



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLÓGIA EVOLUTIVA**

Filogenia y biogeografía histórica de *Eleutherodactylus*, un género de anuros del trópico Americano

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Daniel Eusebio Quintero Vallejo

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER
Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. CRISÓFORO FABRICIO VILLALOBOS CAMACHO
Instituto de Ecología A.C.

DR. CONSTANTINO DE JESÚS MACÍAS GARCÍA
Instituto de Ecología, UNAM.

MÉXICO, CD. MX., ENERO 2024.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 ECOLOGÍA
BIOLÓGÍA EVOLUTIVA**

Filogenia y biogeografía histórica de *Eleutherodactylus*, un género de anuros del trópico Americano

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Daniel Eusebio Quintero Vallejo

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER
Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. CRISÓFORO FABRICIO VILLALOBOS CAMACHO
Instituto de Ecología A.C.

DR. CONSTANTINO DE JESÚS MACÍAS GARCÍA
Instituto de Ecología, UNAM.

MÉXICO, CD. MX., ENERO 2024.

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA
OFICIO: CGEP/CPCB/ IE /0922/2023
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que el Comité Académico, del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su reunión ordinaria del día **8 de mayo de 2023**, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **(Biología Evolutiva)** del estudiante **QUINTERO VALLEJO DANIEL EUSEBIO** con número de cuenta **314191009** con la tesis titulada: **“FILOGENIA Y BIOGEOGRAFÍA HISTÓRICA DE *Eleutherodactylus*, UN GÉNERO DE ANUROS DEL TRÓPICO AMERICANO”**, bajo la dirección del **DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. LETICIA MARGARITA OCHOA OCHOA
Vocal: DRA. TANIA ESCALANTE ESPINOSA
Secretario: DR. CRISÓFORO FABRICIO VILLALOBOS CAMACHO
Vocal: DR. SANTIAGO ALEJANDRO RAMÍREZ BARAHONA
Vocal: DR. JULIÁN ANDRÉS VELASCO VINASCO

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

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 23 de noviembre de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/ERR/EARR/err



Agradecimientos.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por las oportunidades que me ha brindado a lo largo de estos últimos años y permitirme seguir investigando sobre lo que más me apasiona, la vida.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT), por otorgarme una beca nacional que me permitió dedicarme al posgrado y a mi proyecto de investigación por tiempo completo.

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) por el apoyo financiero que me permitió realizar una estancia en la Universidad de Sevilla, España, la cual contribuyó de manera significativa a mi proyecto de investigación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por durante casi 10 años, contribuir a mi educación y desarrollo personal, por brindarme numerosas oportunidades académicas y recreativas, por permitirme conocer profesorxs que influyeron en mi forma de ver las cosas y por otorgarme un lugar digno donde estudiar.

A mi tutor, el Dr. Alejandro González Voyer, quien desde la licenciatura me ha brindado las herramientas necesarias para desenvolverme como futuro científico y me ha ayudado a encontrar una de las cosas que más me apasionan: la evolución biológica.

A mi comité tutorial, el Dr. Fabricio Villalobos Camacho y el Dr. Constantino Macías García, por sus invaluable consejos y revisiones a lo largo de mi maestría.

Agradecimientos personales.

A los miembros de mi jurado, la Dra. Leticia Ochoa Ochoa, la Dra. Tania Escalante Espinosa, el Dr. Fabricio Villalobos Camacho, el Dr. Santiago Ramírez Barahona y el Dr. Julián Velasco Vinasco, por sus comentarios y disponibilidad para contribuir a que mi proyecto de investigación sea de mayor calidad.

Al Dr. Santiago Castroviejo Fisher, por ser mi mentor durante unos meses al otro lado del mundo y enseñarme herramientas que fueron cruciales para mi proyecto de investigación.

A mis amigxs, Karlita, Erick, Paul, Cami, Priscua y Metzneri, quienes siempre me han apoyado incondicionalmente y brindado su cariño, de quienes he aprendido bastante y quienes se sienten como un abrazo al corazón. Muchas gracias por estar.

A las maravillosas amistades que hice en Sevilla, Andy, Sofi y Vale, porque cuando estaba lejos de casa, ustedes me hicieron sentir cerca. Gracias por hacer de ese viaje algo que jamás en mi vida olvidaré, les quiero mucho.

A Nano, porque desde el primer día que entré al mundo de la biología me enseñaste lo que es una amistad leal y el amor a la naturaleza. Nos veremos en otra vida, amigo mío.

A Sandy, mi pareja, por acompañarme y apoyarme todos los días desde que te conocí, por enseñarme lecciones valiosas que jamás olvidaré y por demostrarme tu amor, proveniente del corazón más bonito que existe. Te amo y te admiro. Me emociona el saber que nos queda una larga y bonita vida por recorrer, juntxs. También quiero agradecer a Nico, Sandra, Xime y Raúl, por siempre hacerme sentir muy querido, son una hermosa familia.

A mi familia, por apoyarme siempre y llenarme de amor desde el día en que nací. A mi madre, Rosario, por ser la luz que me ha guiado siempre y estar ahí cuando más la necesito, incluso al otro lado del mundo. A mi padre, Rogelio, por siempre estar ahí cuando lo necesito, por ser el más amoroso y enseñarme permitirme conocer el mundo junto a ti. A mi hermano, por estar siempre a mi lado y enseñarme lo que es verdaderamente importante en mi vida, gracias por creer en mí siempre. A Jess, por escoger ser parte de esta familia y compartirnos tu cariño. A Dexter, por cambiar mi vida y por hacerme sentir un amor inmenso. A Aztlán, por recientemente traer alegría a nuestro hogar. Les amo con todo mi corazón.

A Sparky y Milka, el significado de cariño y el origen de todo lo bueno.

A Teresa, mi abue, la máxima expresión del amor. Sé que estás conmigo siempre, te amo.

“戦え”

Eren Jaeger.

Índice.

Resumen.....	2
Resumen en inglés.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	7
Hipótesis.....	8
Material y métodos.....	8
Resultados.....	16
Discusión.....	22
Conclusión.....	33
Referencias.....	34
Material suplementario.....	40

Resumen.

Debido a su amplia distribución y a su evidente riqueza específica, los anfibios representan un excelente modelo para estudiar los procesos de evolución biológica. Se sabe que un poco más del 50% de las especies de anfibios se encuentran en la región del neotrópico. El género *Eleutherodactylus* es uno de los grupos de anuros neotropicales más diversos (más de 200 especies). La mayoría de las especies de *Eleutherodactylus* se distribuyen en las Islas del Caribe (~80%), mientras que el resto habita en el Norte del continente americano. Los procesos evolutivos que dieron origen a las especies de *Eleutherodactylus* insulares han sido bien estudiados en los últimos años. Con base en trabajos previos se estima que el origen y diversificación de *Eleutherodactylus* en las islas del Caribe probablemente son resultado de un proceso de dispersión sobre el agua a partir de América del sur a mediados del Cenozoico. En contraste, históricamente las especies continentales del género han sido significativamente menos estudiadas, por lo cual, existe una carencia de información taxonómica, sistemática, biogeográfica y evolutiva de este grupo. Se ha sugerido que el origen de estas últimas se debe a una colonización del continente a partir de las islas, no obstante, a la fecha no existen estudios que analicen detalladamente esta idea. Lo anterior se debe en parte a la falta de información ya mencionada, lo cual, limita el conocimiento biológico que se tiene sobre la totalidad del género. Afortunadamente y gracias al esfuerzo de diferentes grupos de investigación, en los últimos años y de manera intensiva, se ha recopilado información de las especies continentales del género. Aprovechando esta información reciente, los objetivos del presente proyecto fueron generar la primera filogenia molecular fechada que incluya la mayoría de las especies, tanto isleñas como continentales, del género *Eleutherodactylus* y realizar un análisis de biogeografía histórica del mismo. Con base en información previa y a manera de hipótesis, se puede proponer que (1) la colonización del continente por parte de *Eleutherodactylus* ocurrió a partir de Cuba y que, (2) de la misma manera que ocurrió con las especies insulares de *Eleutherodactylus* y debido a la poca vagilidad de los organismos en cuestión, se espera que el origen de las especies continentales de *Eleutherodactylus* se deba a un único evento de colonización. Los resultados del proyecto permitieron entender mejor los procesos evolutivos y biogeográficos que han dado origen a la gran diversidad actual de *Eleutherodactylus* tanto en las islas como en el continente. Además, permitieron apoyar la hipótesis de que la colonización del continente por parte de *Eleutherodactylus* ocurrió a partir de Cuba y que el origen de las especies continentales se debe a un único evento de colonización. Discutimos algunos detalles relacionados a la metodología aplicada, comparamos entre diversos estudios publicados y proporcionamos posibles explicaciones respecto a los resultados obtenidos. El trabajo contribuye al entendimiento de la historia evolutiva y biogeográfica del género *Eleutherodactylus*.

Abstract.

Due to their wide distribution and apparent species richness, amphibians represent an excellent model for studying biological evolution processes. Over 50% of amphibian species are known to inhabit the neotropical region. The genus *Eleutherodactylus* is one of the most diverse groups of neotropical anurans (with over 200 species). The majority of *Eleutherodactylus* species are distributed in the Caribbean Islands (~80%), while the rest are found in North America. The evolutionary processes that originated island-dwelling *Eleutherodactylus* species have been well studied in recent years. Based on previous work, it is estimated that the origin and diversification of *Eleutherodactylus* in the Caribbean islands are likely the result of an over-water dispersal process from South America in the mid-Cenozoic era. In contrast, continental species of the genus have historically been significantly less studied, leading to a lack of taxonomic, systematic, biogeographic, and evolutionary information about this group. It has been suggested that the origin of these continental species is due to island colonization; however, to date, there have been no studies that comprehensively test this hypothesis. This is partly due to the aforementioned lack of information, which limits our biological knowledge of the entire genus. Fortunately, thanks to the efforts of various research groups, information on continental species of the genus has been collected intensively in recent years. Leveraging this recent information, the objectives of this project were to generate the first dated molecular phylogeny that includes the majority of *Eleutherodactylus* species, both island and continental, and to conduct a historical biogeographic analysis. Based on previous information and as a hypothesis, it can be proposed that (1) the colonization of the continent by *Eleutherodactylus* originated from Cuba and (2) similarly to what happened with island species of *Eleutherodactylus*, due to the limited vagility of the organisms in question, it is expected that the origin of continental *Eleutherodactylus* species is the result of a single colonization event. The project results allowed for a better understanding of the evolutionary and biogeographic processes that have given rise to the current diversity of *Eleutherodactylus* both on islands and on the continent. Additionally, they supported the hypothesis that the colonization of the continent by *Eleutherodactylus* originated from Cuba and that the origin of continental species is the result of a single colonization event. We discuss some details related to the applied methodology, compare with various published studies, and provide possible explanations for the obtained results. This work contributes to the understanding of the phylogenetic and biogeographic evolution of the genus *Eleutherodactylus*.

1. Introducción.

Uno de los aspectos que más ha llamado la atención de la comunidad científica dentro de la biología son los patrones de distribución geográfica que algunas especies pueden presentar. Este interés ha llevado a preguntas tales como: ¿Por qué las especies tienen una distribución geográfica en particular?, ¿cuándo y a partir de dónde llegaron a donde están? Responder estas preguntas es uno de los objetivos principales de la biología evolutiva, ya que sus respuestas pueden contribuir a la comprensión de los procesos que han originado la gran biodiversidad que observamos actualmente. Afortunadamente, la creciente disponibilidad de información sobre algunos taxa, como por ejemplo, sus distribuciones geográficas, hábitos de vida y datos moleculares como secuencias de marcadores de ADN, ha permitido la generación de filogenias más completas que, sumadas al desarrollo de métodos estadísticos recientes aplicados a los estudios filogenéticos, permiten ahondar con más detalle en la historia biogeográfica de dichos grupos y responder las preguntas anteriores.

Debido a su amplia distribución y evidente riqueza específica, los anfibios representan un excelente modelo para estudiar los procesos de biogeografía histórica. Con más de 8600 especies descritas hasta la actualidad (Frost, 2023), la clase Amphibia posee una distribución global que exceptúa las regiones polares, encontrándose así en zonas totalmente distintas como desiertos y bosques tropicales e inclusive en regiones de gran altitud como Los Andes o la parte este del Himalaya (Subba et al., 2015; AmphibiaWeb, 2023). Al igual que muchos otros grupos de organismos, la mayor riqueza de especies de anfibios se encuentra en zonas tropicales. No obstante, un gran porcentaje de especies se distribuye únicamente en las zonas tropicales del continente americano (Jenkins et al., 2013). Se sabe que alrededor de un 80% de las especies de anfibios del mundo se distribuyen en hábitats tropicales (Halliday, 2008), mientras que un poco más del 50% habita exclusivamente de manera natural en el neotrópico (Stuart et al., 2008; Jenkins et al., 2013). Diversas familias de anuros que comprenden una gran cantidad de especies se distribuyen de manera endémica a los trópicos de América: *Eleutherodactylidae* (241 spp.), *Leptodactylidae* (233 spp.), *Dendrobatidae* (205 spp.), *Centrolenidae* (164 spp.), *Aromobatidae* (135 spp.), *Craugastoridae* (129 spp.) y *Hemiphractidae* (121 spp.) (Dugo-Cota, 2019; Frost, 2023).

El presente estudio se centra en el género *Eleutherodactylus*, perteneciente a la familia *Eleutherodactylidae* y a la superfamilia *Brachycephaloidea* (también conocida como grupo Terrarana) (Hedges et al., 2008; Hedges et al., 2019), el cual es uno de los grupos de anuros neotropicales más diversos y taxonómicamente más complejos registrados hasta el momento (Hedges et al., 2008; Grünwald et al., 2018; Grünwald et al., 2019). Actualmente *Eleutherodactylus* comprende aproximadamente 210 especies (Frost, 2023), las cuales se encuentran distribuidas de manera nativa desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Centroamérica, abarcando Belice, Guatemala y el archipiélago caribeño (Dugo-Cota et al., 2019). No obstante, un poco más del 80% de las especies registradas, es decir, la mayoría de las especies de *Eleutherodactylus*, posee una distribución restringida a las Islas del Caribe, donde la riqueza específica se relaciona con el tamaño de la isla (Jimenez-Ortega et al., 2023). Por otro lado, las *Eleutherodactylus* restantes se distribuyen exclusivamente en el sur de Estados Unidos, México, Guatemala y Belice, es decir, en las partes continentales de América (Reyes-Velasco et al., 2015; Hernández-Austria et al., 2022).

Al igual que todos los grupos dentro de la superfamilia *Brachycephaloidea*, el género *Eleutherodactylus* se caracteriza por poseer una reproducción de tipo terrestre y un desarrollo directo (Hedges et al., 2008; Padial et al., 2014), es decir, que no existe una fase larvaria intermedia de vida libre comúnmente conocido como renacuajo (Callery et al., 2001; Hedges et al., 2008). A diferencia de la gran mayoría de especies de anfibios, tanto la reproducción terrestre como el desarrollo directo presentes en *Eleutherodactylus* son características que permiten a este grupo no depender en su totalidad de cuerpos de agua para completar el ciclo de reproducción (Callery et al., 2001; Heinicke et al., 2007). Se ha propuesto que dicha característica posiblemente facilitó la invasión y colonización de nuevos nichos ecológicos en las islas del Caribe por parte de *Eleutherodactylus*, dando lugar a un extenso proceso de diversificación y, por lo tanto, a su amplia distribución actual (Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019). Esto se ve reflejado en el hecho de que ninguno de los demás géneros de anuros que habitan en las islas del Caribe posea una riqueza de especies o diversidad ecológica similar a la de *Eleutherodactylus* (Jimenez-Ortega et al. 2023).

Eleutherodactylus se divide en cinco subgéneros: *Eleutherodactylus*, *Euhyas*, *Pelorius*, *Schwartzius* y *Syrrhophus*. Los primeros cuatro habitan exclusivamente en las Islas del Caribe, mientras que *Syrrhophus*, a excepción de las especies *E. zeus* y *E. symingtoni* que son endémicas a la isla de Cuba, posee una distribución limitada a la zona continental (Hedges et al., 2008; Padial et al., 2014; Reyes-Velasco et al., 2015; Grünwald et al., 2018; Grünwald et al., 2021; Hernández-Austria et al., 2022). Por lo anterior, el subgénero *Syrrhophus* representa casi en su totalidad a los anuros que habitan únicamente en tierra firme (de ahora en adelante llamados sólo continentales) de todo el género *Eleutherodactylus*, siendo México el país con la mayor diversidad de especies de dicho subgénero (Hernández-Austria et al., 2022).

Con base en análisis paleobiogeográficos, se ha sugerido que el origen de *Eleutherodactylus* en las Islas del Caribe es resultado de un proceso de dispersión a través del agua a partir de América del Sur durante el Cenozoico (Heinicke et al., 2007; Hedges et al., 2008; Dugo-Cota et al., 2019). Para llevar a cabo estos análisis es necesario implementar una filogenia del género calibrada en el tiempo, no obstante, estas proveen resultados contrastantes en cuanto a los tiempos de divergencia. La estimación filogenética más reciente propone que *Eleutherodactylus* divergió de *Diasporus* (género hermano) hace aproximadamente 25 Mya (millones de años) y que su diversificación comenzó hace alrededor de 22 Mya cuando el género se dividió en dos clados principales: el clado occidental (que contiene especies de los subgéneros *Euhyas* y *Syrrhophus*) y el clado oriental (que incluye especies pertenecientes a los subgéneros *Eleutherodactylus*, *Pelorius* y *Schwartzius*), los cuales, se originaron y diversificaron probablemente en Cuba y en La Española respectivamente (Dugo-Cota et al., 2019). Lo anterior sugiere una colonización de las Islas Caribeñas por parte de *Eleutherodactylus* hace 22-25 Mya. Sin embargo, un estudio filogenético y biogeográfico anterior de Heinicke y colaboradores (2007) estima tiempos de colonización más tempranos (hace 29-47 Mya).

La gran diversidad de especies de *Eleutherodactylus* que se encuentra actualmente en las Islas del Caribe es el resultado de radiaciones adaptativas paralelas acompañadas de convergencia morfológica, pues las invasiones independientes a las diferentes islas en dicha área dieron lugar a morfologías similares entre especies lejanamente relacionadas que ocupan los mismos microhábitats (Dugo-Cota et al., 2019; Jimenez-Ortega et al. 2023). Además, se ha propuesto que la riqueza de este grupo en el archipiélago Caribeño es consecuencia en parte de

características intrínsecas, pues el género muestra tasas elevadas de especiación y una alta capacidad de carga en comparación con otros grupos de anfibios que colonizaron dicho archipiélago en tiempos similares (Jimenez-Ortega et al., 2023).

Se propone que posterior a la diversificación de *Eleutherodactylus* en las Islas del Caribe, ocurrió una colonización del continente de este grupo que resultó en un proceso de diversificación ejemplificado por las especies continentales del subgénero *Syrrhophus* (a excepción de *E. zeus* y *E. symingtoni*, que como se mencionó anteriormente, son endémicas a Cuba) (Hedges y Woods, 1989; Hass y Hedges, 1991; Hedges, 2006; Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019). Usualmente se piensa que la dispersión a través del mar de organismos terrestres ocurre a partir del continente hacia las islas, no obstante, lo contrario también es posible aunque es menos común (Bellemain y Ricklefs, 2008). Debido al gran tamaño y edad de las islas del Caribe, estas también pueden ser el centro de origen de una dispersión hacia tierra firme (Hedges, 2006). Además de *Eleutherodactylus*, se ha encontrado evidencia de otros grupos de vertebrados que se han dispersado desde las Islas del Caribe hacia el continente, por ejemplo, algunas tortugas del género *Trachemys* (Seidel, 1996) y las lagartijas *Anolis* (Nicholson et al., 2005; Poe et al., 2017).

Diversos estudios han sugerido que la dispersión de las *Eleutherodactylus* isleñas hacia el continente probablemente ocurrió a partir de Cuba (Hedges, 1989; Hedges y Woods, 1989; Hass y Hedges, 1991; Hedges, 2006; Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019). Por ejemplo, Hedges (1989) menciona que el subgénero *Syrrhophus* se originó por una dispersión desde Cuba a partir del subgénero *Euhyas*. De acuerdo a Hedges (1989), todas las especies de *Syrrhophus* registradas hasta ese entonces carecen de dientes vomerinos, mientras que la mayoría de las *Eleutherodactylus* de Cuba si los poseen, por lo que dicha dispersión ocurrió a partir de Cuba (y no en dirección contraria, es decir, del continente a las islas) debido a que es menos probable que este rasgo reaparezca después de perderse. Sin embargo, Hedges (1989) no realizó ningún análisis formal para examinar la historia biogeográfica del grupo. Por otro lado, los resultados del análisis de biogeografía histórica de Dugo-Cota y colaboradores (2019) sugieren que la dispersión que dio origen a *Syrrhophus* ocurrió a partir de Cuba. No obstante, los análisis realizados en dicho trabajo tomaron en cuenta solo cuatro especies continentales de *Eleutherodactylus*, es decir, menos del 10% de las especies continentales descritas actualmente. Lo anterior posiblemente se deba en gran parte a la carencia de información general (taxonómica, molecular, geográfica, etc.) existente sobre las especies continentales (a pesar de que estas últimas representan aproximadamente un 20% de las especies dentro del género).

