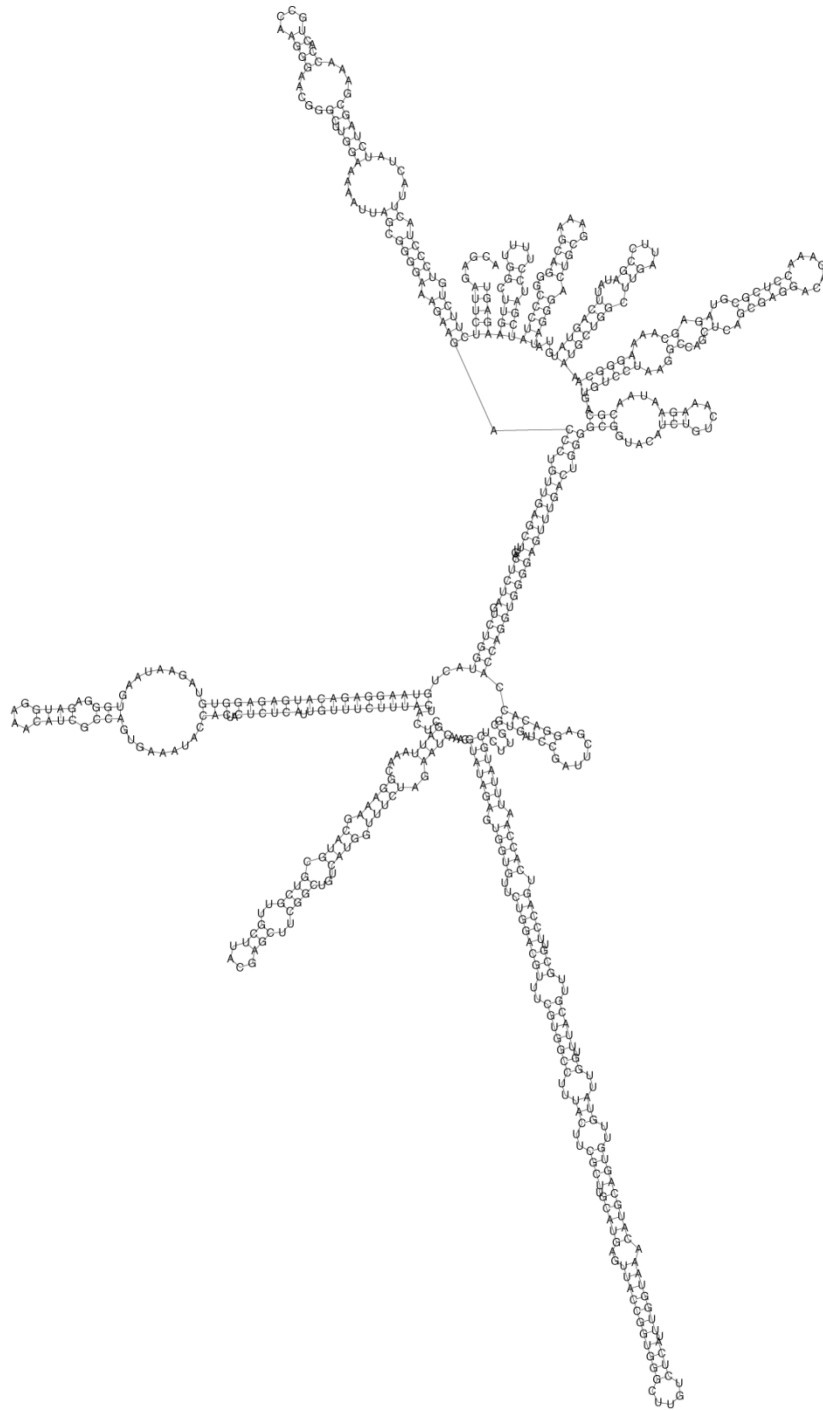


Figura 8. Modelo de estructura secundaria obtenido para el gen ribosomal 28S.

El esquema de particiones empleado para Cox1 y H3 fue determinado utilizando el programa PartitionFinder versión 1.1.1 (Lanfear, 2012). Los modelos de sustitución más adecuados para cada marcador y sus particiones fueron obtenidos con el programa JModeltest versión 2.1.7 (Posada and Crandall, 1998) utilizando el criterio de información

Akaike corregido (AICc). Los modelos elegidos para cada partición se encuentran en la tabla 2.

Se realizaron análisis filogenéticos con el método de Inferencia Bayesiana con los datos concatenados con el programa MrBayes versión 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003; Ronquist et al., 2012). El análisis concatenado incluyó nueve particiones (Cox1pos1, Cox1pos2, Cox1pos3, H3pos1, H3pos2, H3pos3, 28S, 18S, 16S). El análisis se realizó con dos corridas simultáneas de 100 millones de generaciones cada una, muestreando un árbol cada 10.000 generaciones. Se obtuvo un árbol consenso de mayoría con probabilidades posteriores de los clados desechando los primeros 2.500 árboles como burn-in, el cual se determinó cuando el valor de “Split frequencies” se estabilizó. Los filogramas obtenidos fueron editados con el programa FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Tabla 2. Esquema de particiones y modelos de sustitución utilizados para los análisis filogenéticos.

Partición	Modelo de sustitución	Partición	Modelos de sustitución
Cox1pos1	SYM+I+G (Zharkikh, 1994)	H3pos2	F81 (Felsenstein, 1981)
Cox1pos2	SYM+I+G (Zharkikh, 1994)	H3pos3	JC+G (Jukes y Cantor, 1969)
Cox1pos3	GTR+I (Rodríguez et al., 1990)	28S	SYM+I+G (Zharkikh, 1994)
H3pos1	HKY+G (Hasegawa et al., 1985)	18S	GTR+I+G (Rodríguez et al., 1990)
		16S	SYM (Zharkikh, 1994)

Se realizaron análisis de Máxima Verosimilitud con el programa RAxML versión 8.2.8 (Stamatakis, 2014) para comparar las topologías y los valores de soporte de los clados obtenidos con dos métodos probabilísticos de reconstrucción filogenética. Para ello, se utilizó la misma matriz concatenada y las particiones usadas en los análisis con MrBayes. El

número de iteraciones de *bootstrap* para calcular el porcentaje del valor de soporte de las ramas fue de 1.000.

6.4. Tiempos de divergencia

Los tiempos de origen de Eupomphini y de sus clados principales fueron estimados usando un enfoque de reloj molecular relajado con el método bayesiano implementado en el programa BEAST versión 1.8.0 (Drummond and Rambaut, 2007). Para ello se analizó una matriz concatenada con los cinco marcadores obtenidos, sin considerar particiones internas para cada gen. Se llevaron a cabo dos análisis utilizando calibraciones bajo dos esquemas.

Primero se llevó a cabo análisis utilizando información fósil de una especie asociada al género *Lytta* (Wickham 1920) encontrada en el yacimiento Oligocénico de Florissant (EUA), el cual tiene una edad de 33.9-37.2 millones de años (Ma). La edad del fósil fue situada en el nodo *Lytta-Meloe*, los supuestos utilizados son: distribución lognormal en espacio real, con valor inicial: 1.0, Log(Media): 35, Log(Des.ves): 0.3.

El segundo análisis se llevó a cabo utilizando los promedios y desviaciones estándar de las tasas de evolución molecular estimadas por Papadopoulou et al. (2010) para los genes mitocondriales Cox1, 16S y nuclear 28S. Estas tasas de evolución se estimaron empleando representantes de la familia Tenebrionidae, y su precisión fue calibrada tomando en cuenta las edades de un evento geológico que dividió a los taxones involucrados, la separación este-oeste del archipiélago aegeo (Dermitzakis y Papanikolaou, 1981). Los supuestos ('priors') empleados para cada marcador genético son: Cox1 ucl.d.mean (subst/sitio/Ma): distribución lognormal en espacio real, con valor inicial: 0.0168, Log(Media): 0.0168, Log(Des.ves): 0.0018; 16S ucl.d.mean (subst/sitio/Ma): distribución lognormal en espacio real, con valor inicial: 0.0054, Log(Media): 0.0054, Log(Des.ves): 0.0009; 28S ucl.d.mean (subst/sitio/Ma): distribución lognormal en espacio real, con valor inicial: 0.0006, Log(Media): 0.0006, Log(Des.ves): 0.0003]. Los genes nucleicos para los cuales no se contaba con una estimación de la tasa de evolución molecular se configuraron como "uninformative prior" de la siguiente manera: 18S ucl.d.mean (subst/sitio/Ma): distribución gamma en espacio real, con valor inicial: 0.01, shape: 0.01, scale: 100, offset=0; H3 ucl.d.mean (subst/sitio/Ma): distribución gamma en espacio real, con valor inicial: 0.01, shape: 0.01, scale: 100, offset=0.

Para cada análisis se asignó un reloj relajado log-normal desligado para cada gen, tanto mitocondriales como nucleares. La topología del árbol y los tiempos relativos de cada nodo fueron modelados bajo un modelo de especiación “*birth-dead incomplete sampling speciation*” (Stadler, 2009). Este modelo de especiación asume que desde el origen del árbol la tasa de especiación es un valor constante, mayor al de la tasa de extinción y ésta mayor a cero, y al reconstruir el árbol agrega la probabilidad de muestrear cada taxón terminal la cual es igual para todos.

Cada análisis se corrió por 100 millones de generaciones, desechando los árboles muestreados las primeras 10.000 generaciones como *burn-in*. El *burn-in* fue utilizado para valorar la convergencia y combinación de cada cadena Markov-Monte Carlo. Se evaluaron los valores del tamaño de muestra efectiva y su distribución en Tracer 1.8.0 (Drummond and Rambaut, 2007). Los árboles muestreados después del *burn-in* se utilizaron para reconstruir un árbol de máxima credibilidad con un intervalo del confianza en las edades del 95% con el programa TreeAnnotator versión 1.8.2 incluido en el paquete BEAST.

Todos los análisis filogenéticos se llevaron a cabo en el “*CIPRES Science Gateway*” versión 3.3 (Miller et al., 2010).

6.5. Tasas de diversificación

El árbol ultramétrico que se empleó para los análisis subsecuentes fue el que se obtuvo utilizando tasas de evolución molecular debido a la incertidumbre de la identificación taxonómica y la ubicación del fósil utilizado en la filogenia. Asimismo, es poco recomendable utilizar un solo fósil en una datación (Magallón, 2004). En el mismo yacimiento fósil se han encontrado otros géneros de la familia Meloidae (Wickham 1920); no obstante, su identificación también es dudosa, por lo que su inclusión en el estudio sesgaría la calibración. En contraste, las tasas de evolución molecular estimadas por Papadopoulou et al. (2010) son utilizadas ampliamente al datar tiempos de origen en diferentes grupos de insectos y su buen desempeño se ha probado en varios trabajos en los que no existe registro fósil fiable (Allegrucci et al., 2011; Marske et al., 2011; Goodman y O’Grady, 2013).

El estadístico gamma (Pybus y Harvey, 2000) implementado en el paquete LASER v 2.1. (Rabosky, 2006a) y desarrollado en la plataforma R, fue empleado para descartar que la

distribución de los nodos a lo largo de la filogenia ha sido moldeada bajo un proceso de tasas constantes. Este estadístico utiliza la distribución de los nodos de una filogenia modelada bajo un proceso de “*pure-birth*”, y compara el grado en que se alejan los nodos de la filogenia reconstruida. La existencia de posibles cambios en las tasas de diversificación que hubieran moldeado el patrón de la distribución de los nodos en la filogenia reconstruida, se investigó empleando la prueba “*constant-rates test*” implementada en el programa en el mismo paquete.

El efecto de muestreo incompleto se evitó usando la prueba “*Monte Carlo Constant Rates*” (MCCR) (Pybus y Harvey, 2000) con el fin de corregir el valor del estadístico gamma. Para ello se simularon 5.000 árboles filogenéticos con 26 taxones bajo un modelo de especiación Yule y se muestrearon aleatoriamente 22 taxones de cada árbol para obtener filogenias con el mismo número de muestra que la filogenia empírica. El análisis se llevó a cabo utilizando la función *mccrTest* en LASER (Rabosky, 2006b) para calcular el valor del estadístico gamma para cada árbol simulado y compararlo con el valor gamma observado de la filogenia empírica.

La prueba de Máxima Verosimilitud “*birth-death*” (BDL) se llevó a cabo con el programa LASER v 2.1 (Rabosky, 2006b) para detectar si el patrón de la filogenia estaba bajo efecto de cambios en las tasas de diversificación. La prueba fitDeltaAIC_{RC} (Rabosky, 2006b) fue usada para evaluar estadísticamente el ajuste al patrón temporal de diversificación de linajes de Eupomphini en el siguiente conjunto de modelos de tasas constantes y tasas variables: 1) modelo Yule (“*pure birth*”) con la tasa de especiación como único parámetro; 2) un modelo de tasas constantes (“*birth-dead*”), en donde hay dos parámetros, una tasa de especiación (b) y una de extinción (d), mientras que la tasa neta de diversificación ($b - d$) es constante a lo largo del tiempo; y 3) un modelo Yule de tasas variables en donde hay uno (“*Yule-2-rate*”) o dos (“*Yule-3-rate*”) cambios en la tasa de especiación (Nee et al., 1992 ; Nee, Holmes et al., 1994; Nee, May and Harvey, 1994; Rabosky, 2006a, b).

La diferencia del valor resultante entre modelos de tasas constantes y modelos de tasas variables (dAIC_{RC}) se estimó para el cronograma original, y después se comparó este valor con la distribución de valores resultantes de dAIC_{RC} para las 5.000 filogenias simuladas bajo un modelo Yule de tasas constantes utilizando el número original de taxones y el modelo de especiación con mayor valor de máxima verosimilitud estimado por LASER. La función *plotLTT* incluida en el paquete LASER se utilizó para obtener un gráfico de la

filogenia empírica. Esta función grafica el logaritmo del número de linajes que aparecen a lo largo del tiempo. Este mismo procedimiento se realizó para las 5.000 filogenias simuladas, sobreponiendo el gráfico de la filogenia empírica para observar la forma total del gráfico de linajes a través del tiempo.

Los valores de tasas de especiación y extinción más verosímiles también se calcularon teniendo en cuenta los cambios a través del tiempo en la tasa de diversificación de la filogenia empírica con la función *bd.shifts.optim* implementada en el paquete TreePar desarrollado en la plataforma R (Stadler, 2011). Esta función contempla la posible muestra faltante en la filogenia al tiempo t , en donde se permite que las tasas cambien, calcula el valor de máxima verosimilitud según los parámetros dados (número de cambios en la tasa de diversificación) y añade la probabilidad de supervivencia si las especies experimentaron un evento de extinción masiva.