Sumado a lo anterior, es probable que el origen de las *Eleutherodactylus* continentales a partir de las islas corresponda a un único evento de colonización debido a la poca vagilidad que presentan los anuros y la importante barrera geográfica que representa el mar (en comparación con, por ejemplo, las aves), además de que este fue el caso para la dispersión que dio origen a *Eleutherodactylus* en las islas (Dugo-Cota et al., 2019). Sin embargo, la ausencia de información sobre las especies continentales también ha sido una limitante en este sentido.

Para saber si la dispersión de las islas hacia el continente ocurrió a partir de Cuba y esta corresponde a un único evento de colonización, se necesita un análisis de biogeografía histórica que considere a la mayoría de especies isleñas y continentales del género. Esto no ha sido

posible hasta la fecha debido a la falta de información taxonómica y molecular del subgénero *Syrrhophus* que ha limitado la realización de una filogenia completa de *Eleutherodactylus*.

Históricamente, las especies del género que habitan en las islas del Caribe han sido considerablemente más estudiadas en comparación con las que habitan en el continente. Sin embargo, en años recientes, el subgénero *Syrrhophus* ha recibido más atención por parte de la comunidad científica (Grünwald et al., 2021). Como resultado, y utilizando datos moleculares, morfológicos, ecológicos y conductuales, se han realizado diversas modificaciones taxonómicas y descripciones de 12 nuevas especies dentro de dicho subgénero. En retrospectiva, Reyes-Velasco y colaboradores (2015) registraron dos nuevas especies (*E. grunwaldi* y *E. wixarika*) distribuidas en el oeste de México (Colima y Jalisco). Posteriormente, Grünwald y colaboradores (2018) describieron seis nuevas especies de *Syrrhophus* (*E. colimotl*, *E. erendirae*, *E. floresvillelai*, *E. jaliscoensis*, *E. manantlanensis* y *E. nietoi*), las cuales también se encuentran en el oeste de México (Colima, Jalisco y Michoacán). Más adelante, Palacios-Aguilar y Santos-Bibiano (2020) describieron otra nueva especie distribuida en las tierras bajas de Guerrero (*E. erythrochomus*). Recientemente Grünwald y colaboradores (2021) definieron dos nuevas especies que habitan en la Sierra Madre del sur de Guerrero (*E. maculabialis* y *E. sentinelus*). Hernández-Austria y colaboradores (2022) describieron una especie (*E. potosiensis*) que habita en San Luis Potosí, México. Grünwald y colaboradores (2023) recientemente descubrieron a *E. franzi*, una especie que se distribuye en el sur de México. Finalmente, en el presente año también, Devitt y colaboradores (2023) describieron dos nuevas especies (*E. jamesdixoni* y *E. humboldti*) que habitan en el oeste y centro de México, resultando así en un total de 44 especies registradas hasta el momento dentro del subgénero *Syrrhophus*. No obstante, debido a que el interés en el subgénero *Syrrhophus* ha despertado recientemente, a las grandes similitudes morfológicas entre taxones, y a la gran topografía y diversidad de hábitats de México, es posible que muchas otras nuevas especies dentro de este grupo sean descritas en los próximos años (Reyes-Velasco et al., 2015; Hernández-Austria et al., 2022). Afortunadamente, Hernández-Austria y colaboradores (2022) recientemente generaron una filogenia centrada en las especies continentales, lo que complementa bien la filogenia construida por Dugo-Cota y colaboradores (2019) enfocada en las especies isleñas.

Gracias al avance en el estudio de las especies continentales, en el presente trabajo realizamos la primera inferencia filogenética calibrada en el tiempo del género *Eleutherodactylus* que incluye tanto a la mayoría de las especies isleñas como continentales. Además, examinamos la historia biogeográfica de dicho género utilizando métodos de inferencia probabilística sobre la distribución geográfica ancestral a través de una filogenia y comparación de modelos. Proporcionamos datos interesantes sobre el origen y dispersión de diversas especies de *Eleutherodactylus* a través de las islas del Caribe y del continente. Además, hicimos énfasis en los aspectos a considerar en un futuro relacionados con la historia filogenética y biogeográfica del género.

2. Objetivos.

2.1. Objetivo general.

- Analizar la posible historia biogeográfica de los anuros del género *Eleutherodactylus* a partir de una filogenia fechada en el tiempo y análisis de biogeografía histórica.

2.2. Objetivos específicos.

1. Generar una hipótesis filogenética robusta del género de anuros *Eleutherodactylus* utilizando secuencias moleculares y con una calibración de los tiempos de divergencia.
2. Realizar un análisis de reconstrucción de biogeografía histórica del género *Eleutherodactylus*.

3. Hipótesis.

1. Con base en información previa se puede proponer que la colonización del continente por parte de *Eleutherodactylus* ocurrió a partir de Cuba.
2. De la misma manera que ocurrió con las especies isleñas de *Eleutherodactylus* y debido a la poca vagilidad de los organismos en cuestión, se espera que el origen de las especies continentales de *Eleutherodactylus* se deba a un único evento de colonización.

4. Material y métodos.

4.1. Recolección de datos moleculares.

Con el objetivo de generar una filogenia molecular del género *Eleutherodactylus* se obtuvo información de ADN mitocondrial y nuclear de diversas fuentes. En el caso de las especies isleñas, las secuencias de ADN se recolectaron del trabajo de Dugo-Cota y colaboradores (2019). Para las especies continentales, las secuencias de ADN mitocondrial se obtuvieron del trabajo de Hernández-Austria y colaboradores (2022), mientras que las secuencias de ADN nuclear fueron extraídas y proporcionadas por el Laboratorio de Sistemática Molecular de Anfibios y Reptiles del Instituto de Biología a partir de muestras de tejido y utilizando un protocolo fenol-cloroformo basado en Sambrook y Russell (2006). Las secuencias de ADN mitocondrial corresponden a los marcadores *12S*, *16S*, *cytb* y *coi*, mientras que las secuencias ADN nuclear corresponden a los marcadores *rag1* y *tyr*. Con el fin de generar una mejor inferencia filogenética y proporcionar mayor información para calibrar la filogenia en el tiempo, se colectaron secuencias de ADN de los mismos marcadores de 38 especies de distintos géneros correspondientes a grupos externos, cercanamente relacionados de *Eleutherodactylus* disponibles en GenBank. Los criterios a considerar para escoger las especies correspondientes al grupo externo fueron la alta disponibilidad de información molecular y de evidencia fósil de calidad. Además, también nos basamos en la elección de los trabajos sobre sistemática molecular de anfibios neotropicales de Padiá y colaboradores (2014) y Fouquet y colaboradores (2012), los cuales siguen los mismos criterios. Para evitar posibles errores en análisis posteriores, todas las secuencias de ADN recolectadas se examinaron con detalle para asegurarnos de que estas correspondieran a sitios homólogos entre ellas y/o tuvieran la menor cantidad posible de sitios faltantes debido a errores de secuenciación.

4.2. Inferencia filogenética y tiempos de divergencia.

Realizamos un alineamiento múltiple de secuencias para cada marcador de ADN utilizando el software MAFFT (Kato, K. y Standley, 2013), el cual, se mejoró manualmente en Aliview (Larsson, 2014) tomando los codones de aminoácidos como referencia para los marcadores que corresponden a genes codificantes (*cytb*, *coi*, *rag1* y *tyr*). Posteriormente, utilizando el cluster en

línea de IQTree (Trifinopoulos et al., 2016), generamos una filogenia de máxima verosimilitud (ML) para cada marcador molecular para asegurarnos que no existan incongruencias filogenéticas importantes entre marcadores en cuanto a las relaciones entre las especies. Después de asegurarnos que no existían incongruencias entre marcadores, se concatenaron los alineamientos en una sola matriz por medio de raxmlGUI 2.0 (Edler et al., 2020) y dicha matriz fue utilizada para todos los análisis filogenéticos posteriores.

Con la matriz de genes concatenada, utilizamos ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) para identificar el mejor esquema de particiones y modelos evolutivos para nuestros datos de ADN de acuerdo a un criterio de información bayesiano (BIC). Dicho esquema y modelos fueron considerados para todos los análisis filogenéticos posteriores.

Utilizando también el cluster en línea de IQTree (Trifinopoulos et al., 2016) realizamos una inferencia filogenética abarcando todos los marcadores de ADN con 1000 réplicas para el test de ramas SH-aLRT. La filogenia resultante de dicho análisis fue utilizada como resultado preliminar para observar las relaciones entre las especies y asegurarse que no hubiese errores (por ejemplo, tener longitudes de rama extremadamente largas en comparación con las demás) (Figura S4). Convertimos esta filogenia a un árbol ultramétrico a través de la función *bladj* de Phylocom (Webb et al., 2008) para utilizarla como árbol de arranque para la posterior inferencia bayesiana.

Construimos una filogenia con longitudes de rama calibradas a tiempo mediante inferencia bayesiana calibrada en BEAST 2 (Bouckaert et al., 2014) por medio del cluster CIPRES Science Gateway v3.3 (Miller et al., 2010). Con el propósito de permitir que exista variación en las tasas de sustitución entre las distintas ramas del árbol filogenético, fijamos una distribución log normal de las tasas de sustitución, y definimos el modelo de reloj molecular como un modelo de reloj relajado (Magallón, 2020). Utilizamos un modelo de nacimiento y muerte como modelo del árbol filogenético. Realizamos dos análisis independientes de 100,000,000 de generaciones cada uno para la cadena de Markov (MCMC). De acuerdo al manual de BEAST 2 (disponible en <https://taming-the-beast.org/>), para no almacenar más de 10,000 muestras establecimos que la cadena de Markov tomara muestras cada 10,000 generaciones. Un total de 4 calibraciones fueron utilizadas para estimar tiempos de divergencia por medio de calibración de nodos (node-dating). Tres de ellas corresponden a información del registro fósil y la cuarta se basa en un evento biogeográfico. Siguiendo las prácticas estándar (Hedges y Kumar, 2004; Lemey et al., 2009; Ho, 2020) y a Hutter y colaboradores (2017), las calibraciones relacionadas a fósiles se establecieron con base a una distribución lognormal debido a que un fósil puede establecer la edad mínima de un grupo pero dicho grupo puede ser sustancialmente más viejo. En estas, el offset de la distribución corresponde a la edad mínima del fósil, además de tener una media y desviación estándar de 1 en todos los casos. Para la calibración biogeográfica utilizamos una distribución normal para dar oportunidad a que la divergencia de un grupo haya ocurrido antes o después de un evento biogeográfico, debido a la incertidumbre relacionada con la fecha del mismo (Heath, 2015; Ho, 2020). Las calibraciones utilizadas son las siguientes:

(i) Fósil de *Eleutherodactylus*: Poinar y Cannatella (1987) describieron un fósil correspondiente a un espécimen adulto del género *Eleutherodactylus* encontrado en las formaciones de ámbar de La Toca, en República Dominicana (La Española). De acuerdo con datos bioestratigráficos y paleogeográficos, Iturralde-Vinent y MacPhee (1996) asignaron una edad mínima de 15

millones de años para dichas formaciones de ámbar en República Dominicana, por lo cual, utilizamos este valor como la edad mínima del fósil. Poinar y Cannatella (1987) ubican este fósil dentro de *Eleutherodactylus sensu lato* con bastante seguridad. No obstante, en ese entonces, *Eleutherodactylus sensu lato* incluía a grupos hermanos del género *Eleutherodactylus* actual. Por lo anterior, y con base en su ubicación geográfica (el archipiélago Caribeño), utilizamos este fósil para calibrar el nodo corona de *Eleutherodactylus*. Por lo tanto, la distribución log normal de este punto de calibración posee un offset de 15.

(ii) Fósil de *Bufo*: Baez (2000) encontró elementos desarticulados pertenecientes a un espécimen de *Bufo* (*sensu lato*) del Paleoceno tardío encontrado en Itaboraí, Brasil. *Bufo* (*sensu lato*) incluye a todos los géneros de Bufonidae a excepción de *Amazophrynella*, *Atelopus*, *Melanophryniscus* y *Osornophryne* (Pyron y Wiens, 2011). De acuerdo con Báez (2000), este fósil tiene una edad estimada de 55.8-58.7 millones de años (Paleoceno), edad que utilizamos como mínima para este fósil. Debido a que este espécimen no se puede asignar con seguridad al nodo corona de las especies *Rhinella marina* e *Incilius valliceps* presentes en el árbol, fue utilizado para calibrar su nodo troncal, es decir, la divergencia entre dichas especies y al grupo Terrarana (superfamilia *Brachycephaloidea*). Por lo tanto, la distribución log normal de este punto de calibración posee un offset de 55.8.

(iii) Fósil de *Pachycentra taqueti*: Baéz y Rage (1998) describieron un fósil de *Pachycentra taqueti* encontrado en la formación Beceten en Níger. Canatella (2015) asignó a este fósil una edad mínima de 83.6 millones de años que se consideró como edad mínima para este estudio. Baéz y Rage (1998) y Canatella (2015) reconocieron a *P. taqueti* como el fósil más viejo encontrado dentro del grupo corona delimitado por las especies de los géneros *Xenopus* e *Hymenochirus*. Este fósil es particularmente útil para calibrar el nodo corona que incluye a las especies *Xenopus laevis* e *Hymenochirus boettgeri* con una edad mínima de 83.6 millones de años. Por lo tanto, la distribución log normal de este punto de calibración posee un offset de 83.6.

(iv) Emergencia total de Jamaica: Siguiendo a Heinicke y colaboradores (2007), establecimos una calibración biogeográfica para el nodo que incluye al grupo monofilético de *Eleutherodactylus* que se distribuye exclusivamente en la isla de Jamaica. De acuerdo con Donovan (2002), la isla de Jamaica no emergió permanentemente hasta hace 10 millones de años, estableciendo así un valor de media para la distribución normal asociada a la edad de la divergencia del clado de Jamaica. Por lo tanto, la distribución normal posee una media de 10.

Posteriormente examinamos los resultados de cada corrida de manera independiente en Tracer, asegurándonos de que las MCMC hayan mezclado y convergido de manera correcta y de que los tamaños efectivos de muestra (ESS) de los parámetros muestreados sean adecuados (>200). Combinamos los resultados de ambas corridas utilizando LogCombiner. Finalmente, para resumir la inferencia filogenética en un solo árbol, se generó un árbol de máxima credibilidad de clados (MCC) a través de TreeAnnotator, el cual, es el árbol con el producto de las probabilidades posteriores de todos los clados más alto. El árbol de MCC fue utilizado para el análisis de biogeografía histórica. Todos los árboles filogenéticos resultantes en este estudio se visualizaron y manipularon en FigTree (Rambaut, 2010).

4.3. Análisis de biogeografía histórica.

Para inferir la historia biogeográfica de *Eleutherodactylus*, utilizamos el paquete de R (R Core Team, 2021) BioGeoBEARS (Matzke, 2018), el cual permite estimar las áreas geográficas (o rangos, los cuales dentro del contexto de BioGeoBEARS pueden ser un conjunto de dos o más áreas) ancestrales dentro de un marco de máxima verosimilitud comparando modelos con propuestas distintas de cómo se dan eventos de especiación, extinción y colonización de áreas biogeográficas a través de una filogenia fechada. Dadas las preguntas que pretendíamos abordar, utilizamos solo la sección de la filogenia que corresponde a la familia *Eleutherodactylidae* y que contiene los géneros *Eleutherodactylus*, *Diasporus*, *Phyzelaphryne* y *Adelophryne*.

Antes de desarrollar los siguientes pasos es importante recalcar que dentro del contexto del paquete BioGeoBEARS (Matzke, 2018), las palabras “área” y “rango” son diferentes, pues esta es una confusión recurrente en dichos análisis de biogeografía histórica de acuerdo a Matzke (2018). Para realizar un análisis en dicho paquete se establecen diferentes áreas geográficas, como por ejemplo, A, B y C. Así, un rango puede estar compuesto de una o más áreas geográficas. Por ejemplo, ya que existe un área A y un área B, los posibles rangos podrían ser A, B, AB e inclusive un rango nulo dentro de un contexto computacional, aunque esto no tendría sentido biológicamente hablando.

Basándonos en la distribución de la familia *Eleutherodactylidae* establecimos un total de 16 áreas geográficas para el análisis, de las cuales 6 corresponden a las islas del Caribe y 10 al continente. Dentro del continente tomamos en cuenta a Cuba (A), La Española (B), Jamaica (C), Las Bahamas (D), el Banco de Puerto Rico (que además incluye a la Isla de Mona) (E) y a las Antillas menores (F) (Figura 1). En el caso del continente las áreas establecidas son Chihuahua (G), Chiapas Highlands (H), Comanche (I), Tamaulipas (J), Neotropical (K), Sierra Madre del Sur (L), Sierra Madre Oriental (M), Sierra Madre Occidental (N), Faja volcánica trans-mexicana (O) y Sudamérica (P) (Figura 2).

De manera general, nos aseguramos de que las áreas anteriores reflejaran aspectos importantes a los cuales las especies responden, como por ejemplo, geográficos o ecológicos. Así, la mayoría de las áreas están definidas de tal manera que representen una barrera física importante para la dispersión de los organismos. En el caso de las islas, estas están separadas por el mar o, en el caso de las áreas continentales, algunas se encuentran limitadas por grandes estructuras fisiográficas (por ejemplo, la Sierra Madre Oriental, Occidental, del Sur, los Altos de Chiapas e inclusive la Faja Volcánica Transmexicana). Específicamente para las áreas isleñas, tomamos en cuenta dicha definición debido a que ninguna especie de *Eleutherodactylus* se distribuye en más de una isla, por lo tanto cada isla fue definida como un área para el caso de Cuba, La Española, Jamaica, Las Bahamas y el Banco de Puerto Rico (que incluye la isla de Mona). En el caso de Puerto Rico, Las Bahamas o Las Antillas menores, las cuales se componen de una gran cantidad de pequeñas islas, se tomaron como una sola área. Nuestra definición también se basa en el trabajo de regionalización biogeográfica de Morrone y colaboradores (2022). Esta regionalización se realizó con base en la presencia de especies endémicas y criterios climáticos, geológicos y bióticos. En el caso del continente (G-P), definimos las diferentes áreas basándonos en la regionalización biogeográfica Neártica presentada por Escalante y colaboradores (2021), la cual es una propuesta de nomenclatura realizada a partir de una búsqueda y recopilación bibliográfica extensa de diferentes regionalizaciones de América basadas especialmente en endemismos. Escalante y colaboradores (2021) se basan principalmente en la regionalización de

Dice (1943), cuyas áreas (provincias bióticas en el texto original) se caracterizan por tener una vegetación particular, aspectos ecológicos característicos, una fauna peculiar, ciertos patrones climáticos, y una fisiografía y edafología únicas. Así, cada una de las áreas continentales que definimos en este trabajo han sido consideradas en un gran número de regionalizaciones de América hechas por diversos autores a través del tiempo (ver Escalante et al., 2021 para más información sobre estos trabajos).

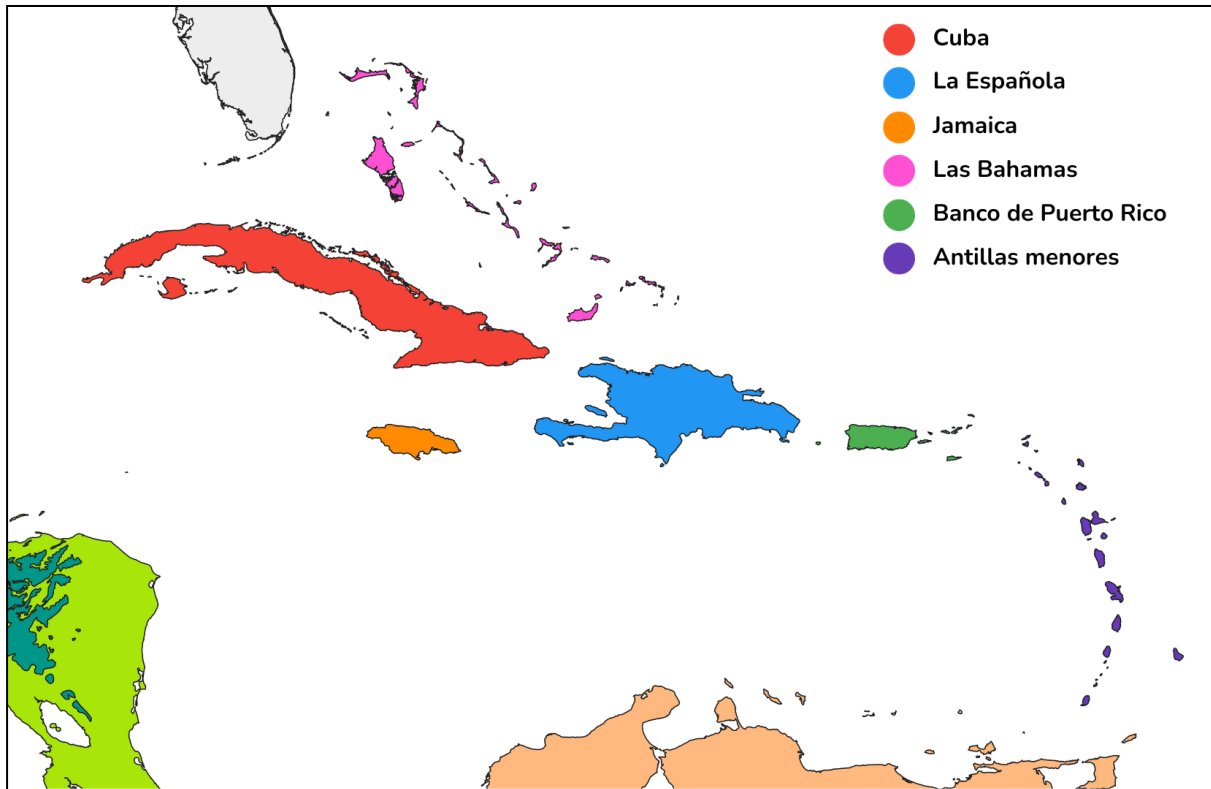


Figura 1. Áreas insulares definidas para el análisis de biogeografía histórica del género *Eleutherodactylus*.

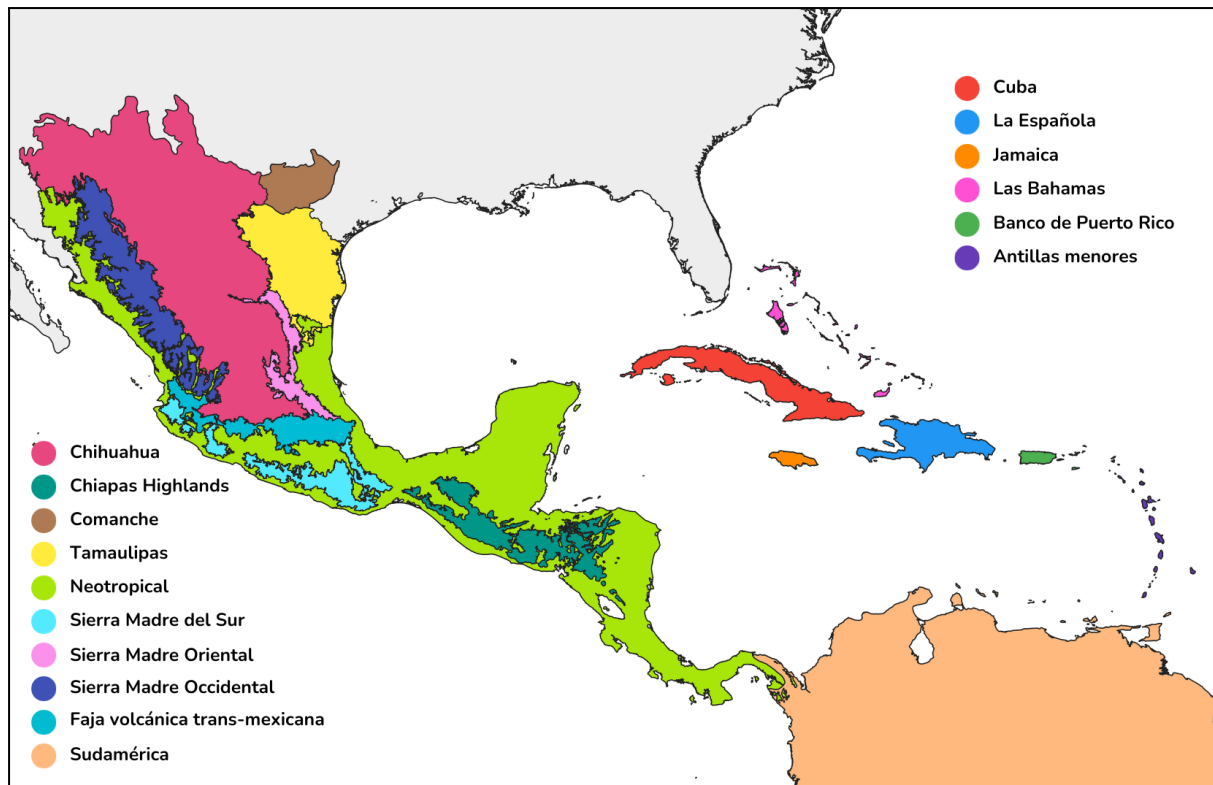


Figura 2. Áreas continentales e insulares definidas para el análisis de biogeografía histórica del género *Eleutherodactylus*.

Basándonos en las distribuciones geográficas de Frost (2023), las especies de *Eleutherodactylus* isleñas no habitan en más de una isla, por lo que su asignación a las áreas establecidas fue sencilla. En el caso de las especies continentales, utilizamos los polígonos de distribución disponibles en la IUCN (2022) y realizamos una intersección con los archivos shape de la regionalización biogeográfica de Escalante y colaboradores (2021) para identificar el área en la que se encontraban dichas especies. Seis especies de *Eleutherodactylus* (*E. erythrochomus*, *E. maculabialis*, *E. nebulosus*, *E. petersi*, *E. sentinelus* y *E. potosiensis*) no poseen polígonos de distribución disponibles en la IUCN (2022), por lo que a partir de registros geográficos reportados en los trabajos originales de descripción de dichas especies, y de información proporcionada por el Departamento de Zoología del Instituto de Biología de la UNAM (Palacios-Aguilar y Santos-Bibiano, 2020; Grünwald et al., 2021; Hernández-Austria et al., 2022; Devitt et al., 2023), construimos sus polígonos de distribución por medio un método de polígono mínimo convexo a través de QGIS (QGIS Development Team, 2023) para posteriormente asignarles un área como las especies restantes.

Como mencionamos anteriormente, BioGeoBEARS (Matzke, 2018) permite implementar diferentes modelos para estimar los rangos geográficos ancestrales a través de una filogenia fechada en el tiempo. Pusimos a prueba un total de seis diferentes modelos biogeográficos utilizando: (1) El Dispersal-Extinction Cladogenesis model (DEC) implementado en LaGrange (Ree y Smith, 2008), (2) una versión de verosimilitud del modelo DIVA (Ronquist, 1997) llamada DIVALIKE y (3) una versión de verosimilitud del modelo bayesiano BayArea (Landis et al., 2013) llamada BAYAREALIKE. BioGeoBEARS permite añadir un parámetro adicional a los modelos anteriores que estima la ocurrencia de especiación por evento fundador por medio de la adición del parámetro libre “J”, un proceso que podría ser particularmente importante para los sistemas

isleños (Matzke, 2014). Así, los tres modelos restantes probados fueron: (4) DEC+J, (5) DIVALIKE+J y (6) BAYAREA+J.

De acuerdo con sitio web de BioGeoBEARS desarrollado por Matzke (<http://phylo.wikidot.com/biogeobears>) y a Ronquist y Sanmartín (2011), todos los modelos de biogeografía histórica mencionados anteriormente asumen procesos diferentes que pueden corresponder a una evolución de rango anagenética y cladogenética. La primera se refiere a la evolución del rango que ocurre a través de un mismo linaje, mientras que la segunda describe una evolución de rango acompañada con la divergencia de un linaje, es decir, con eventos de especiación cladogenética. Dentro de la evolución de rango anagenética se encuentran los procesos de dispersión (o expansión de rango), donde una nueva área se agrega al rango de una especie, y extinción (también llamada extirpación, extinción local o contracción de rango), donde una especie pierde un área de su rango original. Por el lado de la evolución de rango cladogenética encontramos la simpatria reducida (narrow sympatry o duplicación), simpatria amplia (widespread sympatry), simpatria de subconjunto (subset sympatry), vicarianza reducida (narrow vicariance), vicarianza amplia (widespread vicariance), y especiación por evento fundador (también llamada jump dispersal speciation). La simpatria reducida ocurre cuando el rango ancestral contiene una sola área y ambos linajes descendientes heredan dicha área (se considera un proceso de diversificación dentro de una sola área). La simpatria amplia ocurre cuando el rango ancestral es “amplio” o “extendido” y ambos linajes descendientes lo heredan (especiación simpátrica). La simpatria de subconjunto ocurre cuando el rango ancestral también es amplio pero solo un linaje descendiente lo hereda, mientras que el otro hereda solo un área específica. La vicarianza reducida ocurre cuando un linaje descendiente hereda una parte del rango ancestral (generalmente más de una área) y el otro linaje descendiente hereda el resto. La vicarianza amplia ocurre cuando el rango ancestral es amplio y un linaje descendiente hereda una parte de dicha área mientras que el otro hereda la restante. Finalmente el proceso de especiación por evento fundador corresponde al parámetro J antes mencionado. La figura 3 muestra los diferentes modelos de biogeografía histórica puestos a prueba y cada uno de los procesos que consideran.

Debido a que la historia evolutiva de las áreas geográficas y grupos biológicos están estrechamente relacionadas (Ree y Smith, 2008), para cada modelo se realizó un análisis estratificado, el cual, permite definir diferentes probabilidades de dispersión entre áreas a través del tiempo. Ya que para un taxa en particular, el llegar de un área a otra puede no ser lo mismo en la actualidad que en el pasado, en un análisis estratificado se proporciona una matriz de multiplicadores de dispersión (dispersal multipliers) donde se especifica la probabilidad relativa de dispersión entre un área y otra. Por ejemplo, la probabilidad relativa de llegar a cualquier área del continente a partir de Cuba no sería la misma hace 55 Mya que en la actualidad, pues en ese entonces Cuba aún no emergía (Iturralde-Vinent, 2006). Así, tomando en consideración la historia geológica de las Islas del Caribe (Iturralde-Vinent y MacPhee, 1999; Iturralde-Vinent, 2006) y del Norte de América (Moran-Zenteno y Wilson, 1994; Ferrari et al., 2000; Ferrari et al., 2012; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2013; Scotese, 2014) definimos matrices de multiplicadores de dispersión para cinco periodos de tiempo diferentes que incluyen probabilidades que van del 0 a 1 (Tabla S2). Finalmente, utilizamos un Criterio de Información de Akaike (AIC) para definir el modelo con el mejor ajuste a los datos.

	Proceso	Rango		DEC	DIVALIKE	BAYAREA LIKE
		Antes	Después			
Anagenéticos	Dispersión					
	Extinción					
	Simpatría (reducida)					
	Simpatría (amplia)					
Cladogenéticos	Simpatría (subconjunto)					
	Vicarianza (reducida)					
	Vicarianza (amplia)					
	Especiación por evento fundador					
				Solo su versión +J	Solo su versión +J	Solo su versión +J

Figura 3. Modelos de evolución de rango para el análisis de biogeografía histórica de BioGeoBEARS. Imagen modificada del sitio web de BioGeoBEARS (<http://phylo.wikidot.com/biogeobears>).

5. Resultados.

5.1. Recolección de datos moleculares.

Nuestro conjunto de datos moleculares incluye secuencias de ADN para seis marcadores (16S, 12S, coi, cytb, rag1, tyr) de 224 especies, de las cuales, 186 pertenecen al género *Eleutherodactylus*, teniendo así aproximadamente el 89% de las especies descritas. De estas 186 especies, 148 son isleñas y 38 continentales, representando así el 89.15% y 86.37% de la riqueza de especies respectivamente (para mayores detalles ver Tabla 1). Las 38 especies restantes (que no son *Eleutherodactylus*) funcionan como grupo externo y abarcan especies de 24 géneros distintos (entre ellos, *Diasporus*, *Phyzlaphryne*, y *Adelophryne* que, en conjunto, conforman a la familia Eleutherodactylidae).

Tabla 1. Representatividad de datos moleculares del género *Eleutherodactylus*.

Grupo.	Especies totales.	Especies incluídas en las bases de datos moleculares.	Representatividad de datos.
<i>Eleutherodactylus</i> (género).	210	186	88.57%
<i>Eleutherodactylus</i> isleñas.	166	148	89.15%
<i>Eleutherodactylus</i> continentales.	44	38	86.37%

5.2. Inferencia filogenética y tiempos de divergencia.

La matriz concatenada que generamos incluye 4539 caracteres (incluyendo gaps) para seis marcadores de ADN (16S, 12S, coi, cytb, rag1, tyr) y 224 especies. El análisis de ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) identificó un esquema de tres particiones con sus respectivos modelos evolutivos como el más adecuado para la matriz concatenada de seis marcadores (Tabla 2).

Tabla 2. Mejor esquema de particiones y modelos evolutivos de acuerdo a ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) a través de un BIC. GTR: modelo de sustitución nucleotídica de tiempo general reversible. HKY: modelo de sustitución nucleotídica de Hasegawa–Kishino–Yano. I: Frecuencias de las bases empíricas. G4: Distribución gamma partida en cuatro para considerar la variación de las tasas de sustitución en diferentes sitios.

Partición.	Marcadores de ADN.	Modelo evolutivo.
1	12S, 16S y primeras y segundas posiciones del codón de COI y cytb.	GTR+F+I+G4
2	Terceras posiciones del codón de COI y cytb.	GTR+F+G4
3	rag y tyr.	HKY+F+I+G4

Obtuvimos un árbol de máxima verosimilitud y un árbol de máxima credibilidad de clados (MCC) con inferencia bayesiana que eran similares en cuanto a las relaciones de las especies (figura 4). Los resultados de los archivos trace de la MCMC utilizada para generar la inferencia bayesiana analizados en Tracer fueron consistentes con la idea de un buen mezclado y convergencia para la búsqueda de los valores de probabilidad posterior. Además, los valores de probabilidad posterior del árbol de MCC muestran un gran soporte para la mayoría de los clados (específicamente, una probabilidad posterior de 1 para el todos los subgéneros y el grupo continental de *Eleutherodactylus*)(figura S3).

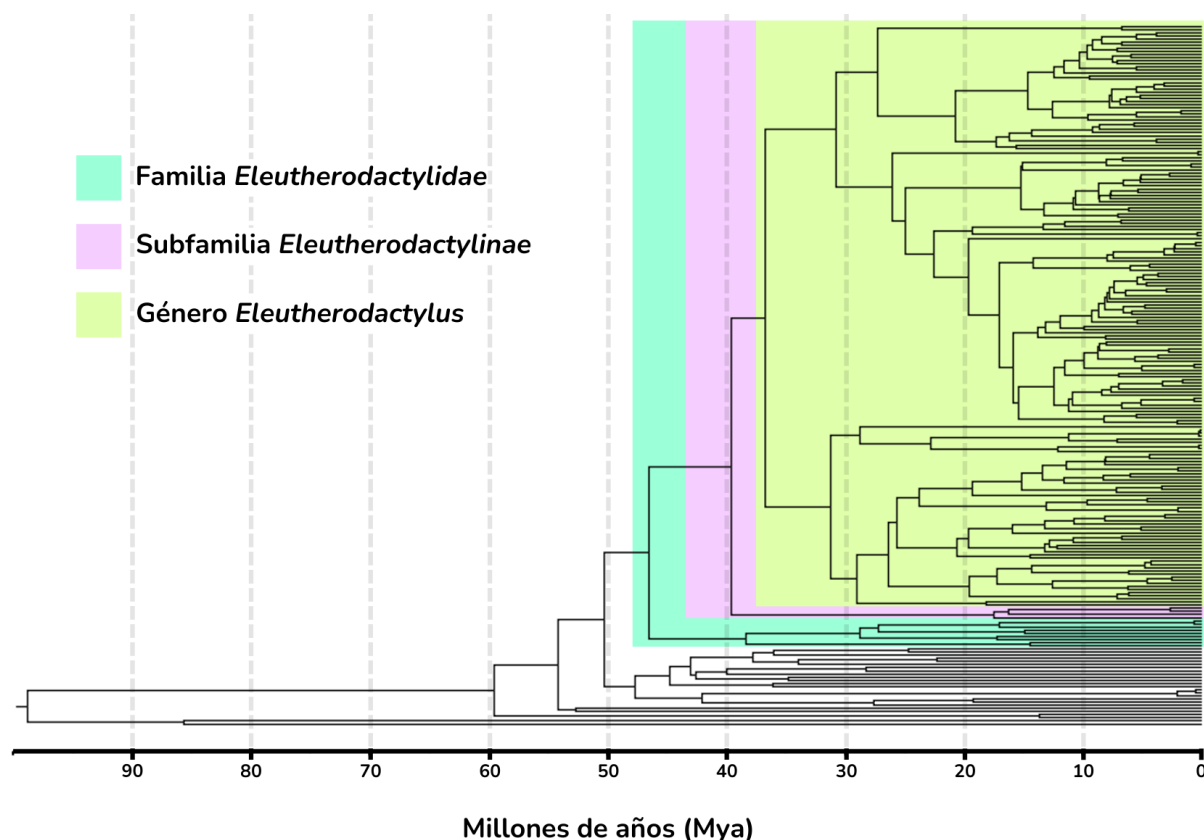


Figura 4. Árbol filogenético fechado de máxima credibilidad de clados (MCC) a partir de inferencia bayesiana para el género *Eleutherodactylus* y grupos externos.

Tanto en el árbol de máxima verosimilitud como en el que resultó de la inferencia bayesiana, se observan las dos subfamilias de *Eleutherodactylidae*: *Phyzelaphryninae* y *Eleutherodactylinae*. La primera incluye los géneros *Phyzelaphryne* y *Adelophryne*, mientras que la segunda abarca los géneros *Eleutherodactylus* y *Diasporus*, por lo que este grupo se mantiene como hermano de *Eleutherodactylus*. Así, nuestros resultados apoyan estas relaciones que también fueron sugeridas en estudios previos (Hedges et al., 2008; Fouquet et al., 2012; Padial et al., 2014; Dugo-Cota et al., 2019).

En ambas hipótesis filogenéticas también se representaron los cinco subgéneros de *Eleutherodactylus* propuestos por Hedges y colaboradores (2008) y recuperados en la inferencia filogenética de Dugo-Cota y colaboradores (2019): *Eleutherodactylus*, *Pelorius*, *Schwartzius*,

Euhyas y *Syrrhophus*. Los primeros tres conforman el clado del Este, mientras que los últimos dos el clado del Oeste (Hedges et al., 2008; Dugo-Cota et al., 2019). El clado del Este incluye a muchas especies que se distribuyen en Cuba y La Española, a la mayoría de especies que se distribuyen naturalmente en el banco de islas de Puerto Rico y al total de las que habitan en las Antillas menores. Por otro lado, el clado del Oeste también incluye a una gran cantidad de especies de Cuba y la Española, pero además abarca el grupo monofilético de especies que se distribuyen exclusivamente en Jamaica, a la única especie que se encuentra en Las Bahamas (*E. rogersi*) y el grupo de anuros continentales que son en su mayoría del subgénero *Syrrhophus*.

Con respecto al subgénero *Syrrhophus*, tanto en la filogenia de máxima verosimilitud como en la bayesiana se recuperan los cuatro clados propuestos por Hernández-Austria y colaboradores (2022): (1) *E. symingtoni*, (2) *E. longipes*, (3) *E. modestus* y (4) *E. nitidus*. Un aspecto bastante importante es que el clado *E. symingtoni* es grupo hermano de los clados restantes e incluye solo a *E. symingtoni* y *E. zeus*, las cuales, son las únicas dos especies isleñas (distribuidas en Cuba) dentro del subgénero *Syrrhophus*. Los clados restantes representan a todas las especies continentales de todo el subgénero y género, las cuales forman un grupo monofilético y sugieren por lo tanto un único evento de colonización al continente dentro del género *Eleutherodactylus*.

Los resultados de la inferencia bayesiana fechada indican que la divergencia entre el género *Eleutherodactylus* y *Diasporus* ocurrió hace aproximadamente 39.55 Mya (95% HPD: 34.75-43.91 Mya) en el Eoceno. Los clados del Este y Oeste se originaron, y posteriormente se diversificaron, a partir de la divergencia de un linaje ancestral de *Eleutherodactylus* hace 36.69 Mya (95% HPD: 32.35-40.98 Mya) en el Eoceno tardío. Por lo tanto, la dispersión hacia las islas del Caribe que dio origen al género *Eleutherodactylus* pudo haber ocurrido en el intervalo de las dos fechas anteriores (36.69-39.55 Mya), es decir, a finales del Eoceno. Los resultados también sugieren que posiblemente todos los subgéneros de *Eleutherodactylus* ya se habían originado a finales del Eoceno y principios del Oligoceno. Además, tomando en cuenta el intervalo de tiempo entre el nodo troncal y corona de las especies continentales, la colonización del continente a partir de las islas pudo haber ocurrido desde hace 27.28 Mya (95% HPD: 23.17-31.18 Mya) a 20.72 Mya (95% HPD: 17.49-24.21).

5.3. Análisis de biogeografía histórica.

Los resultados de todos los modelos biogeográficos puestos a prueba en BioGeoBEARS concuerdan en que el rango ancestral más probable para el subgénero *Syrrhophus* es Cuba, por lo que, al igual que la filogenia calibrada en el tiempo, los resultados soportan las dos hipótesis planteadas en este proyecto: (1) La colonización del continente ocurrió a partir de Cuba y (2) este fue un único evento de colonización.