Debido a que *Eupompha* es el género más rico en especies, se investigó si la diversificación en este taxón está asociada con algún cambio en este clado o algún otro en particular. Para ello se utilizó el software BMM “*Bayesian Analysis of Macroevolutionary Mixture*” para estimar si existían cambios en las tasas de diversificación asociados a algún clado específico de la tribu. A diferencia de TreePar, la implementación que ofrece el programa BMM no parte del supuesto de que las tasas de especiación y extinción sean constantes a lo largo del tiempo entre los clados de un árbol filogenético; sino que considera que los cambios en los procesos evolutivos que moldean una filogenia (es decir que afectan a la tasa de diversificación) ocurren a lo largo de las ramas bajo un proceso compuesto de Poisson (Rabosky et al., 2013). Al utilizar un enfoque bayesiano, el método provee distribuciones marginales de las tasas de especiación y extinción para cada rama de la hipótesis filogenética (Rabosky 2014).

Los análisis con BMM se llevaron a cabo con cuatro cadenas markovianas con salto reversible (Huelsenbeck et al., 2004), y se ejecutaron por 10 millones de generaciones, guardando un árbol cada 1.000 generaciones. Se utilizó un valor previo de 1.0 para el proceso compuesto de Poisson. El conjunto de valores *a priori* (“priors”) utilizados en el análisis fueron calculados específicamente para la filogenia empírica detallando la proporción de la muestra faltante a través de la función *setBMMpriors*. El conjunto de archivos resultantes del programa fueron analizados utilizando el paquete BMMtools versión 2.1 (Rabosky et al., 2014).

6.6. Patrones de disparidad y tasas de evolución fenotípica

Se realizó un análisis de disparidad morfológica a lo largo de tiempo utilizando el paquete GEIGER (Harmon et al., 2008) y el protocolo descrito por Harmon et al. (2003) para comparar niveles de disparidad morfológica dentro del grupo de estudio, entre clados y a lo largo del tiempo. La herramienta *dtt* calcula el índice “MDI = *morphological disparity index*” cuantificando la cantidad de cambio morfológico a lo largo de la filogenia en un tiempo relativo. Estos análisis de MDI comparan la disparidad fenotípica simulada bajo un modelo de movimiento browniano (“*Brownian motion*”) (Felsenstein, 1988), en el cual el cambio de carácter a lo largo de cada rama es aleatorio y las especies relacionadas muestran un grado moderado de similitud fenotípica debido a ancestría compartida (Kraft et al., 2007), con la disparidad fenotípica observada a lo largo de la filogenia obtenida tras examinar cada subclado respecto a la disparidad total en todos los intervalos de tiempo de una filogenia.

El cálculo de la distancia entre la filogenia modelada y la filogenia empírica es el índice de disparidad morfológica (Harmon et al., 2003). Si los valores son cercanos a cero la disparidad fenotípica es pronunciada entre subclados pero baja dentro de ellos; mientras que valores cercanos a uno sugieren que los subclados se superponen en el espacio morfológico (Rowe et al., 2011).

Para el análisis de disparidad morfológica se tomaron en cuenta cuatro caracteres morfológicos: 1) volumen de élitros, obtenido midiendo los tres radios correspondientes a una elipse: longitud, anchura y profundidad, calculada utilizando la fórmula correspondiente; 2) amplitud del élitro, obtenido midiendo el ángulo formado por la línea que une el punto de inserción del élitro con el pronoto y el punto medio de la curva dorsal del élitro, con la línea que une este último punto y el ápice posterior del élitro, todos ellos en vista lateral; 3) grado de convexidad del élitro, obtenido midiendo el ángulo formado por la línea que une el ápice posterior del élitro con el punto de inserción del élitro con el pronoto y la línea que une este último punto con el punto medio de la curva dorsal del élitro; y 4) volumen del abdomen, obtenido midiendo los tres radios correspondientes a una elipse, longitud, anchura y profundidad, calculada utilizando la fórmula correspondiente. Las medidas se tomaron por medio de fotografías en posición dorsal y lateral de abdomen y élitros con un microscopio Leica Z16 APO. Las medidas fueron tomadas a partir de las

fotografías utilizando la paquetería TPS v1.14 (Rohlf, 2002). Para cada especie se midió un macho y se utilizó el logaritmo natural de la medida para evitar dependencia con la unidad de medida empleada y el sesgo en el tamaño del espécimen.

El análisis de disparidad a lo largo del tiempo se llevó a cabo utilizando la función *dtl* para cada uno de los caracteres medidos con 1000 simulaciones. Para calcular el curso de la diversificación morfológica, se utilizó una matriz que contenía los datos de los cuatro caracteres. El método utiliza el promedio de las distancias euclidianas entre especies y un método de relacionado con la varianza para estimar la dispersión de puntos en un espacio multivariado que es insensible al tamaño de muestra (Harmon et al., 2003).

Se llevó a cabo un análisis en BMM para calcular la tasa de evolución fenotípica utilizando los datos correspondientes al volumen del élitro. La tasa de evolución del carácter es la diferencia entre la tasa evolutiva de un carácter bajo un proceso aleatorio de movimiento browniano y el valor esperado de un estado fenotípico dado en un lapso de tiempo (Rabosky et al., 2013). Los análisis se realizaron bajo las mismas condiciones que el de tasas de diversificación con BMM y el cálculo de conjunto de valores *a priori* utilizados fueron calculados de la misma forma.

6.7. Coeficiente de Correlación de Kendall

Se calculó el coeficiente de correlación de Kendall (τ) para conocer si existe algún tipo de asociación entre la tasa de diversificación y la tasa de evolución fenotípica. Se utilizó este coeficiente ya que las variables incluidas son independientes, continuas y las tasas fueron calculadas a partir del mismo árbol. El valor de τ va de -1 a 1, indicando al cero como no asociación. Para ello se extrajeron los datos con los que la función *plotRateThroughTime* incluida en el paquete BMMtools grafica la tasa media con intervalos de confianza a lo largo del tiempo, tanto para la tasa de diversificación como para la tasa de evolución fenotípica. Con ésta matriz de datos se calculó el coeficiente de correlación de Kendall con la función *cor* incluida en la plataforma R, y *cor.test* para calcular su valor de significancia, utilizando un 95% como intervalo de confianza ($\alpha= 0.05$). La función propone como hipótesis alternativa que τ es diferente de cero.

7. RESULTADOS

7.1. Relaciones filogenéticas en Eupomphini

La matriz concatenada con los cinco marcadores genéticos incluyó 55 taxones terminales y 3059 posiciones nucleotídicas. El filograma bayesiano reconstruido muestra con soporte significativo la monofilia de Eupomphini (PP=1), con los dos miembros de Epicautini como su grupo hermano (PP=0.96).

El filograma obtenido del análisis bayesiano con los datos concatenados (Figura 9) recuperó a todos los géneros de Eupomphini como monofiléticos excepto *Eupompha*, cuyos miembros aparecen divididos en dos clados no hermanos en la base de la tribu. Un clado (PP= 1) grupo hermano del resto de Eupomphini, queda integrado por 4 especies; incluye a *E. edmundsi* como especie hermana de *E. viridis* (PP= 1), y a *E. elegans* como especie hermana de *E. imperialis* (PP= 1).

El segundo clado (PP= 0.88) muestra a *E. fissiceps* como grupo hermano de *E. histrionica* + *E. schwarzi* + *E. sulciphrons* (PP=0.88); este clado es el grupo hermano de un clado que incluye a los seis géneros restantes (PP= 0.89) que presentan deformación elitral. En este clado, *Phodaga* y *Pleuropasta* aparecen como especies hermanas (PP= 1) que son, a su vez, grupo hermano de un clado con dos subclados, uno conteniendo a *Megetra* y *Cordylospasta* (PP= 0.66) y otro incluyendo *Cysteodemus* y *Tegrodera* (PP= 1).

La topología y valores de soporte resultantes en el análisis de Máxima Verosimilitud (Figura 10) fueron muy similares a los obtenidos en el filograma derivado del análisis bayesiano. La única diferencia notable se observa en el clado con taxones con deformación elitral, en donde *Megetra* aparece como grupo hermano de *Pleuropasta* (BTP= 65), y *Cordylospasta* aparece como grupo hermano de un clado que incluye a *Phodaga*, *Tegrodera* y *Cysteodemus*, aunque con poco soporte (BTP= 19).

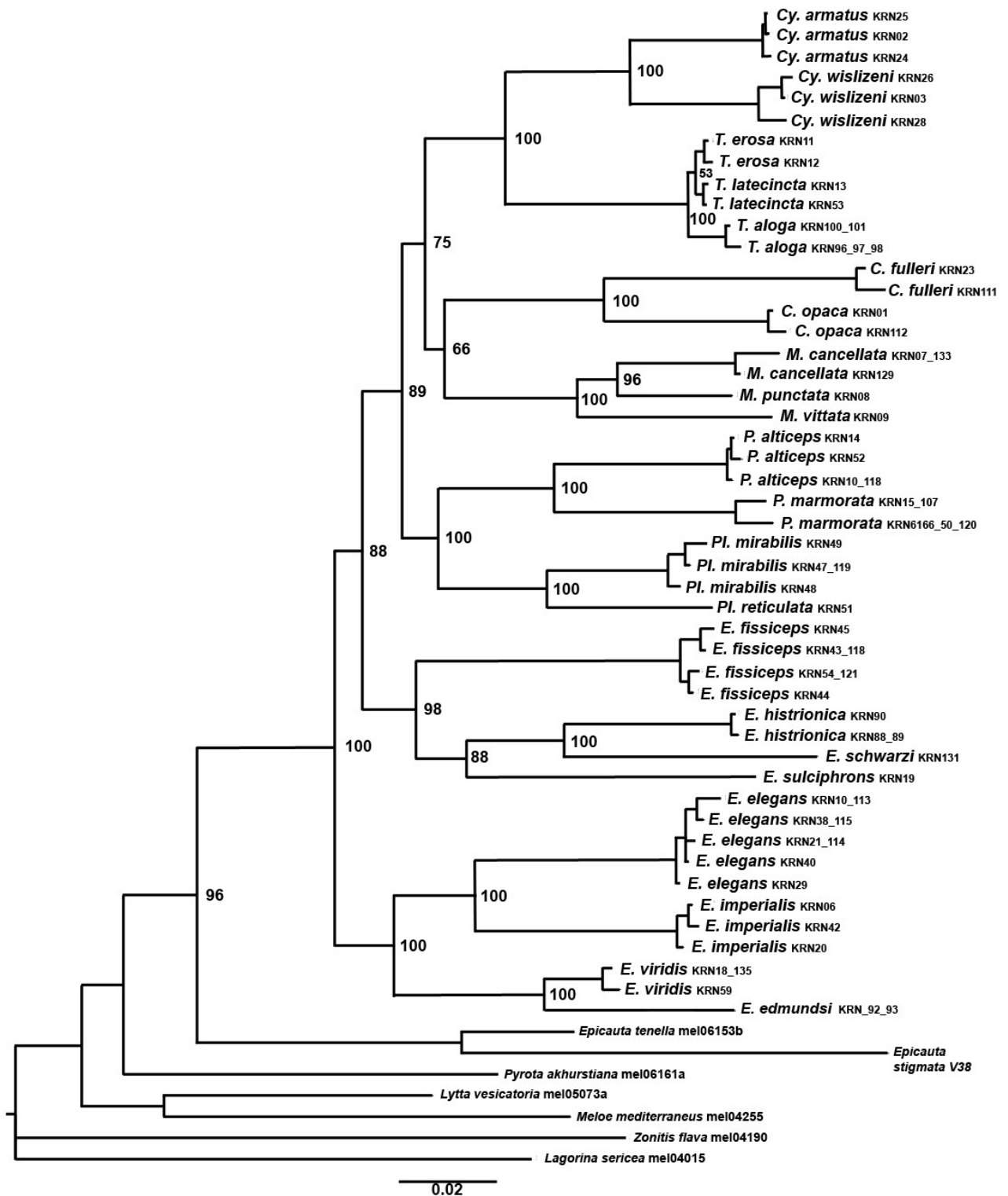


Figura 9. Filograma derivado del análisis bayesiano empleando una matriz de datos con cinco genes concatenados. Los números presentes en las ramas representan valores de probabilidad posterior de los clados.

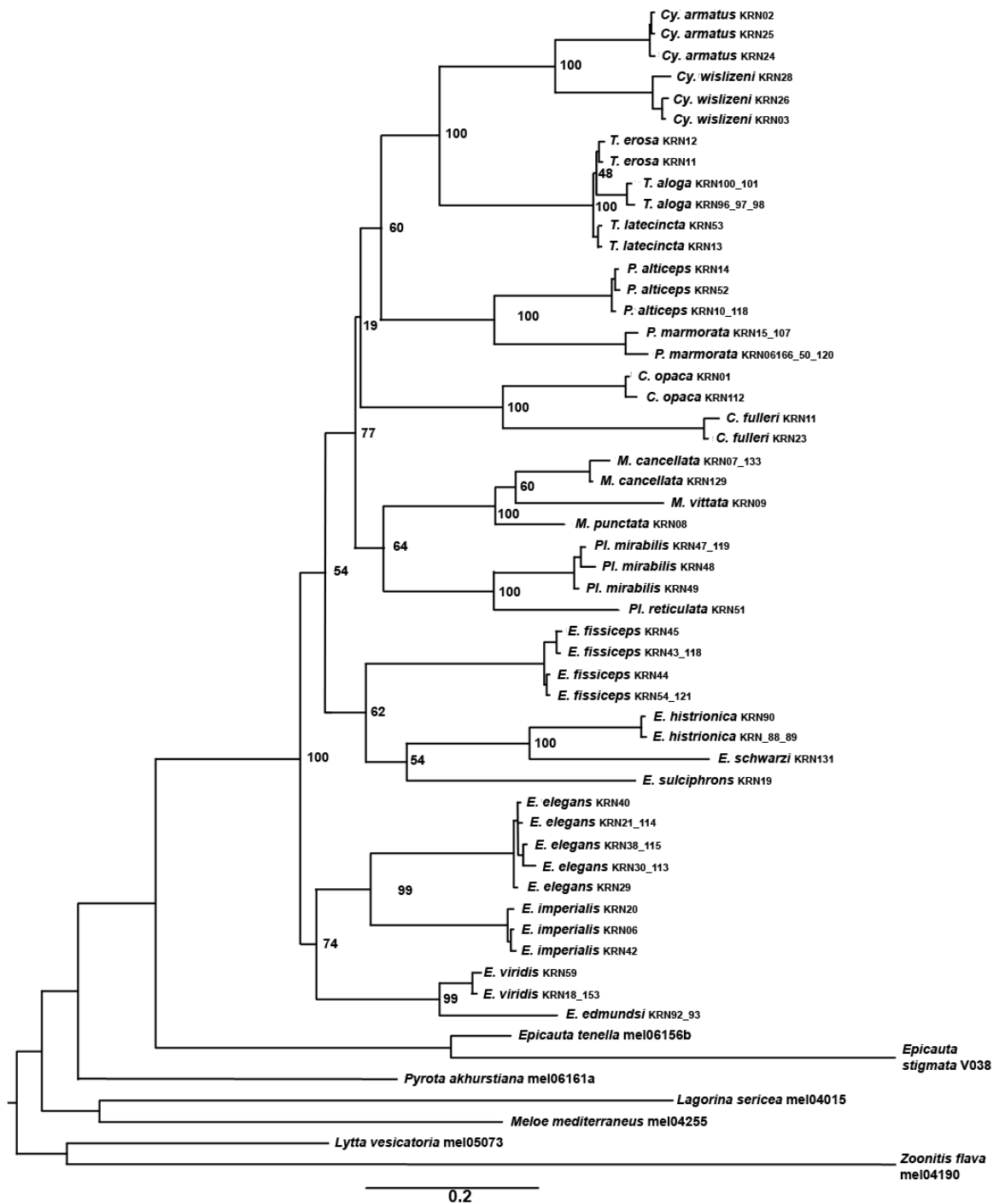


Figura 10. Filograma derivado del análisis de Máxima Verosimilitud empleando la matriz de datos con cinco genes concatenados. Los números presentes en los nodos representan los valores de soporte bootstrap.