De acuerdo con los resultados, el modelo con el mejor ajuste a los datos fue BAYAREALIKE+J (LnL = -250.6; AICw = 0.62), seguido del modelo BAYAREALIKE (LnL = -252; AICw = 0.38) (Tabla 3). No obstante, aunque dentro del contexto de la estadística inferencial esto tenga sentido, consideramos que estos no reflejan de manera general lo que se conoce hasta el momento acerca del género *Eleutherodactylus*. A pesar de que los resultados de BAYAREALIKE+J y BAYAREALIKE apoyan las hipótesis del proyecto, la inferencia de los rangos ancestrales de otros nodos arrojan resultados que contrastan con la evidencia paleogeográfica y biogeográfica que se tiene del grupo (Figura S3). Por ejemplo, se observa que el rango ancestral más probable

para el clado del Oeste está compuesto por Cuba, La Española y Jamaica (ABC). Dicha estimación se mantiene para muchos de los nodos de este grupo. Este resultado es algo sorprendente debido a que (1) Cuba y La Española siempre han estado separadas de Jamaica por una barrera física (el mar) desde sus orígenes hasta la actualidad (Iturralde-Vinent, 2006), (2) toda la evidencia paleogeográfica disponible indica que Jamaica es una isla mucho más joven en comparación con Cuba y La Española y (3) ninguna especie de *Eleutherodactylus* actual habita en más de una isla. El mismo problema se observa en la estimación del rango ancestral más probable del nodo corona de *Eleutherodactylus*, el cual, consiste en La Española y Jamaica (BC). Consideramos que esto es debido a la naturaleza del modelo BAYAREALIKE (y su variante +J), el cual, asume que no ocurre una evolución de rango en la cladogénesis y asume que la simpatria amplia (widespread sympatry) es el único proceso posible (Landis et al., 2013). Además, al observar la tabla 3, los parámetros de dispersión estimados para BAYAREALIKE y su variante +J son bastante bajos en comparación con los demás modelos. Esto tampoco hace juego con los conocimientos previos sobre el género, pues se sabe que la dispersión ha jugado un papel importante en la historia biogeográfica de *Eleutherodactylus* (Hedges, 2001; Hedges, 2006; Heinicke et al., 2007, Dugo-Cota et al., 2019). Sumado a esto, los modelos DEC y DIVALIKE, así como sus variantes +J, son mucho más congruentes entre sí en comparación con los modelos BAYAREALIKE (y su variante +J), lo que podría sugerir que biológicamente podrían ser más plausibles.

Tabla 3. Parámetros estimados, valores de verosimilitud y AIC de los resultados de los modelos biogeográficos probados en BioGeoBEARS. LnL = Logaritmo natural de la verosimilitud; d = tasa de dispersión; e = tasa de extinción; j = tasa de especiación por efecto fundador; AIC = criterio de información de Akaike; AICw = peso del modelo.

Modelo	LnL	Parámetros estimados.				AIC	AICwt
		Número	d	e	j		
DEC	-308.3	2	0.0056	0.066	0	620.7	0
DEC+J	-308.6	3	0.0060	0.085	1.0e-05	623.2	0
DIVALIKE	-316.7	2	0.0064	0.095	0	637.4	0
DIVALIKE+J	-316.3	3	0.0059	0.086	0.0029	638.6	0
BAYAREALIKE	-252	2	0.0024	0.074	0	508.1	0.38
BAYAREALIKE+J	-250.6	3	0.0022	0.074	0.0025	507.1	0.62

Tomando en cuenta lo anterior y debido a que sugerimos que los resultados del modelo BAYAREALIKE y su variante +J no reflejan la biología del género *Eleutherodactylus*, y esto se debe a la naturaleza del mismo modelo, decidimos descartarlos y tomar en consideración únicamente los modelos DEC, DEC+J, DIVALIKAE y DIVALIKE+J, los cuales a diferencia del modelo BAYAREALIKE y su variante +J si toman en cuenta procesos de vicarianza para los eventos cladogenéticos (figura 3). Así, la comparación de estos modelos muestra que el modelo con el mejor ajuste a los datos fue DEC (LnL = -308.3; AICw = 0.78), seguido del modelo DEC+J (LnL = -308.6; AICw = 0.22) (Tabla 4).

Tabla 4. Parámetros estimados, valores de verosimilitud y AIC de los resultados de los modelos biogeográficos probados en BioGeoBEARS a excepción de BAYAREALIKE y BAYAREALIKE+J. LnL = Logaritmo natural de la verosimilitud; d = tasa de dispersión; e = tasa de extinción; j = tasa de especiación por efecto fundador; AIC = criterio de información de Akaike; AICwt = peso del modelo.

Modelo	LnL	Parámetros estimados.				AIC	AICwt
		Número	d	e	j		
DEC	-308.3	2	0.0056	0.066	0	620.7	0.78
DEC+J	-308.6	3	0.0060	0.085	1.0e-05	623.2	0.22
DIVALIKE	-316.7	2	0.0064	0.095	0	637.4	0
DIVALIKE+J	-316.3	3	0.0059	0.086	0.0029	638.6	0

De acuerdo con los resultados del modelo DEC (figura 5), el rango ancestral más probable del nodo más profundo, así como el que incluye a *Eleutherodactylus* y *Diasporus* permanece ambiguo debido a que al ser uno de los nodos más internos dentro de la filogenia, la estimación es menos precisa. Esto se refleja en la gran cantidad de áreas y/o rangos ancestrales con probabilidades similares para ese nodo. Se sugiere a La Española como el área ancestral más probable para *Eleutherodactylus*. Aunque menor, Cuba también representa una alta probabilidad. Lo anterior es similar a la idea anteriormente propuesta de que una de estas dos grandes islas es donde posiblemente se originó el género (Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019). En línea con Dugo-Cota y colaboradores (2019), el clado del Este posiblemente se originó en La Española y el clado del Oeste en Cuba. Dentro del clado del Este se observan dos colonizaciones independientes a Cuba y Puerto Rico y una a Las Antillas menores. Dentro del clado del Oeste hubo al menos cinco colonizaciones de La Española (siendo la representada por *E. grahami* la más reciente), dos a Puerto Rico, y una única colonización de Jamaica y del continente. Como mencionamos anteriormente, los resultados del modelo DEC y de todos los demás modelos biogeográficos muestran que el rango ancestral más probable para el subgénero *Syrrhophus* es Cuba, lo que sugiere que la colonización del continente por parte de las especies isleñas ocurrió a partir de dicha isla. Esto se puede ver con más detalle en la figura 6, que muestra más a detalle los resultados del modelo DEC solamente para el subgénero *Syrrhophus*.

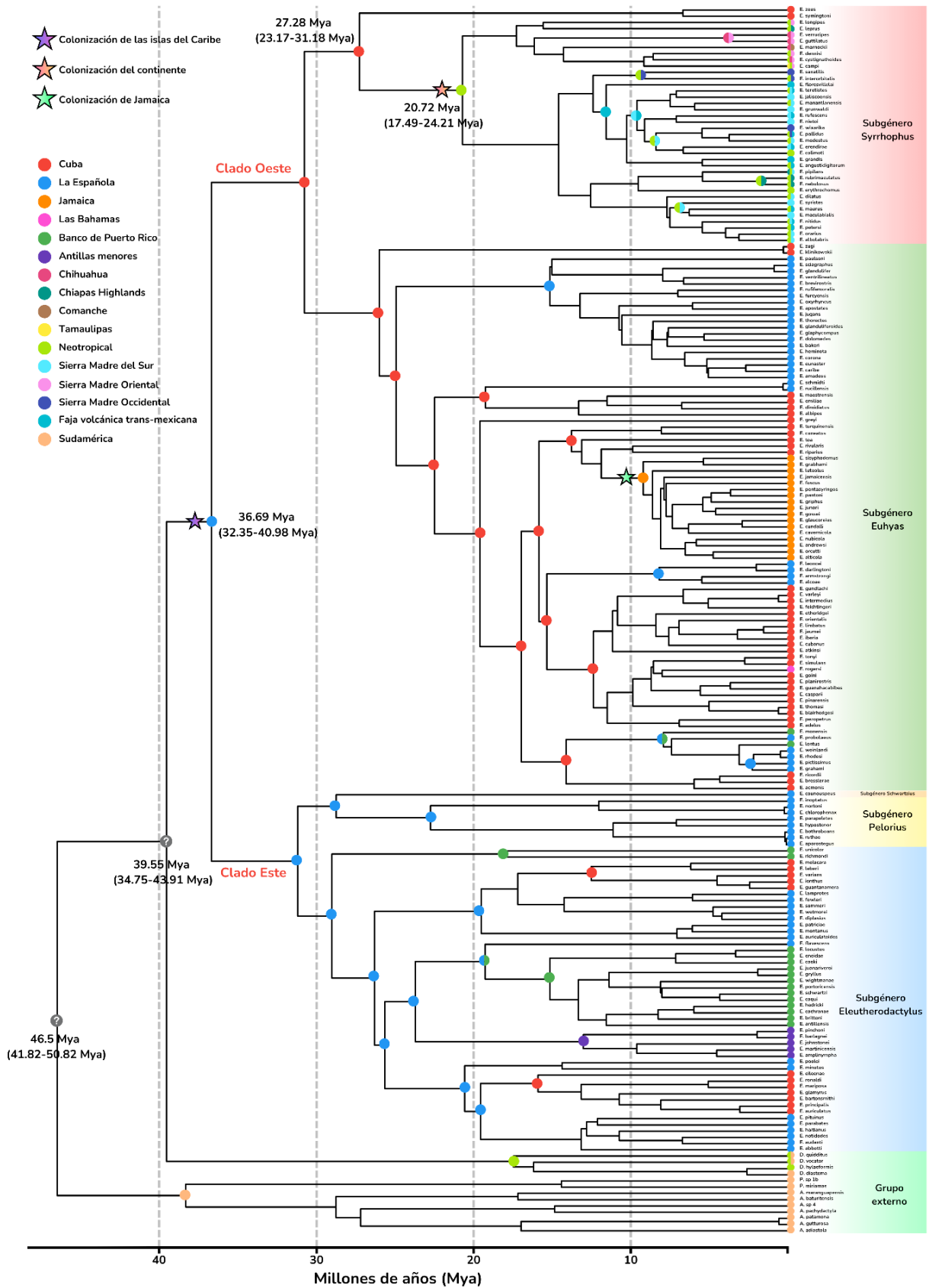


Figura 5. Resultados del análisis de biogeografía histórica para el modelo más apoyado (DEC) en BioGeoBEARS. El color de los nodos internos corresponde a la estimación del rango ancestral más probable. El color de los nodos terminales corresponde al área de distribución actual de la especie. Omitimos los nodos internos que no aportan información adicional.

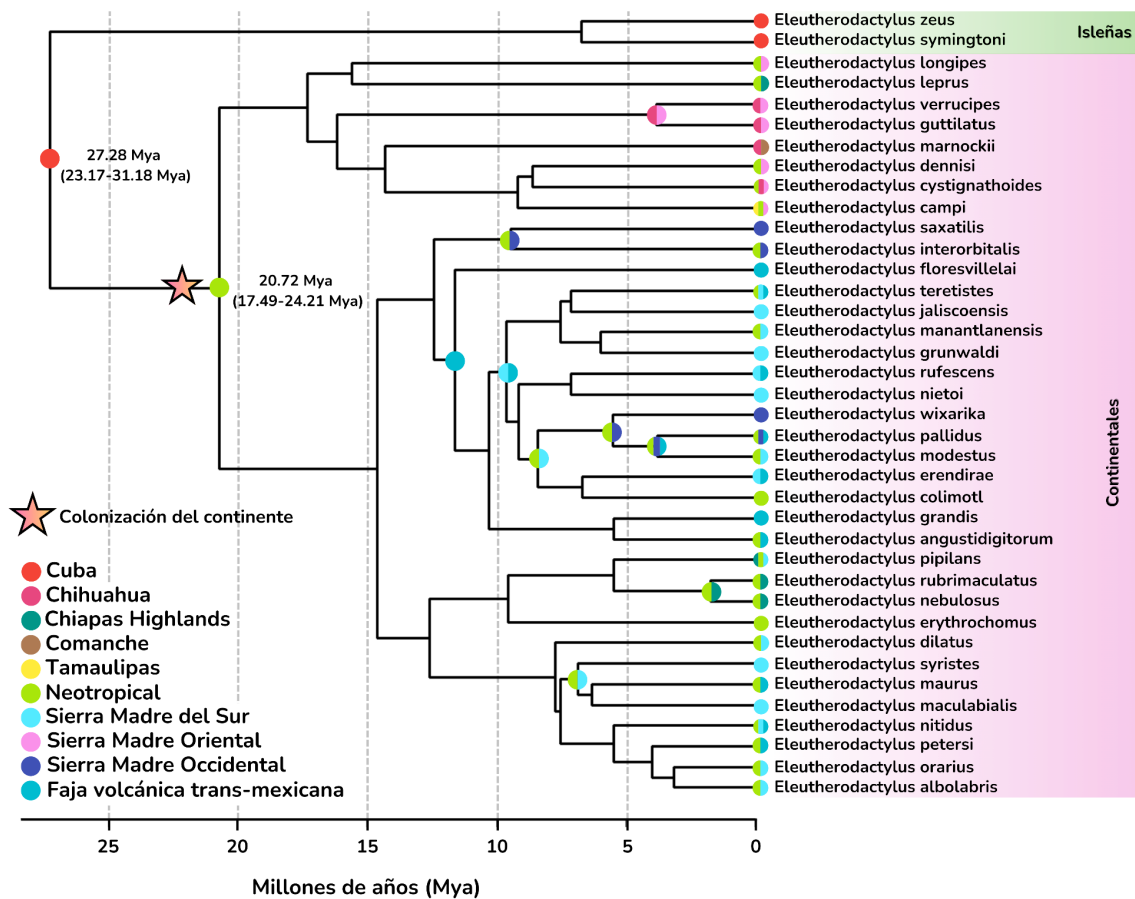


Figura 6. Resultados del análisis de biogeografía histórica para el modelo más apoyado (DEC) en BioGeoBEARS para el subgénero *Syrrhophus*. El color de los nodos internos corresponde a la estimación del rango ancestral más probable. El color de los nodos terminales corresponde al área de distribución actual de la especie. Para mayor claridad, omitimos los nodos internos que no aportan información adicional.

6. Discusión.

6.1. Resultados generales.

Los resultados del estudio muestran una hipótesis filogenética con inferencia bayesiana a partir de información molecular del género *Eleutherodactylus*. Esta filogenia es bastante robusta debido a que incluye a la mayoría de las especies del género y se basa en marcadores tanto mitocondriales como nucleares, además de que la mayoría de los nodos muestran una probabilidad posterior elevada y se encuentra calibrada en el tiempo. En esta filogenia se observa que la mayoría de las relaciones filogenéticas son similares a estudios previos y que la divergencia entre *Eleutherodactylus* y *Diasporus* ocurrió hace aproximadamente 39.55 Mya (95% HPD: 34.75-43.91 Mya) en el Eoceno. Además, esto nos permitió llevar a cabo un análisis de biogeografía histórica que soportó ambas hipótesis propuestas, pues los resultados sugieren que la colonización del continente por parte de las especies de *Eleutherodactylus* ocurrió a partir de la isla de Cuba entre el Oligoceno y Mioceno y que, dicha colonización fue un único evento.

6.2. Sobre la inferencia filogenética y tiempos de divergencia.

6.2.1. Diferencias en la inferencia filogenética y tiempos de divergencia en este estudio y con respecto a otros.

Las relaciones filogenéticas entre las especies resultantes del árbol de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana son muy similares entre sí, como era de esperarse. En ambas filogenias, y en línea con el trabajo de Dugo-Cota y colaboradores (2019), se soportan los cinco subgéneros de *Eleutherodactylus* (*Eleutherodactylus*, *Pelorius*, *Schwartzzius*, *Euhyas* y *Syrrhophus*). Con respecto al subgénero *Syrrhophus*, representado en su mayoría por especies que habitan únicamente en el continente, en ambas filogenias se recuperan los cuatro clados propuestos por uno de los estudios más completos sobre las relaciones filogenéticas dentro de este grupo: *E. symingtoni*, *E. longipes*, *E. modestus* y *E. nitidus*. (Hernández-Austria et al., 2022). Las diferencias en cuanto a las relaciones de las especies entre nuestra filogenia y la presentada por Hernández-Austria y colaboradores (2022) probablemente se deban a los diferentes soportes de los nodos.

Aunque nuestras filogenias sean bastante similares a las de Dugo-Cota y colaboradores (2019) y Hernández-Austria y colaboradores (2022) con respecto a los grandes grupos, también existen pequeñas diferencias entre algunas de las relaciones de las especies. Con respecto a los resultados de Hernández Austria y colaboradores (2022), quienes también generaron árboles filogenéticos de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana, las diferencias pueden deberse principalmente a la adición de marcadores moleculares, pues aunque utilizamos la misma información molecular (secuencias de ADN) para los marcadores mitocondriales 16S, COI y Cyt b, en este trabajo agregamos el marcador 12S y secuencias de ADN de genes nucleares correspondientes a Rag 1 y Tyr. Con relación a la hipótesis filogenética presentada por Dugo-Cota y colaboradores (2019), la cual es únicamente de inferencia bayesiana, debido a que utilizamos las mismas secuencias de ADN y marcadores moleculares para las especies de *Eleutherodactylus*, las diferencias probablemente se puedan deber a alguno o ambos de los siguientes factores y consideraciones: (1) El uso distinto de un esquema de partición para los datos y modelos de evolución, así como sus parámetros. Mientras que en el presente trabajo utilizamos tres particiones distintas y los modelos GTR y HKY (tabla 2), Dugo-Cota y colaboradores (2019) utilizaron una partición para los marcadores mitocondriales y otra para los nucleares y un modelo GTR para ambas. (2) Posibles diferencias en el alineamiento de secuencias que, a su vez, se puede ver afectado por las diversas especies incluidas en este.

En el caso de los tiempos de divergencia, también existen algunas diferencias con respecto a otros estudios. Por ejemplo, nuestros resultados indican que los clados del Este y Oeste se originaron con la divergencia de un linaje ancestral de *Eleutherodactylus* hace 36.69 Mya (95% HPD: 32.35-40.98 Mya) en el Eoceno tardío y que la colonización del continente a partir de las islas ocurrió entre 27.28 Mya (95% HPD: 23.17-31.18 Mya) y 20.72 Mya (95% HPD: 17.49-24.21). Estas son edades más tempranas que las estimadas por estudios previos que analizaron los tiempos de divergencia del género (Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019). Estas diferencias pueden deberse también a los modelos evolutivos, el alineamiento y, especialmente, al diferente número de generaciones y muestreo en la MCMC. Sin embargo, otros parámetros previos (priors) utilizados podrían causar un efecto, como por ejemplo: (1) aplicación de un modelo de reloj molecular diferente. Esto último puesto que BEAST 2

(Bouckaert et al., 2014) permite elegir entre distintos tipos de relojes moleculares, la elección de este puede afectar las estimaciones de las edades de los nodos obtenidas; (2) el uso de diferentes fósiles y eventos para calibrar nodos, así como la calidad de estos, su posible ubicación dentro de la filogenia en el caso de los fósiles y los parámetros asociados a estos (Ho, 2020). Por ejemplo, el tipo de distribución de probabilidad paramétrica para asignar una edad a un nodo puede tener un efecto importante en las estimaciones (Heath et al., 2014). Algo importante a recalcar es que el fósil de *Eleutherodactylus* encontrado en un depósito de ámbar en República Dominicana que fue utilizado en el presente estudio, ha sido también tomado en cuenta para calibrar este grupo en otros estudios (Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019), no obstante, en ese entonces el género *Eleutherodactylus* incluía más especies que hoy taxonómica y sistemáticamente están fuera del género; (3) las especies externas utilizadas en la inferencia filogenética, así como su representatividad en comparación con el grupo interno, pues estas están bastante menos muestreadas en la filogenia.

Las diferencias entre nuestros resultados y los mencionados anteriormente subrayan la influencia de que la elección de ciertos aspectos metodológicos puede ejercer en la inferencia de las relaciones filogenéticas y tiempos de divergencia entre las especies (Lemey et al., 2009; Ho, 2020).

6.3. Biogeografía histórica de *Eleutherodactylus*.

Como mencionamos en los resultados, decidimos descartar los modelos BAYAREALIKE y su variante +J debido a que consideramos que sus supuestos no reflejan la biología del género *Eleutherodactylus* ni son congruentes con la información sobre la historia geográfica bastante soportada que se tiene de dicho grupo hasta el momento. La razón de esto podría deberse a que la simpatría amplia como único proceso cladogenético posible y la baja dispersión asociada al modelo BAYAREALIKE y su variante +J probablemente restringen a que la única forma de que algunas especies actuales habiten ciertas áreas es que su ancestro habite un rango compuesto por todas esas áreas. Debido a esto, tomamos en cuenta únicamente los cuatro modelos restantes, resultando en el modelo DEC como el más apoyado. Esto resalta la idea de que un modelo dentro del campo de la biología puede tener un buen ajuste a los datos o ser estadísticamente significativo pero a la vez no reflejar la biología bien documentada de un grupo de organismos.

El modelo DEC es similar a los otros modelos puestos a prueba en cuanto a los procesos anagenéticos que permiten (dispersión y extinción). Incluso la simpatría reducida, un proceso cladogenético, está permitida en todos los modelos. No obstante, en cuanto a los procesos cladogenéticos restantes existen algunas diferencias importantes. DEC toma en cuenta un proceso de vicarianza reducida donde un rango ancestral, generalmente compuesto por más de un área, da origen a un linaje que hereda parte de dicho rango ancestral, mientras que el otro linaje descendiente hereda la parte restante. Este proceso también está permitido en los modelos DEC +J, DIVALIKE y DIVALIKE +J, pero no en BAYAREALIKE y su versión +J. Así mismo, el modelo DEC permite un proceso de simpatría de subconjunto que no se considera en ningún otro modelo (a excepción de la versión +J de DEC). La simpatría de subconjunto ocurre cuando el rango ancestral es amplio y uno de los dos linajes descendientes hereda dicho rango, mientras que el otro hereda solamente un área específica. El hecho de que el modelo DEC sea el más apoyado de acuerdo a nuestros resultados, seguido del modelo DEC+J, sugiere que el proceso de

simpatría de subconjunto es particularmente importante para *Eleutherodactylus* debido a que este es el único modelo que considera dicho proceso.

A continuación discutimos los resultados del análisis de biogeografía histórica, específicamente los del modelo DEC, de manera separada para un mejor entendimiento.

6.3.1. El posible origen geográfico de *Eleutherodactylus* en las islas del Caribe.

Los resultados del modelo DEC sugieren que el rango ancestral más probable para todo *Eleutherodactylus* es La Española (figura 5). No obstante, Cuba también es estimada como una posible area ancestral, aunque con una probabilidad menor que la Española (figura S3). Esto permite plantear la idea de que el posible origen geográfico de *Eleutherodactylus* en las islas del Caribe corresponde a una de estas dos islas, lo que concuerda con lo propuesto por Heinicke y colaboradores (2007) y Dugo-Cota y colaboradores (2019). Algunos aspectos que podrían apoyar esta idea son: primero, la presencia o ausencia de un área en un momento determinado en el tiempo puede o no descartar directamente el origen geográfico de un grupo. De acuerdo a nuestros resultados el origen del género en las islas pudo haber ocurrido a finales del Eoceno (específicamente en el intervalo de hace 36.69-39.55 Mya), y en ese entonces, La Española y Cuba eran de las únicas masas de tierra extensas que se estima estaban emergidas (hace aproximadamente 40 Mya), y permanecieron así, en el archipiélago Caribeño (Iturralde-Vinent y MacPhee, 1999; Iturralde-Vinent, 2006), por lo que tiene sentido pensar que el linaje de *Eleutherodactylus* pudo haber llegado a dichas islas en ese tiempo; segundo, tanto La Española como Cuba son las dos islas del Caribe que poseen la mayor diversidad de especies de *Eleutherodactylus*, pues más del 70% de las especies isleñas de género se distribuyen en estas dos islas, aproximadamente el 39% se distribuye únicamente en La Española y un 34% exclusivamente en Cuba (Frost, 2023). Esto podría relacionarse con el hecho de que estas son las islas más grandes de la región, lo que resultaría en tener una mayor cantidad de especies. No obstante, el hecho de que podrían representar el origen geográfico del grupo también permitiría observar este patrón.

Una pregunta igual de interesante que saber cuál es el origen antillano de *Eleutherodactylus* es saber a partir de dónde y cómo fue qué el linaje ancestral de este grupo llegó a las islas. Como se describe con más detalle en los siguientes párrafos, el origen de *Eleutherodactylus* en las islas posiblemente se deba a un proceso de dispersión sobre el mar a partir de Sudamérica.

Los resultados del análisis de biogeografía histórica no permiten proponer con seguridad un área a partir de la cual se llevó a cabo dicha dispersión sobre el agua, pues el rango ancestral más probable del nodo que incluye tanto a *Eleutherodactylus* como su grupo hermano *Diasporus* permanece incierto. Afortunadamente la reconstrucción filogenética que generamos en este estudio puede ayudarnos a resolver este problema. El hecho de que *Diasporus* se distribuye geográficamente de manera exclusiva en Sudamérica y Centroamérica sugiere que la dispersión hacia las islas que dio origen a las *Eleutherodactylus* caribeñas ocurrió a partir de dichos lugares. Además, esto concuerda con las direcciones de las corrientes de agua y huracanes importantes que podrían haber contribuido a la dispersión de estos organismos que van desde el Sur al Norte de América (Hedges, 2001; 2006).

A primera instancia, puede parecer sorprendente y difícil de creer que un grupo de organismos vertebrados, como lo son las ranas, hayan llegado a una isla a partir del continente a través de la dispersión sobre el agua, dada la importante barrera física que representa el mar. Sin embargo, existen múltiples factores y evidencias que respaldan esta posibilidad, como por ejemplo, la existencia de corrientes marinas cuya fuerza y dirección transportan a los organismos terrestres por el mar y por largas distancias a través de balsas de vegetación, características de la biodiversidad de los grupos isleños y los tiempos de divergencia de muchas especies del Caribe (Guppy, 1917; Kings, 1962; Heatwole y Levins, 1972; Henderson et al., 1995; Censky et al., 1998; Knapp, 2000; Hedges, 2001; 2006; Heinicke et al., 2007; Ali y Hedges, 2021). No obstante, estos aspectos se describen con más detalle más adelante. Además de la dispersión sobre el mar, han existido diferentes propuestas de modelos sobre cómo los animales vertebrados en general llegaron a las islas del Caribe, entre ellas, por medio de un proceso de vicarianza y por medio dispersión a través de un puente terrestre (Hedges, 2006). Sin embargo, estas han sido mucho menos apoyadas en los últimos años.

Con respecto al modelo de vicarianza, este sugiere que el origen de *Eleutherodactylus* y de otros vertebrados terrestres en las islas podría haber ocurrido debido a una fragmentación de una masa continua de tierra del Cretácico tardío llamada “proto-Antillas”, la cual estaba localizada entre Norteamérica y Sudamérica y que se desplazó hacia el Este, llevando consigo cierto grupo de organismos (Savage, 1982; Heinicke et al., 2007). Sin embargo, posiblemente la prueba más contundente para descartar el modelo de vicarianza son las edades de los diferentes grupos de vertebrados terrestres del archipiélago Caribeño, pues para apoyar dicho modelo se requiere que estas correspondan al Cretácico tardío, pero estas son mucho más recientes (Hedges, 2021). Para el caso particular de *Eleutherodactylus*, nuestros resultados e inclusive los de otros trabajos que obtuvieron edades contrastantes para este género, arrojan edades más recientes que el Cretácico tardío (a finales del Eoceno para nuestro estudio y entre el Oligoceno y el Mioceno para el trabajo de Dugo-Cota y colaboradores (2019)). Además, no hay información paleogeográfica relevante para apoyar el modelo de vicarianza (Hedges, 2006).

En cuanto al modelo que se basa en la existencia de un puente terrestre, específicamente el llamado puente Aves (Aves ridge), que actualmente se encuentra debajo del océano, se propone que este pudo fungir como una conexión entre Sudamérica y las Antillas mayores a mediados del Cenozoico, específicamente hace 35-33 Mya (Iturralde-Vinent y MacPhee, 1999; Iturralde-Vinent, 2006). Lo anterior es un aspecto que a su vez forma parte de la hipótesis conocida como GAARLandia, la cual propone que las Antillas mayores y el puente Aves (cuando estuvo expuesto) formaron una conexión terrestre más o menos continua que conectaba con Sudamérica (siendo así que GAARLandia proviene del acrónimo Greater Antilles-Aves Ridge) (Tong et al., 2019). No obstante, las personas que han propuesto la existencia del puente Aves expuesto a la superficie no especifican si este era una cadena de islas o una masa de tierra continua, lo cual es importante dentro del contexto de la dispersión de los organismos (Hedges, 2006). Además, no hay evidencia paleogeográfica que apoye este modelo, pero sí que lo refuta, como se muestra a continuación (Ali y Hedges, 2021). Tal vez el argumento más contundente en contra de la existencia del puente Aves como principal causa que originó la biota de las islas del Caribe podría ser meramente biológico, pues Ali y Hedges (2021) recientemente demostraron que la mayoría de las colonizaciones de los organismos presentes en el archipiélago Caribeño no se concentran en el intervalo de tiempo que corresponde a la existencia del puente Aves emergido (35-33 Mya), sino que por el contrario, poseen intervalos de tiempo bastante más

amplios y parecen haber ocurrido de manera gradual a través del tiempo, lo cual es consistente con la idea de que estas fueron el resultado de la dispersión sobre el agua.

Como mencionamos antes, podría ser difícil de creer que un vertebrado terrestre colonizara las islas del Caribe a partir de una dispersión sobre el mar. No obstante, el modelo de dispersión sobre el agua ha sido el más apoyado para explicar el origen de la fauna antillana debido a las siguientes evidencias recopiladas en Hedges (2001; 2006), Heinicke y colaboradores (2007) y Ali y Hedges (2021), las cuales a su vez también funcionan para demeritar los dos modelos anteriores:

(1) Primero, las corrientes marinas son fenómenos naturales que podrían representar un papel fundamental para la dispersión de los organismos terrestres, pues podrían propiciar el movimiento “por flote” (rafting) y/o a partir de balsas de vegetación (flotsam). El primero se refiere al simple hecho de que los organismos floten en el mar hasta llegar a una masa de tierra lejana, mientras que el segundo se refiere al transporte de organismos encima de una balsa de vegetación, es decir, un conjunto de restos vegetativos que podrían funcionar como un transporte. La fuerza de las corrientes marinas podría ser suficiente para llevar a cabo estos procesos que, además, han sido bien documentados en diversas ocasiones para el caso de las islas del Caribe, incluyendo vertebrados terrestres (Guppy, 1917; King, 1962, Heatwole y Levins, 1972; Henderson et al., 1995; Censky et al., 1998, Knapp, 2000). La dirección y la fuerza de las corrientes marinas podrían ser decisivas para resultar en un proceso de dispersión exitoso. Con respecto a la dirección, Hedges (2006) propone que las corrientes marinas superficiales que pudieron transportar a las especies desde el continente a las islas provienen actualmente del sureste hacia el noroeste, específicamente, de la parte este de Sudamérica hacia el archipiélago caribeño. Estas corrientes habrían tenido la misma dirección en el pasado (Hedges, 2006). Para el caso de la fuerza, los huracanes podrían ser cruciales para el proceso de dispersión debido a que son el principal fenómeno que podría dar lugar a las balsas de vegetación y podría funcionar de manera conjunta con las corrientes marinas. De hecho, la región Caribeña se asocia particularmente con una alta tasa de huracanes que, además, la mayoría parece coincidir con la dirección de las corrientes marinas antes mencionadas (Hedges, 2006). Quizás una de las pruebas más contundentes fue el hecho de que Censky y colaboradores (1998) reportaron cómo individuos vertebrados terrestres de tamaño considerable (*Iguana iguana*) fueron transportados a través de balsas de vegetación hasta llegar y posiblemente colonizar la isla de Anguilla en el Caribe. En cuanto a *Eleutherodactylus*, su reproducción terrestre y desarrollo directo que permiten una menor dependencia del agua en comparación con otros anfibios podrían ser características importantes a la hora de viajar durante mucho tiempo y por grandes distancias en balsas de vegetación en un escenario donde la disponibilidad de agua (no salada) es casi inexistente. Además, su pequeño tamaño podría permitirles refugiarse entre la vegetación de las balsas para evitar su desecación o encontrar humedad de agua dulce en dichas balsas.

(2) Las especies más cercanamente relacionadas de la mayoría de organismos terrestres de las islas del Caribe se distribuyen en Sudamérica, lo que coincide con la dirección de las corrientes marinas que pudieron haber jugado un papel importante para la dispersión hacia las islas (Hedges, 2006). Esto incluye a *Eleutherodactylus*, pues su género hermano *Diasporus* habita en sudamérica y centroamérica, mientras que *Adelophryne* y *Phyzelaphryne* que son géneros cercanamente relacionados habitan exclusivamente en Sudamérica. Hedges (2006) propone que

ríos como el Amazonas en Sudamérica podrían desembocar en la corriente Guyana (Guiana current) que fluye hacia el Caribe, lo que podría haber resultado en la mayoría de organismos en dicha área. No obstante, no hay estudios que analicen con más detalle esta idea.

(3) La biodiversidad característica de las islas del Caribe también apoya el modelo de dispersión y, al mismo tiempo, contradice el modelo de vicarianza. Primero, la biodiversidad en el archipiélago carece de niveles taxonómicos altos tanto en el presente como en el pasado (clases, órdenes, e incluso familias extintas que apoyarían el modelo de vicarianza), lo cual es lo que se esperaría para un modelo de vicarianza, pues en este la composición de los organismos tendría que parecerse a la del continente (Hedges, 2006; Heinicke et al., 2007). Segundo, la gran cantidad de radiaciones evolutivas que ha habido en las islas Caribeñas han sido presumiblemente el resultado de la explotación de nichos ecológicos vacíos, lo cual es un resultado característico de que las islas jamás han estado conectadas al continente y por lo tanto estaban desprovistas de fauna por lo menos al momento de la colonización de los grupos que radiaron (Hedges, 2006; Losos y Ricklefs, 2009). Además de otros ejemplos como lo son las radiaciones de *Anolis* y algunos roedores (Woods, 1990; Losos, 2009), el caso de *Eleutherodactylus* en las islas es el resultado de una radiación adaptativa bastante estudiada en los últimos años (Dugo-Cota et al., 2019; Jimenez-Ortega et al., 2023).

(4) Finalmente, los tiempos de divergencia estimados para la mayoría de los grupos presentes en las islas no están fuertemente agrupados o concentrados en un punto específico en el tiempo, específicamente el tiempo en el que se supone el Aves Ridge estaba expuesto y funcionaba como una conexión entre Sudamérica y las Antillas mayores. Esta idea fue bastante apoyada en el trabajo de Ali y Hedges (2021). Para el caso específico de *Eleutherodactylus*, los tiempos de colonización estimados en el presente estudio y en anteriores (Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019) no coinciden con la idea de la vicarianza o emergencia del Aves Ridge.

A partir de que la dispersión sobre el agua parece ser el modelo más apoyado para explicar cómo los animales vertebrados llegaron a las islas del Caribe, podemos esperar que el género *Eleutherodactylus* no sea la excepción (Hedges et al., 2008; Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2021). Claro que la colonización de una especie en una isla depende no solo de su dispersión hacia esta, sino de su éxito en la supervivencia y reproducción una vez que esta llegue (Censky et al., 1998). Similar a lo mencionado anteriormente, la reproducción terrestre y el desarrollo directo podrían ser características que faciliten a *Eleutherodactylus* la invasión de nuevos nichos ecológicos con tipos de ambientes diversos (Hedges et al., 2008; Dugo-Cota et al., 2019). Sumado a esto, Jiménez-Ortega y colaboradores (2023) recientemente demostraron la excepcional habilidad de *Eleutherodactylus* debido a características intrínsecas para explotar oportunidades ecológicas disponibles en comparación con otros anuros que han colonizado las islas del Caribe en tiempos similares.

6.3.2. Diversificación y movimiento de *Eleutherodactylus* en las islas del Caribe.

Los resultados sugieren que la diversificación de *Eleutherodactylus* en el archipiélago Caribeño comenzó hace aproximadamente 36.69 Mya (95% HPD: 32.35-40.98 Mya) resultando en el clado del este en La Española y el clado del oeste en Cuba, lo cual es similar a lo obtenido por Dugo-Cota y colaboradores (2019). Como se mencionó anteriormente, la edad y el tamaño de estas dos islas podrían haber jugado un papel importante para este tipo de eventos. Para el clado

del Este reportamos dos posibles colonizaciones independientes a Cuba y Puerto Rico y una a las Antillas menores, todas ocurriendo a principios del Mioceno (de 12-18 Mya aproximadamente). En el caso del clado del Oeste nuestros resultados proponen cinco colonizaciones a La Española y dos a Puerto Rico, en ambos casos una más que las reportadas por Dugo-Cota y colaboradores (2019). Además, una única colonización de Jamaica y una al Continente. El hecho de que solo haya habido una colonización de Jamaica se puede relacionar con el hecho de que su exposición completa a la superficie es relativamente reciente (Donovan, 2002). No obstante, esto no podría aplicar para el caso de la única colonización al continente, por lo que otros factores podrían estar influyendo, como por ejemplo la distancia o el hecho de que una dispersión continente-isla sea menos frecuente que una entre isla-isla.

6.3.3. Colonización del continente y posterior diversificación por *Eleutherodactylus*.

Como mencionamos en los resultados, se sugiere que ocurrió una colonización del continente por parte de *Eleutherodactylus* a partir de Cuba entre el Oligoceno y Mioceno, una estimación más antigua que estudios previos (Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019), lo que puede deberse al uso de diferentes parámetros previos, como los fósiles utilizados en la calibración de la filogenia, entre otros. Anteriormente recalcamos que dentro del subgénero *Syrrhophus*, el clado *E. symingtoni* es grupo hermano de los clados restantes e incluye solo a *E. symingtoni* y *E. zeus*. Estas son las únicas dos especies isleñas dentro del subgénero, específicamente distribuidas en Cuba. Ya que los clados restantes representan a todas las especies continentales de todo el subgénero y género, las cuales forman un grupo monofilético y sugieren por lo tanto un único evento de colonización al continente dentro del género *Eleutherodactylus*.

El evento de colonización del continente a partir de Cuba había sido sugerido anteriormente por diversos trabajos (Hedges y Woods, 1989; Hass y Hedges, 1991; Hedges, 2006; Heinicke et al., 2007; Dugo-Cota et al., 2019), no obstante, ningún estudio había analizado esto de manera formal incluyendo a la mayoría de especies isleñas y continentales. Sin tomar en cuenta el análisis de biogeografía histórica de Dugo-Cota y colaboradores (2019) para especies isleñas en su mayoría, los estudios previos sugerían a Cuba como la fuente de la dispersión hacia el continente a partir de similitudes morfológicas y estudios sistemáticos donde se observaba que el grupo más cercanamente relacionado de las pocas especies continentales incluidas habitaban en Cuba. Sin embargo, esto no era del todo confiable, pues al no existir una filogenia robusta que tomara en cuenta a la mayoría de las especies de *Eleutherodactylus*, realmente no se sabía si las especies continentales del subgénero *Syrrhophus* formaban un grupo monofilético.

Dentro del campo de la biología evolutiva se ha prestado más atención a las colonizaciones de las islas oceánicas a partir del continente, pero una colonización inversa, es decir, del continente a partir de las islas también puede ocurrir, y aunque suelen ser más raros son fenómenos que son muy interesantes. Una de las principales razones por las cuales se suele enfocar mucho más en la primera alternativa es que generalmente una isla es más fácil de colonizar debido a la ausencia de organismos que impongan una competencia o a la gran cantidad de nichos vacíos disponibles. De manera contrastante a las islas oceánicas, las áreas continentales suelen estar ocupadas por una gran cantidad de especies, ofreciendo relativamente pocas oportunidades ecológicas y posiblemente dificultando la colonización (Losos y Ricklefs, 2009). Sin embargo, este fenómeno es posible y ha sido bien documentado en aves, insectos e inclusive para

vertebrados terrestres (Seidel, 1988; Seutin et al., 1994; Seidel, 1996; Hunt et al., 2001; Glor et al., 2005; Nicholson et al., 2005; Dávalos, 2007; O’Grady y DeSalle, 2008).

Como se mencionó anteriormente, de manera similar al viaje de “ida” desde el continente a las islas, otros taxa han colonizado el continente a partir de las islas Caribeñas. Específicamente, algunas tortugas centroamericanas del género *Trachemys* (Seidel, 1988; 1996) y el popular caso de las lagartijas del género *Anolis* (Nicholson et al., 2005; Poe et al., 2017). Como afirmó Hedges (2006), el archipiélago Caribeño seguramente ha sido la fuente de dispersión hacia el continente de otros grupos de organismos, por lo que estudiar esto a más detalle podría unir piezas del rompecabezas referente a la evolución de la biota del Caribe.

Nuestros resultados sugieren que *Eleutherodactylus* colonizó el continente a partir del área Neotropical definida para nuestros análisis de BioGeoBEARS, la cual abarca parte del Este de México incluyendo gran parte de Veracruz, Tabasco, la península de Yucatán y parte de Centroamérica (figura 6). Las corrientes marinas superficiales que van del Sureste al Noroeste que jugaron un papel importante en la colonización de las islas habrían sido también importantes para la colonización del continente. La dirección de estas corrientes coincide con la idea de que *Eleutherodactylus* pudo haber llegado desde Cuba hasta el área Neotropical. Aunque esta colonización es evidentemente más reciente que la de las islas, las mismas corrientes pudieron haber sido importantes debido a que su dirección ha sido similar desde el pasado debido a que la región Caribeña siempre se ha encontrado en la parte suroeste del giro atlántico del norte, donde el flujo del agua ha sido en el sentido de las agujas del reloj debido a la fuerza de Coriolis (Hedges, 2007). Además, estas corrientes que provienen de Sudamérica cruzan el Caribe hasta llegar al sur de Florida, donde se forma la corriente del Golfo (Gulf stream) (Hedges, 2008). De hecho, algunos estudios han sugerido la idea de que *Eleutherodactylus* llegó al continente a través de Florida (Hedges y Woods, 1989; Hass y Hedges, 1991; Hedges, 2006; Heinicke et al., 2007). Sin embargo, ninguna especie del género se distribuye de manera natural en Florida o áreas cercanas, por lo que dicha idea se basa únicamente en la cercanía y la dirección de las corrientes oceánicas superficiales (Hedges et al., 2008; Frost, 2023). Debido a esta ausencia en Florida y aunque la corriente podría favorecerlo, esta área no fue considerada en el análisis de biogeografía histórica dado que no hay especies actuales en esa localidad.