7.2. Estimación de tiempos de divergencia

La topología derivada del análisis bayesiano obtenida usando el programa BEAST coincide en la mayoría de las relaciones con el análisis bayesiano usando el programa MrBayes,

incluyendo las relaciones para el género *Eupompha*, en donde sus especies aparecen divididas en dos clados bien soportados (PP = 0.99, 0.99). La principales diferencias entre los dos análisis bayesianos mencionados arriba se encuentra dentro el clado que incluye a los taxones con deformación elitral. Ambos análisis recuperan a *Cysteodemus* y *Tegrodera* como grupos hermanos (PP = 0.99). Sin embargo, en el análisis con BEAST *Cysteodemus* + *Tegrodera* aparecen como grupo hermano de *Phodaga* (PP = 0.98), mientras que *Pleuropasta* + *Megetra* (PP = 0.98) se recuperan como grupo hermano de *Cordylospasta* (PP = 0.92).

Los árboles ultramétricos obtenidos en los análisis que emplearon tanto información fósil como tasas de diversificación se encuentran en las Figuras 11 y 12, respectivamente. En la Tabla 3 se presentan los tiempos de divergencia de clados seleccionados obtenidos con las dos aproximaciones mencionadas arriba. El origen de Eupomphini calculado con tasas de evolución molecular fue estimado que ocurrió durante el Mioceno temprano, 15.24-20.52 Ma, similar a la estimada con información fósil 17.5-36.68. El clado que incluye a los taxones con deformación elitral tuvo un origen estimado durante el Mioceno medio, 12.82-17.20 Ma. usando tasas de evolución molecular y 13.01-38.41 Ma. usando información fósil.

Tabla 3. Tabla comparativa de los tiempos de divergencia estimados para clados seleccionados obtenidos en los análisis con reloj molecular relajado empleando dos esquemas diferentes de calibración.

Información fósil			
Clado (ancestro común más reciente)	Media (Ma)	95% HPD inferior (Ma)	95% HPD superior (Ma)
Eupomphini	30.55	17.15	36.68
<i>E. imperialis</i> + <i>E. elegans</i> + <i>E. viridis</i>	23.91	13.01	38.41
<i>E. edmundsi</i> + <i>E. histrionica</i> + <i>E. fissiceps</i> + <i>E. sulciphrons</i>	23.13	12.34	36.70
Géneros con deformación elitral	26.35	14.52	41.42
Tasas de evolución molecular			
Eupomphini	17.88	15.24	20.53
<i>E. imperialis</i> + <i>E. elegans</i> + <i>E. viridis</i>	13.62	10.51	16.73
<i>E. edmundsi</i> + <i>E. histrionica</i> + <i>E. fissiceps</i> + <i>E. sulciphrons</i>	13.68	10.93	16.44
Géneros con deformación elitral	21.41	12.81	17.20

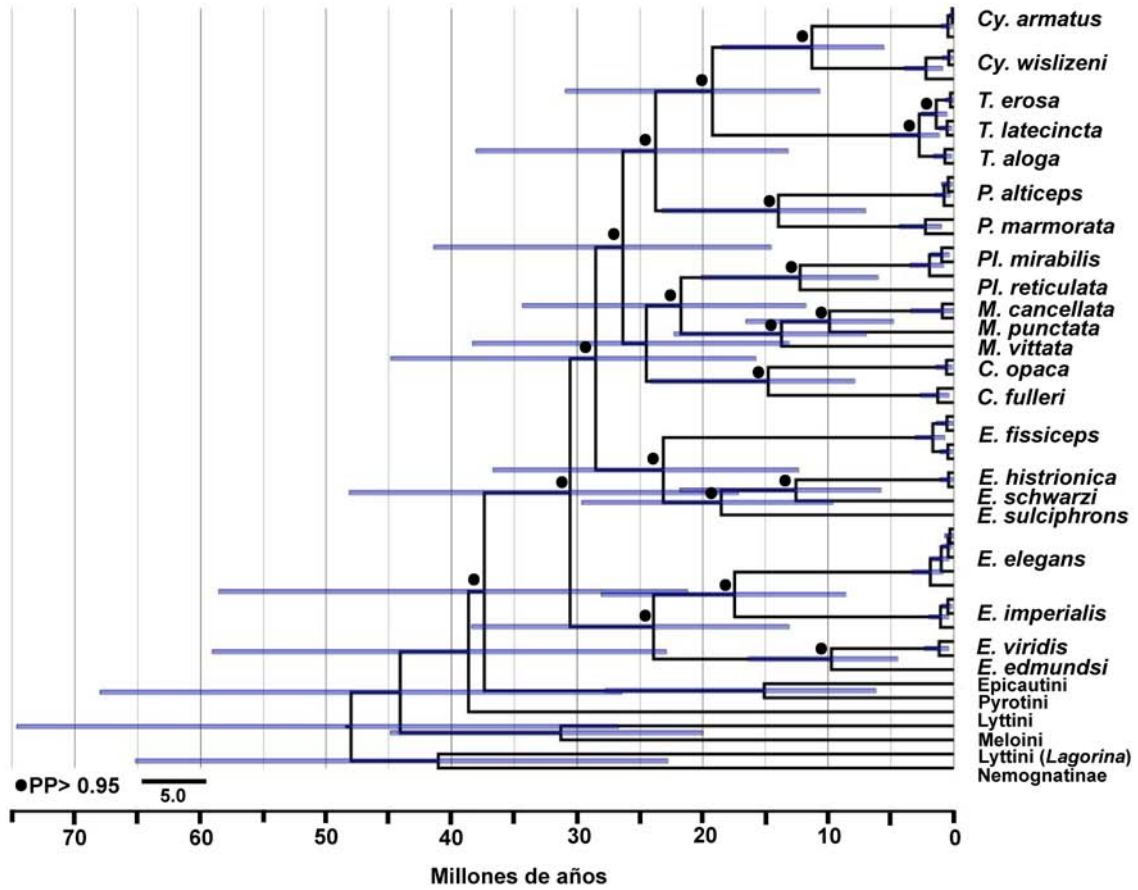


Figura 11. Árbol ultramétrico derivado del análisis con BEAST para la tribu Eupomphini empleando información fósil para calibración. Los nodos con un círculo negro representan valores de probabilidad posterior de los clados > 0.95.

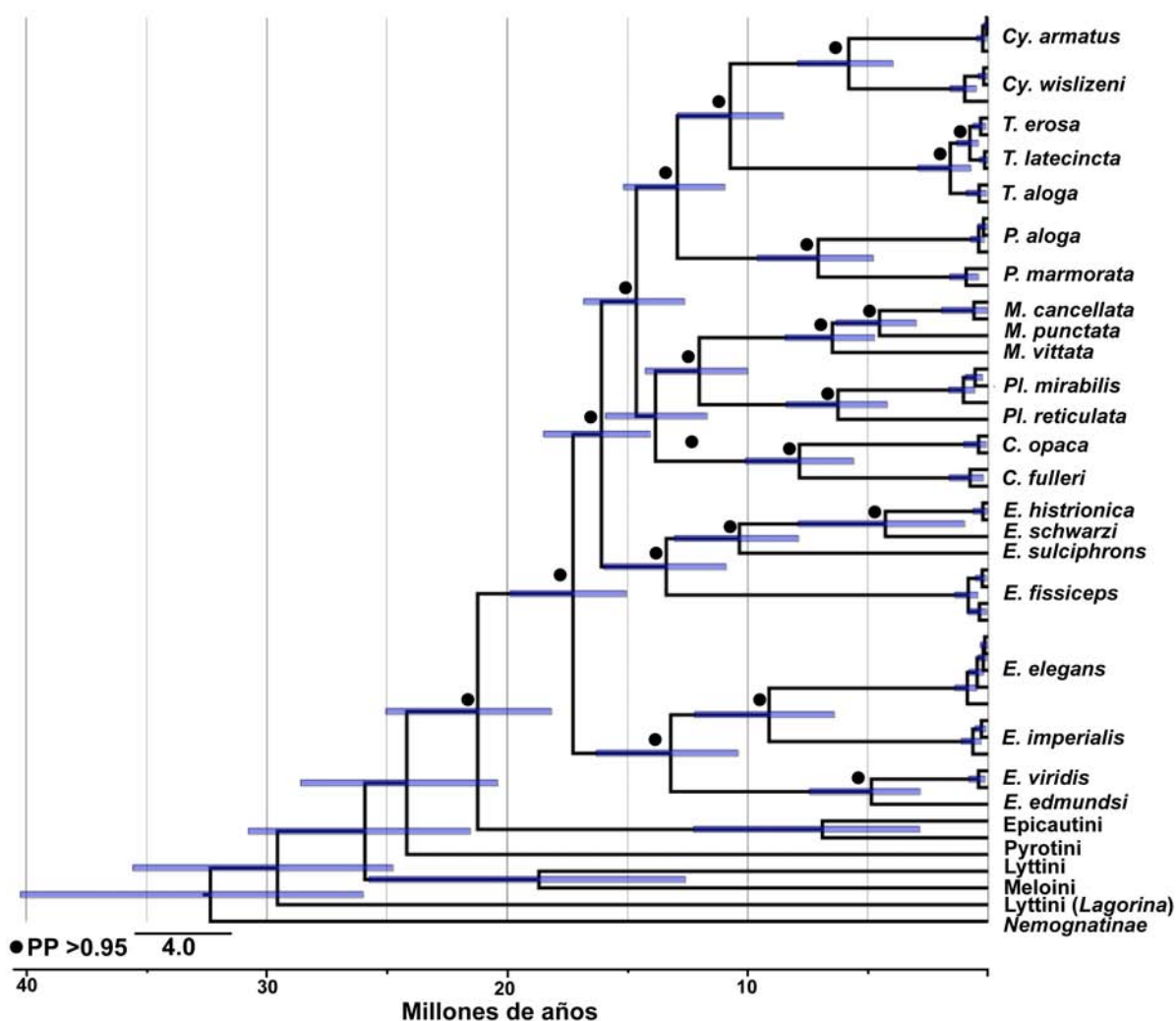


Figura 12. Árbol ultramétrico derivado del análisis con BEAST para la tribu Eupomphini empleando tasas de evolución molecular. Los nodos con un círculo negro representan valores de probabilidad posterior de los clados > 0.95.

7.3. Tasas de diversificación

La prueba del estadístico gamma corrigiendo el muestreo incompleto de taxones resultó positivo (gamstat= 1.74, $P > 0.96$), por lo que se rechaza un modelo de tasas constantes de diversificación para la filogenia. La comparación gráfica del valor obtenido para Eupomphini contra las 5.000 simulaciones de árboles con el mismo número de linajes muestreados indica que el valor de gamma cae fuera de un 99% del intervalo de confianza (valor crítico del 5% = -0.50 $p > 0.99$). Empleando el supuesto del estadístico gamma, se rechaza que las tasas de diversificación y extinción pudieran haber sido constantes, y los valores sugieren incrementos en las tasas a lo largo del tiempo.

La prueba fitdeltaAIC_{RC} seleccionó como modelo de tasas constantes a “birth-death” (AIC 1.33), y como modelo de tasas variables al proceso “Yule3rates” (AIC -20.62). El valor delta obtenido entre los dos mejores modelos fue de 21.95475. Los resultados de todos los modelos evaluados se muestran en la Tabla 4.

Modelo macroevolutivo	“Pure birth”	“Birth-death”	“DDL”	“DDX”	“Yule-2-rate”	“Yule-3-rate”
Valor de verosimilitud	-3.075618	1.333427	-3.075772	-2.973051	7.117285	15.3108
Valor AIC	8.151235	1.333146	10.15154	9.946101	-8.234569	-20.6216
a= fracción de extinción (d/b)	8.151235	0.04288975	10.15154	9.946101	-----	-----
r= tasa de diversificación inicial (b-d)	0.1484367	0.9631012	0.1484395	0.1005539	0.1476618	0.144155
r ₂	-----	-----	-----	-----	0.1643992	0.01087561
r ₃	-----	-----	-----	-----		0.4355041
st= momento en el tiempo de un cambio en la tasa de diversificación	-----	-----	-----	-----	0.3003112	1.515586

Tabla 4. Resultado de los modelos evaluados con la función fitdeltaAIC_{RC} . b = especiación; d = extinción.

La función plotLTT del cronograma empírico de Eupomphini junto con las simulaciones (Figura 13) muestra un prolongado y constante proceso de diversificación desde el origen de la tribu hasta hace aproximadamente 4 Ma, cuando se observa un periodo de estasis en dicho proceso, el cual termina hace aproximadamente 1 Ma. El comportamiento de la tasa de diversificación y recambio de especies a lo largo de la historia del grupo (Figura 13) muestra un cambio abrupto que coincide temporalmente con el momento en el que termina el periodo de estasis que se observa en el gráfico del número de linajes a lo largo del tiempo.

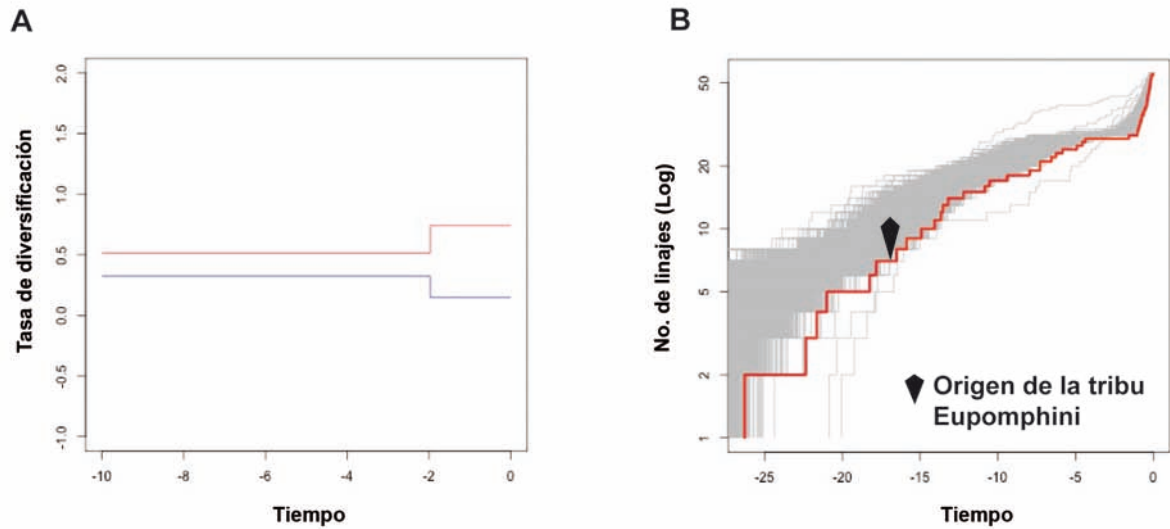


Figura 13. A) Tasa de diversificación (azul); Recambio de especies (rojo) calculados para la filogenia empírica. B) gráfico del número linajes a través del tiempo basados en la filogenia empírica de Eupomphini y 5.000 filogenias simuladas.