Como sugieren los análisis, *Eleutherodactylus* debió haber llegado al continente a través del área Neotropical. Florida no es la única entrada al continente a la que podrían haber llegado las especies de *Eleutherodactylus*, pues la corriente de Yucatán, a veces llamada corriente del Caribe, podría influir en la dirección de la dispersión sobre el agua de los individuos al fluir con una dirección desde el Sureste de Yucatán hacia el Oeste y Noreste (Gyory et al., 2023). De cualquier manera, la corriente de Yucatán ingresa al Golfo de México formando una circulación anticiclónica para posteriormente convertirse en la corriente de Florida y finalmente en la corriente del Golfo (Moreles et al., 2021), por lo que al final todo el sistema de corrientes disponibles desde Sudamérica y que llegan hasta el Golfo de México podrían ser importantes para la dispersión sobre el agua entre el continente e islas de Caribe. Aunque el área Neotropical incluye parte de la península de Yucatán, no existe registro de que alguna especie del *Eleutherodactylus* se distribuya aquí. Esto sugiere que esta región posee características ambientales que limitan la supervivencia del grupo o que simplemente no ha habido suficiente trabajo de campo que demuestre su presencia ahí. Por lo tanto, *Eleutherodactylus* pudo haber llegado al continente a través de Veracruz y zonas cercanas o de Centroamérica. Sin embargo,

más estudios sobre las corrientes oceánicas superficiales, así como posibles patrones de otros fenómenos naturales como huracanes o corrientes de aire, podrían ayudar a resolver esta pregunta.

De acuerdo a los resultados del análisis de biogeografía histórica, el movimiento entre áreas dentro del continente es más complicado debido al mayor número de áreas así como de colonizaciones a distintas áreas. La diversificación del grupo continental de *Eleutherodactylus* comenzó con la divergencia entre los dos grandes clados, ambos teniendo al área Neotropical como rango ancestral más probable. Uno de estos grupos se compone exclusivamente del clado *E. longipes* propuesto por Hernández-Austria y colaboradores (2023), mientras que el otro se compone de los clados restantes, también propuestos por Hernández-Austria y colaboradores (2023), y donde ocurrió una colonización importante del área Faja Volcánica Trans-Mexicana a partir del área Neotropical. El área neotropical definida en nuestros análisis de BioGeoBEARS es particularmente importante para las especies de *Syrrhophus* continentales, pues en la mayoría de los nodos el rango ancestral más probable es dicha área o al menos está incluida en el rango.

Es bastante notable que en el continente hayan ocurrido más eventos de colonización en comparación con el área de las islas del Caribe, lo cual tiene sentido debido a que dispersarse de una isla a otra puede ser más complicado que hacerlo de un área continental a otra. A pesar de que los grandes cuerpos montañosos del continente pueden considerarse barreras formidables para la dispersión de muchas especies de anfibios, las *Eleutherodactylus* exhiben notables adaptaciones que probablemente les permitirían superar estos obstáculos. Su relativa baja dependencia del agua en comparación con otros anfibios debido a su reproducción terrestre y desarrollo directo podría ser clave, ya que les permite evitar la necesidad de cuerpos de agua permanentes para completar su ciclo de vida cuando se encuentren en alguna cadena montañosa (Hedges et al., 2008; Padial et al., 2014). Además, se ha documentado que algunas especies de *Eleutherodactylus* se encuentran en altitudes elevadas en zonas montañosas, lo que sugiere que son capaces de colonizar y adaptarse a hábitats de gran altitud, específicamente de hasta 2,600 metros sobre el nivel del mar (Frost, 2023; Grünwald et al., 2018). Por ejemplo, se ha reportado que *Eleutherodactylus floresvillelai* suele habitar en elevaciones que van desde los 2,100 a 2,400 metros de altura sobre el nivel del mar a través de las pendientes de la Sierra de Mil Cumbres en Michoacán (Grünwald et al., 2018). Otro caso sería el de *Eleutherodactylus erendirae* que suele encontrarse en altitudes de 1800 a 2300 metros sobre el nivel del mar, abarcando las partes altas de la Faja Volcánica Transmexicana (Grünwald et al., 2018).

Finalmente, los resultados dejan ver que la simpatría de subconjunto, un proceso cladogenético de la evolución del rango implementado por el modelo DEC, ocurre con más frecuencia en el grupo continental. Este proceso involucra un rango ancestral amplio en donde solo un linaje descendiente lo heredará de manera completa, mientras que el otro hereda solo un área específica. Esto podría indicar que este tipo de simpatría podría ser particularmente importante para las especies continentales de *Syrrhophus*.

6.4. Aspectos a considerar para futuros estudios.

El presente trabajo ofrece hallazgos bastante importantes como consecuencia de una metodología exhaustiva a partir de la mayor información disponible posible. No obstante, con el objetivo de realizar en un futuro una mejor inferencia filogenética con tiempos de divergencia y

un análisis de biogeografía histórica, a continuación menciono algunos aspectos a tomar en cuenta:

Primero, tomar en cuenta que el grupo continental de ranas de *Eleutherodactylus* ha sido muy poco estudiado hasta el día de hoy es importante para el desarrollo de estudios futuros. Por ejemplo, se puede pensar que dentro de un grupo de organismos que ha sido poco estudiado y que pertenece a un grupo con una distribución y biodiversidad tan impresionante como lo son los anfibios, hay una alta probabilidad de describir nuevas especies. Esto podría resultar en relaciones filogenéticas y patrones de distribución diferentes a los conocidos actualmente que podrían influir en el conocimiento sobre su historia evolutiva. Por ejemplo, Grünwald y colaboradores (2021) mencionan a manera de una observación personal basada en su trabajo de campo y descripción de especímenes colectados que el subgénero *Syrrhophus* posee bastantes especies nuevas esperando una descripción, especialmente para el estado de Guerrero, el cual posee la mayor diversidad de *Eleutherodactylus* continentales. Después de dicha afirmación se han descrito cuatro nuevas especies (Hernández-Austria et al., 2022; Devitt et al., 2023; Grünwald et al., 2023), de las cuales solo tres (*E. franzi*, *E. jamesdixonii* y *E. humboldti*) no fueron considerados en la reconstrucción filogenética del presente estudio. No obstante, a partir de información ecológica, morfológica y molecular, esas tres especies fueron asignadas con certeza a *Syrrhophus* (Devitt et al., 2023; Grünwald et al., 2023), por lo que esperamos que su adición al presente estudio no modifique de manera significativa los resultados. Además de las posibles nuevas especies esperando descripción, otro aspecto importante sería el hecho de que estudiar de manera más exhaustiva el grupo como se conoce actualmente proporcionaría más información sobre su área de distribución e información molecular, específicamente secuenciaciones de marcadores genéticos que permitan generar una filogenia más completa de la que se puede realizar hoy en día. Así, el incremento significativo de la cantidad de especies para este grupo en los próximos años, así como un aumento considerable en la información geográfica y molecular es lo que sí podría cambiar los resultados obtenidos.

Segundo, es importante destacar la escasa disponibilidad de fósiles que pertenecen a *Eleutherodactylus* o que están cercanamente relacionados a dicho género (Blackburn et al., 2020). El número de fósiles empleados en la fechación de una filogenia puede influir de manera significativa en las estimaciones de los tiempos de divergencia (Ho, 2020). Cuantos más fósiles se implementen, es decir, más información respecto al tiempo transcurrido, mejores serán dichas estimaciones, pues se sabe que el uso de múltiples calibraciones puede minimizar el impacto de cualquier calibración errónea (Lee 1999; Lukoschek et al. 2012, Nguyen y Ho, 2020). Esto incluye la consideración de diversos fósiles con edades variadas tanto dentro del grupo de interés como en grupos relacionados externos. Por ejemplo, las calibraciones cercanas a la raíz del árbol son particularmente importantes porque pueden contrarrestar la subestimación de los tiempos de divergencia profundos con respecto al árbol (Duchêne et al. 2014). Para este trabajo, hemos utilizado el fósil de *Eleutherodactylus* más estudiado y el único que podemos afirmar con certeza representa un individuo relativamente completo de *Eleutherodactylus*, según los registros actuales. Este espécimen fue utilizado para calibrar el nodo corona del género, pero de manera desafortunada, no existen otros elementos fósiles que puedan colocarse con seguridad dentro del grupo, pues los otros fósiles que podrían ser utilizados no poseen suficiente información para ubicarlos en un punto más reciente que el nodo troncal o corona del género. De manera similar, el número de fósiles pertenecientes a grupos cercanamente relacionados a

Eleutherodactylus y que son de una calidad suficiente para calibrar un árbol filogenético también es bajo (Feng et al., 2017; Hutter et al., 2017).

Ya que la datación molecular de una filogenia requiere información externa sobre el tiempo, esta información también puede provenir de eventos biogeográficos (Ho, 2020). Incluimos la emergencia total de Jamaica como uno de estos eventos que nos permitió calibrar el nodo correspondiente al grupo de ranas endémicas de dicha isla. No obstante, consideramos que se necesitan más estudios detallados sobre la historia geográfica de las islas del Caribe para realmente poder calibrar múltiples nodos. Además, sería interesante realizar en un futuro un análisis que no tome en consideración ningún evento biogeográfico con el objetivo de comparar los resultados y ver las diferencias en las estimaciones de las edades de los nodos. Aunque consideramos que los resultados presentados aquí confieren información importante que permiten realizar conclusiones interesantes sobre la historia evolutiva y geográfica de *Eleutherodactylus*, futuros descubrimientos de fósiles de buena calidad con respecto a la preservación de rasgos que permitan con seguridad asignarlos a un linaje específico permitirán estimaciones de tiempos de divergencia mucho más precisas y, por lo tanto, una mejor estimación para la evolución del rango geográfico (y otros análisis que involucren el uso de filogenias).

Tercero, no solo la información genética y paleogeográfica de los taxones que componen los análisis filogenéticos y biogeográficos son importantes, sino que el conocer cómo la Tierra ha cambiado a lo largo del tiempo también lo es. Los análisis de biogeografía histórica deben tomar en cuenta que la historia de la Tierra influencia de manera significativa la evolución del rango geográfico de las especies (Ree y Smith, 2008). La ausencia de algunas áreas, la cercanía o conexiones entre estas y la presencia de barreras que podrían dificultar la dispersión son características que podrían variar a través del tiempo (Ree et al., 2005). Para incorporar este tipo de información en los análisis estratificados de BioGeoBEARS del presente estudio nos basamos en diversas fuentes que han estudiado de manera detallada y extensa la paleogeografía de las áreas tomadas en cuenta en los análisis (Moran-Zenteno y Wilson, 1994; Iturralde-Vinent y MacPhee, 1999; Ferrari et al., 2000; Iturralde-Vinent, 2006; Ferrari et al., 2012; Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2013; Scotese, 2014). Sin embargo, consideramos que estudios futuros que indaguen aún más en la evolución de la Tierra, especialmente para las islas del Caribe, permitirán obtener resultados más acertados.

Finalmente, como en muchos otros campos de estudio dentro de la biología, el continuo avance en el desarrollo y mejoramiento de métodos filogenéticos y de análisis de biogeografía histórica representa un papel fundamental para permitir inferencias y resultados más precisos en el campo de la biología evolutiva.

7. Conclusiones.

Dentro de la biología, los estudios filogenéticos y de biogeografía histórica han revelado pistas importantes sobre la historia evolutiva de los grupos de organismos. Consideramos que este estudio no es la excepción, pues contribuimos a un mejor entendimiento de la historia del género *Eleutherodactylus* examinando sus patrones dispersión hacia islas y el continente, lo que demuestra que, a pesar de los desafíos aparentes, la vida ha encontrado formas asombrosas de conquistar incluso los entornos más remotos. El presente trabajo resultó en la primera filogenia

molecular calibrada en el tiempo del género *Eleutherodactylus* que incluye tanto a la mayoría de las especies isleñas como continentales. Esta filogenia permite examinar de manera más detallada las relaciones entre las especies de dicho género, así como sus tiempos de divergencia, los cuales se pueden relacionar con eventos biogeográficos importantes gracias al análisis de biogeografía histórica que se llevó a cabo. Los resultados sugieren que la colonización del continente por parte de *Eleutherodactylus* fue un único evento y se dio a partir de la isla de Cuba, lo que apoya las dos hipótesis planteadas en el trabajo.

8. Referencias.

- Ali, J. R., & Hedges, S. B. (2021). Colonizing the Caribbean: new geological data and an updated land-vertebrate colonization record challenge the GAARlandia land-bridge hypothesis. *Journal of Biogeography*, 48(11), 2699-2707.
- AmphibiaWeb. 2023. <<https://amphibiaweb.org>> University of California, Berkeley, CA, USA.
- Báez, A. M., & Rage, J. C. (1998). Pipid frogs from the upper Cretaceous of In Beceten, Niger. *Palaeontology*, 41(4), 669-691.
- Báez, A. M. 2000. Tertiary anurans from South America. Pages 1388–1401 in H. Heatwole and R. L. Carroll eds. *Amphibian biology*, vol. 4. Surrey Beatty, Chipping Norton, Australia.
- Bellemain, E., & Ricklefs, R. E. (2008). Are islands the end of the colonization road?. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(8), 461-468.
- Blackburn, D. C., Keeffe, R. M., Vallejo-Pareja, M. C., & Vélez-Juarbe, J. (2020). The earliest record of Caribbean frogs: a fossil coquí from Puerto Rico. *Biology letters*, 16(4), 20190947.
- Callery, E. M., Fang, H., & Elinson, R. P. (2001). Frogs without polliwogs: evolution of anuran direct development. *BioEssays*, 23(3), 233-241.
- Cannatella, D. (2015). *Xenopus* in space and time: fossils, node calibrations, tip-dating, and paleobiogeography. *Cytogenetic and genome research*, 145(3-4), 283-301.
- Censky, E. J., Hodge, K., & Dudley, J. (1998). Over-water dispersal of lizards due to hurricanes. *Nature*, 395(6702), 556-556.
- Dávalos, L. M. (2007). Short-faced bats (Phyllostomidae: Stenodermatina): A Caribbean radiation of strict frugivores. *Journal of Biogeography*, 34(2), 364-375.
- Devitt, T. J., Tseng, K., Taylor-Adair, M., Koganti, S., Timugura, A., & Cannatella, D. C. (2023). Two new species of *Eleutherodactylus* from western and central Mexico (*Eleutherodactylus jamesdixonii* sp. nov., *Eleutherodactylus humboldti* sp. nov.). *PeerJ*, 11, e14985.
- Dice, L. R. (1943). The biotic provinces of North America. *The biotic provinces of North America*.
- Donovan, S. K. (2002). A karst of thousands: Jamaica's limestone scenery. *Geology Today*, 18(4), 143-151.
- Duchêne, S., Lanfear, R., & Ho, S. Y. (2014). The impact of calibration and clock-model choice on molecular estimates of divergence times. *Molecular phylogenetics and evolution*, 78, 277-289.
- Dugo-Cota, Á., Vilà, C., Rodríguez, A., & Gonzalez-Voyer, A. (2019). Ecomorphological convergence in *Eleutherodactylus* frogs: a case of replicate radiations in the Caribbean. *Ecology letters*, 22(5), 884-893.

- Dugo-Cota, A. (2019). Patrones de diversificación en anfibios neotropicales. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla, Sevilla, España.
- Edler, D., J. Klein, A. Antonelli, and D. Silvestro. 2020. raxmlGUI 2.0: A graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. *Methods in Ecology and Evolution*, doi: <http://dx.doi.org/10.1111/2041-210X.13512>
- Escalante, T., Rodríguez-Tapia, G., & Morrone, J. J. (2021). Toward a biogeographic regionalization of the Nearctic region: Area nomenclature and digital map. *Zootaxa*, 5027(3), 351-375.
- Feng, Y. J., Blackburn, D. C., Liang, D., Hillis, D. M., Wake, D. B., Cannatella, D. C., & Zhang, P. (2017). Phylogenomics reveals rapid, simultaneous diversification of three major clades of Gondwanan frogs at the Cretaceous–Paleogene boundary. *Proceedings of the national Academy of Sciences*, 114(29), E5864-E5870.
- Fouquet, A., Loebmann, D., Castroviejo-Fisher, S., Padial, J. M., Orrico, V. G., Lyra, M. L., ... & Rodrigues, M. T. (2012). From Amazonia to the Atlantic forest: Molecular phylogeny of Phyzelaphryninae frogs reveals unexpected diversity and a striking biogeographic pattern emphasizing conservation challenges. *Molecular phylogenetics and evolution*, 65(2), 547-561
- Frost, Darrel R. 2023. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.2 (Date of access). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001
- Glor, R. E., Losos, J. B., & Larson, A. (2005). Out of Cuba: overwater dispersal and speciation among lizards in the *Anolis carolinensis* subgroup. *Molecular Ecology*, 14(8), 2419-2432.
- Grünwald, C. I., C. Montaña-Ruvalcaba, J. M. Jones, I. T. Ahumada-Carrillo, A. J. Grünwald, J. Zheng, J. L. Strickland, and J. Reyes-Velasco. (2023). A novel species of piping frog *Eleutherodactylus* (Anura, Eleutherodactylidae) from southern Mexico. *Herpetozoa*. Wien 36: 95–111 (DOI 10.3897/herpetozoa.36.e104707).
- Grünwald, C. I., Reyes-Velasco, J., Franz-Chavez, H., Morales-Flores, K., Ahumada-Carrillo, I. T., Rodríguez, C. M., & Jones, J. M. (2021). Two new species of *Eleutherodactylus* (Anura: Eleutherodactylidae) from Southern Mexico, with comments on the taxonomy of related species and their advertisement calls. *Amphibian & Reptile Conservation*, 15(1), 1-35.
- Grünwald, C. I., Reyes-Velasco, J., Franz-Chávez, H., Morales-Flores, K. I., Ahumada-Carrillo, I. T., Jones, J. M., & Boissinot, S. (2018). Six new species of *Eleutherodactylus* (Anura: Eleutherodactylidae: subgenus *Syrrhophus*) from Mexico, with a discussion of their systematic relationships and the validity of related species. *Mesoamerican herpetology*, 5(1), 6-83.
- Guppy, H. B. (1917). *Plants, seeds, and currents in the West Indies and Azores: the results of investigations carried out in those regions between 1906 and 1914*. Williams and Norgate.
- Halliday, T. R. (2008). Why amphibians are important. *International Zoo Yearbook*, 42(1), 7-14.
- Hass, C. A., & Hedges, S. B. (1991). Albumin evolution in West Indian frogs of the genus *Eleutherodactylus* (Leptodactylidae): Caribbean biogeography and a calibration of the albumin immunological clock. *Journal of Zoology*, 225(3), 413-426.

- Heath, T. A., Huelsenbeck, J. P., & Stadler, T. (2014). The fossilized birth–death process for coherent calibration of divergence-time estimates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(29), E2957-E2966.
- Heath, T. A. (2015). Divergence time estimation using beast v2. Dating species divergences with the fossilized birth-death process.
- Heatwole, H., & Levins, R. (1972). Biogeography of the Puerto Rican Bank: flotsam transport of terrestrial animals. *Ecology*, *53*(1), 112-117.
- Hedges, S. B., & Kumar, S. (2004). Precision of molecular time estimates. *TRENDS in Genetics*, *20*(5), 242-247.
- Hedges, S. B., & Woods, C. (1989). Biogeography of the West Indies: Past, present, and future.
- Hedges, S. B., Duellman, W. E., & Heinicke, M. P. (2008). New World direct-developing frogs (Anura: Terrarana): molecular phylogeny, classification, biogeography, and conservation. *Zootaxa*, *1737*(1), 1-182.
- Hedges, S. B., Powell, R., Henderson, R. W., Hanson, S., & Murphy, J. C. (2019). Definition of the Caribbean Islands biogeographic region, with checklist and recommendations for standardized common names of amphibians and reptiles. *Caribbean Herpetology*, *67*, 1-53.
- Hedges, S. B. (1989). Evolution and biogeography of West Indian frogs of the genus *Eleutherodactylus*: slow-evolving loci and the major groups.
- Hedges, S. B. (2001). Biogeography of the West Indies: an overview. *Biogeography of the West Indies*, 15-34.
- Hedges, S. B. (2006). PALEO GEOGRAPHY OF THE ANTILLES AND ORIGIN OF WEST INDIAN TERRESTRIAL VERTEBRATES1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *93*(2), 231-244.
- Heinicke, M. P., Duellman, W. E., & Hedges, S. B. (2007). Major Caribbean and Central American frog faunas originated by ancient oceanic dispersal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(24), 10092-10097.
- Henderson, R. W., Micucci, T. W. P., Puerto, G., & Bourgeois, R. W. (1995). Ecological correlates and patterns in the distribution of Neotropical boas (Serpentes: Boidae): a preliminary assessment. *Herpetological Natural History*, *3*(1), 15-27.
- Henrici, A. C., & Báez, A. M. (2001). First occurrence of *Xenopus* (Anura: Pipidae) on the Arabian Peninsula: a new species from the Upper Oligocene of Yemen. *Journal of Paleontology*, *75*(4), 870-882.
- Hernández-Austria, R., García-Vázquez, U. O., Grünwald, C. I., & Parra-Olea, G. (2022). Molecular phylogeny of the subgenus *Syrrhophus* (Amphibia: Anura: Eleutherodactylidae), with the description of a new species from Eastern Mexico. *Systematics and Biodiversity*, *20*(1), 1-20.
- Ho, S. Y. (2020). *The eutionary Clock*. Cham: Springer.
- Hunt, J. S., Bermingham, E., & E. Ricklefs, R. (2001). Molecular systematics and biogeography of Antillean thrashers, tremblers, and mockingbirds (Aves: Mimidae). *The Auk*, *118*(1), 35-55.
- Hutter, C. R., Lambert, S. M., & Wiens, J. J. (2017). Rapid diversification and time explain amphibian richness at different scales in the Tropical Andes, Earth’s most biodiverse hotspot. *The American Naturalist*, *190*(6), 828-843.
- Iturralde-Vinent, M. A., & MacPhee, R. D. E. (1996). Age and paleogeographical origin of Dominican amber. *Science*, *273*(5283), 1850-1852.

- IUCN. (2022). *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2*. <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on [day month year].
- Jenkins, C. N., Pimm, S. L., & Joppa, L. N. (2013). Global patterns of terrestrial vertebrate diversity and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(28), E2602-E2610.
- Jiménez-Ortega, D., Valente, L., Dugo-Cota, Á., Rabosky, D. L., Vilà, C., & Gonzalez-Voyer, A. (2023). Diversification dynamics in Caribbean rain frogs (*Eleutherodactylus*) are uncoupled from the anuran community and consistent with adaptive radiation. *Proceedings of the Royal Society B*, 290(1990), 20222171.
- Joanna Gyory, Arthur J. Mariano, Edward H. Ryan. "The Yucatan Current." Ocean Surface Currents. (2023). <https://oceancurrents.rsmas.miami.edu/caribbean/yucatan.html>.
- Katoh, K. & Standley, D.M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.*, 30, 772–780.
- King, W. (1962). The occurrence of rafts for dispersal of land animals into the West Indies. *Quarterly Journal of the Florida Academy of Sciences*, 25(1), 45-52.
- Landis, M. J., Matzke, N. J., Moore, B. R., & Huelsenbeck, J. P. (2013). Bayesian analysis of biogeography when the number of areas is large. *Systematic biology*, 62(6), 789-804.
- Larsson, A. (2014). AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large data sets. *Bioinformatics*30(22): 3276-3278. <http://dx.doi.org/10.1093/bioin>
- Lee, M. S. (1999). Molecular clock calibrations and metazoan divergence dates. *Journal of Molecular Evolution*, 49, 385-391.
- Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. M. (Eds.). (2009). *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Cambridge University Press.
- Losos, J. B., & Ricklefs, R. E. (2009). Adaptation and diversification on islands. *Nature*, 457(7231), 830-836.
- Losos, J.B. (2009). *Lizards in an Evolutionary Tree: Ecology and Adaptive Radiation of Anoles*. University of California Press, Berkeley, USA.
- Lukoschek, V., Scott Keogh, J., & Avise, J. C. (2012). Evaluating fossil calibrations for dating phylogenies in light of rates of molecular evolution: a comparison of three approaches. *Systematic Biology*, 61(1), 22.
- Magallón, S. (2020). Principles of Molecular Dating. In Ho, S. Y. (2020). *The Molecular Evolutionary Clock*. Cham: Springer.
- Matzke, Nicholas J. (2018). BioGeoBEARS: BioGeography with Bayesian (and likelihood) Evolutionary Analysis with R Scripts. version 1.1.1, published on GitHub on November 6, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1478250>
- Moreles, E., Zavala-Hidalgo, J., Martínez-López, B., & Ruiz-Angulo, A. (2021). Influence of stratification and Yucatan Current transport on the Loop Current Eddy shedding process. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 126(1), e2020JC016315.
- Morrone, J. J., Escalante, T., Rodríguez-Tapia, G., Carmona, A., Arana, M., & Mercado-Gómez, J. D. (2022). Biogeographic regionalization of the Neotropical region: New map and shapefile. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94.
- Nguyen, J. M., & Ho, S. Y. (2020). Calibrations from the fossil record. *The molecular evolutionary clock: theory and practice*, 117-133.
- Nicholson, K. E., Glor, R. E., Kolbe, J. J., Larson, A., Blair Hedges, S., & Losos, J. B. (2005). Mainland colonization by island lizards. *Journal of Biogeography*, 32(6), 929-938.

- O'Grady, P., & DeSalle, R. (2008). Out of Hawaii: the origin and biogeography of the genus *Scaptomyza* (Diptera: Drosophilidae). *Biology Letters*, 4(2), 195-199.
- Ortega-Ariza, D., Franseen, E. K., Santos-Mercado, H., Ramírez-Martínez, W. R., & Core-Suárez, E. E. (2015). Strontium isotope stratigraphy for Oligocene-Miocene carbonate systems in Puerto Rico and the Dominican Republic: implications for Caribbean processes affecting depositional history. *The Journal of Geology*, 123(6), 539-560.
- Padial, J. M., Grant, T., & Frost, D. R. (2014). Molecular systematics of terraranas (Anura: Brachycephaloidea) with an assessment of the effects of alignment and optimality criteria. *Zootaxa*, 3825(1), 1-132.
- Palacios-Aguilar, R., & Santos-Bibiano, R. (2020). A new species of direct-developing frog of the genus *Eleutherodactylus* (Anura: Eleutherodactylidae) from the Pacific lowlands of Guerrero, Mexico. *Zootaxa*, 4750(2), 250-260.
- Poe, S., Nieto-Montes de Oca, A., Torres-Carvajal, O., De Queiroz, K., Velasco, J. A., Truett, B., ... & Latella, I. (2017). A phylogenetic, biogeographic, and taxonomic study of all extant species of *Anolis* (Squamata; Iguanidae). *Systematic biology*, 66(5), 663-697.
- Poinar Jr, G. O., & Cannatella, D. C. (1987). An Upper Eocene frog from the Dominican Republic and its implication for Caribbean biogeography. *Science*, 237(4819), 1215-1216.
- Pyron, R. A., & Wiens, J. J. (2011). A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular phylogenetics and evolution*, 61(2), 543-583.
- QGIS Development Team, <YEAR>. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Rambaut, A. (2010) FigTree v1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ree, R. H., & Smith, S. A. (2008). Maximum likelihood inference of geographic range evolution by dispersal, local extinction, and cladogenesis. *Systematic biology*, 57(1), 4-14.
- Reyes-Velasco, J., Ahumada-Carrillo, I., Burkhardt, T. R., & Devitt, T. J. (2015). Two new species of *Eleutherodactylus* (subgenus *Syrrhophus*) from western Mexico. *Zootaxa*, 3914(3), 301-317.
- Ronquist, F., & Sanmartín, I. (2011). Phylogenetic methods in biogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42, 441-464.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2006). Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2006(1), pdb-prot4455.
- Savage, J. M. (1982). The enigma of the Central American herpetofauna: dispersals or vicariance?. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 69(3), 464-547.
- Seidel, M.E. (1988) Revision of West Indian emydid turtles (Testudines). *Am. Mus. Novit.* 2918, 1-41
- Seidel, M. E. (1996). Current status of biogeography of the West Indian turtles in the genus *Trachemys* (Emydidae). *Contributions to West Indian herpetology: a tribute to Albert Schwartz*, 169-174.
- Seutin, G., Klein, N. K., Ricklefs, R. E., & Bermingham, E. (1994). Historical biogeography of the bananaquit (*Coereba flaveola*) in the Caribbean region: a mitochondrial DNA assessment. *Evolution*, 48(4), 1041-1061.

- Stuart, S., Hoffmann, M., Chanson, J., Cox, N., Berridge, R., Pavithra, R. & Young, B. (2008) *Threatened Amphibians of the World, First Edit.* (ed. by S. Stuart), M. Hoffmann), J. Chanson), N. Cox), R. Berridge), R. Pavithra), and B. Young) Lynx Edicions; IUCN; Conservation International, Barcelona, Spain; Gland, Switzerland; Arlington, Virginia, USA.
- Subba, B., Ravikanth, G., & Aravind, N. A. (2015). Scaling new heights: first record of Boulenger's Lazy Toad *Scutigera boulengeri* (Amphibia: Anura: Megophryidae) from high altitude lake in Sikkim Himalaya, India. *Journal of Threatened Taxa*, 7(10), 7655-7663.
- Tong, Y., Binford, G., Rheims, C. A., Kuntner, M., Liu, J., & Agnarsson, I. (2019). Huntsmen of the Caribbean: Multiple tests of the GAARlandia hypothesis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 130, 259–268.
- Webb, C. O., Ackerly, D. D., & Kembel, S. W. (2008). Phylocom: software for the analysis of phylogenetic community structure and trait evolution. *Bioinformatics*, 24(18).
- Woods, C. A. (1989). *Biogeography of the West Indies*. Sandhill Crane Press.
- Woods, C. A. (1990). The fossil and recent land mammals of the West Indies: an analysis of the origin, evolution, and extinction of an insular fauna. *Accademia Nazionale dei Lincei, Atti*, 85, 641-680.

9. Material

Figura S1. Arbol filogenético de máxima credibilidad de clados (MCC) a partir de inferencia bayesiana datado. Se muestran las medianas de las edades de los nodos calculadas.

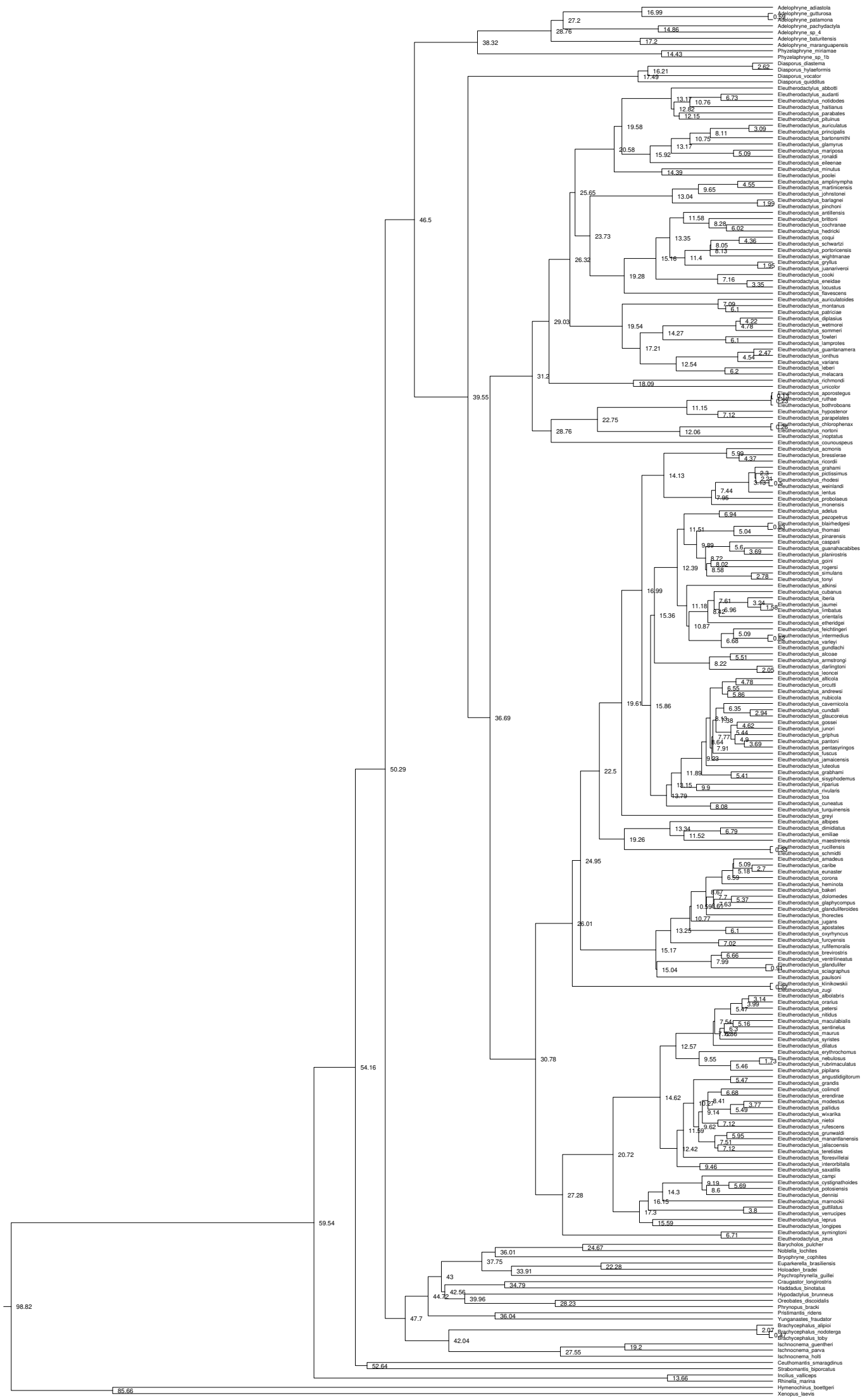
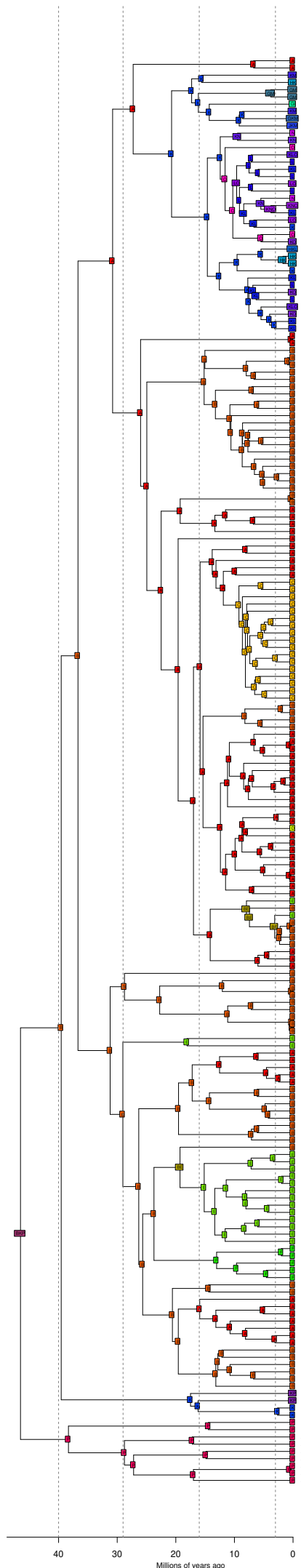
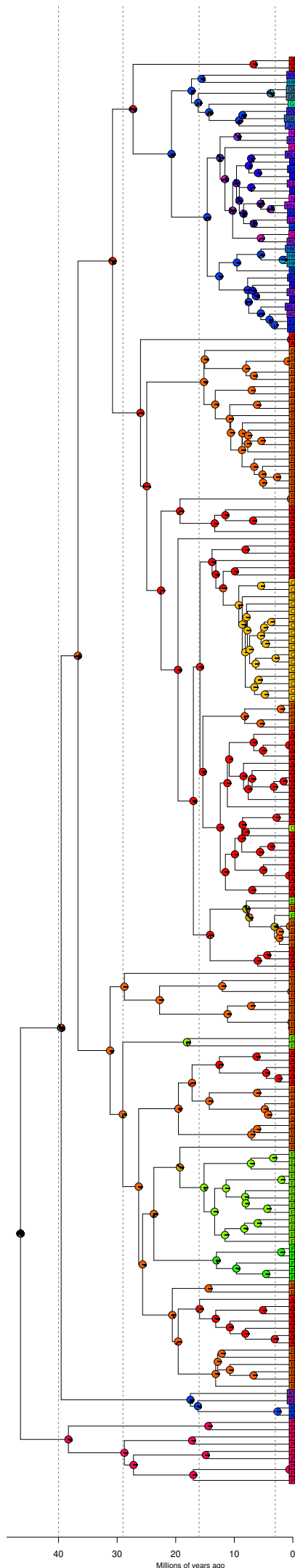


Figura S2. Árbol filogenético de máxima credibilidad de clados (MCC) a partir de inferencia bayesiana datado. Se muestran el intervalo del 95% del high posterior density (HPD) de las edades de los nodos calculadas así como las barras de error para dicho intervalo.

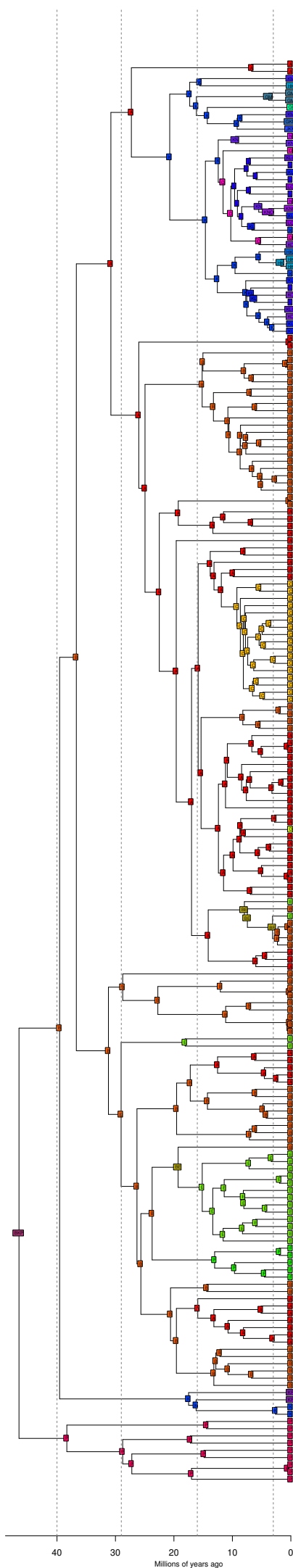
Figura S3. Árbol filogenético de máxima credibilidad de clados (MCC) a partir de inferencia bayesiana datado. Se muestra la probabilidad posterior calculada para cada nodo.

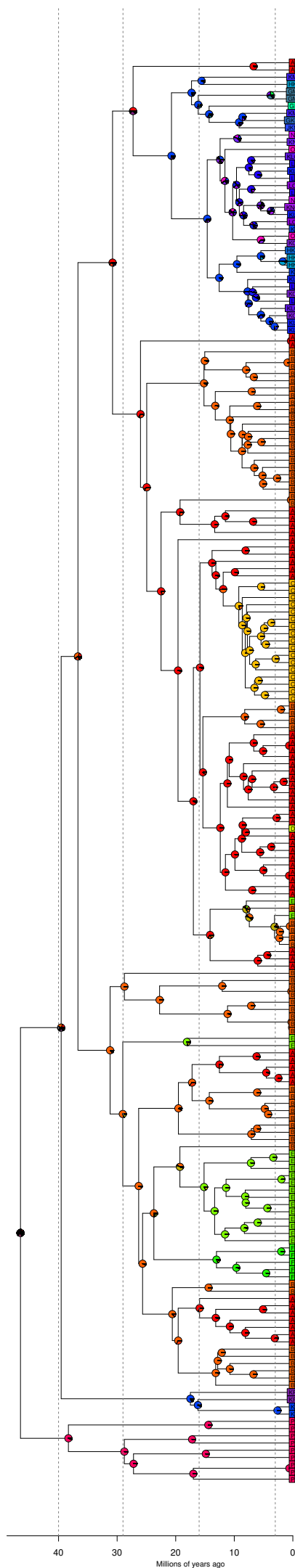
Figura S4. Resultados del análisis de biogeografía histórica para los modelos DEC, DEC+J, BAYAREALIKE y BAYAREALIKE + J en BioGeoBEARS. Las letras presentadas corresponden a las siguientes áreas: A = Cuba, B = La Española, C = Jamaica, D = Las Bahamas, E = Banco de Puerto Rico, F = Antillas menores, G = Chihuahua, H =Chiapas Highlands, I =Comanche, J =Tamaulipas, K =Neotropical, L =Sierra Madre del Sur, M =Sierra Madre Oriental, N =Sierra Madre Occidental, O = Faja volcánica trans-mexicana, P = Sudamérica.