La función *bd.shifts.optim* se usó para estimar las tasas de especiación y extinción, cambios en éstas y eventos de extinción masiva en la filogenia de Eupomphini. La prueba arrojó un mayor valor de Máxima Verosimilitud cuando se contemplaba un solo cambio en la tasa de diversificación (96.75). El valor estimado para el recambio de especies (extinción/especiación) antes del cambio en las tasas fue de 0.51 , y de 0.74 especies por millón de años después del cambio. La tasa de diversificación estimada (especiación-extinción) antes del cambio fue de 0.32, y de 0.15 especies por millón de años después del cambio. El momento en el tiempo calculado para dicho cambio fue aproximadamente 1.97 Ma.

Cuando se estima con la misma función la probabilidad de supervivencia de las especies a un evento de extinción masiva el resultado es de $P=0.035$. El momento estimado para el supuesto evento de extinción masiva coincide con el momento calculado de cambio en la tasa de diversificación, hace aproximadamente 1.97 Ma.

Los resultados del programa BAMM fueron el cálculo de un gradiente en el cambio de la tasa de diversificación en la filogenia, que va desde 0.38 especies por millón de años como el valor más alto, hasta el -0.034 especies por millón de año como el más bajo. Este gradiente y la representación de su comportamiento se muestran en la Figura 14.

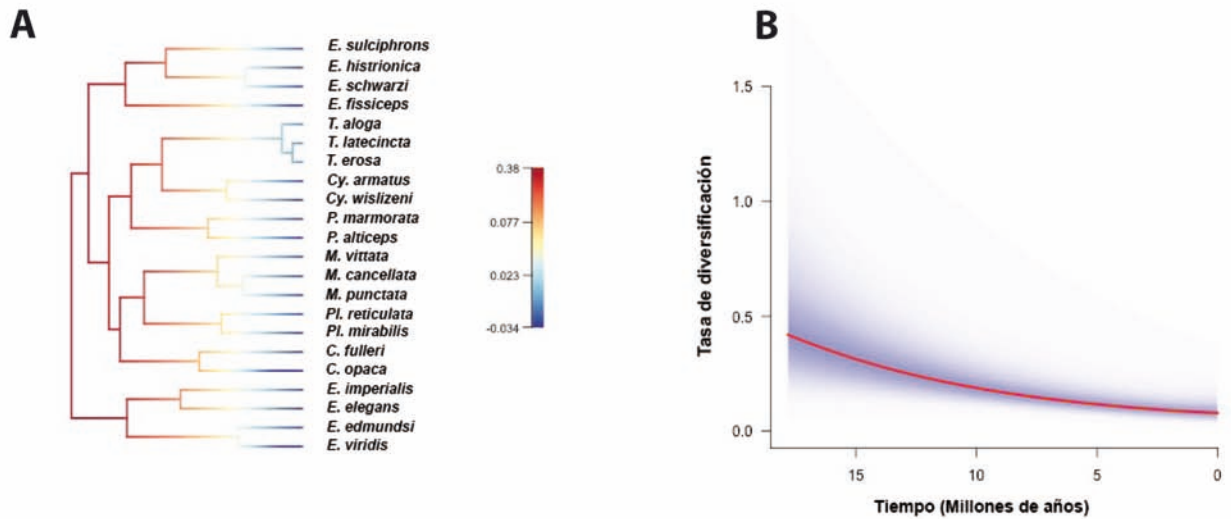


Figura 14. A) Tasa de diversificación calculada para cada una de las ramas desde el origen de Eupomphini al presente utilizando BAMM. Los colores rojos indican la máxima tasa alcanzada. B) Síntesis del comportamiento de la tasa de diversificación a lo largo del tiempo para el árbol filogenético la línea roja representa la media y el espectro azul los intervalos de confianza.

El resultado de un posible cambio en la filogenia asociado a un clado en particular resultó negativo. La probabilidad más alta calculada corresponde a 0 cambios con un valor de $P=0.67$.

7.4. Patrones de disparidad y tasas de evolución fenotípica

El curso del cambio morfológico que sugieren los análisis de disparidad morfológica para el conjunto de datos morfológicos a lo largo del tiempo indica por sus valores cercanos a uno en el inicio de la filogenia que la disparidad morfológica está repartida entre los subclados, es decir, entre un subclado y otro la disparidad morfológica no es abrupta. Sin embargo, hay un descenso abrupto con valores cercanos a cero que sugiere que la disparidad morfológica es pronunciada entre clados y poca dentro de ellos. Este patrón se observa tanto en los análisis que contienen el conjunto de datos de los cuatro caracteres como en los individuales para cada carácter (Figura 15).

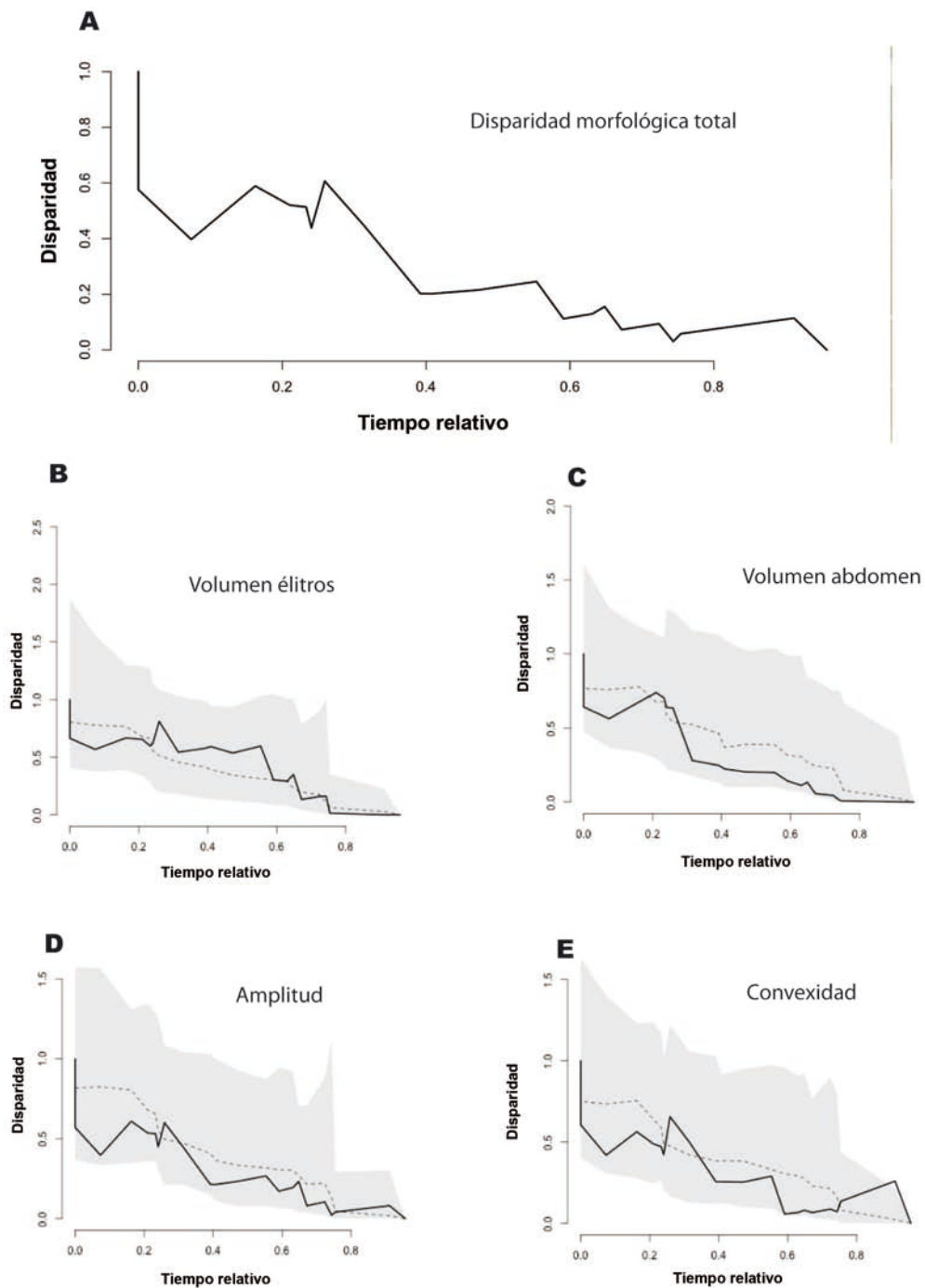


Figura 15. A) Patrón de disparidad morfológica a lo largo del tiempo utilizando los cuatro caracteres morfológicos. B, C, D, E) índice de disparidad relativa (línea continua) comparado con la media de disparidad esperada (línea punteada) basadas en el espectro de comportamiento de las 1000 simulaciones filogenéticas (zona gris). En el eje X el tiempo cero indica el origen de la tribu y avanza en dirección al presente.

Los valores del índice de disparidad morfológica esperados para cada carácter calculado a través de las simulaciones (Tabla 5) sugieren en principio en el caso del

volumen de los élitros que el valor esperado es ligeramente mayor que el de un proceso aleatorio de movimiento browniano. En el caso de los otros tres caracteres, los valores negativos sugieren que el índice de disparidad morfológica es menor que el esperado, es decir que el cambio morfológico es menor que el esperado bajo el proceso de movimiento browniano. Sin embargo los valores del estadístico p no son significativos, por lo que no podemos aceptar estadísticamente que los caracteres evolucionen de forma browniana.

Tabla 5. Índices de disparidad morfológica esperados

Carácter morfológico	Índice de disparidad morfológica	Valor de p
<i>Volumen de élitros</i>	0.02783914	0.5
<i>Volumen de abdomen</i>	-0.1035698	0.2272727
<i>Amplitud de élitros</i>	-0.1001524	0.2272727
<i>Grado de convexidad de élitros</i>	-0.07239543	0.2272727

El gradiente de la tasa de evolución fenotípica para el volumen de élitros calculada por BMM tiene un intervalo que va de 0.2 a 0.32. El valor máximo de la tasa se encuentra en el primer tercio basal del árbol, sugiriendo que el mayor cambio fenotípico se dio al principio de la historia evolutiva del linaje; subsecuentemente un decaimiento gradual que afecta a todo el árbol excepto al género *Tegrodera* el cual muestra valores ligeramente mayores que el resto de los géneros (Figura16).

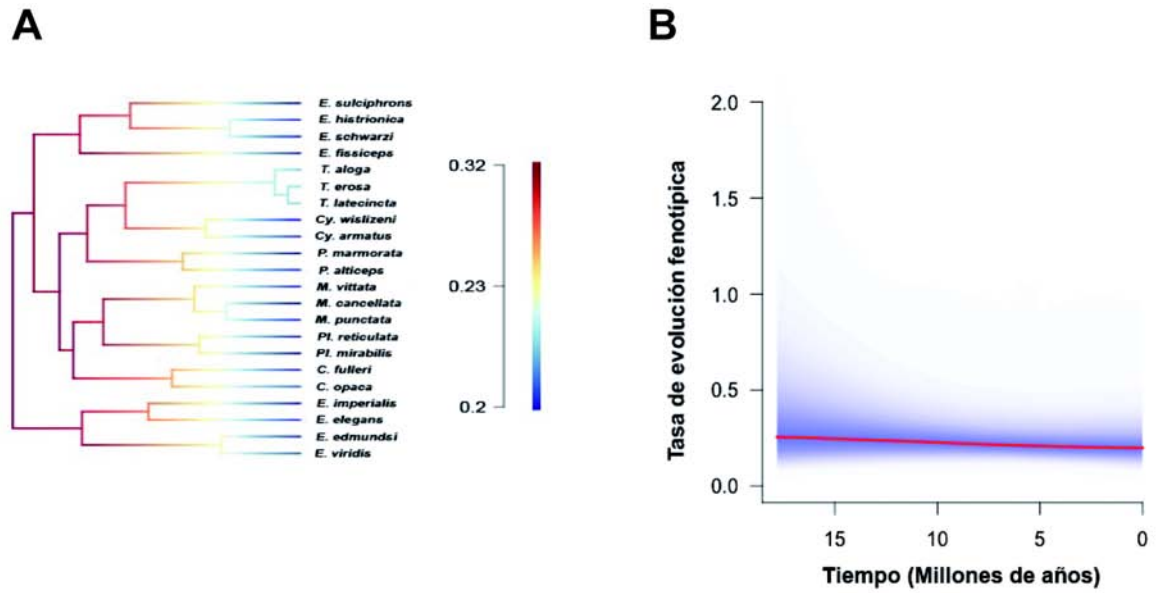


Figura 16. A) Tasa de evolución fenotípica calculada para cada una de las ramas desde el origen de Eupomphini al presente utilizando BAMM. Los colores rojos indican la máxima tasa alcanzada. B) Síntesis del comportamiento de la tasa de evolución fenotípica a lo largo del tiempo para el árbol filogenético la línea roja representa la media y el espectro azul los intervalos de confianza.

7.5. Coeficiente de correlación de Kendall

El análisis de arrojo un valor para el coeficiente de Kendall de $\tau = 0.99$, lo que propone que existe una asociación entre las tasa de diversificación y la tasa de evolución fenotípica y que ésta asociación es positiva (Figura 17). El valor p obtenido para la prueba fue de $p = 2.2e-16$ por lo que se rechaza la hipótesis nula.

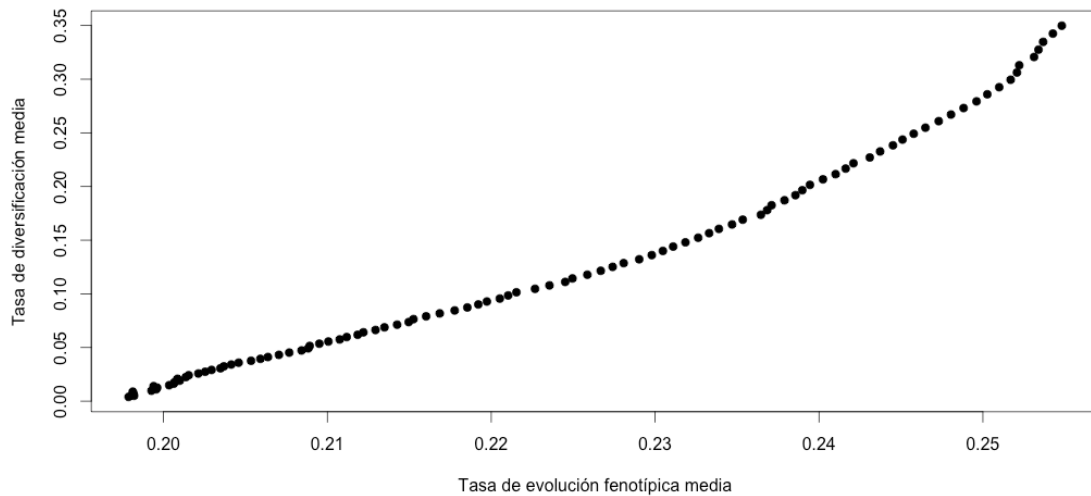


Figura 17. Correlación positiva entre la tasa de diversificación y la tasa de evolución fenotípica.