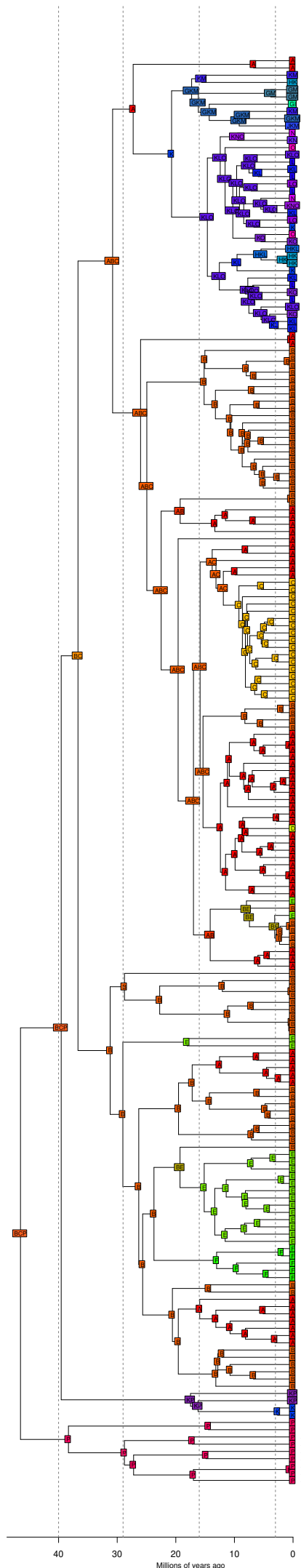


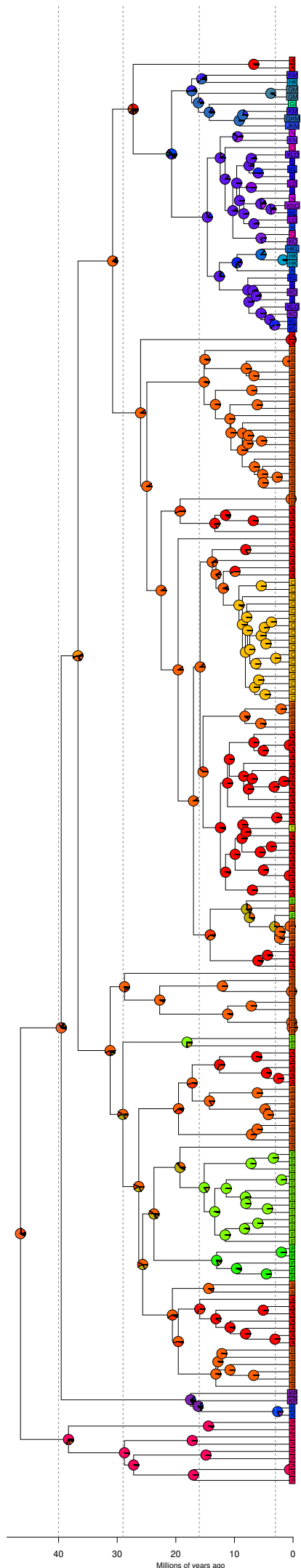


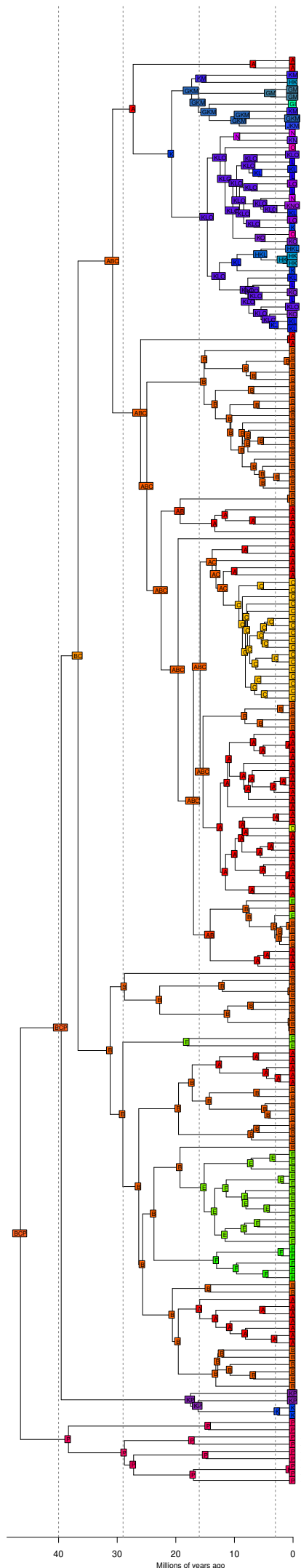
- Eleutherodactylus_zeus
- Eleutherodactylus_symingti
- Eleutherodactylus_longipes
- Eleutherodactylus_lepus
- Eleutherodactylus_vennicip
- Eleutherodactylus_pattilata
- Eleutherodactylus_marmock
- Eleutherodactylus_dentisi
- Eleutherodactylus_cystigna
- Eleutherodactylus_campi
- Eleutherodactylus_saxatilis
- Eleutherodactylus_interorb
- Eleutherodactylus_torevill
- Eleutherodactylus_teresites
- Eleutherodactylus_jaliscoe
- Eleutherodactylus_mantarti
- Eleutherodactylus_grunwakt
- Eleutherodactylus_rufescen
- Eleutherodactylus_niede
- Eleutherodactylus_wixarika
- Eleutherodactylus_pallidus
- Eleutherodactylus_modest
- Eleutherodactylus_erenidra
- Eleutherodactylus_colinrat
- Eleutherodactylus_grandis
- Eleutherodactylus_anguistif
- Eleutherodactylus_picipans
- Eleutherodactylus_rubimac
- Eleutherodactylus_nebulos
- Eleutherodactylus_erythro
- Eleutherodactylus_dilat
- Eleutherodactylus_syrates
- Eleutherodactylus_mauros
- Eleutherodactylus_maclab
- Eleutherodactylus_ridus
- Eleutherodactylus_petersi
- Eleutherodactylus_gnatus
- Eleutherodactylus_alboblabi
- Eleutherodactylus_zug
- Eleutherodactylus_kinklow
- Eleutherodactylus_paulsoni
- Eleutherodactylus_sclagrap
- Eleutherodactylus_glandulif
- Eleutherodactylus_verbrifin
- Eleutherodactylus_brevirost
- Eleutherodactylus_ruffem
- Eleutherodactylus_farcyns
- Eleutherodactylus_syrthyrs
- Eleutherodactylus_apostate
- Eleutherodactylus_lugani
- Eleutherodactylus_thurectes
- Eleutherodactylus_glanulif
- Eleutherodactylus_glyphyc
- Eleutherodactylus_dolomed
- Eleutherodactylus_bakeri
- Eleutherodactylus_hemato
- Eleutherodactylus_corona
- Eleutherodactylus_aunaster
- Eleutherodactylus_caribe
- Eleutherodactylus_amaude
- Eleutherodactylus_schmidti
- Eleutherodactylus_ruciliens
- Eleutherodactylus_maestri
- Eleutherodactylus_amae
- Eleutherodactylus_dimidiat
- Eleutherodactylus_alipes
- Eleutherodactylus_greyi
- Eleutherodactylus_turquin
- Eleutherodactylus_nebul
- Eleutherodactylus_loa
- Eleutherodactylus_rivulari
- Eleutherodactylus_lugani
- Eleutherodactylus_sisyph
- Eleutherodactylus_grahami
- Eleutherodactylus_tutolus
- Eleutherodactylus_jamaic
- Eleutherodactylus_lucasi
- Eleutherodactylus_pentast
- Eleutherodactylus_piantosi
- Eleutherodactylus_griphus
- Eleutherodactylus_junori
- Eleutherodactylus_possei
- Eleutherodactylus_glaucore
- Eleutherodactylus_cunhalli
- Eleutherodactylus_caveric
- Eleutherodactylus_rubicola
- Eleutherodactylus_melanes
- Eleutherodactylus_porcull
- Eleutherodactylus_alicola
- Eleutherodactylus_tenece
- Eleutherodactylus_darlingo
- Eleutherodactylus_amarill
- Eleutherodactylus_aloos
- Eleutherodactylus_gundlac
- Eleutherodactylus_sierfj
- Eleutherodactylus_intermec
- Eleutherodactylus_leiching
- Eleutherodactylus_schridg
- Eleutherodactylus_orientali
- Eleutherodactylus_limball
- Eleutherodactylus_lugani
- Eleutherodactylus_liberi
- Eleutherodactylus_cubanus
- Eleutherodactylus_atkinsi
- Eleutherodactylus_tonyi
- Eleutherodactylus_simulans
- Eleutherodactylus_rogersi
- Eleutherodactylus_gani
- Eleutherodactylus_pierrost
- Eleutherodactylus_guanahe
- Eleutherodactylus_caspali
- Eleutherodactylus_pirarens
- Eleutherodactylus_thomasi
- Eleutherodactylus_bairded
- Eleutherodactylus_pezopeli
- Eleutherodactylus_sidalis
- Eleutherodactylus_monseni
- Eleutherodactylus_probolae
- Eleutherodactylus_tentus
- Eleutherodactylus_weinlanc
- Eleutherodactylus_rhodasi
- Eleutherodactylus_rubicam
- Eleutherodactylus_grahami
- Eleutherodactylus_ficardi
- Eleutherodactylus_bressler
- Eleutherodactylus_acromis
- Eleutherodactylus_courous
- Eleutherodactylus_inoptatu
- Eleutherodactylus_nortoni
- Eleutherodactylus_chirogri
- Eleutherodactylus_parpapeli
- Eleutherodactylus_hypodier
- Eleutherodactylus_bohrobc
- Eleutherodactylus_ruthae
- Eleutherodactylus_sporadic
- Eleutherodactylus_unicolor
- Eleutherodactylus_nichtmon
- Eleutherodactylus_melanes
- Eleutherodactylus_leberi
- Eleutherodactylus_sarinas
- Eleutherodactylus_zorhus
- Eleutherodactylus_guarrans
- Eleutherodactylus_tangrore
- Eleutherodactylus_lowleri
- Eleutherodactylus_sommeri
- Eleutherodactylus_westmore
- Eleutherodactylus_diplasius
- Eleutherodactylus_paincrae
- Eleutherodactylus_montanu
- Eleutherodactylus_auriculat
- Eleutherodactylus_favese
- Eleutherodactylus_locustus
- Eleutherodactylus_smedae
- Eleutherodactylus_cooki
- Eleutherodactylus_juanariv
- Eleutherodactylus_pryllus
- Eleutherodactylus_wightma
- Eleutherodactylus_porboric
- Eleutherodactylus_schwartz
- Eleutherodactylus_coopi
- Eleutherodactylus_hedricki
- Eleutherodactylus_cochran
- Eleutherodactylus_brittoni
- Eleutherodactylus_santensis
- Eleutherodactylus_pinchoni
- Eleutherodactylus_bairdigi
- Eleutherodactylus_linton
- Eleutherodactylus_martinici
- Eleutherodactylus_simpfry
- Eleutherodactylus_poodi
- Eleutherodactylus_minutus
- Eleutherodactylus_ellenses
- Eleutherodactylus_ronaldi
- Eleutherodactylus_mariop
- Eleutherodactylus_glamyrus
- Eleutherodactylus_bartons
- Eleutherodactylus_principal
- Eleutherodactylus_auriculat
- Eleutherodactylus_pilanus
- Eleutherodactylus_parrabae
- Eleutherodactylus_haltanuz
- Eleutherodactylus_nordkote
- Eleutherodactylus_audant
- Eleutherodactylus_abbotti
- Diaporus_cristatus
- Diaporus_vocator
- Diaporus_fylaeformis
- Diaporus_dissela
- Phyzelaphryne_sp_1b
- Phyzelaphryne_milamae
- Adelophryne_mirangusp
- Adelophryne_baurtensis
- Adelophryne_sp_4
- Adelophryne_pachydactyla
- Adelophryne_palmtona
- Adelophryne_suffrona
- Adelophryne_sdistola











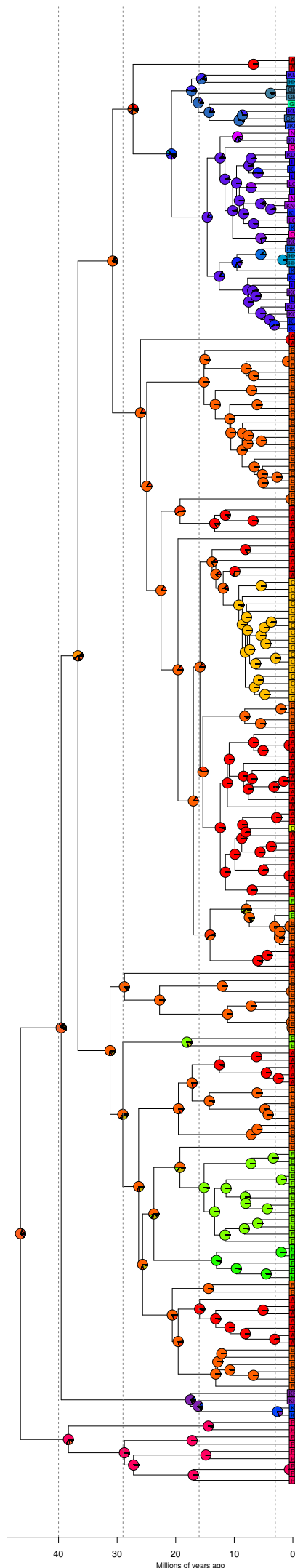


Figura S5. Árbol filogenético de máxima verosimilitud con 1000 réplicas para el test de ramas SH-aLRT y 1000 réplicas de bootstrap ultrarrápido. Los números entre paréntesis de cada nodo corresponden a el soporte SH-aLRT/el soporte de bootstrap ultrarrápido en porcentaje.

Tabla S1. Áreas de distribución para las especies utilizadas en el análisis de BioGeoBEARS. El número 1 indica que la especie se encuentra en dicha área, mientras que el número 0 indica ausencia. A = Cuba, B = La Española, C = Jamaica, D = Las Bahamas, E = Banco de Puerto Rico, F = Antillas menores, G = Chihuahua, H =Chiapas Highlands, I =Comanche, J =Tamaulipas, K =Neotropical, L =Sierra Madre del Sur, M =Sierra Madre Oriental, N =Sierra Madre Occidental, O = Faja volcánica trans-mexicana, P = Sudamérica.

Especie	Área															
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
<i>Eleutherodactylus_marnockii</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_erythrochomus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_nitidus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
<i>Eleutherodactylus_abbotti</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_audanti</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_auriculatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_sommeri</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_wetmorei</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_leberi</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_lamprotes</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_bothroboans</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_alcoae</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_rogersi</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_iberia</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_jaumei</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_orientalis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_planirostris</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_blairhedgesi</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_thomasi</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_gossei</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_griphus</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_luteolus</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_lentus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_richmondi</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_emiliae</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_albipes</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_maestrensis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_zeus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_thorectes</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_caribe</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_glaphycompus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_schmidti</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_unicolor</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<i>Eleutherodactylus_klinikowskii</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_zugi</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_andrewsi</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_martinicensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_cooki</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_coqui</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_wightmanae</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_juanariveroi</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_chlorophenax</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_inoptatus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_glanduliferoides</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_rivularis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_riparius</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Diasporus_diastema</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Adelophryne_gutturosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Adelophryne_patamona</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Adelophryne_maranguapensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Adelophryne_baturitensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Phyzelaphryne_sp_1b</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Phyzelaphryne_miriamae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Adelophryne_pachydactyla</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Adelophryne_sp_4</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Eleutherodactylus_haitianus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_parabates</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_pituius</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_principalis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_glamyrus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_bartonsmithi</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_mariposa</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_ronaldi</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_poolei</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_minutus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_eileenae</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_auriculatoides</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_patriciae</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_guantanamera</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_ionthus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_varians</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_melacara</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_fowleri</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_ruthae</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eleutherodactylus_hypostenor</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Eleutherodactylus_parapelates	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_acmonis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_armstrongi	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_bresslerae	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_ricordii	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_darlingtoni	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_cuneatus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_turquinensis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_toa	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_atkinsi	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_intermedius	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_varleyi	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_etheridgei	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_limbatus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_cubanus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_guanahacabibes	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_tonyi	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_pezopetrus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_pinarenis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_casparii	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_alticola	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_nubicola	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_pantoni	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_pentasyringos	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_cundalli	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_jamaicensis	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_fuscus	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_junori	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_orcutti	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_cavernicola	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_grabhami	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_sisyphodemus	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_goini	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_grahami	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_pictissimus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_rhodesi	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_weinlandi	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_probolaeus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_greyi	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_monensis	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_dimidiatus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_symingtoni	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Eletherodactylus_amadeus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_bakeri	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_corona	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_furcyensis	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_apostates	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_oxyrhyncus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_eunaster	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_jugans	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_brevirostris	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_glandulifer	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_ventrilineatus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_sciagraphus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_rufifemoralis	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_heminota	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_dolomedes	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_gundlachi	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_glaucoreius	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_amplinympa	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_johnstonei	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_barlagnei	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_pinchoni	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_antillensis	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_eneidae	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_locustus	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_schwartzi	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_gryllus	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_cochranae	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_hedricki	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_brittoni	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_portoricensis	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_flavescens	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_nortoni	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_counouspeus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_paulsoni	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_montanus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_feichtingeri	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_leoncei	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_rucillensis	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_aporostegus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_notidodes	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_diplasius	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eletherodactylus_manantlanensis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0

Adelophryne_adiastola	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Eleutherodactylus_grandis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Eleutherodactylus_jaliscoensis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_saxatilis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Eleutherodactylus_maculabialis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Diasporus_vocator	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Eleutherodactylus_wixarika	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Diasporus_quidditus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Diasporus_hylaeiformis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_angustidigitorum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Eleutherodactylus_nietoi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_teretistes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
Eleutherodactylus_floresvillelai	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Eleutherodactylus_potosiensis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_cystignathoides	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Eleutherodactylus_leprus	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_rufescens	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Eleutherodactylus_modestus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_dilatus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_syristes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_maurus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Eleutherodactylus_pipilans	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_rubrimaculatus	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_orarius	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_albolabris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_guttillatus	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Eleutherodactylus_pallidus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
Eleutherodactylus_colimotl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_dennisi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Eleutherodactylus_erendirae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Eleutherodactylus_nebulosus	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_longipes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Eleutherodactylus_verrucipes	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Eleutherodactylus_adelus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eleutherodactylus_interorbitalis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
Eleutherodactylus_grunwaldi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_campi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0
Eleutherodactylus_sentinelus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Eleutherodactylus_petersi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Eleutherodactylus_simulans	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla S2. Matriz de multiplicadores de dispersión (dispersal multipliers) entre áreas para cada uno de los periodos del análisis estratificado de BioGeoBEARS. Utilizamos valores muy pequeños (0.0000001) en lugar de un 0 para evitar posibles problemas durante el análisis de BioGeoBEARS de acuerdo a la página web de BioGeoBEARS (<http://phylo.wikidot.com/biogeobears>). A = Cuba, B = La Española, C = Jamaica, D = Las Bahamas, E = Banco de Puerto Rico, F = Antillas menores, G = Chihuahua, H =Chiapas Highlands, I =Comanche, J =Tamaulipas, K =Neotropical, L =Sierra Madre del Sur, M =Sierra Madre Oriental, N =Sierra Madre Occidental, O = Faja volcánica trans-mexicana, P = Sudamérica.

55 Mya.															
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.5	1	1	0.5	0.75	1	1	1	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.5	1	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.5	1	1	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.5	1	1	0.75	0.75	1	0.75	0.75	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.5	0.75	0.5	0.75	1	0.75	0.75	0.75	0.75	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.75	0.5	0.75	0.75	0.75	1	0.75	0.75	1	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.5	0.75	1	0.75	0.75	1	0.75	1	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	1	1	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.5	0.75	0.75	0.75	1	1	1	1	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1

40 Mya.															
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	0.75	0.000 0001	0.000 0001	0.5	0.000 0001	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.75	1	0.000 0001	0.000 0001	0.75	0.000 0001	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.5	0.75	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	1	0.5	1	1	0.75	0.5	1	0.75	1	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	0.5	1	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	1	0.5	1	1	0.5	0.5	0.75	0.5	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	1	0.5	1	1	0.75	0.5	1	0.5	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	0.75	0.75	0.5	0.75	1	0.75	0.75	0.75	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	1	0.75	0.5	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	1	0.5	0.75	1	0.75	0.75	1	0.5	1	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	1	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	1	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	1	0.75	1	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.000 0001	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1

29 Mya.															
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	0.75	0.000 0001	0.000 0001	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.75	1	0.000 0001	0.000 0001	0.75	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.5	0.75	0.000 0001	0.000 0001	1	0.75	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.5	0.5	0.000 0001	0.000 0001	0.75	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	1	0.5	1	1	0.75	0.5	0.75	0.75	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.5	1	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	1	0.5	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	1	0.5	1	1	0.75	0.5	0.75	0.5	0.5	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.75	0.75	0.5	0.75	1	0.75	0.75	0.75	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	1	0.5	0.5	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.75	0.75	0.5	1	0.5	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	1	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1

16 Mya.															
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	0.75	0.000 0001	0.000 0001	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.75	1	0.000 0001	0.000 0001	0.75	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	1	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001	0.000 0001
0.5	0.75	0.000 0001	0.000 0001	1	0.75	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.5	0.5	0.000 0001	0.000 0001	0.75	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	1	0.75	1	1	1	0.5	0.75	0.75	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.75	1	0.75	0.75	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	1	0.75	1	1	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	1	0.75	1	1	1	0.5	0.75	0.5	0.5	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	1	1	0.75	1	1	0.75	0.75	0.75	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	1	0.5	0.5	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.75	0.75	0.5	1	0.5	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	1	0.75	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	1	0.25
0.25	0.25	0.000 0001	0.000 0001	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1

3 Mya.															
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	0.75	0.75	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
0.75	1	0.75	0.75	0.75	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.75	0.75	1	0.5	0.5	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.75	0.75	0.5	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.5	0.75	0.5	0.5	1	0.75	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	0.75	1	1	1	0.5	0.75	0.75	0.75	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.75	1	0.75	0.75	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	0.75	1	1	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	0.75	1	1	1	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	1	0.75	1	1	0.75	0.75	0.75	0.75	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	1	0.5	0.5	0.75	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.75	0.75	0.5	1	0.5	0.75	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	1	0.75	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	1	0.5
0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1