8. DISCUSIÓN

8.1. Monofilia y relaciones filogenéticas en Eupomphini

El presente trabajo representa la primera hipótesis filogenética para Eupomphini basada en un amplio muestreo, ya que se incluye casi al 90% de sus especies reconocidas. Además, la inclusión de cinco marcadores moleculares, tanto mitocondriales (Cox1, 16S) como nucleares (18S, 28S, H3) permitió obtener topologías considerablemente robustas tanto por el método de Máxima Verosimilitud como por el de Inferencia Bayesiana, ya que la mayoría de los clados recuperados por ambos métodos tuvieron valores de soporte estadísticamente significativos.

Los dos análisis filogenéticos realizados recuperaron Epicautini como grupo hermano de Eupomphini con altos valores de soporte. Las relaciones entre las tribus de la subfamilia Meloinae ya han sido previamente investigadas en un estudio filogenético realizado por Bologna et al. (2008) con base en información morfológica, biológica y molecular (16s e ITS2). En dicho estudio, se obtuvo a Mylabrini como grupo hermano de Eupomphini. Esta última relación no puede ser descartada, ya que en el presente trabajo no fueron incluidos miembros de Mylabrini debido a la falta de muestreo. El resto de las relaciones recuperadas entre las tribus tampoco coinciden con el estudio arriba mencionado. Es necesario realizar un estudio más exhaustivo para resolver las relaciones filogenéticas entre las tribus de Meloinae.

La monofilia de Eupomphini presentó valores de soporte altos tanto en el análisis de Máxima versomilitud como en el de Inferencia Bayesiana. Diversos autores han recuperado anteriormente la monofilia de esta tribu en estudios que han empleado tanto caracteres de morfología de adultos y larvas (Pinto, 1984a; Bologna y Pinto, 2001), como secuencias de ADN (Bologna et al., 2008). No obstante, estos estudios no llevaron a cabo análisis para investigar el soporte de los clados obtenidos. El presente trabajo, por lo tanto, permite corroborar la monofilia de Eupomphini de manera conclusiva. A pesar de los cambios morfológicos tan pronunciados dentro de los géneros de la tribu, los caracteres morfológicos propuestos en la última revisión de la tribu (Pinto, 1984a) son constantes a lo largo de las especies incluidas en la tribu y ahora son corroborados como sinapomorfías con el uso de herramientas moleculares. Por ejemplo, la condición de las uñas tarsales, donde todas las especies de la tribu en estado adulto poseen la hoja ventral de la uña más corta que la hoja

dorsal y fuertemente adnata a la hoja dorsal, a manera de “diente” ventral; y primer estado larvario con la sutura epicraneal incompleta, es decir no llega a tocar la base de la antena.

Todos los géneros de Eupomphini excepto *Eupompha* son monofiléticos con altos valores de soporte. Los estudios taxonómicos realizados previamente para cada género apoyaron su monofilia basándose en datos morfológicos del primer estadio larvario, estado adulto y caracteres de comportamiento. Por lo tanto, estos caracteres, los cuales se mencionan a continuación, probablemente representan sinapomorfías morfológicas: 1) grado de dimorfismo sexual en el tamaño de élitros y alas en *Cordylospasta* (Pinto, 1972); 2) élitros inflados y subglobosos en *Cysteodemus* (Pinto, 1984a); 3) condición áptera y élitros que cubren solo una tercera parte del abdomen en *Megetra* (Selander, 1965); 4) élitros acostillados y cuerpo predominantemente amarillo o amarillo-naranja en *Pleuropasta* (Pinto, 1984a); 5) antenas acortadas y comprimidas lateralmente y élitros cubriendo todo el abdomen en *Phodaga* (Pinto, 1984b); y 6) patrón de color con cabeza roja, élitros amarillos con una banda negra y el resto del cuerpo negro en *Tegrodera* (Pinto, 1975).

Eupompha no se recuperó monofilético en ninguno de los dos análisis. Las ocho especies de *Eupompha* incluidas en este estudio se recuperaron en ambos análisis formando dos clados distintos, con uno de ellos siendo grupo hermano de los demás géneros y el otro como el grupo hermano de todos ellos. Con base en caracteres morfológicos, LeConte (1862) propuso dividir a los actuales miembros de *Eupompha* en dos géneros: *Calospasta* y *Eupompha*; posteriormente éstos fueron sinonimizados por Selander (1954). Subsecuentemente, en su clasificación de *Eupompha*, Pinto (1979) consideró dos secciones informales para el género, los cuales corresponden con la división genérica de LeConte (1862). Ambas secciones fueron definidas por caracteres morfológicos del estado adulto y primer estadio larvario.

La sección 1 (*Calospasta*) que contiene a *E. decolorata*, *E. elegans*, *E. imperialis*, *E. viridis*, *E. edmundsi*, *E. wenzeli* y *E. vizcaína* se caracteriza por la asimetría del tercer segmento de los palpos maxilares en el primer estadio larvario. Esta sección corresponde con el clado más basal del presente trabajo aunque *E. decolorata*, *E. wenzeli* y *E. vizcaina* no fueron incluidas. Las relaciones aquí obtenidas fueron similares a las de Pinto (1979): *E. viridis* y *E. edmundsi* así como *E. elegans* y *E. imperialis* como especies hermanas.

La sección 2 de Pinto (1979) (*Eupompha*) agrupa a *E. histrionica*, *E. schwarzi*, *E. terminalis*, *E. sulciphrons* y *E. fissanceps* por poseer la espina ventral del edeago acortada y robusta. Esta sección corresponde en este trabajo con el clado que aparece como grupo hermano del resto de los géneros. En este estudio únicamente faltó por incluir de ésta sección a *E. terminalis*. En el trabajo de Pinto (1979) no se resolvían las relaciones dentro de esta sección, existiendo una politomía entre *E. fissanceps*, *E. histrionica* y *E. schwarzi*. En nuestros resultados, *E. fissanceps* y *E. histrionica* fueron recuperadas como especies hermanas, y *E. schwarzi* como especie hermana de las dos anteriores.

Debido a que las relaciones aquí obtenidas para las especies de *Eupompha* son congruentes con las divisiones previas basadas en morfología, se propone formalmente la separación de éste taxón en dos géneros. Ya que los géneros *Eupompha* y *Calospasta* fueron sinonimizados anteriormente (Selander, 1954), ambos nombres están disponibles y las especies tipo de cada uno de ellos con las que originalmente fueron descritos se localizan en el clado respectivo, se propone que la sección 1 adopte el nombre de *Calospasta* con su respectiva especie tipo: *C. elegans*, y la sección 2 conserve el nombre *Eupompha*, así como su especie tipo *E. fissanceps*.

Las relaciones entre géneros de Eupomphini obtenidas en este estudio y las previamente propuestas por Pinto (1984) basadas en datos morfológicos no resultaron similares. La relación *Pleuropasta* + *Phodaga* se recupera en la filogenia de Pinto y con el método de Inferencia Bayesiana, sin embargo en Máxima Verosimilitud *Phodaga* aparece como grupo hermano de la relación *Cysteodemus* + *Tegrodera* y *Pleuropasta* como grupo hermano de *Megetra*. La hipótesis de que *Pleuropasta* y *Phodaga* sean grupos hermanos fue apoyada por los métodos probabilísticos. La dirección del eje longitudinal del ojo y la morfología del disco pronotal representan por lo tanto posibles sinapomorfias morfológicas que soportan esta última relación.

La relación *Cysteodemus* + *Tegrodera* como grupos hermanos presente en los dos análisis está fuertemente apoyada (BTS= 100, PP=1). Este resultado contrasta con la información de los caracteres morfológicos del primer estadio larvario utilizados por Pinto (1984), los cuales indicaron que ambos géneros estaban distantemente relacionados. No obstante, las sinapomorfias que separan a estos géneros en el estudio arriba mencionado probablemente representen homoplasias (p.ej. la posición de los espiráculos abdominales y la forma de las setas en el estipe maxilar).

Por último, la posición de *Megetra* y *Cordylospasta* no es clara, ya que aparecen formando relaciones diferentes en los dos métodos de reconstrucción filogenética, y sus valores de apoyo no son altos. Los datos morfológicos colocan a *Cordylospasta* como grupo hermano de la relación *Phodaga* + *Pleuropasta* y a *Megetra* como género hermano de todo este clado. De tal manera que las relaciones propuestas entre estos géneros no son definitivas y cualquiera de las relaciones aquí propuestas o las basadas en datos morfológicos (p. ej. el tamaño del tercer segmento antenal y la forma del tercer segmento de los palpos maxilares) son equiprobables.

8.2. Diversificación y tiempos de divergencia en Eupomphini

Cómo se mencionó anteriormente Eupomphini tienen una distribución restringida a las zonas áridas del Noroeste de México y suroeste de Estados Unidos (Pinto 1984a). Esta distribución corresponde casi en su totalidad con la provincia fisiográfica denominada “Basin and Range” (Gilbert, 1928). Esta provincia experimentó un episodio de actividad geológica importante aproximadamente hace 24 a 12 millones de años, a partir del momento en el que se separó fisiográficamente de la Meseta del Colorado (Brand, 2011; Retallack, 2001; Shafiqullah et al., 1980). Esta separación abrió nuevos paisajes dando oportunidad para un posible origen de nuevos linajes de diferentes grupos de animales (p. ej. Avise, 2006; Bryson et al., 2013; Knowles, 2000).

El origen de la tribu Eupomphini en el Mioceno temprano (20-15 Ma) estimado en el presente estudio, coincide con el periodo de actividad geológica de la provincia “Basin and Range” (Shafiqullah et al., 1980). Este periodo y la continua formación de paisajes permitió no sólo la aparición sino también la diversificación de los nuevos linajes, de manera similar a la propuesta de Bryson et al. (2013) para los escorpiones del grupo de especies *Vaejovis vorhiesi* (Vaejovidae). Esta diversificación puede observarse en las gráficas obtenidas para el cálculo del número de linajes existentes a lo largo del tiempo en Eupomphini (Figura 13B). El número de linajes se comporta de forma creciente durante el periodo que va de los 17 hasta los 4.5 Ma.

La creciente diversificación de la tribu aparentemente se vio interrumpida durante un periodo que duró de los 4.5 a los 1.5 Ma. En este periodo la tasa de extinción superó o igualó la de especiación dejando probablemente como huella ramas largas en la filogenia. El inicio de éste periodo de estasis coincide con la transición Mioceno-Plioceno. En esta época hubo una fuerte expansión de ecosistemas terrestres de plantas C4, y este cambio afectó la temperatura y la proporción de CO₂ en el ambiente causando la extinción de diferentes formas de vida que habitaban el Norte de América debido a la desertificación (Cerling et al., 1997; Ehleringer et al., 1997; MacFadden et al., 1997; Krause et al., 2008). Este episodio de extinción representa el más severo documentado en mamíferos (Cerling et al., 1997) y llegando a eliminar el 70-80% de las especies en Norte América y 60-70% en Eurasia (Krause et al., 2008).

Es probable que el cambio en la biomasa de plantas C4 haya afectado directa o indirectamente el proceso de especiación en la tribu Eupomphini deteniéndolo y causando altas tasas de extinción. Del análisis efectuado con el paquete TreePar se deduce que este evento de extinción masiva pudo haber eliminado a más del 95% de las especies de la tribu, posiblemente dejando como relictos de los grandes linajes que antes existieron a los géneros actuales (Figuras 13A, B). Por otro lado, la pronunciada actividad volcánica en diversos puntos de la zona de distribución de la tribu, como los campos volcánicos de Pinacate y Sentinel Plain en el desierto de Sonora y los campos volcánicos de San Bernardino y San Carlos-Peridot en el desierto de Arizona hace aproximadamente 4 Ma (Shafiqullah et al., 1980) se suma a las posibles causas del incremento en la tasa de extinción.

Al termino de éste periodo de extinción se observa nuevamente un incremento en la aparición de linajes que continúa hasta el presente. Sin embargo, existe un fenómeno conocido como "*pull of the present*" (Nee et. al, 1994), el cual se manifiesta cuando la tasa de extinción es relativamente alta con respecto a la de especiación. Este fenómeno se traduce en un abrupto incremento en el número de linajes en la parte terminal de la filogenia. Un cambio significativo en la tasa de diversificación hubiera sido detectado por el análisis de BAMM; sin embargo, éste no estimó un cambio significativo en la filogenia. En el cronograma (Figura 12) se observa la aparición de nodos a nivel intraespecífico en algunas de las especies representadas. La aparición de éstos nodos coincide con los ciclos glaciales y las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno (Berger, 1984; Bartlein y Prentice, 1989; Webb y Bartlein, 1992), las cuales tuvieron implicaciones importantes en procesos de especiación

considerablemente recientes (Hewitt, 1996; Avise y Walker, 1998; Avise et al., 1998; Martínez-Solano et al., 2006); afectando en muchos casos de forma positiva la diversificación de las especies (Mayr y O'Hara, 1985; Baselga et al., 2011). Es muy probable que los linajes sobrevivientes se hayan beneficiado por los refugios o santuarios pleistocénicos, aumentando sus niveles de aislamiento (Recuero y García-París, 2011), y dando lugar a un alto grado de estructura genética. Análisis poblacionales subsecuentes permitirán corroborar ésta hipótesis.

La mayor tasa de diversificación estimada con TreePar (0.32 especies por millón de años) es parecida a la máxima tasa calculada por BAMM (0.38 especies por millón de años), a pesar de que estos programas utilizan enfoques metodológicos diferentes (Maxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, respectivamente). Esta tasa es alta en comparación con la de otros grupos de artrópodos (0.05-0.1 especies por millón de años; McPeck y Brown, 2007; Papadopoulou et al., 2013). Con respecto a Coleoptera, Hunt et al. (2007) estimó una tasa promedio general de 0.05-0.07 para el orden.

8.3. Disparidad morfológica en Eupomphini

El relativamente escaso número de especies reconocidas de Eupomphini (26 especies) comprende una gran proporción de la diversidad morfológica observable dentro de la familia Meloidae e incluso presentan morfotipos que no se encuentran en ningún otro grupo de la familia. Cada uno de los géneros posee caracteres morfológicos que lo definen de forma considerable (Pinto, 1984), aunque la mayor heterogeneidad y cantidad de cambio se aprecia principalmente en la forma del abdomen y de los élitros.

La singularidad del cambio de forma en los élitros se refleja en la existencia de morfotipos tan dispares como los que caracterizan a los géneros *Cordylospasta* y *Eupompha* o en tendencias totalmente opuestas como en el grado de desarrollo elitral en *Cysteodemus* y *Megetra* (Figura 2). Esta singularidad en la diversificación morfológica elitral, es aquí definida de forma práctica como “deformación elitral”, describiendo así la gran discrepancia de los diferentes patrones morfológicos observados en Eupomphini con la forma generalizada de los élitros en la familia Meloidae (tipo *Lytta* Fabricius 1775 o *Epicauta* Dejean 1834). Los dos filogramas obtenidos en este estudio agrupan en un solo clado a todos los géneros con deformación elitral. El tiempo estimado para el origen de este clado es de 17.2-

12.81 Ma, y representa el momento en el que ocurrió el cambio hacia una deformación de los élitros dentro de Eupomphini.

Las restricciones evolutivas son factores que limitan los posibles resultados del proceso evolutivo (Alberch, 1982; Gould, 1989b; Arnold, 1992). Existen restricciones de tipo genéticas, selectivas, funcionales y de desarrollo (Arnold, 1992). Durante el desarrollo de un organismo, las interacciones epigenéticas limitan drásticamente los procesos de cambio morfológico y restringen la acción de la selección durante la evolución, por lo que dichas interacciones definen el universo de las formas posibles (Alberch, 1982).

La morfogénesis, uno de los tres procesos en el desarrollo de un organismo, es responsable de que el organismo desarrolle su forma (Gilbert, 1996). La alta diversidad de formas elitrales en Eupomphini asociada a un clado particular sugiere la probable existencia de una alteración en el proceso de morfogénesis que tuvo lugar en el ancestro común más reciente de dicho clado. Esta alteración representaría la supresión de la restricción evolutiva que controla la forma de los élitros en Meloidae, permitiendo así la exploración de nuevos morfoespacios. Por ende, lo que vemos actualmente en Eupomphini podrían ser las formas genéricas resultantes del alterado proceso de morfogénesis que se tradujeron en nuevos linajes morfológicamente estables, es decir sujetos a restricciones que definieron las formas elitrales actuales. La expresión de la pérdida de una restricción en el desarrollo puede ser de diversas formas: desactivación de genes, mutaciones, desajustes hormonales, entre otras (Arnold, 1992). Estudios ontogenéticos posteriores permitirían conocer el origen de la pérdida.

Los resultados de los diferentes análisis de evolución morfológica arrojan tres evidencias de la hipotética pérdida de la restricción evolutiva. Primero, la tasa de evolución fenotípica calculada por BAMM, alcanzó su máximo valor durante el primer tercio de la filogenia, y sugiere que en este periodo de tiempo la posible pérdida de la restricción en la morfología de los élitros pudo favorecer el incremento de las dimensiones del morfoespacio disponible, de tal forma que la producción de morfotipos novedosos fuera muy alta. Segundo, la distribución de los valores del índice de disparidad (ID) en el gráfico resultante del análisis de disparidad morfológica a lo largo del tiempo (Figura 15), los valores cercanos a uno en el primer tercio de la filogenia proponen que la disparidad morfológica estuvo homogéneamente repartida entre los subclados, es decir que las posibles nuevas formas producidas presentaban un cambio gradual o incluso podían superponerse en el

morfoespacio disponible. De esta manera es probable la existencia de linajes intermedios que formaban morfotipos continuos entre las formas genéricas tan dispares que sobrevivieron. La tercera evidencia es una la asociación positiva de la tasa de diversificación con la tasa de evolución fenotípica, sugiriendo que el cambio morfológico se daba de acuerdo a la aparición de nuevas especies.

La hipótesis de la existencia de los linajes que formaban un continuo morfológico entre las formas y la probable eliminación de más del 95% de estos linajes en el evento de extinción masiva en la transición Mioceno-Plioceno, explica la contrastante relación entre diversidad morfológica y la pobre diversidad táxica actual dentro de la tribu.

8.4. Radiación evolutiva en Eupomphini

Dentro del clado con deformación elitral las relaciones filogenéticas no están bien soportadas y las ramas presentes son cortas; este hecho y la alta diversificación morfológica y táxica demostrada anteriormente sugieren la posible existencia una radiación evolutiva (Whitfield y Lockhart, 2007). Las radiaciones generalmente involucran una alta diversidad táxica (Schluter, 2000), lo cual contrasta con las 26 especies de Eupomphini. Sin embargo, el concepto de radiación no está bien definido y ha sufrido diversas modificaciones desde su origen, y su definición depende mucho de las evidencias que se tomen en cuenta para identificarla, así como de la ventana de tiempo que se use para estudiar la historia evolutiva de un grupo (Olson y Arroyo-Santos, 2009). En este caso, con base en la evidencia recabada, yo propongo que la radiación fue “borrada” por el evento de extinción masivo, permitiendo que morfotipos tan dispares estuvieran filogenéticamente muy cercanos, como por ejemplo en los géneros *Cysteodemus* y *Tegrodera*. Por lo tanto, los distintos tipos de evidencia obtenidos (alta tasa de diversificación, distribución de índices de disparidad morfológica, correlación positiva entre la tasas de diversificación y evolución fenotípica) me permitió proponer esta radiación a partir de la reconstrucción de la filogenia de la tribu.

Formalmente las radiaciones evolutivas pueden ser de dos tipos: si la presencia de diversificación ecológica confiere ventajas individuales en la explotación de nichos precede a una radiación, entonces son de tipo adaptativas (Rundell y Prince, 2009; Wellenreuther y Sánchez-Guillén, 2016). Por el contrario las radiaciones que no están relacionadas con la explotación de nichos y donde el aislamiento reproductivo no está ligado a la diversificación

ecológica de nichos son del tipo no adaptativas (Gittenberger, 1991; Rundell y Prince, 2009; Wellenreuther y Sánchez-Guillén, 2016).

Si el primer motor de esta radiación en Eupomphini fue la pérdida de la restricción en el desarrollo de los élitros, es muy probable que la radiación haya sido de tipo no adaptativa. Varios procesos pueden dar pie a una radiación no adaptativa (Wellenreuther y Sánchez-Guillén, 2016). Un ejemplo podría ser una alteración en la arquitectura cromosómica de las especies por duplicación génica (Gittenberger, 1991). Otro proceso sería la alteración en la interacción macho-hembra durante el apareamiento (selección sexual, conflicto sexual, etc.) (Rundell y Prince, 2009). A pesar de que la especiación se vió favorecida por la apertura de diversos ambientes, como se mencionó anteriormente, sugiero que el cambio en la morfología de las especies favoreció en mayor medida la especiación, ya que muchas de ellas se distribuyen simpátricamente y no muestran especificidad hacia algún tipo de flor o planta en las cuales esté basada la dieta de los organismos adultos (Pinto, 1972, 1975, 1979, 1984). Es necesario investigar que procesos fueron responsable de la posible radiación no adaptativa en Eupomphini, ya que los arriba mencionados no parecen ser la causa directa de su diversificación actual. El presente estudio aporta evidencias que se inclinan hacia la capacidad intrínseca del organismo a evolucionar como probable primer promotor de la diversificación y no factores ecológicos.

9. Conclusiones

- Se corrobora la monofilia de la tribu con datos de cinco marcadores moleculares y se confirman las sinapomorfías previamente propuestas para la tribu: 1) adultos con la hoja ventral de la uña tarsal más corta que la hoja dorsal y fuertemente adnata a la hoja dorsal, formando un “diente” ventral; 2) antenas subfiliformes y con segmentos estrechamente articulados, 3) la limpieza de las antenas se realiza con las patas anteriores únicamente, las piezas bucales no están involucradas y 4) primer estado larvario presenta la extensión de la sutura epicraneal incompleta, es decir, no llega a tocar la base de la antena.
- Se llevó a cabo un análisis filogenético para la tribu Eupomphini (Coleoptera: Meloidae) basada en secuencias de cinco marcadores genéticos (*cox1*, *16S*, *18S*, *28S*, *H3*) y el 84% de las especies reconocidas. Los filogramas obtenidos resolvieron con altos valores de soporte la mayoría de las relaciones dentro de la tribu.
- Los géneros *Cysteodemus*, *Cordylospasta*, *Megetra*, *Pleuropasta*, *Phodaga*, y *Tegrodera* se recuperaron monofiléticos lo cual corresponde con la delimitación morfológica previa.
- *Eupompha* no se recuperó como monofilético, y en su lugar las relaciones entre sus especie corresponden con su división en dos géneros, para los cuales se proponen los nombres disponibles *Eupompha* y *Calospasta*.
- La estimación de tiempos de divergencia permitió observar el patrón de diversificación de la tribu, desde su origen hace 17 Ma aprox. en el Mioceno tardío, hasta la actualidad y asociarlo a eventos paleoclimáticos que pudieron afectar el modo de diversificación de los linajes dentro de la tribu.
- De acuerdo a los resultados de análisis estadísticos y la historia paleoclimática de la zona de distribución de Eupomphini, se propone la posible existencia de un evento de extinción masiva, probablemente la transición Mioceno-Plioceno, que eliminó a más del 95% de las especies hace casi dos millones de años.

- La disparidad morfológica observada en las especies actuales que están asociadas en un clado que contiene a los géneros con “deformación elitral” sugiere la probable pérdida de la restricción evolutiva a la forma de los élitros, permitiendo la exploración de nuevos morfoespacios. Se requiere realizar los análisis pertinentes para corroborar ésta hipótesis.
- Se propone la hipótesis de numerosos linajes intermedios que formaban continuos entre las formas genéricas actuales, y que fueron eliminados por el evento de extinción (Transición Mioceno-Plioceno). Esta hipótesis explicaría la pronunciada disparidad morfológica en el relativamente escaso número de especies actuales de la tribu Eupomphini.
- La topología los árboles filogenéticos (ramas cortas y relaciones sin valores altos de soporte) y los resultados obtenidos en los análisis morfológicos suman evidencias que apoyan una probable radiación en la historia evolutiva de la tribu.
- Si la causa de la probable pérdida de la restricción evolutiva fue el motor de la radiación, es probable que la radiación sea del tipo no adaptativa. Éste probable hecho sugiere que el primer motor de la diversificación en la Eupomphini está más relacionado con factores no ecológicos.

APÉNDICE. Asignación específica, localidad y números de voucher para los ejemplares examinados en este estudio.

Taxón	Localidad	Número de voucher
<i>Cordylospasta fulleri</i>	USA: California: Inyo Co.: 3 mi NE Big Pine, al inicio de la Death Valley Rd. hacia Saline Valley. 1204 msnm.	mel 08051
<i>Cordylospasta fulleri</i>	USA: California: Inyo Co.: 3 mi NE Big Pine, al inicio de la Death Valley Rd. hacia Saline Valley. 1204 msnm.	mel 08051a
<i>Cordylospasta opaca</i>	USA: California: San Bernardino Co.: Summit Valley Rd., a 4 km del cruce con la Hwy. 138. 1148 msnm.	mel 08026
<i>Cordylospasta opaca</i>	USA: California: San Bernardino Co.: Summit Valley Rd., a 4 km del cruce con la Hwy. 138. 1148 msnm.	mel 08026a
<i>Cysteodemus armatus</i>	MÉXICO: Baja California Norte: 14 km al O de Mexicali, cerca del cementerio.	mel 08076
<i>Cysteodemus armatus</i>	MÉXICO: Baja California Norte: 12 km al OSO de Mexicali.	mel 08077
<i>Cysteodemus armatus</i>	MÉXICO: Baja California Norte: Municipio Mexicali: Ejido Luchadores del Desierto, en el NO de la Laguna Salada. 0 msnm	mel 08080
<i>Cysteodemus wislizeni</i>	USA: Nuevo Mexico: Sierra Co.: 4 mi. E Hillsboro, 1593m	mel 06199
<i>Cysteodemus wislizeni</i>	USA: Nuevo Mexico: Sierra Co.: 5 mi. N Truth or Consequences	mel 06206
<i>Cysteodemus wislizeni</i>	USA: Nuevo Mexico: Cibola Co.: 13 mi. E Laguna, 1702m	mel 06217
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Salt Wells Valley, near Trona, 574 m	mel 08005
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Riverside Co.: Desviación de la Hwy. 371 hacia Hemmet, unas 4 mi al N de Aguanga. 871 msnm	mel 08015
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Riverside Co.: Desviación de la Hwy. 371 hacia Hemmet, unas 4 mi al N de Aguanga. 871 msnm	mel 08015a
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: San Bernardino Co.: 1 mi. E Apple Valley. 899 msnm.	mel 08019

<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: San Bernardino Co.: 5 km al SO de Lucerne. 975 msnm.	mel 08020
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Los Angeles Co.: Intersección de Fort Tejón Rd. y 23th Street, entre Phelan y Littlerock. 118 msnm	mel 08021
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: San Bernardino Co.: Summit Valley Rd., a 4 km del cruce con la Hwy. 138. 1148 msnm.	mel 08027
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: 5 km N Little Lake cerca de Fossil Falls. 1025 msnm.	mel 08028
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: Haiwee Reservoir South. 1175 msnm.	mel 08029
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: Haiwee Reservoir North. 1191 msnm.	mel 08032
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: Haiwee Reservoir North. 1191 msnm.	mel 08032a
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: Orilla Oeste de Owens Lake. 1100 msnm.	mel 08034
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: Orilla Oeste de Owens Lake. 1100 msnm.	mel 08034a
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: 3 mi. S de Olancha. 1144 msnm.	mel 08035
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: 5 km N Little Lake cerca de Fossil Falls. 1025 msnm.	mel 08037
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: 5 km N Little Lake cerca de Fossil Falls. 1025 msnm.	mel 08037a
<i>Eupompha elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: Rudolph Rd., 7.5 mi. al NE de Bishop, Hwy. 6. 1272 msnm.	mel 08044
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Mono Co.: Chalfant Loop Rd. 11.5 mi. al NE Bishop, Hwy. 6. 1314 msnm.	mel 08047
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: 3 mi NE Big Pine, al inicio de la Death Valley Rd. hacia Saline Valley. 1204 msnm.	mel 08052
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Inyo Co.: Death Valley Rd. hacia Saline Valley, unas 6 mi E-NE Big Pine. 1362 msnm.	mel 08055
<i>Calospasta elegans</i>	USA: California: Mono Co.: Mono Lake Valley: Old Railroad Grade x Rd.167. 2000 ft.	mel 06147
<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Hidalgo Co.: 19 mi SW Lordsburg	mel 06177
<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Hidalgo Co.: 19 mi SW Lordsburg	mel 06177b

<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Hidalgo Co.: Granite Gap, 1294 m	mel 06178
<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 10 mi N Hachita, 1364m	mel 06186
<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 10 mi N Hachita, 1364m	mel 06186b
<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 10 mi N Hachita, 1364m	mel 06186c
<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: Rd.26, 4-10 mi NE Deming,	mel 06193
<i>Eupompha fissiceps</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: Rd.26, 4-10 mi NE Deming,	mel 06193c
<i>Calospasta imperialis</i>	MÉXICO: Sonora: 3 km al E de San Luis del Río Colorado. 43 msnm	mel 08074
<i>Calospasta imperialis</i>	MÉXICO: Baja California Norte: 2 km al NE del Ejido Mérida, unos 8 km al SO de Los Algodones (Vicente Guerrero). 28 msnm.	mel 08075
<i>Calospasta imperialis</i>	MÉXICO: Baja California Norte: 12 km al OSO de Mexicali.	mel 08079
<i>Eupompha sulciphrons</i>	MÉXICO: Guerrero: Mexcala	mel 08141
<i>Calospasta viridis</i>	USA: Nuevo Mexico: Valencia Co.: ca. 2 mi. al W de Los Lunas	mel 06209
<i>Calospasta viridis</i>	USA: Nuevo Mexico: Valencia Co.: ca. 2 mi. al W de Los Lunas	mel 06209a
<i>Calospasta viridis</i>	USA: Nuevo Mexico: Valencia Co.: ca. 2 mi. al W de Los Lunas	mel 06209b
<i>Calospasta viridis</i>	USA: Nuevo Mexico: Valencia Co.: ca. 2 mi. al W de Los Lunas	mel 06209c
<i>Calospasta viridis</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: 2 mi N Deming, 1322m	mel 06190
<i>Calospasta viridis</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: 2 mi N Deming, 1322m	mel 06190b
<i>Megetra cancellata</i>	USA: Nuevo Mexico: Cibola Co.: 13 mi. E Laguna, 1702m	mel 06218b
<i>Megetra cancellata</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: Rd.418, (exit 69), 5-10 mi W Deming 1350msnm 14-VIII-2006	mel06187
<i>Megetra cancellata hoegei</i>	MÉXICO: San Luis Potosí: 8 km al N de Cedral, 1766 m	melx 10097a
<i>Megetra cancellata hoegei</i>	MÉXICO: San Luis Potosí: 8 km al N de Cedral, 1766 m	melx 10097b
<i>Megetra</i>	MÉXICO: San Luis Potosí: 8 km al N de Cedral,	melx 10107a

<i>cancellata hoegei</i>	1766 m	
<i>Megetra cancellata hoegei</i>	MÉXICO: San Luis Potosí: 8 km al N de Cedral,	melx 10107b
<i>cancellata hoegei</i>	1766 m	
<i>Megetra punctata</i>	USA: Arizona: Cochise Co.: Portal, 1380 m	mel 06181
<i>Megetra punctata</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 2 mi al E de Separ, 1372m	mel 06183
<i>Megetra punctata</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 2 mi al E de Separ, 1372m	mel 06183b
<i>Megetra punctata</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 2 mi al E de Separ, 1372m	mel 06183c
<i>Megetra punctata</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 2 mi al E de Separ, 1372m	mel 06183d
<i>Megetra vittata</i>	USA: Nuevo Mexico: McKinley Co.: Thoreau, 2187m	mel 06219
<i>Megetra vittata</i>	USA: Nuevo Mexico: McKinley Co.: 8-11 mi. E Pinedale, 2221m	mel 06222b
<i>Megetra vittata</i>	USA: Nuevo Mexico: McKinley Co.: 1/2 mi. N Gallup, 2005m	mel 06227
<i>Megetra vittata</i>	USA: Nuevo Mexico: McKinley Co.: 1/2 mi. N Gallup, 2005m	mel 06227b
<i>Megetra vittata</i>	USA: Nuevo Mexico: McKinley Co.: 8-11 mi. E Pinedale, 2221m	mel 06222
<i>Megetra vittata</i>	USA: Nuevo Mexico: McKinley Co.: 8-11 mi. E Pinedale, 2221m	mel 06222b
<i>Phodaga alticeps</i>	USA: California: Inyo Co.: Death Valley Rd. hacia Saline Valley, unas 6 mi E-NE Big Pine. 1362 msnm.	mel 08053
<i>Phodaga alticeps</i>	USA: California: Inyo Co.: Death Valley Rd. hacia Saline Valley, unas 6 mi E-NE Big Pine. 1362 msnm.	mel 08053b
<i>Phodaga alticeps</i>	MÉXICO: Sonora: 3 km al E de San Luis del Río Colorado. 43 msnm	mel 08072
<i>Phodaga alticeps</i>	MÉXICO: Baja California Norte: Municipio Mexicali: Ejido Luchadores del Desierto, en el NO de la Laguna Salada. 0 msnm	mel 08081
<i>Phodaga marmorata</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 2 mi al E de Separ, 1372m	mel 06184
<i>Phodaga marmorata</i>	USA: Nuevo Mexico: Grant Co.: 2 mi al E de Separ, 1372m	mel 06184b
<i>Phodaga marmorata</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: 5-10 mi W Deming, 1350m	mel 06188
<i>Phodaga</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: 5-10 mi W	mel 06188b

<i>marmorata</i>	Deming, 1350m	
<i>Phodaga</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: 5-10 mi W	mel 06188c
<i>marmorata</i>	Deming, 1350m	
<i>Phodaga</i>	USA: Nuevo Mexico: Luna Co.: 5-10 mi W	mel 06188d
<i>marmorata</i>	Deming, 1350m	
<i>Phodaga</i>	USA: Arizona: Cochise Co.: 2 mi al E de McNeal,	mel06166
<i>marmorata</i>	en Davison Rd. 1299msnm 12-VIII-2006	
<i>Pleuropasta</i>	USA: California: Inyo Co.: Haiwee Reservoir	mel 08036
<i>mirabilis</i>	North. 1191 msnm.	
<i>Pleuropasta</i>	USA: California: Inyo Co.: Haiwee Reservoir	mel 08036b
<i>mirabilis</i>	North. 1191 msnm.	
<i>Pleuropasta</i>	MÉXICO: Sonora: 3 km al E de San Luis del Río	mel 08073
<i>mirabilis</i>	Colorado. 43 msnm	
<i>Pleuropasta</i>	MÉXICO: Baja California Norte: 12 km al OSO de	mel 08078
<i>mirabilis</i>	Mexicali.	
<i>Pleuropasta</i>	USA: Nuevo Mexico: Hidalgo Co.: Granite Gap,	mel 06179
<i>reticulata</i>	1294 m	
<i>Pleuropasta</i>	USA: Nuevo Mexico: Hidalgo Co.: Granite Gap,	mel 06179
<i>reticulata</i>	1294 m	
<i>Pleuropasta</i>	USA: Nuevo Mexico: Hidalgo Co.: Granite Gap,	mel 06179
<i>reticulata</i>	1294 m	
<i>Tegrodera erosa</i>	USA: California: Riverside Co.: Desviación de la	mel 08016
<i>erosa</i>	Hwy. 371 hacia Hemmet, unas 4 mi al N de	
	Aguanga. 871 msnm	
<i>Tegrodera erosa</i>	USA: California: Riverside Co.: Diamond Valley,	mel 08017
<i>erosa</i>	R3, 2 mi. al S de Hemmet. 512 msnm.	
<i>Tegrodera</i>	USA: California: Inyo Co.: 7 mi. NE Olanca,	mel 08039
<i>latecincta</i>	Hwy. 190, orilla SE del Owens Lake. 1112	
	msnm.	
<i>Tegrodera</i>	USA: California: Inyo Co.: Rudolph Rd., 7.5 mi. al	mel 08046
<i>latecincta</i>	NE de Bishop, Hwy. 6. 1272 msnm.	
<i>Eupompha</i>	USA: California: Riverside Co. 1.5 mi. E Jct.	KRN087
<i>histriónica</i>	1,000 Palms Road. + Washington St. 15-April-	
	2005	
<i>Eupompha</i>	USA: California: Riverside Co. Mouth of the Box	KRN088
<i>histriónica</i>	Canyon E of Mecca; March 26, 2005; W.B.	
	Warner	
<i>Eupompha</i>	USA: California: Riverside Co. Mouth of the Box	KRN089
<i>histriónica</i>	Canyon E of Mecca; March 26, 2005; W.B.	
	Warner	
<i>Eupompha</i>	USA: California: Riverside Co. Mouth of the Box	KRN090
<i>histriónica</i>	Canyon E of Mecca; March 26, 2005; W.B.	

Warner

<i>Calospasta edmundsi</i>	USA: Utah: Wayne Co.: Sr24, 7 mi N. Hanksville 28-V-2014	KRN092
<i>Calospasta edmundsi</i>	USA: Utah: Wayne Co.: Sr24, 7 mi N. Hanksville 27-V-2014	KRN093
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Pima Co.: Tucson V-2010	KRN095
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Mesa Co: E Regina St. April 2014	KRN096
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Mesa Co: E Regina St. April 2014	KRN097
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Mesa Co: E Regina St. April 2014	KRN098
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Mesa Co: E Regina St. April 2014	KRN099
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Mesa Co: E Regina St. April 2014	KRN100
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Mesa Co: E Regina St. April 2014	KRN101
<i>Tegrodera aloga</i>	USA: Arizona: Mesa Co: E Regina St. April 2014	KRN102
<i>Epicauta tenella</i>	USA: Nuevo Mexico: Hidalgo Co.: Lordsburg, N32°20'44.8"/W108°42'79.8", 1320m	mel 06171
<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Jalisco: 9 mi. al N de Mazamitla	Vlad038
<i>Lytta vesicatoria</i>	ESPAÑA: Ourense: A Acea (Baños de Molgas) 0605583/467522, 489m	mel 05073a
<i>Lagorina serícea</i>	ESPAÑA: Cádiz: 3 km al S de Benalup de Sidonia	mel 04015
<i>Meloe mediterraneus</i>	ESPAÑA: Cádiz: Puerto Real	mel04255
<i>Pyrota akhurstiana</i>	USA: Arizona: Cochise Co.: Willcox, N32°14'68.2"/W109°50'27.4", 1265 m.	mel06161a
<i>Actenodia distincta</i>	MARRUECOS: Cabo Negro	mel 05062
<i>Zonitis flava</i>	ESPAÑA: Guadalajara: Canales de Molina	mel04190

BIBLIOGRAFÍA

- Adamowicz S. J., Purvis A. y Wills M. A.** 2008. Increasing morphological complexity in multiple parallel lineages of the Crustacea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105:4786–4791.
- Adams D. C., Berns C. M., Kozak K. H. y Wiens J. J.** 2009. Are rates of species diversification correlated with rates of morphological evolution?. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, rspb-2009.
- Alberch P.** 1982. Developmental constraints in evolutionary processes. In: J. T. Bonner ed. *Evolution and development*. Springer Berlin Heidelberg: Springer-Verlag pp. 313-332.
- Alcobendas M., Settanni C. y García-París M.** 2008. Taxonomic status of *Euzonitis haroldi* (Heyden, 1870)(Coleoptera: Meloidae) inferred from morphological and molecular data. *Zootaxa*, 1741: 59–67
- Allegrucci G., Trucchi E. y Sbordoni V.** 2011. Tempo and mode of species diversification in Dolichopoda cave crickets (Orthoptera, Rhaphidophoridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60(1): 108-121.
- Arnold S. J.** 1992. Constraints on phenotypic evolution. *American Naturalist*, S85-S107.
- Avise J. C y Walker D.** 1998. Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 265(1395): 457-463.
- Avise J. C., Walker D. y Johns G. C.** 1998. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 265(1407): 1707-1712.
- Bartlein P. J. y Prentice I. C.** 1989. Orbital variations, climate and paleoecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 4(7): 195-199.
- Baselga A., Recuero E., Parra-Olea G. y García-París M.** 2011. Phylogenetic patterns in zopherine beetles are related to ecological niche width and dispersal limitation. *Molecular Ecology*, 20(23): 5060-5073.
- Berger A.** 1984. Accuracy and frequency stability of the Earth's orbital elements during the Quaternary. In: Berger A., Imbrie J., Hays H., Kukla G. y B. Saltzman, eds. *Milankovitch and climate: understanding the response to astronomical forcing*. Palisades (NY): D. Reidel Publishing p. 3.
- Bologna M. A. y Pinto J. D.** 2001. Phylogenetic studies of Meloidae (Coleoptera), with emphasis on the evolution of phoresy. *Systematic Entomology*, 26(1): 33-72.

- Bologna M. A., Oliverio M., Pitzalis M. y Mariottini P.** 2008. Phylogeny and evolutionary history of the blister beetles (Coleoptera, Meloidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 679-693.
- Brand P. y Stump E.** 2011. Tertiary Extension and Fault Block Rotation in the Transition Zone, Cedar Mountains Area, Arizona v.1.1. Arizona Geological Survey, Tucson.
- Bryson Jr R. W., Riddle B. R., Graham M. R., Smith B. T. y Prendini L.** 2013. As old as the hills: montane scorpions in southwestern North America reveal ancient associations between biotic diversification and landscape history. *PLoS One*, 8(1), e52822.
- Ceccarelli F. S., Sharkey M. J. y Zaldívar-Riverón A.** 2012. Species identification in the taxonomically neglected, highly diverse, neotropical parasitoid wasp genus *Notiospathius* (Braconidae: Doryctinae) based on an integrative molecular and morphological approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62: 485-495
- Cerling T. E., Harris J. M., MacFadden B. J., Leakey M. G., Quade J., Eisenmann V. y Ehleringer J. R.** 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature*, 389(6647): 153-158.
- Dermitzakis D. M. y Papanikolaou D. J.** (1981). Paleogeography and geodynamics of the Aegean region during the Neogene. In *Annales geologiques des pays helleniques*, 30: 245-289.
- Drummond A. J. y Rambaut A.** 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1): 214.
- Eastel S.** 1990. The pattern of mammalian evolution and the relative rate of molecular evolution. *Genetics*, 124: 165-173.
- Ehleringer J. R., Cerling T. E. y Helliker B. R.** 1997. C4 photosynthesis, atmospheric CO₂, and climate. *Oecologia*, 112(3): 285-299.
- Eldredge N. y Gould S. J.** 1972. Punctuated equilibria: an alternative to phyletic gradualism. In: Schopf T.J.M., ed. *Models in paleobiology*. San Francisco (CA): Freeman Cooper. p. 182-215.
- Erwin D. H.** 2007. Disparity: morphological pattern and developmental context. *Palaeontology*, 50(1): 57-73.
- Felsenstein J.** 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17(6): 368-376.
- Felsenstein J.** 1988. Phylogenies and quantitative characters. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 445-471.

- Foote M.** 1997. Evolution of morphological diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28: 129–152.
- Fortey R. A., Briggs D. E. y Wills M. A.** 1996. The Cambrian evolutionary ‘explosion’: decoupling cladogenesis from morphological disparity. *Biological Journal of the Linnean Society*, 57(1): 13-33.
- García-París M. y Ruiz J. L.** 2013. Descripción de una especie nueva del género *Epicauta* Dejean, 1834 de México y revisión del grupo de especies de *Epicauta cupraeola* (Coleoptera, Meloidae). *Graellsia*, 69(1): 57-77.
- García-París M., Buckley D. y Parra-Olea G.** 2007. Catálogo taxonómico-geográfico de los coleópteros de la familia Meloidae de México. *Graellsia*, 63(2): 165-258.
- Gilbert G. K.** 1928, *Studies of basin-range structure*: U.S. Geological Survey Professional Paper 153, 92 p.
- Gilbert S. F., Opitz J. M. y Raff R. A.** 1996. Resynthesizing evolutionary and developmental biology. *Developmental Biology*, 173(2): 357-372.
- Gittenberger E.** 1991. What about non - adaptive radiation? *Biological Journal of the Linnean Society*, 43(4): 263-272.
- Goodman K. R. y O'Grady P.** 2013. Molecular phylogeny and biogeography of the Hawaiian craneflies *Dicranomyia* (diptera: Limoniidae). *PloS one*, 8(9): e73019.
- Glor R. E.** 2010. Phylogenetic insights on adaptive radiation. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 41:251–270.
- Gould S. J.** 1989a. Punctuated equilibrium in fact and theory. *Journal of Social and Biological Structures*, 12(2): 117-136.
- Gould S. J.** 1989b. A developmental constraint in *Cerion*, with comments of the definition and interpretation of constraint in evolution. *Evolution*, 516-539.
- Gunter N. L., Levkaničová Z., Weir T. H., Ślipiński A., Cameron S. L. y Bocak L.** 2014. Towards a phylogeny of the Tenebrionoidea (Coleoptera). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 79: 305-312.
- Harmon L. J., Schulte J. A., Larson A. y Losos J. B.** 2003. Tempo and mode of evolutionary radiation in iguanian lizards. *Science*, 301(5635): 961-964.
- Harmon L. J., Weir J. T., Brock C. D., Glor R. E. y Challenger W.** 2008. GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, 24(1): 129-131.

- Hasegawa M., Iida Y., Yano T. A., Takaiwa F. y Iwabuchi M.** 1985. Phylogenetic relationships among eukaryotic kingdoms inferred from ribosomal RNA sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 22(1): 32-38.
- Hansen T. F.** 2015. Evolutionary Constraints. *Evolutionary Biology*. Online, DOI: 10.1093/OBO/9780199941728-0061
- Hewitt G. M.** 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58(3): 247-276.
- Huelsenbeck J. P., Larget B. y Alfaro M. E.** 2004. Bayesian phylogenetic model selection using reversible jump Markov chain Monte Carlo. *Molecular Biology and Evolution*, 21(6): 1123-1133.
- Hunt T., Bergsten J., Levkanicova Z., Papadopoulou A., John O. S., Wild R., Hammond P. M., Ahrens D., Balke M., Caterino M. S., Gómez-Zurita J., Ribera I., Barraclough T. G., Bocakova M., Bocak L. y Vogler A. P.** (2007). A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a superradiation. *Science*, 318(5858): 1913-1916.
- Jukes T. H. y Cantor C. R.** 1969. Evolution of protein molecules. *Mammalian Protein Metabolism*, 3(21): 132.
- Kaplan P.** 2004. Morphology and disparity through time. In: John Wiley & Sons Ltd, ed. *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester (ENG). doi: 10.1038/npg.els.0001637
- Kaszab Z.** 1969. The system of the Meloidae (Coleoptera). *Memorie della Societa Entomologica Italiana*, 48: 241-248.
- Kirschner M. y Gerhart J.** 1998. Evolvability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(15): 8420-8427.
- Klicka J. y Zink R. M.** 1997. The importance of recent ice ages in speciation: a failed paradigm. *Science*, 277(5332): 1666-1669.
- Knowles L. L.** 2000. Tests of Pleistocene speciation in montane grasshoppers (genus *Melanoplus*) from the sky islands of western North America. *Evolution*, 54(4): 1337-1348.
- Kraft N. J., Cornwell W. K., Webb C. O. y Ackerly D. D.** 2007. Trait evolution, community assembly, and the phylogenetic structure of ecological communities. *American Naturalist*, 170(2): 271-283.
- Krause J., Unger T., Noçon A., Malaspinas A. S., Kolokotronis S. O., Stiller M., Soibelzon L., Spriggs H., Dear P. H., Briggs A. W., Bray S. C. E., O'Brien S. J., Rabeder G., Matheus P., Cooper A., Slatkin M., Pääbo S. y Hofreiter M.** 2008. Mitochondrial

genomes reveal an explosive radiation of extinct and extant bears near the Miocene-Pliocene boundary. *BMC Evolutionary Biology*, 8(1): 220.

- Lanfear R., Calcott B., Ho S. Y. y Guindon S.** 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 29(6): 1695-1701.
- LeConte J. L.** 1862. Classification of Coleoptera of North America. Prepared for the Smithsonian Institution. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, 136: 209-286
- Liem K. F. y Osse J. W. M.** 1975. Biological versatility, evolution, and food resource exploitation in African cichlid fishes. *American Zoologist*, 15:427-454.
- López-Estrada E. K. y García-París, M.** 2015. Primeros registros de *Eupompha imperialis* (Wellman, 1912)(Coleoptera: Meloidae) en México. *Graellsia*, 71(1): e023.
- MacFadden B. J., Solounias N. y Cerling T. E.** 1999. Ancient diets, ecology, and extinction of 5-million-year-old horses from Florida. *Science*, 283(5403): 824-827.
- Magallón S. A.** 2004. Dating lineages: molecular and paleontological approaches to the temporal framework of clades. *International Journal of Plant Sciences*, 165(S4): S7-S21.
- Martínez-Solano I., Teixeira J., Buckley D. y García-París M.** 2006. Mitochondrial DNA phylogeography of *Lissotriton boscai* (Caudata, Salamandridae): evidence for old, multiple refugia in an Iberian endemic. *Molecular Ecology*, 15(11): 3375-3388.
- Mayr E.** 1997. Evolution and the diversity of life: Selected essays. Harvard University Press. pp 9-16.
- Mayr E. y O'Hara R. J.** 1986. The biogeographic evidence supporting the Pleistocene forest refuge hypothesis. *Evolution*, 55-67.
- Marske K. A., Leschen R. A. y Buckley T. R.** 2011. Reconciling phylogeography and ecological niche models for New Zealand beetles: looking beyond glacial refugia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59(1): 89-102.
- McPeck M. A. y Brown J. M.** 2007. Clade age and not diversification rate explains species richness among animal taxa. *The American Naturalist*, 169(4): E97-E106.
- Meyer A., Kocher T. D., Basasibwaki P. y Wilson A. C.** 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, 347: 550-553. doi:10.1038/347550a0

- Miller M. A., Pfeiffer W. y Schwartz T.** 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans (LA) pp 1 - 8.
- Morlon H., Parsons T. L. y Plotkin J. B.** 2011. Reconciling molecular phylogenies with the fossil record. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108: 16327–16332.
- Nee S., May R. M. y Harvey P. H.** 1994. The reconstructed evolutionary process. *Philosophical transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 344:305–311.
- Nee S., Mooers A. y Harvey P. H.** 1992. Tempo and mode of evolution revealed from molecular phylogenies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89:8322–8326.
- Nee S., Holmes E. C., May R. M. y Harvey P. H.** 1994. Extinction rates can be estimated from molecular phylogenies. *Phylosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 344:77–82.
- Olson, M. E., & Arroyo-Santos, A.** 2009. Thinking in continua: beyond the “adaptive radiation” metaphor. *BioEssays*, 31(12): 1337-1346.
- Papadopoulou A., Anastasiou I. y Vogler A. P.** 2010. Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration. *Molecular Biology and Evolution*, 27(7): 1659-1672.
- Papadopoulou A., Cardoso A. y Gómez-Zurita J.** 2013. Diversity and diversification of Eumolpinae (Coleoptera: Chrysomelidae) in New Caledonia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 168(3): 473-495.
- Paradis E.** 2011. Time-dependent speciation and extinction from phylogenies: a least squares approach. *Evolution*, 65: 661–672.
- Pennell M. W., Harmon L. J. y Uyeda J. C.** 2013. Is there room for punctuated equilibrium in macroevolution? *Trends in Ecology and Evolution*, 29: 23–32.
- Pigliucci M.** 2008. Opinion—is evolvability evolvable? *Nature Reviews Genetics*, 9:75–82.
- Pinto J. D.** 1972. A taxonomic revision of the genus *Cordylospasta* (Coleoptera: Meloidae) with an analysis of geographic variation in *C. opaca*. *The Canadian Entomologist*, 104(08): 1161-1180.
- Pinto J. D.** 1975. A taxonomic study of the genus *Tegrodera* (Coleoptera: Meloidae). *The Canadian Entomologist*, 107(01): 45-66.
- Pinto J. D.** 1979. A classification of the genus *Eupompha* (Coleoptera: Meloidae). *Transactions of the American Entomological Society*, (1890-), 105(3): 391-459.

- Pinto J. D.** 1984. Cladistic and phenetic estimates of relationship among genera of eupomphine blister beetles (Coleoptera: Meloidae). *Systematic Entomology*, 9: 165-182.
- Pinto J. D.** 1984b. Taxonomic review of *Cysteodemus* LeConte, *Phodaga* LeConte and *Pleuropasta* Wellman (Coleoptera: Meloidae: Eupomphina) with a new generic synonymy. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 86(1):127-143
- Posada D. y Crandall K. A.** 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9): 817-8.
- Pybus O. G. y Harvey P. H.** 2000. Testing macro-evolutionary models using incomplete molecular phylogenies. *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences*, 267: 2267-2272.
- Rabosky D. L.** 2006a. LASER: a maximum likelihood toolkit for detecting temporal shifts in diversification rates. *Evolutionary Bioinformatics*. Online, 2: 257-260.
- Rabosky D. L.** 2006b. Likelihood methods for detecting temporal shifts in diversification rates. *Evolution*, 60: 1152-1164.
- Rabosky D. L.** 2014. Automatic Detection of Key Innovations, Rate Shifts, and Diversity-Dependence on Phylogenetic Trees. *PLoS ONE*, 9(2): e89543. doi:10.1371/journal.pone.0089543
- Rabosky D. L. y McCune A. R.** 2010. Reinventing species selection with molecular phylogenies. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(2): 68-74.
- Rabosky D. L., Donnellan S. C., Grudler M. y Lovette I. J.** 2014. Analysis and visualization of complex macroevolutionary dynamics: an example from Australian scincid lizards. *Systematic Biology*, 63(4): 610-627.
- Rabosky D. L., Santini F., Eastman J., Smith S. A., Sidlauskas B., Chang J. y Alfaro M. E.** 2013. Rates of speciation and morphological evolution are correlated across the largest vertebrate radiation. *Nature Communications*, 4.
- Recuero E., y García-París M.** 2011. Evolutionary history of *Lissotriton helveticus*: multilocus assessment of ancestral vs. recent colonization of the Iberian Peninsula. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60(1): 170-182.
- Retallack G. J.** 2001. Cenozoic expansion of grasslands and climatic cooling. *The Journal of Geology*, 109(4): 407-426.
- Rohlf F. J.** 2002. tpsTri, version 1.14. Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook. Available from <http://life.bio.sunysb.edu/morph>.

- Rodríguez F. J., Oliver J. L., Marín A. y Medina J. R.** 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology*, 142: 485–501.
- Ronquist F. y Huelsenbeck J. P.** 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572-1574.
- Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D. L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M. A. y Huelsenbeck J. P.** 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61: 539-542.
- Rowe K. C., Aplin K. P., Baverstock P. R. y Moritz C.** 2011. Recent and rapid speciation with limited morphological disparity in the genus *Rattus*. *Systematic Biology*, 60(2): 188-203.
- Rundell R. J. y Price T. D.** 2009. Adaptive radiation, nonadaptive radiation, ecological speciation and nonecological speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(7): 394-399.
- Schluter D.** 2000. *The ecology of adaptive radiation*. OUP Oxford.
- Selander R. B.** 1954. Notes on the tribe Calospastini, with description of a new subgenus and species of *Calospasta* (Meloidae). *Coleopterist's Bulletin*, 8: 11-18.
- Selander R. B.** 1955. The proper name for the tribe Calospastini and a correction of generic synonymy (Meloidae). *Coleopterists' Bulletin*, 17-19.
- Selander R. B.** 1965. A taxonomic revision of the genus *Megetra* (Coleoptera: Meloidae) with ecological and behavioral notes. *The Canadian Entomologist*, 97(06): 561-580.
- Shafiqullah M., Damon P. E., Lynch D.J., Reynolds S. J., Rehrig W. A. y Raymond R. H.** 1980. K-Ar geochronology and geologic history of southwestern Arizona and adjacent areas. *Studies in western Arizona: Arizona Geological Society Digest*, 12: 201-260.
- Sharma P. P., Schwager E. E., Extavour C. G. y Wheeler W. C.** 2014. Hox gene duplications correlate with posterior heteronomy in scorpions. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 281(1792): 20140661.
- Simon C., Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H. y Flook P.** 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6): 651-701.
- Slater G. J., Price S. A., Santini F. y Alfaro M. E.** 2010. Diversity versus disparity and the radiation of modern cetaceans. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277(1697): 3097-3104.

- Stadler T.** 2009. On incomplete sampling under birth–death models and connections to the sampling-based coalescent. *Journal of Theoretical Biology*, 261(1): 58-66.
- Stadler T.** 2011. Mammalian phylogeny reveals recent diversification rate shifts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(15): 6187-6192.
- Stamatakis A.** 2014. "RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies". *Bioinformatics*, 30(9): 1312-1313.
- Van Dyke E. C.** 1928. A reclassification of the genera of North American Meloidae (Coleoptera) and a revision of the genera and species formerly placed in the tribe Meloini. *University of California Publications in Entomology*, 4: 395- 474.
- Vermeij G. J.** 1973. Adaptation, versatility, and evolution. *Systematic Zoology*, 22: 466–477.
- Webb T. I. I. y Bartlein P. J.** 1992. Global changes during the last 3 million years: climatic controls and biotic responses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 23: 141-173.
- Wellenreuther M. y Sánchez-Guillén R. A.** 2016. Nonadaptive radiation in damselflies. *Evolutionary applications*, 9(1): 103-118.
- Whitfield J. B. y Lockhart P. J.** 2007. Deciphering ancient rapid radiations. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(5): 258-265.
- Whiting M. F., Carpenter J. C., Wheeler Q. D. y Wheeler W. C.** 1997. The Strepsiptera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology. *Systematic Biology*, 46(1): 1-68.
- Wickham H. F.** 1920. Catalogue of the North American Coleoptera described as fossils. In: Leng C. W., Wickham H. F., Mutchler A.J., eds. *Catalogue of the Coleoptera of America, North of Mexico*. Mount Vernon (NY): Sherman J. D. p. 347-365.
- Wolfe K. H., Li W. H. y Sharp P. M.** 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(24): 9054-9058.
- Yoder J. B., Clancey E., Des Roches S., Eastman J. M., Gentry L., Godsoe W., Hagey T. J., Jochimsen D., Oswald B. P., Robertson J., Sarver B. A., Schenk J. J., Spear S. F. y Harmon L. J.** 2010. Ecological opportunity and the origin of adaptive radiations. *Journal of Evolutionary Biology*, 23: 1581–1596.
- Zharkikh A.** 1994. Estimation of evolutionary distances between nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 9, 315–329.

Zink R. M. y Slowinski, J. B. 1995. Evidence from molecular systematics for decreased avian diversification in the Pleistocene epoch. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(13): 5832-5835.